

Бактериальные биопленки – новая цель терапии?

А.В. Голуб

Смоленская государственная медицинская академия, Смоленск, Россия

Биопленки – особая и, тем не менее, абсолютно преобладающая форма существования микроорганизмов, оказавшаяся в фокусе особого внимания в связи с возросшим объемом информации, касающейся роли данной организации микроорганизмов при инфекционных заболеваниях человека. По сути, в настоящий момент мы являемся свидетелями формирования новой ветви профилактической и терапевтической медицины, нуждающейся в разработке

фармацевтических и нефармацевтических методов предупреждения образования биопленок или разрушения образовавшихся. В обзоре рассмотрены данные, касающиеся перспективной возможности использования N-ацетилцистеина в комплексной терапии инфекций дыхательных путей с целью разрушения биопленок.

Ключевые слова: инфекции дыхательных путей, биопленки, N-ацетилцистеин.

Bacterial Biofilms – a New Therapeutic Target?

A.V. Golub

Smolensk State Medical Academy, Smolensk, Russia

Biofilms are very specialized but at the same time very widespread form of bacterial existence. Nowadays it is well understood that biofilms play significant role in many human infections. That is way recently a number of research project are concentrated in the development of different methods of biofilm disruption and of prophylaxis

of biofilm formation. The present article is concentrated on the possible use on N-acetylcysteine in the treatment of biofilm-associated respiratory infections.

Key words: biofilm, respiratory infections, N-acetylcysteine.

Контактный адрес:
Алексей Викторович Голуб
alex.golub@antibiotic.ru

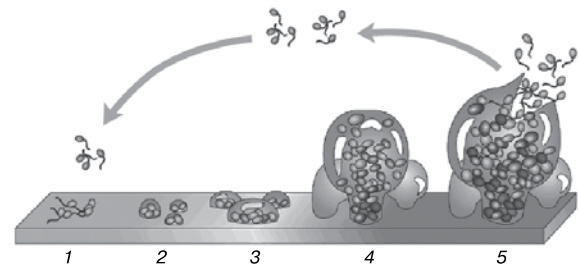
Биопленки – наиболее распространенная форма организации жизнедеятельности микроорганизмов, в которой последние находятся в т.н. sessильной фазе, в отличие от планктонной фазы свободно живущих микробов. Как известно, около 99% всех бактерий существует на земле именно в форме биопленок, однако глубокое изучение данной организации стало возможным только с изобретением средств сканирующей электронной и конфокальной микроскопии, позволяющей видеть этот микромир в объеме [1]. Биопленка не является простым скоплением бактерий на некой поверхности, а состоит из клеточного компонента – моно- или ассоциации культур микроорганизмов и внеклеточного матрикса, представляющего из себя сложную биохимическую смесь полисахаридов, гликопептидов, нуклеиновых кислот и липидов. Этот слизистый трехмерный биополимер неоднороден в разных слоях, более того, содержит в своем составе структуры, похожие на транспортные и водные каналы [2].

Сутью существования биопленки является защита находящихся в ней микроорганизмов от неблагоприятных физических, химических и биологических факторов внешней среды, к коим относятся температурное воздействие, высушивание, ультрафиолетовое излучение, всевозможные химикаты, гуморальные и клеточные факторы защиты макроорганизмов [3]. Помимо абсолютного биологического синергизма, когда продукты жизнедеятельности одного вида служат питательной средой для другого, в биопленках наблюдается и четко выстроенное взаимодействие между микробами, принадлежащими к одному или разным видам, с помощью специальных сигнальных систем. Благодаря наличию ферментов внеклеточный матрикс может рассматриваться как внешняя пищеварительная система, в которой также обнаруживается аккумуляция воды и питательных веществ, что позволяет переживать микроорганизмам, находящимся в фазе низкой метаболической активности, «трудные времена» [2].

Считается, что единственным условием (помимо присутствия микроорганизмов) для образования биопленки является наличие относительно твердой и увлажненной поверхности неорганического или органического происхождения. В формировании биопленки выделяются несколько фаз [4, 5]:

адгезия – микробы «прилипают» к поверхности с помощью факторов адгезии, таких как реснички или пили;

колонизация – межклеточная адгезия и формирование микроколоний как отправная точка формирования сложной структуры биопленки; в эту



Жизненный цикл биопленки.

