

DOI: 10.26693/jmbs04.04.058

УДК 615.33:[579.841.11+579.842.11]:579.262

Скляр Н. І.<sup>1</sup>, Саркіс-Іванова В. В.<sup>1</sup>, Перетятко О. Г.<sup>1</sup>,  
Ягнюк Ю. А.<sup>1</sup>, Мані Ханс<sup>2</sup>

## АНТИБІОТИКОЧУТЛИВІСТЬ ШТАМІВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ТА *ESCHERICHIA COLI* У ПЛАНКТОННІЙ ФОРМІ ТА У СТАНІ БІОПЛІВКИ

<sup>1</sup>ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова  
Національної академії медичних наук України», Харків, Україна

<sup>2</sup> Міжнародна клініка НВО «Україна-Замбія» та ДУ «Інститут отоларингології  
ім. проф. О. С. Коломійченка Національної академії медичних наук України»,  
Київ, Україна

sklyarimi@ukr.net

Сучасна стратегія антибактеріального лікування ґрунтується на попередньому встановленні чутливості етіологічного чинника до хіміотерапевтичних препаратів. Найпоширеніші нині методи дослідження визначають антибіотикочутливість мікроорганізмів у планктонній формі. Але бактерії у природних умовах існують у формі високоорганізованих спільнот – біоплівок, що гарантує оптимальні умови для вивільнення патогенного та колонізаційного потенціалу мікроорганізму, сприяє збереженню метаболічно неактивної частини популяції та визначає низький рівень чутливості до впливу більшості антибіотиків. Метою дослідження було порівняльне визначення чутливості циркулюючих штамів *Pseudomonas aeruginosa* та *Escherichia coli*, що перебували у різних формах існування – планктонна форма, стан формування біоплівки та стан сформованої зрілої біоплівки, до представників β-лактамів та фторхінолонів. Тест-штами *Pseudomonas aeruginosa* та *Escherichia coli* були вилучені з клінічного матеріалу від хворих з підтвердженою етіологічною роллю вказаних бактерій та характеризувалися чутливістю до взятих у дослідження антибіотиків.

Встановлено, що мінімальна інгібуюча концентрація антибіотиків щодо бактерій у стані формування біоплівки підвищувалась у 8-32 рази у порівнянні з такою, визначеною для планктонних форм тест-штамів. Ефективно вплинути на сформовані біоплівки грамнегативних бактерій не вдалося при підвищенні концентрацій препаратів у 128-2000 рази. Циркулюючі тест-штами у стані біоплівки виживали за впливу 256 мкг/мл ципрофлоксацину та 512 мкг/мл цефтріаксону або меропенему. Ознаки руйнування сформованих біоплівок синьогнійних паличок визначено за концентрацій антибіотиків, що перевищували терапевтично прийнятні. У випадку кишкових паличок перевищення граничних зна-

чень встановлено для ципрофлоксацину. Результати дослідження свідчать, що традиційна антибактеріальна терапія не завжди спроможна досягати мети, навіть у випадку підтвердженої чутливості етіологічного бактеріального чинника до протимікробних препаратів. Особливо це стосується хронічних затяжних інфекцій, де імовірність формування мікроорганізмами біоплівок надзвичайно висока.

**Ключові слова:** *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, антибіотикочутливість, біоплівкоутворення, планктонна форма.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота є фрагментом планової науково-дослідної роботи «Дослідження закономірностей еволюції антибіотикорезистентності у найпоширеніших різновидів збудників гнійно-запальних інфекцій», № державної реєстрації 011-8U004052.

**Вступ.** Бактерії у природних умовах існують у формі пов'язаних з поверхнею високоорганізованих, рухливих спільнот – біоплівок, що весь час змінюються та мають у своєму складі активно функціонуючі клітини та форми у стані спокою, які вбудовані в екзополімерний матрикс. Для більшості клінічно значущих штамів бактерій ця форма існування гарантує оптимальні умови для вивільнення патогенного та колонізаційного потенціалу, сприяє збереженню метаболічно неактивної частини популяції, що має дуже низький рівень чутливості до впливу більшості антибіотиків [6]. Процес утворення біоплівок є підґрунтям багатьох затяжних і хронічних бактеріальних інфекцій, адже відбувається знищення імунних ефекторних механізмів господаря, що дозволяє патогенам виживати у несприятливих середовищах, розмножуватись і колонізувати нові ніші. Нещодавно навіть введено новий термін для означення захворювань, пов'язаних

з біоплівками – «biofilm-related disease» [3]. Як правило, має високу здатність до утворення біоплівок нозокоміальна мікрофлора, що відіграє провідну роль у патогенезі післяопераційних інфекційних ускладнень та будь-яких інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги [7].