1 – адгезия бактерий к поверхности; 2 – формирование микроколоний; 3 – начало продукции внеклеточных полисахаридов; 4 – созревание биопленки; 5 – выделение планктонных бактерий с поверхности зрелой биопленки.

фазу происходит транскрипция генов, необходимых для продукции внеклеточных полисахаридов;

созревание – процесс, требующий наличия особых коммуникативных сигналов, способных регулировать внутри биопленки экспрессию генов и белков, а также распределение видов. Из зрелой биопленки происходит выделение или дисперсия планктонных микроорганизмов в окружающую среду (рисунок).

Таким образом, биопленка является сложной трехмерной биологической структурой высшей организации жизнедеятельности микробов, в чем-то напоминающей многоклеточный организм, обладающий очень важной особенностью – успешно противостоять внешним факторам агрессии. Большинство находящихся в биопленке бактерий находится преимущественно в неактивной фазе жизненного цикла. Тем не менее, с поверхностных слоев биопленки происходит постоянная дисперсия свободных планктонных форм микроорганизмов, отправляющихся в «свободное путешествие» для освоения новых территорий, пригодных для колонизации.

Клиническое значение биопленок

На сегодняшний день уже достоверно установлена роль биопленок как минимум в 60% случаев всех хронических и/или рецидивирующих инфекций [4]. Тем не менее, относительно недавно интерес к биопленкам ограничивался лишь областью стоматологических проблем (зубной налет как причина кариеса и периодонтита) и аспектов, связанных с их образованием на поверхностях оборудования и предметах медицинского назначения, особенно для инвазивных процедур (эндоскопы, аппараты искусственной вентиляции легких, сосудистые, диализные и мочевые катетеры и т.п.), и на имплантируемых устройствах (ортопедические и

сосудистые протезы, стенты, шовный материал и т.п.) [6].

Необходимо оговориться, что предметом настоящего обсуждения и интереса являются биопленки, образование которых имеет клиническое выражение, например в виде *инфекций области хирургического вмешательства* (ИОХВ), *катетер-ассоциированной инфекции кровотока* (КАИК), инфекционного процесса на слизистых или серозных поверхностях внутренних органов и полостей и т.п. Проблема профилактики и терапии при таких биопленках не может решаться использованием высокоэффективных дезинфектантов, простым повышением концентраций антисептиков или увеличением времени их экспозиции.

В настоящее время в зону интереса попали и другие виды биопленок, образованные при типичных инфекционных процессах на биологических поверхностях, таких как слизистые оболочки или эпителиальные выстилки внутренних полостей (отит, перитонит, плеврит), а также поверхностные или глубокие ткани организма (например нагноившаяся рана) [7, 8]. С клиническими проявлениями последних из перечисленных случаев традиционно встречаются хирурги, которые эмпирически прекрасно осведомлены о трудностях лечения инфицированной раны, гнойного перитонита или плеврита, когда различные методы механического очищения инфицированной поверхности играют, пожалуй, основную роль в успехе лечения. Этот пример также наглядно иллюстрирует значение типа субстратов макроорганизма (фибрин и другие белки свертывающей системы крови, секрет желез слизистых, некротизированные ткани и т.д.) и степень его вовлечения в формирование биопленки для адекватного выбора способа разрушения последней.

Инфекционно-воспалительные заболевания верхних дыхательных путей и ЛОР-органов являются одними из самых распространенных заболеваний человека. Несмотря на свою острейшую актуальность и пристальное внимание не только со стороны профильных врачей, но и других специалистов, включая клинических эпидемиологов, микробиологов и фармакологов, некоторые проблемы терапии остаются неразрешенными. Речь идет о хронических и рецидивирующих формах отита, риносинусита и тонзиллита, а также о таких состояниях, как экссудативный отит, холестеатома или муковисцидоз [7, 9, 10].

Благодаря применению высокоточных методов молекулярной диагностики вкупе с современными возможностями визуализации микрообъектов, лишь в последнее десятилетие удалось установить,

что культурально-негативный экссудативный отит с отореей является на самом деле активным инфекционным процессом, сопряженным с образованием биопленок на слизистой барабанной полости. Причем биопленки определяются на барабанной перепонке даже во время клинической ремиссии заболевания у пациентов с персистирующей отореей. Аналогичная картина наблюдается и при хроническом отите, когда возбудитель заболевания может быть выделен из экссудата традиционными методами не более чем в 30% случаев [11–14].

Хронический риносинусит, по современным представлениям, также является заболеванием, ассоциированным с биопленками [15]. Последние довольно часто обнаруживаются в тканях параназальных пазух (по некоторым наблюдениям – до 72% случаев), в отличие от отсутствия биопленок у пациентов контрольной группы без клинических проявлений заболевания. С наибольшей частотой из биопленок при хроническом риносинусите исследователи выделяли золотистый стафилококк (50%), гемофильную палочку (28%), синегнойную палочку (22%) и грибы (22%) [16].

Исследование удаленной аденоидной ткани детей, страдающих риносинуситом и/или хроническим отитом, выявило биопленки в 94,9% образцов в сравнении с 1,9% случаев при аденоидэктомии, обусловленной обструктивным апноэ, что свидетельствует в пользу выраженной корреляции между биопленками и инфекционно-воспалительным процессом [17]. Другими же авторами биопленки обнаружены в 85% образцов миндалин, удаленных по поводу хронической инфекции, в 47% – миндалин, удаленных по причине обструкции, и в 5% – при удалении по обоим показаниям. Общая частота обнаружения биопленок составила в данном наблюдении 67% [18]. Установлено, что биопленки в криптах миндалин способны создавать как грамположительные, так и грамотрицательные бактерии, а среди последних особенно часто – *Haemophilus influenzae* [19].

Закономерным явлением представляется наблюдение, что основной возбудитель заболевания, ассоциированного с образованием биопленок, как правило является и продуцентом собственно биопленок. Так, для кариеса и периодонтита биопленкообразующими возбудителями будут грамположительные кокки и грамотрицательные анаэробы соответственно. Для среднего отита таким возбудителем является гемофильная палочка. При инфекциях билиарного тракта и простатите биопленки образуют энтеробактерии, преимущественно – *Escherichia coli*. Биопленки при некротизирующем фасциите, инфекциях опорно-двигательного

Контаминируемые поверхности и биофильмообразующие патогены

Контаминируемые поверхности	Микроорганизмы
Контактные линзы	Грамположительные кокки, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Оборудование для перитонеального диализа	Смешанная бактериальная и грибковая флора
Мочевые катетеры	<i>E. coli</i> и другие энтеробактерии
Эндотрахеальные устройства	Смешанная бактериальная и грибковая флора
Венозные катетеры	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Искусственные сердечные клапаны	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i>
Сосудистые импланты	Грамположительные кокки
Ортопедические импланты	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i>
Другие протезы	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i>

аппарата ассоциированы со стрептококком группы А и другими грамположительными кокками. Возбудители инфекций, связанных с контаминацией имплантируемых устройств и предметов для инвазивного использования, также не уникальны и представляют в своем большинстве обитателей соответствующих экологических локусов или возбудителей типичных для данной области инфекций (таблица) [4].

Подходы к профилактике образования или разрушению биопленок

Рассматривая тему колонизации твердых поверхностей, можно отметить, что материал, из которого изготовлена колонизируемая поверхность, а точнее – его физико-химические свойства (гидрофильность, электрический заряд, инертность, гладкость), играют важную роль в собственно возможности и скорости образования биопленок. Немаловажную лепту в этот процесс вносят, конечно же, и характеристики микроорганизмов. Здесь можно выделить два способа борьбы с подобным явлением.