Сучасна стратегія антибактеріального лікування ґрунтується на попередньому встановленні чутливості етіологічного чинника до хімотерапевтичних препаратів. Найпоширеніші нині методи дослідження – диско-дифузійний метод, визначення мінімальних інгібуючих концентрацій (МІК), Е-тести, тощо – мають на увазі визначення антибіотичної чутливості мікроорганізмів, що перебувають у планктонній формі [5, 10]. Накопичений масив даних літератури свідчить про значну відмінність значень МІК протимікробних засобів, визначених для бактерій у різних формах існування, що нівелює корисність отриманого клініцистами результату дослідження [1, 2, 9, 12].

**Мета дослідження:** порівняльне визначення чутливості до представників  $\beta$ -лактамів та фторхінолонів циркулюючих штамів *Pseudomonas aeruginosa* та *Escherichia coli* у різних формах існування – планктонна форма, стан формування біоплівки та стан сформованої зрілої біоплівки.

**Матеріал и методи дослідження.** Як тест-штами було використано по 3 циркулюючих штами *Pseudomonas aeruginosa* та *Escherichia coli*, вилучених з клінічного матеріалу від хворих, госпіталізованих з вперше встановленим діагнозом та підтвердженою етіологічною роллю вказаних бактерій. Критерієм відбору тест-штамів була попередньо встановлена диско-дифузійним методом чутливість до взятих у дослідження антибіотиків – цефтріаксону, меропенему, ципрофлоксацину та наявність у бактерій середнього ступеню біоплівкоутворюючої активності.

Приготування суспензій мікроорганізмів із визначеною концентрацією мікробних клітин проводили з використанням електронного приладу Densi-La-Meter (PLIVA-Lachema a.s., Чехія) за шкалою McFarland згідно з інструкцією до приладу та Інформаційним листом «Стандартизація приготування мікробних суспензій» [13].

Попереднє визначення чутливості тест-штамів до протимікробних препаратів проводили диско-дифузійним методом Bauer-Kirby на середовищі Хінтон-Мюллера з використанням готових комерційних дисків. Визначення мінімальних інгібуючих концентрацій (МІК) антибіотиків проводили методом серійних розведень у рідкому поживному середовищі відповідно до нормативних документів [5, 10].

Дослідження здатності до формування біоплівок мікроорганізмами проводили планшетним ме-

тодом згідно з методикою O'Toole G., 1999 [11]. Як рідке поживне середовище використовували трипказо-соевий бульйон, виробництва bioMerieux, Франція. Для візуалізації біоплівок використовували 0,1% спиртовий розчин барвнику кристалію фіолетову. Оптичну щільність вмісту лунок вимірювали на фотометрі StatFax 303 Plus при довжині хвилі 630 нм. Результати фіксували в одиницях оптичної щільності ( $OD_{630}$ ).

Ефект впливу препарату на біоплівки, що формувались, оцінювали за індексом інгібування біоплівок, який розраховували за формулою:  $[(OD_{630} \text{ позитивного контролю} - OD_{630} \text{ дослідне}) / OD_{630} \text{ позитивного контролю}] \times 100\%$ . Позитивним ефектом (пригнічення біоплівкоутворення за впливу препарату) вважалось зниження значення  $OD_{630}$  в досліді щодо  $OD_{630}$  позитивного контролю, більш ніж на 25% [14]. Найменша концентрація антибіотику, що пригнічувала біоплівкоутворення тест-штаму на 100% у лунках планшета, вважалось його МІК щодо бактерій у стані формування біоплівки.