Первый из них касается использования материалов, способных длительное время самостоятельно противостоять колонизации. Так, установлено, что полиуретан, тефлон и силикон являются более «благонадежными» материалами, с точки зрения скорости контаминации, для изготовления сосудистых катетеров, нежели полиэтилен [20]. Аналогично, синтетический монофиламентный шовный материал также имеет преимущества по сравнению с плетеной хирургической нитью натурального происхождения. Разновидностью данного подхода является и разработка специальных покрытий или импрегнация материала биоцидом (собирательное понятие, включающее антибиотики, антисептики, дезинфектанты), препятствующим колонизации. Попытки повышения антиинфекционной безопас-

ности таким путем предпринимаются уже несколько десятилетий, однако наиболее ярким и успешным примером является покрытие/импрегнация хирургического шовного материала триклозаном, результатом чего является доказанное в клинических исследованиях эффективное предупреждение развития ИОХВ [21].

Следующим подходом к предупреждению образования биопленок является использование различных биоцидов в чистом виде для ухода за имплантируемыми устройствами, которые в силу технологий использования неотвратимо подвергнутся колонизации. Примерами подобных устройств являются сосудистые и мочевые катетеры, некоторые виды шунтов и стентов, имплантируемые порты для гемодиализа и т.д. По ряду объективных причин, лучший метод лечения – извлечение устройства не всегда приемлем, поэтому здесь также имеется большое количество предложений, касающихся использования различных препаратов для профилактики образования или борьбы с биопленками. Следует отметить, что идеальными агентами для использования в таких целях являются именно антисептики, обладающие в данном аспекте несомненными преимуществами перед антибиотиками. К таким преимуществам относятся, прежде всего, неспецифический механизм действия (и связанное с этим отсутствие риска развития истинной устойчивости возбудителей), а также прогнозируемая фармакокинетика при местном применении. Хорошим примером доказательной базы профилактики или терапии КАИК обладает тауролидин, используемый в форме раствора для закрытия сосудистых катетеров [22]. В то же время, обычный гепарин, обладающий свойствами «растворения» субстрата – образовавшейся биопленки в сосудистом устройстве, также рекомендуется рядом локальных руководств по уходу за катетерами [23].

Во многом более сложными и комплексными представляются подходы к профилактике образования или разрушения биопленок на поверхностях слизистых оболочек и эпителиальных выстилках полостей. Следствием защищенности микроорганизмов, находящихся в биопленке, является их недоступность для клеточных (агрегация микробов делает структуру более объемной и недоступной для фагоцитоза) и гуморальных (ключевые антигены «закрыты» для антител внеклеточным матриксом) факторов защиты макроорганизма, а также их фенотипическая устойчивость к *антимикробным препаратам* (АМП), что и составляет основу проблем терапии хронических и рецидивирующих инфекций [4, 24].

Установлено, что чувствительность сессильной формы возбудителей к антибиотикам значительно меньше таковой у планктонной формы, что связано как с наличием матрикса, через который АМП должны еще пенетрировать, так и с тем, что большинство микроорганизмов биопленки находятся в неактивной фазе жизненного цикла, в то время как антибиотики в большинстве своем нацелены на метаболически активные клетки [24–26]. Именно поэтому парадоксом является практика определения чувствительности к антибиотикам именно планктонных микроорганизмов, в то время как выявленные минимальные подавляющие концентрации и установленные на их основе дозы препаратов могут быть совершенно неадекватными для борьбы с возбудителями, находящимися в биопленке [27].

Тем не менее, некоторые АМП для местного применения характеризуются хорошей пенетрацией в биопленки и высокой клинической эффективностью в терапии хронических и рецидивирующих инфекций. Так, ирригация полости носа мупироцином при хроническом риносинусите, вызванном *метициллинорезистентным стафилококком* (MRSA), вела к элиминации биопленок у 41 из 42 (97,6%) пациентов, включенных в исследование [28]. Среди препаратов для системного использования наилучшей пенетрацией в биопленки, в целом, обладают фторхинолоны и фосфомицин [29, 30].

Способом улучшения пенетрации в биопленку может являться и совершенствование форм доставки АМП [31]. Известно, что липосомальный комплекс амфотерицина В обладает выраженной активностью по отношению к резистентным биопленкам, продуцируемым *Candida spp.*, что позволяет использовать его при инвазивных системных микозах [32].

Еще одним направлением борьбы с биопленками на биотических поверхностях может являться

использование веществ, способных препятствовать адгезии возбудителей, влиять на образование или разрушать уже имеющиеся структуры, оказывая действие через активность, направленное на дезорганизацию внеклеточного матрикса. Как оказалось, в данном аспекте могут быть использованы давно известные и хорошо себя зарекомендовавшие препараты, применение которых было ограничено совершенно другими показаниями.

Так, N-ацетилцистеин, являясь предшественником L-цистеина и глутатиона, обладает выраженными муколитическими свойствами, что является показанием для широкого его использования при заболеваниях дыхательных путей. Разжижение вязкого слизистого секрета в дыхательных путях способствует его скорейшему выведению, что и является основным механизмом влияния на патогенез заболевания [33]. Как было установлено в последнее время в экспериментальных и клинических исследованиях, препарат обладает способностью уменьшать адгезию некоторых возбудителей к слизистым оболочкам дыхательных путей, а также оказывает прямое разрушающее воздействие на внеклеточный матрикс, что позволяет рассматривать N-ацетилцистеин в качестве перспективного неантибактериального компонента терапии инфекций, связанных с образованием биопленок [4, 34, 35].

Действие препарата на биопленки разнонаправленно. Известно, что N-ацетилцистеин разрушает структуру внеклеточного матрикса, образованного *P. aeruginosa* и ингибирует продукцию слизи *S. epidermidis* [25, 36, 37]. В одном из исследований установлено, что хотя N-ацетилцистеин в используемых концентрациях (8 мг/мл) не влияет на рост *S. aureus*, тем не менее, наблюдается снижение продукции слизи возбудителем и значительная (от 56,3 до 68,2%) элиминация биопленок, образованных тестируемыми штаммами [34]. Помимо этого, N-ацетилцистеин способен отрицательно влиять на жизнеспособность бактерий в сессильной фазе, критически снижая (от 63% в начальной фазе созревания до 52% в зрелой структуре) количество колониеобразующих единиц (КОЕ) в биопленке. Как установлено в следующем исследовании, значительное уменьшение биопленок (в среднем на 52,4%), продуцируемых золотистым стафилококком, происходит за счет снижения объема мукополисахаридной составляющей внеклеточного матрикса [4].

Целью одного из исследований являлась оценка клинической эффективности комбинации тиамфеникола (АМП группы амфениколов с широким спектром активности, включающим аэробные грам-

положительные и грамотрицательные возбудители, а также некоторые анаэробы) с N-ацетилцистеином для терапии пациентов с хроническим риносинуситом. В первый день пациенты получали комбинированный препарат парентерально (внутримышечно), затем в виде аэрозоля в течение еще 9 дней. К окончанию терапии клиническое и бактериологическое выздоровление (эрадикация биопленок была подтверждена культуральным методом и сканирующей электронной микроскопией) составило 88% (21/24) [35].

Результатами одного пилотного сравнительного клинического исследования N-ацетилцистеина в педиатрической практике являются выводы о том, что использование препарата у пациентов с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей ведет к снижению частоты обострений заболевания [4].

Конечно, результаты приведенных экспериментальных и небольших клинических исследований эффективности N-ацетилцистеина для борьбы с биопленками, образование которых имеет место при хронических и рецидивирующих инфекциях дыхательных путей, представляются весьма обнадеживающими и перспективными. Тем не менее, ясна и совершенная необходимость проведения крупномасштабных сравнительных рандомизированных клинических исследований, в которых будут получены подтверждения цитируемых данных.

Заключение

Обсуждаемые нами сведения лишь отчасти иллюстрируют широту проблемы инфекций, ассоциированных с образованием биопленок. Многообразие локализации и форм хронических и рецидивирующих инфекционных процессов свидетельствует в пользу отсутствия единого подхода к профилактике образования или элиминации биопленок.