Визначення біоплівкоутворюючої здатності препаратів проводили шляхом внесення антибіотиків у відповідній концентрації у дослідні лунки планшета зі сформованими біоплівками, з яких попередньо видаляли планктонну форму бактерій. У контрольні лунки вносили відповідну кількість стерильної дистильованої води. Інкубували протягом 24 годин при 37 °С. Після чого вміст лунок промивали, фарбували і екстрагували барвник. Оптичну щільність вмісту лунок вимірювали на фотометрі StatFax 303 Plus при довжині хвилі 630 нм. Виходячи з показників оптичної щільності контрольних і дослідних зразків робили висновок про руйнування біоплівок та МІК щодо бактерій у стані сформованої зрілої біоплівки.

Досліди проводили в трьох повторах. Одержані результати статистично обробляли загальноприйнятими методами непараметричної статистики за допомогою пакету програм «Statistica v. 8.0». Описова статистика представлена у вигляді медіани (Me) та інтерквартильного розмаху (% 25 – % 75). Відмінності вважались достовірними при  $p < 0,05$ .

**Результати дослідження та їх обговорення.** Результати визначення МІК антибіотиків щодо тест-штамів у планктонній формі загально-прийнятим методом представлені у **таблиці 1**.

Інтерпретація отриманих значень МІК препаратів щодо віднесення тест-штамів до однієї з категорій чутливості підтвердила результати, отримані диско-дифузійним методом – усі протестовані культури виявились чутливими до протимікробних засобів.

Наступним етапом дослідження було визначення чутливості тест-штамів до антибіотиків у стані

**Таблиця 1** – Значення МІК представників β-лактамів та ципрофлоксацину щодо тест-штамів у планктонній формі

Препарат	Значення МІК щодо тест-штамів, мкг/мл	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=3)	<i>Escherichia coli</i> (n=3)
Цефтріаксон	4,0 [2,0; 4,0]	0,25 [0,12; 0,25]
Меропенем	2,0 [1,0; 4,0]	0,06 [0,01; 0,06]
Ципрофлоксацин	0,25 [0,12; 0,5]	0,12 [0,12; 0,25]

формування біоплівки. Відібрані за середнім ступенем біоплівкоутворюючої активності тест-штами мали такі показники оптичної щільності: *Pseudomonas aeruginosa* – 0,226 [0,174; 0,283] OD<sub>630</sub> та *Escherichia coli* 0,189 [0,143; 0,205] OD<sub>630</sub>.

Результати визначення МІК антибіотиків щодо тест-штамів у стані формування біоплівки представлені у **таблиці 2**.

**Таблиця 2** – Значення МІК представників β-лактамів та ципрофлоксацину щодо тест-штамів у стані формування біоплівки

Препарат	Значення МІК щодо тест-штамів, мкг/мл	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=3)	<i>Escherichia coli</i> (n=3)
Цефтріаксон	32,0 [16,0; 32,0]	4,0 [2,0; 4,0]
Меропенем	32,0 [16,0; 32,0]	2,0 [0,5; 4,0]
Ципрофлоксацин	1,0 [1,0; 2,0]	1,0 [1,0; 4,0]

Результати дослідження свідчать, що МІК антибіотиків щодо тест-штамів, який знаходився в процесі формування біоплівки, достовірно підвищувались у порівнянні з МІК, визначених для планктонних форм бактерій. Так, для 100% інгібування росту тест-штамів синьогнійної палички знадобилась у 8 разів більша концентрація цефтріаксону або ципрофлоксацину та у 16 разів більша концентрація меропенему (p<0,05). МІК антибіотиків щодо тест-штамів кишкових паличок підвищувались у 8 разів для цефтріаксону або ципрофлоксацину та у 32 рази для меропенему (p<0,05).

Інтерпретація отриманих значень МІК антибіотиків щодо віднесення тест-штамів до однієї з категорій чутливості показала, що всі штами кишкової палички у стані формування біоплівки залишилась чутливими до представників β-лактамів, але до

ципрофлоксацину один штам проявив стійкість. Штами *Pseudomonas aeruginosa* частково зберегли чутливість до ципрофлоксацину та проявили помірну стійкість до цефтріаксону. МІК 32,0 мкг/мл є показником стійкості бактерій до меропенему.