Литература

1. Donlan R.M., Costerton J.W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganism. Clin Microbiol Rev 2002; 15:167-93.
2. Flemming H.C., Wingender J. The biofilm matrix. Nat Rev Microbiol 2010; 8:623-33.
3. Vu B., Chen M., Crawford R.J., et al. Bacterial extracellular polysaccharides involved in biofilm formation. Molecules 2009; 14:2535-54.
4. Pintucci J.P., Corno S., Garotta M. Biofilms and infections of the upper respiratory tract. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2010; 14:683-90.
5. Biofilm life cycle. Montana State University Center for

Для одних клинических ситуаций наилучшим методом профилактики является импрегнация потенциально контаминируемой поверхности биоцидами или периодический уход, в других случаях только механическая очистка, в том числе и биологических поверхностей, может являться гарантом успеха терапии инфекции.

В любом случае, уже сейчас понятно, что традиционная антибактериальная терапия не всегда в состоянии решить ряд серьезных проблем, связанных с инфекциями, особенно на фоне глобального роста резистентности возбудителей. Именно поэтому активный поиск лекарственных средств, имеющих потенциал воздействия на биопленки, продолжается во всем мире. Причем скорее правилом, а не исключением является изучение новых свойств и предложение к использованию давно известных препаратов (антикоагулянтов, сурфактантов, муколитиков и др.), применение которых ранее было ограничено другими показаниями. Такова история и N-ацетилцистеина, совокупность свойств которого, включая способность снижать адгезию и ингибировать слизееобразование возбудителями, а также разрушать биопленки, делают препарат перспективным компонентом терапии проблемных инфекций.

Тем не менее, не стоит недооценивать значение традиционной системной антибактериальной терапии для элиминации биопленок. Использование препарата неантибактериального происхождения здесь носит лишь вспомогательный характер, характеризующийся, однако, помимо описанных выше положительных моментов, еще и отсутствием риска развития резистентности патогенов к нему. В этом свете хотелось бы особо отметить, что возможные неудачи терапии инфекций не обязательно обусловлены образованием биопленок, а скорее неадекватно выбранным АМП или режимом его применения.

6. Biofilm Engineering. Available at URL: <http://www.biofilm.montana.edu>
7. Aslam S., Darouiche R.O. Role of antibiofilm-antimicrobial agents in controlling device-related infections. Int J Artif Organs 2010; 34:752-8.
8. Post J.C., Hiller N.L., Nistico L., et al. The role of biofilms in otolaryngologic infections: update 2007. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg 2007; 15:347-51.
9. Werthen M., Henriksson L., Jensen P.O., et al. An *in vitro* model of bacterial infections in wounds and other tissues. APMIS 2010; 118:156-64.
10. Davies J.C., Bilton D. Bugs, biofilms, and resistance in cystic fibrosis. Respir Care 2009; 54:628-40.

10. Hall-Stoodley L., Stoodley P. Evolving concepts in biofilm infections. *Cell Microbiol* 2009; 11:1034-43.
11. Palmer R.J., Stoodley P. Biofilms 2007: broadened horizons and new emphases. *J Bacteriol* 2007; 189:7948-60.
12. Rayner M.G., Zhang Y., Gorry M.C., et al. Evidence of bacterial metabolic activity in culture-negative otitis media with effusion. *JAMA* 1998; 279:296-9.
13. Post J.C. Direct evidence of bacterial biofilms in otitis media. *Laryngoscope* 2001; 111:2083-94.
14. Hall-Stoodley L., Hu F.Z., Gieseke A., et al. Direct detection of bacterial biofilms on the middle-ear mucosa of children with chronic otitis media. *JAMA* 2006; 296:202-11.
15. Cohen M., Kofonow J., Nayak J.V., et al. Biofilm in chronic rhinosinusitis: a review. *Am J Rhinol Allergy* 2009; 23:255-60.
16. Foreman A., Psaltis A.J., Tan L.W., et al. Characterization of bacterial and fungal biofilms in chronic rhinosinusitis. *Am J Rhinol Allergy* 2009; 23:556-61.
17. Kilty S.J., Desrosiers M.Y. The role of bacterial biofilms and the pathophysiology of chronic rhinosinusitis. *Curr Allergy Asthma Rep* 2008; 8:227-33.
18. Al-Mazrou K.A., Al-Khattaf A.S. Adherent biofilms in adenotonsillar diseases in children. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2008; 134:20-3.
19. Galli J., Calo L., Ardito F., et al. Biofilm formation by *Haemophilus influenzae* isolates from adenotonsil tissue samples, and its role in recurrent adenotonsillitis. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2007; 27:134-8.
20. O'Grady N., Alexander M., Dellenger E., et al. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. *Clin Infect Dis* 2002; 35:1281-1307.
21. Голуб А.В. Новые возможности профилактики инфекций области хирургического вмешательства. *Клин Микробиол Антимикроб Химиотер* 2011; 13:56-66.
22. Козлов Р.С., Голуб А.В. Катетер-ассоциированные инфекции кровотока: предупредить или лечить? *Клин Микробиол Антимикроб Химиотер* 2010; 12:23-30.
23. Elliot T.S.J., Curran A. Effects of heparin and chlorbutol on bacterial colonization of intravascular cannulae in an *in vitro* model. *J Hosp Infect* 1989; 14:193-200.
24. Smith A., Buchinsky F.J., Post J.C. Eradicating chronic ear, nose and throat infections: a systematically conducted literature review of advances in biofilm treatment. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2011; 144:338-47.
25. Gordon C.A., Hodges N., Marriott C. Use of slime dispersants to promote antibiotic penetration through the extracellular polysaccharide of mucoid *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35:1258-60.
26. Desrosiers M., Bendauah Z., Barbeau J. Effectiveness of topical antibiotics on *Staphylococcus aureus* biofilm *in vitro*. *Am J Rhinol* 2007; 21:149-53.
27. Keays T., Ferris W., Vandemheen K.L., et al. A retrospective analysis of biofilm antibiotic susceptibility testing: a better predictor of clinical response in cystic fibrosis exacerbations. *J Cyst Fibros* 2009; 8:122-7.
28. Solares C.A., Barta P.S., Hall G.S., et al. Treatment of chronic rhinosinusitis exacerbations due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with mupirocin irrigation. *Am J Otolaryngol* 2006; 27:161-5.
29. Rodríguez-Martínezemail J.M., Ballesta S., Pascual A. Activity and penetration of fosfomicin, ciprofloxacin, amoxicillin/clavulanic acid and co-trimoxazole in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Int J Antimicrob Agents* 2007; 30:366-8.
30. Singh R., Ray P., Das A., Sharma M. Penetration of antibiotics through *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65:1955-8.
31. Smith A.W. Biofilms and antibiotic therapy: is there a role for combating bacterial resistance by the use of novel drug delivery systems? *Adv Drug Deliv Rev* 2005; 29:1539-50.
32. Moen M.D., Lyseng-Williamson K.A., Scott L.J. Liposomal amphotericin B: a review of its use as empirical therapy in febrile neutropenia and in the treatment of invasive fungal infections. *Drugs* 2009; 69:361-92.
33. Grassi C., De Benedetto F., Macchi A. Recent clinical evidence on the efficacy and safety of thiamphenicol glycinate acetylcysteinate and thiamphenicol glycinate. *Proceedings of the 3rd International Symposium Nosocomial Infections Today*; 2001 November 5–8; Venice, Itali.
34. Riise G.C., Qvarfordt I., Larsson S., et al. Inhibitory effect of N-acetylcysteine on adherence of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* to human oropharyngeal epithelial cells *in vitro*. *Respiration* 2000; 67:552-8.
35. Macchi A., Ardito F., Marchese A., et al. Efficacy of N-acetylcysteine in combination with thiamphenicol in sequential (intramuscular/aerosol) therapy of upper respiratory tract infections even if sustained by bacterial biofilms. *J Chemother* 2006; 18:507-13.
36. Zhao T., Liu Y. N-acetylcysteine inhibit biofilm produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Microbiol* 2010; 10:140.
37. Perez-Giraldo C., Rodriguez-Benito A., Moran F.J., et al. Influence of N-acetylcysteine on formation of biofilm by *Staphylococcus epidermidis*. *J Ant Chem* 1997; 39:643-6.