Наступний етап досліджень передбачав вивчення чутливості до протимікробних препаратів циркулюючих штамів *Pseudomonas aeruginosa* та *Escherichia coli* у стані сформованої зрілої біоплівки. Технічно максимально можливими концентраціями антибіотиків у дослідженні були 256 мкг/мл для ципрофлоксацину та 512 мкг/мл для представників β-лактамів. Констатовано, що у жодному випадку не вдалося на 100 % інгібувати ріст тест-штамів у стані сформованої біоплівки. Концентрація цефтріаксону, меропенему та ципрофлоксацину при цьому перевищувала МІК щодо синьогнійної палички у планктонній формі у 128, 256 та 1024 рази відповідно (p<0,00...). Для штамів кишкової палички вказані показники перевищували 2000 разів.

Ознаки руйнування біоплівки – зниження значення OD<sub>630</sub> в досліді щодо OD<sub>630</sub> позитивного контролю, більш ніж на 25% – визначено за наступних концентрацій протимікробних препаратів (**табл. 3**). Слід зазначити, що вищеозначені концентрації антибіотиків перевищували значення, що є терапевтично прийнятними для лікування інфекцій, викликаних синьогнійною паличкою. У випадку кишкової палички вище допустимих виявились значення концентрації ципрофлоксацину.

**Таблиця 3** – Значення мінімальних концентрацій (МІ) представників β-лактамів та ципрофлоксацину, за яких встановлено часткове руйнування сформованих біоплівок тест-штамів

Препарат	Значення МІ щодо тест-штамів, мкг/мл	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=3)	<i>Escherichia coli</i> (n=3)
Цефтріаксон	128,0 [64,0; 128,0]	32,0 [16,0; 32,0]
Меропенем	64,0 [64,0; 128,0]	8,0 [2,0; 8,0]
Ципрофлоксацин	64,0 [32,0; 128,0]	16,0 [8,0; 32,0]

Висока толерантність мікроорганізмів у стані біоплівки до протимікробних препаратів частково пояснюється наявністю особливих мікробних клітин – персистерів. Це особлива форма бактерій, що знаходяться у стані анабіозу та мають заблоковані метаболічні процеси. Інтактність цих клітин робить їх нечутливими до дії антибіотиків. За даними деяких авторів їх кількість варіює від 1 до 5%

від всієї популяції. Їх основне призначення, імовірно, депонування та збереження генетичного матеріалу для подальшого відновлення росту бактерій [8].

У дослідженні Дьомкіної О. В. та співавторів щодо впливу факторів вродженого імунітету на біоплівки кишкової та синьогнійної паличок визначено антибіотикотолерантність їх клітинперсистерів, що виживали за впливу 100 мкг/мл ципрофлоксацину та ампіциліну [4]. У нашому дослідженні циркулюючі тест-штами у стані біоплівки виживали за впливу 256 мкг/мл ципрофлоксацину та 512 мкг/мл цефтріаксону або меропенему.

**Висновки та перспективи подальших досліджень.** Отримані результати свідчать, що тради-

ційна антибактеріальна терапія не завжди спроможна досягати мети, навіть у випадку підтвердженої чутливості етіологічного бактеріального чинника до протимікробних препаратів. Особливо це стосується хронічних затяжних інфекцій, де імовірність формування мікроорганізмами біоплівок надзвичайно висока. У цих випадках зменшення ризиків неадекватної терапії можливо шляхом призначення максимальних терапевтичних доз та термінів прийому антибіотиків. Пошук фармацевтичних засобів, що окрім протимікробних властивостей володіють біоплівкоруйнуючими властивостями, є нині актуальною проблемою, що потребує нагального вирішення.

## References

1. Brady AJ, Laverty G, Gilpin DF, Kearney P, Tunney M. Antibiotic susceptibility of planktonic- and biofilm-grown staphylococci isolated from implant-associated infections: should MBEC and nature of biofilm formation replace MIC? *Journal of Medical Microbiolog.* 2017 Apr; 66(4): 461-9. PMID: 28463662. DOI: 10.1099/jmm.0.000466
2. Chebotar IV, Mayansky AN, Konchakova ED, Lazareva AV, Chistyakova VP. Antimicrobial Resistance of Bacteria in Biofilms. *Clinical Microbiology Antimicrobial Chemotherapy.* 2012; 14(1): 51-7.
3. Del Pozo JL. Biofilm-related disease. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2018 Jan; 16(1): 51-65. PMID: 29235402. DOI: 10.1080/14787210.2018.1417036
4. Demkina EV, Loiko NG, Mulyukin AL, Nikolaev YA, El'-Registan GI, Smirnova TA, et al. Effect of inherent immunity factors on development of antibiotic tolerance and survival of bacterial populations under antibiotic attack *Microbiology. Mikrobiologiya.* 2015; 84 (6): 764-74. doi: 10.1134/S0026261715060028
5. Expert policy of the European Committee for the determination of antimicrobial susceptibility (EUCAST). Version 2.0, 2011. Available from: [http://www.eucast.org/expert\\_rules/](http://www.eucast.org/expert_rules/)
6. Flemming HC, Wingender J, Szewzyk U, Steinberg P, Scott A, Kjelleberg S, et al. Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology.* 2016; 14(9): 563-75. PMID: 27510863. DOI: 10.1038/nrmicro.2016.94
7. Gabrielyan NI, Gorskaya EM, Romanova NI, Tsurulnikova OM. Nosocomial infection and microbial biofilms in surgery. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs.* 2012; 14(3): 83-91.
8. Habydova AE, Halynkyn VA. Osnovnye nachala voznyknovenyya rezystentnosti v biosferi. *Mizhnarodnyy zhurnal prykladnykh i fundamental nykh doslidzhen.* 2017; 3(1): 92-102. [Russian]
9. Marievsky VF, Bubalo VO, Krolevetskaya NM. On the issue of sensitivity: the resistance of salmonella biofilms to the action of disinfectants. *Zaporizhzhya Medical Journal.* 2013; 5: 80-3.
10. Order of the Ministry of Health of Ukraine №167 of 2007/04/05. On approval of guidelines «Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs». [Ukrainian]
11. O'Toole GA, Pratt GL, Watnick AP, Newman DK, Weaver VB, Kolter R. Genetic approaches to study of biofilms. *Methods in Enzymology.* 1999; 310: 91-109. PMID: 10547784. doi: 10.1016/S0076-6879(99)10008-9
12. Rybak NA, Sokolova TN, Tsyrukunov VM, Ostrovskaya OB. Sensitivity / resistance of microorganisms isolated from biofilms to antibacterial agents in chronic tonsillitis. *Clinical Infectology and Parasitology.* 2016; 2: 171-82.
13. Standartizatsiya prigotovleniya mikrobykh suspenziy: Informatsionnoye pis'mo o novovvedeniakh v sisteme zdavookhraneniya №163-2006. K: Ukrmedpatentinform; 2006. 10 p. (Normativnyy dokument. MZ Ukrainy; Ukrmedpatentinform. Informatsionnyy list). [Ukrainian]
14. Stepanovic S, Vukovic D, Hola V, Di Bonaventura G, Djukic S, Irkovic IC, et al. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS.* 2007; 115: 891-9. PMID: 17696944. DOI: 10.1111/j.1600-0463.2007.apm\_630.x

УДК 615.33:[579.841.11+579.842.11]:579.262

### АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ШТАММОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* И *ESCHERICHIA COLI* В ПЛАНКТОННОЙ ФОРМЕ И В СОСТОЯНИИ БИОПЛЕНКИ

Скляр Н. И., Саркис-Иванова В. В., Перетятко Е. Г.,  
Ягнюк Ю. А., Мани Ханс

**Резюме.** Современная стратегия антибактериального лечения базируется на предварительном определении чувствительности этиологического агента к химиотерапевтическим препаратам. Наиболее

распространенные сейчас методы исследования определяют антибиотикочувствительность микроорганизмов в планктонной форме. Но бактерии в природных условиях существуют в форме высокоорганизованных сообществ – биопленок, что гарантирует оптимальные условия для освобождения патогенного и колонизационного потенциала микроорганизма, способствует сохранению метаболически неактивной части популяции и определяет низкий уровень чувствительности к влиянию большинства антибиотиков. Целью исследования было сравнительное изучение чувствительности циркулирующих штаммов *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli*, которые находились в разных формах существования – планктонная форма, состояние формирования биопленки и состояние сформированной зрелой биопленки, к представителям  $\beta$ -лактамов и фторхинолонов. Тест-штаммы *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli* были выделены из клинического материала от больных с подтвержденной этиологической ролью указанных бактерий и характеризовались чувствительностью к взятым в исследование антибиотикам.

Установлено, что минимальная ингибирующая концентрация антибиотиков в отношении бактерий в состоянии формирования биопленки повышалась в 8-32 раза по сравнению с таковой, определенной для планктонных форм тест-штаммов. Эффективно повлиять на сформированные биопленки грамотрицательных бактерий не удалось при повышении концентрации в 128-2000 раз. Циркулирующие тест-штаммы в состоянии биопленки выживали под влиянием 256 мкг/мл ципрофлоксацина и 512 мкг/мл цефтриаксона или меропенема. Признаки разрушения сформировавшихся биопленок синегнойных палочек определены при концентрации антибиотиков, превышающих терапевтически приемлемые. В случае кишечных палочек превышение предельных значений установлено для ципрофлоксацина. Результаты исследования свидетельствуют, что традиционная антибактериальная терапия не всегда в состоянии достичь цели даже в случае подтвержденной чувствительности этиологического бактериального агента к противомикробным препаратам. Особливо это касается хронических затяжных инфекций, где вероятность формирования микроорганизмами биопленок чрезвычайно высока.

**Ключевые слова:** *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, антибиотикочувствительность, биопленкообразование, планктонная форма.

UDC 615.33:[579.841.11+579.842.11]:579.262

**Antibiotic Susceptibility of *Pseudomonas Aeruginosa* and *Escherichia Coli* Strains in Planktonic Form and in Biological Film State**

**Sklyar N., Sarkis-Ivanova V., Peretyatko E., Yagnuk Yu., Manee Hans**

**Abstract.** For most clinically significant strains of bacteria, the biofilm form of life is the most common which guarantees optimal conditions for the release of pathogenic and colonization potential. Moreover, it contributes to the preservation of a metabolically inactive part of the population with a very low sensitivity to the effects of most antibiotics. The current strategy of antibacterial treatment is based on preliminary determination of the sensitivity of the etiological factor to chemotherapeutic agents. The most widespread methods of research nowadays are the definition of antibiotic susceptibility of microorganisms in planktonic form.

*The purpose of the study* was to compare the susceptibility to representatives of  $\beta$ -lactam antibiotics and fluoroquinolones of circulating *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* strains in different forms of existence, such as planktonic form, the state of biofilm formation and the state of formed mature biofilm.

*Material and methods.* The study involved 3 circulating strains of both *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* as test strains isolated from the clinical material from patients hospitalized with firstly diagnosed and confirmed etiological role of these bacteria. Susceptibility to  $\beta$ -lactam antibiotics and fluoroquinolones primarily established by the disc diffusion method was the criterion for test strain selection.

*Results and discussion.* The results of the comparative determination of susceptibility of circulating *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* strains in various forms of existence such as: planktonic form, state of biofilm formation and state of formed mature biofilm, to representatives of  $\beta$ -lactam antibiotics and fluoroquinolones are presented. It has been established that the "minimum inhibitory concentration" of antibiotics in relation to bacteria in the state of biofilm formation was increased by 8-16 times in comparison with the minimum inhibitory concentration determined for planktonic forms of test strains. Thus, 100% inhibition of the growth of the test strains of *Pseudomonas aeruginosa* required 8 times greater concentration of ceftriaxone or ciprofloxacin and 16 times greater concentration of meropenem ( $p < 0.05$ ). Minimum inhibitory concentration of antibiotics for test strains of *Escherichia coli* was elevated 8 times for ceftriaxone or ciprofloxacin and 32 times for meropenem ( $p < 0.05$ ). In no case was it possible to provide 100% inhibition of growth of test strains in the state of the

formed biofilm after the effect of 256 µg / ml ciprofloxacin and 512 µg / ml ceftriaxone or meropenem. Concentration of ceftriaxone, meropenem or ciprofloxacin in this case exceeded the MIC for *Pseudomonas aeruginosa* in planktonic form by 128, 256 and 1024 times, respectively ( $p < 0.00$ ). For the strains of the *Echerichia coli* these indices exceeded 2000 times.

*Conclusions.* Signs of destruction of the formed biofilms of *Pseudomonas aeruginosa* were determined by the concentration of antibiotics that exceeded the therapeutically acceptable levels. In the case of *Echerichia coli*, excess of the limit values was established for ciprofloxacin.

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa*, *Echerichia coli*, antibiotic susceptibility, biofilm formation, planktonic form.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

Стаття надійшла 20.03.2019 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування