



Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии
Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России

Учредитель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Издатель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии
www.iaacmac.ru

Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати 30.09.1999 г. (№019273) Тираж 3000 экз.

Подписка на сайте издателя
<https://service.iaacmac.ru>

Адрес для корреспонденции
214019, г. Смоленск, а/я 5.
Тел./факс: (4812)45 06 02

Электронная почта:
info@cmac-journal.ru

Электронная версия журнала:
<https://cmac-journal.ru>

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук

Присланные в редакцию статьи проходят рецензирование. Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов публикуемых материалов

Ответственность за достоверность рекламных публикаций несут рекламодатели. При перепечатке ссылка на журнал обязательна

Журнал является научным изданием для врачей, в связи с чем на него не распространяются требования Федерального закона от 29.12.2010 436-ФЗ «О защите детей от информации, причиняющей вред их здоровью и развитию»

Иллюстрация для обложки предоставлена: Ольга Николаевна Пинегина (ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России)

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2024.

Содержание

Болезни и возбудители

- 4 Фёдорова А.В., Хрульнова С.А., Ветохина А.В., Молчанова И.В., Куцевалова О.Ю., Клясова Г.А.
Гены вирулентности у *Enterococcus faecium* и *Enterococcus faecalis*, выделенных из гемокультуры больных с гематологическими заболеваниями
- 14 Умпелева Т.В., Скорняков С.Н., Вахрушева Д.В.
Биопленки при микобактериальной инфекции
- 21 Исаева Г.Ш., Чумарев Н.С.
Микробиота верхних дыхательных путей при COVID-19

Антимикробные препараты

- 31 Карпова Е.В., Колчанова Н.Э., Петровская Т.А., Тапальский Д.В.
Микробиологическая активность тиамфеникола и тиамфеникола глицината ацетилцистеината в отношении клинически значимых микроорганизмов и образуемых ими биопленок
- 40 Андреева И.В., Стецюк О.У., Козлов Р.С.
Цефтаролина фосамил – цефалоспорин V поколения с анти-MRSA активностью в лечении тяжелых инфекций в педиатрической практике

Антибиотикорезистентность

- 59 Чеботарь И.В., Кулешов К.В.
Между антибиотикорезистентностью и вирулентностью: диалектика бактериального фитнеса
- 67 Эйдельштейн М.В., Шайдуллина Э.Р., Иванчик Н.В., Дехнич А.В., Микотина А.В., Склеенова Е.Ю., Сухорукова М.В., Азизов И.С., Шек Е.А., Романов А.В., Трушин И.С., Кузьменков А.Ю., Козлов Р.С.
Антибиотикорезистентность клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования
- 79 Вербенко Д.А., Соломка В.С., Дерябин Д.Г., Левичева Ю.Ю., Карамова А.Э., Кубанов А.А.
Определение генетических детерминант устойчивости штаммов *Mycobacterium leprae* к антимикробным препаратам методом минисеквенирования

Опыт работы

- 87 Бонцевич Р.А., Тихойванова А.А., Анненков Н.В., Батищева Г.А., Невзорова В.А., Мартыненко И.М., Биккинина Г.М., Кетова Г.Г., Богданова В.О., Лучинина Е.В.
Определение выбора режима антибактериальной терапии старших курсов медицинских вузов по антимикробной терапии (итоги проекта KANT-IV)
- 98 Лихачев И.В., Кафтырева Л.А., Самойлова А.А., Краева Л.А., Михайлов Н.В.
Разработка E-тестов для выявления потенцирующего эффекта антимикробных соединений в отношении полирезистентных штаммов *Klebsiella pneumoniae*

Описание клинических случаев

- 104 Рачина С.А., Федина Л.В., Алхлавов А.А., Гасанова Д.Р., Зайналабидова Х.Г., Коваль А.А., Бурмистрова Е.Н., Савочкина Ю.А., Сычев И.Н., Кулешов В.Г., Ларин Е.С.
Сложности выбора режима антибактериальной терапии нозокомиальной пневмонии в ОРИТ: клинические наблюдения
- 113 Довгань Е.В., Андреев В.А., Боровой В.Н., Кузьмина Е.В., Андреева И.В., Коваленко Т.Н., Овчинников Т.Г., Козырев О.А.
Риноцеребральный мукормикоз у пациентов с COVID-19: описание случаев и лечение в условиях областного стационара

Биопленки при микобактериальной инфекции

Умпелева Т.В., Скорняков С.Н., Вахрушева Д.В.

Уральский НИИ фтизиопульмонологии – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» Минздрава России, Екатеринбург, Россия

Контактный адрес:

Татьяна Валерьевна Умпелева
Эл. почта: tumpeleva@ya.ru

Ключевые слова: биопленка, микобактерии, лечение, антибиопленочные агенты.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Способность образовывать биопленки в полостях деструкции легочной ткани была описана для как возбудителя туберкулеза (*Mycobacterium tuberculosis*), так и для нетуберкулезных микобактерий, этот процесс ассоциирован с хроническим течением инфекции. Предполагается, что изменение биологии возбудителя внутри биопленки (формирование устойчивого к антибиотикам фенотипа) делает неэффективными стандартные режимы химиотерапии, которые учитывают чувствительность микобактерий, находящихся в «свободном состоянии». В данном обзоре рассмотрены современные представления о биологии микобактериальных биопленок и основные подходы по борьбе с ними. Имеющаяся информация позволяет предположить, что борьба с формированием микобактериальных биопленок представляет собой одну из потенциальных стратегий, направленную на повышение эффективности лечения туберкулеза и микобактериозов.

Review

Biofilms in mycobacterial infection

Umpeleva T.V., Skorniyakov S.N., Vakhrusheva D.V.

Ural Research Institute of Phthisiopulmonology, Yekaterinburg, Russia

Contacts:

Tatiana V. Umpeleva
E-mail: tumpeleva@ya.ru

Key words: biofilm, mycobacterium, treatment, antibiofilm agents.

Conflicts of interest: all authors report no conflicts of interest relevant to this article.

The ability to form biofilms in lung tissue destruction cavities has been described for both the causative agent of tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*) and for non-tuberculous mycobacteria. This process is associated with the chronic infection. It is assumed that a change in the biology of the pathogen inside the biofilm (formation of an antibiotic-resistant phenotype) makes ineffective standard chemotherapy regimens, which based on the susceptibility test data of mycobacteria in the “free state”. This review describes the biology of mycobacterial biofilms and the main approaches to combat them. Available information suggests that control of mycobacterial biofilm formation is one potential strategy to improve the effectiveness of treatment for tuberculosis and mycobacteriosis.

Введение

Одной из главных задач отечественной фтизиатрии является повышение эффективности лечения туберкулеза, основными критериями которого являются прекращение бактериовыделения и закрытие полостей деструкции легочной ткани. По данным статистики, в 2022 г. в России среди впервые выявленных пациентов 55,5% приходилось на случаи туберкулеза с деструкцией легочной ткани и бактериовыделением, подтвержденным методом микроскопии [1]. С точки зрения биологии возбудителя, прогрессирование течения туберкулеза до некроза или образования полостей деструкции представляет собой важный этап перехода от преимущественно

внутриклеточной инфекции к внеклеточно расположенным микобактериям, высвобождающимся из инфицированных макрофагов. Именно эти активно делящиеся микроорганизмы несут наибольшую ответственность за передачу туберкулеза и обеспечивают резервуар для отбора микобактерий, устойчивых к противотуберкулезным препаратам [2, 3]. Внеклеточно расположенные микобактерии в полостях деструкции легочной ткани могут формировать крупные микробные сообщества, морфологически напоминающие биопленки, образованные другими патогенными бактериями, вызывающими внеклеточную инфекцию [4–6].

Образование биопленок в легких также описано для нетуберкулезных микобактерий (НТМБ), что приводит к хроническому течению инфекции у больных с бронхоэктазами и другими хроническими заболеваниями легких. При этом данные о чувствительности микобактерий к антибиотикам не всегда коррелируют с клинической эффективностью проводимой антибиотикотерапии, что, возможно, обусловлено, в том числе, изменением биологии возбудителя внутри биопленки [7–8].

В данном обзоре рассматриваются особенности биологии микобактериальных биопленок и предлагаемые способы борьбы с ними.

Понятие биопленки как основной формы существования бактерий

Термин биопленка (biofilm) был предложен J. Costerton [9]. Согласно современным представлениям биопленка – структурно организованное сообщество микроорганизмов, окруженное внеклеточным матриксом, продуцируемым членами сообщества, и прикрепленное к поверхности. Биопленку могут образовывать разные микроорганизмы, включая бактерии, вирусы, грибы, простейшие, прикрепившиеся к различным поверхностям, включая неживые и живые объекты. Считается, что биопленки являются преобладающим образом жизни микроорганизмов как в окружающей среде, так и в условиях *in vivo* [10].

Формирование биопленки – генетически детерминированный процесс, который проходит несколько стадий: прикрепление клеток микроорганизмов к поверхности; образование микроколоний; образование эластичного внеклеточного матрикса; распад и высвобождение части микроорганизмов из биопленки [11]. Микроорганизмы, находящиеся в биопленке, обладают уникальными характеристиками, в отличие от своих планктонных (свободноживущих) форм, наиболее важная из которых – сверхрезистентность к изменениям окружающей среды. Внеклеточный матрикс, состоящий из полимерных молекул: ДНК, экзополисахаридов, белков, связывает отдельные клетки в единый «организм» и выступает в роли физического барьера, преграждающего путь питательным веществам, газам, а также антибиотикам, факторам иммунной системы хозяина, бактериофагам и другим неблагоприятным факторам. Благодаря наличию матрикса снижается чувствительность членов биопленки к антибиотикам, для гибели микроорганизмов требуются концентрации, во много раз превышающие минимальную подавляющую концентрацию для микроорганизмов, не объединенных в биопленки. При ограниченном поступлении питательных веществ микробные клетки замедляют или прекращают свой рост [10]. Находясь в биопленке, бактерии используют различные механизмы для общения друг с другом. Одним из хорошо известных механизмов межклеточной коммуникации является «чувство кворума» (quorum sensing), при котором бактерии выделяют, распознают химические сигналы и реагируют на них в зависимости от плотности их популяции [12].

Важной особенностью биопленок является то, что они содержат фенотипически гетерогенные клетки даже в генетически-клональной популяции. Такое фенотипическое разнообразие, предположительно, возникает из-за межклеточных различий в экспрессии генов в результате неоднородного микроокружения биопленок [13–15]. Хотя биопленка является местом, в котором резидентные бактерии защищены от агрессии, отдельные бактериальные клетки способны разрывать связи в биопленке и формировать планктонные формы, чтобы колонизировать новую среду. Этот генетически запрограммированный процесс наблюдается у самых разных видов и запускается в ответ на различные сигналы окружающей среды и биологические сигналы внутри биопленки [16].

Значение биопленок при инфекционных заболеваниях очень велико, предполагается, что около 65% всех бактериальных инфекций связано с биопленками. Многие хронические инфекции, а также инфекции, возникновение которых связано с использованием медицинского имплантируемого оборудования, обусловлены бактериями, растущими в виде биопленок [17].

Роль биопленки при микобактериальной инфекции

При респираторных инфекциях основными возбудителями, которые формируют биопленки, являются: *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus fumigatus*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* и *Staphylococcus aureus* [18].

Способность образовывать биопленки в легких человека также была описана для микобактерий (включая *M. tuberculosis* и НТМБ) [6, 19, 20]. Существует мнение, что эта способность не является механизмом вирулентности, а является основной формой микробной жизни [21]. Доказано, что для образования биопленки микобактериям требуются специфические условия окружающей среды (в частности, увеличение концентрации CO₂). Внеклеточный матрикс микобактериальных пленок богат свободными миколовыми кислотами [22] и ДНК разрушенных лейкоцитов человека [23]. При формировании биопленки изменяется углеводный состав клеточной стенки по сравнению с планктонным состоянием: целлюлоза, которая является основным компонентом полимерного матрикса, выявлена в биопленках как быстро-, так и медленно растущих видов микобактерий и может рассматриваться в качестве биомаркера микобактериальных биопленок [19, 24].

В ходе экспериментов *in vitro* было установлено, что биопленка *M. tuberculosis*, лекарственно чувствительного штамма содержит высокую долю клеток (~10%), которые устойчивы к концентрации изониазида, в 100 раз превышающей минимальную подавляющую концентрацию для этого штамма, однако эти клетки чувствительны к воздействию рифампицина, но после 7 дней инкубации биопленки в присутствии рифампицина все еще остаются единичные клетки, сохранившие жизнеспособность [25].

Важным является вопрос о возможной полимикробности биопленки и особенностях взаимоотношения микробактерий с разными микроорганизмами внутри биопленки, поскольку каждый вид и генотип может иметь различный диапазон чувствительности к антибиотикам, что в итоге окажет влияние на эффективность проводимой антибиотикотерапии.

Оценка эффективности противотуберкулезной терапии в зависимости от профиля респираторной микробиоты показала, что у пациентов с эффективным курсом и при хроническом течении/рецидивами он может значительно отличаться. Так, у пациентов с неэффективным курсом терапии значительно чаще выделялись *Pseudomonas* spp., по сравнению с впервые выявленными пациентами [26]. Как правило, выделенные микроорганизмы обладают устойчивостью к антибактериальным препаратам широкого спектра действия [27, 28]. В ходе экспериментов *in vitro* была продемонстрирована способность *Mycobacterium abscessus* и *P. aeruginosa* сосуществовать в полимикробных биопленках, где они могут устанавливать конкурентные отношения, при этом *P. aeruginosa* ограничивает рост *M. abscessus*, которые дислоцируются на дне биопленок, а антибиотикотерапия, направленная на *P. aeruginosa*, позволяет снизить это воздействие [29]. В биопленке, образованной *M. abscessus* и *P. aeruginosa* снижается эффективность кларитромицина в отношении *M. abscessus* [30]. Эта способность может иметь важное значение для развития инфекций, вызванных этими микроорганизмами, и для выбора наилучшего режима лечения для этих пациентов. В исследовании на культурах нейтрофилов было замечено, что размножение *P. aeruginosa* происходит быстрее, если клетки ранее были инфицированы *Mycobacterium avium* или *Mycobacterium intracellulare*. Авторы отмечают, что особенности взаимодействия этих видов могут объяснять наблюдения за больными с посттуберкулезными бронхоэктазами, от которых наиболее часто выделяется *P. aeruginosa* [31].

При посеве мокроты, полученной от больных туберкулезом, были выделены культуры *M. tuberculosis* и бактерий рода *Bacillus* и *Brevibacillus*, которые образуют в опытах *in vitro* микст-биопленки. Авторы предположили, что споры этих бацилл могут длительное время сохраняться в ткани легких без вегетации, а сигналом к размножению служит образование на поздних стадиях туберкулеза некротизированной ткани и возникновение аэробных условий. При этом, сосуществуя в биопленке с бациллами, микобактерии не имеют возможности активно размножаться по причине ее относительной токсичности, которая обеспечивается синтезом *Bacillus licheniformis* веществ с антимикобактериальной активностью [32, 33].

Возможные подходы к лечению биопленочных инфекций

Понимание важной роли биопленок в инфекционном процессе вызвало интерес к изучению меха-

низмов формирования биопленок как потенциальной мишени для новых методов лечения инфекционных заболеваний. Воздействие на биопленки может проводиться на каждом из этапов ее формирования: блокирование адгезии бактерий к поверхности, препятствие синтезу внеклеточного матрикса, его разрушение, нарушение обмена информацией между клетками [10]. Предполагается, что использование препаратов с антибиопленочным эффектом должно привести к сокращению сроков противотуберкулезной терапии [35].

Одним из возможных подходов является использование молекул с антибиопленочным эффектом (обычно с активностью против внеклеточного матрикса). В исследованиях *in vitro* с использованием быстрорастущих и медленно растущих НТМБ муколитические препараты N-ацетилцистеин и Твин-80 продемонстрировали синергетический эффект с антибиотиками. При этом авторы подчеркивают важность изучения эффективности различных комбинаций антибиотиков в отношении биопленочных форм микобактерий, поскольку она может отличаться от эффективности воздействия на планктонные формы микобактерий [36, 37].

Использование ферментов, разрушающих каркас внеклеточного матрикса, является еще одним из возможных подходов. Так, было доказано, что ДНКаза – фермент, разрушающий молекулы ДНК, нарушает процесс формирования и способствует разрушению уже существующей биопленки [38, 39]. В опытах *in vitro* обработка ДНКазой значительно повышала бактерицидную активность моксифлоксацина и кларитромицина в отношении биопленок *M. avium* [40]. Использование ДНКазы было рекомендовано в протоколе ведения пациентов с эмпиемой плевры [41].

Целлюлоза, выявленная в составе внеклеточного матрикса микобактериальных биопленок, может быть мишенью для фермента целлюлазы. В ходе эксперимента было доказано, что сочетание целлюлазы с рифампицином и изониазидом может усилить противотуберкулезный эффект за счет разрушения биопленок микобактерий туберкулеза [19].

Использование наночастиц на основе поли-молочной и гликолиевой кислот (PLGA), наполненных целлюлазой и левофлоксацином, в сочетании с ультразвуком показало высокую эффективность в разрушении биопленок *Mycobacterium bovis* (BCG) в экспериментах *in vitro* и *in vivo* [42].

Исследования *in vitro* противовоспалительных препаратов (ацетилсалициловая кислота, парацетамол, ибупрофен и диаллилдисульфид (сероорганическое соединение, полученное из чеснока)) показали синергический эффект с определенными комбинациями антибиотиков (кларитромицин/амикацин и кларитромицин/моксифлоксацин) в подавлении роста медленно растущих НТМБ, сформировавших биопленку [36]. В продолжении исследования авторы доказали синергическую активность в отношении клинических изолятов *M. avium* и *M. intracellulare* нескольких комбинаций из трех антибиотиков (кларитромицин, этамбутол, моксифлоксацин,

рифабутин/рифампицин, бедаквилин и клофазимин) и веществ с антибиопленочным эффектом (ацетилсалициловая кислота, диаллилдисульфид, ибупрофен и N-ацетил-L-цистеин) [8].

Использование противовоспалительных препаратов в качестве адьювантной терапии при туберкулезе обсуждается, главным образом, в контексте их воздействия на организм человека (снижение воспаления в очаге инфекции, способствующее достижению лучшего баланса между антимикробным действием и повреждением тканей, вызванных иммунным ответом) [43, 44]. Так, на мышинной модели было доказано, что у животных, получавших ибупрофен, наблюдалось уменьшение размера и количества поражений легких, снижение бактериальной нагрузки и улучшение выживаемости, по сравнению с животными, не получавшими препарат [45]. Антибиопленочное действие этих соединений, по-видимому, является еще одним механизмом, который может способствовать повышению эффективности лечения туберкулеза.

В опытах *in vitro* отмечена способность соединений на основе 2-аминоимидазола диспергировать биопленки *Mycobacterium smegmatis* и восстанавливать чувствительность *M. tuberculosis*, проявляющих фенотипическую устойчивость к изониазиду [46]. На данный момент известно несколько основных механизмов действия на биопленки, связанных с соединениями 2-аминоимидазола: нарушение работы сигнальных систем биопленки и влияние на биоэнергетику мембран и движущую силу протонов [47, 48].

Еще один подход заключается в использовании некоторых микроорганизмов, например *Methylobacterium* spp., которые *in vitro* обладали способностью ингибировать образование биопленок быстрорастущих НТМБ, при этом эффект наблюдался не только с живыми клетками *Methylobacterium* spp., но и с убитыми [49].

Изучение влияния эфирного масла и наноземлюльсий *Symbopogon flexuosus* на продукцию биопленок *Mycobacterium fortuitum* и *M. abscessus* показало, что оба препарата смогли предотвратить образование био-

пленок, продемонстрировав высокий терапевтический потенциал [50].

Несмотря на то, что уже получены многообещающие данные по использованию антибиопленочных соединений для лечения микобактериальных инфекций, необходимы дополнительные исследования, особенно исследования *in vivo*, которые позволят оценить целесообразность клинического использования этих подходов.

Заключение

Длительные сроки терапии микобактериальных инфекций определяются особенностями биологии возбудителей туберкулеза/микобактериозов, которые имеют склонность к персистенции в стрессовых условиях, например, при длительном лечении антибиотиками. Считается, что это является результатом действия нескольких факторов, в том числе способности длительное время находиться внутри макрофагов хозяина, подавляя их фагоцитарную активность, и способности образовывать многоклеточные сообщества в полостях деструкции лёгочной ткани, известные как биопленки. Многие исследования показали, что биопленки играют ключевую роль в персистенции бактерий и бактериальных инфекциях, толерантных к лекарствам, и считается, что микобактерии используют образование биопленок в качестве защитной стратегии для уклонения от иммунных реакций хозяина и лекарственной терапии. Таким образом, борьба с формированием бактериальных биопленок представляет собой одну из потенциальных стратегий, направленную на повышение эффективности лечения туберкулеза. Имеющаяся информация предполагает необходимость проведения клинических исследований и клинических анализов, включающих оценку эффективности использования антибиопленочных агентов вместе с лечением антибиотиками. Тот факт, что большинство антибиопленочных агентов представляют собой природные соединения или лекарства, разрешенные к использованию, такие как ацетилсалициловая кислота или ибупрофен, вероятно, облегчит их использование в таких исследованиях.

Литература

1. Vasilyeva I.A., Sterlikov S.A., Testov V.V., Mikhailova Yu.V., Obukhova O.V. Ponomarev S.B. Industry and economic indicators of antituberculosis work in 2021-2022. Statistical materials. 2023. p. 59. Russian. (Васильева И.А., Стерликов С.А., Тестов В.В., Михайлова Ю.В., Обухова О.В. Пономарев С.Б. Отраслевые и экономические показатели противотуберкулезной работы в 2021-2022 гг. Статистические материалы. 2023. с. 59.)
2. Grosset J. *Mycobacterium tuberculosis* in the extracellular compartment: an underestimated adversary. Antimicrob Agents Chemother. 2003;47(3):833-836. DOI: 10.1128/AAC.47.3.833-836.2003
3. Urbanowski M.E., Ordonez A.A., Ruiz-Bedoya C.A., Jain S.K., Bishai W.R. Cavitory tuberculosis: the gateway of disease transmission. Lancet Infect Dis. 2020;20(6):e117-128. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30148-1
4. Hoff D.R., Ryan G.J., Driver E.R., Ssemakulu C.C., de Groote M.A., Basaraba R.J., et al. Location of intra- and extracellular *M. tuberculosis* populations in lungs of mice and guinea pigs during disease progression and after drug

- treatment. *PLoS One*. 2011;6(3). DOI: 10.1371/journal.pone.0017550
5. Lenaerts A., Barry C.E., Dartois V. Heterogeneity in tuberculosis pathology, microenvironments and therapeutic responses. *Immunol Rev*. 2015;264(1):288-307. DOI: 10.1111/imr.12252
 6. Basaraba R.J., Ojha A.K. Mycobacterial biofilms: revisiting tuberculosis bacilli in extracellular necrotizing lesions. *Tuberc Tuberc Bacillus Second Ed*. 2017;533-539. DOI: 10.1128/9781555819569.ch24
 7. Hawas S., Verderosa A.D., Totsika M. Combination therapies for biofilm inhibition and eradication: a comparative review of laboratory and preclinical studies. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022;12:1-19. DOI: 10.3389/fcimb.2022.850030
 8. Batista S., Fernandez-Pittol M., Nicolás L.S., Martínez D., Rubio M., Garrigo M., et al. *In vitro* effect of three-antibiotic combinations plus potential antibiofilm agents against biofilm-producing *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare* clinical isolates. *Antibiotics*. 2023;12(9):1-15. DOI: 10.3390/antibiotics12091409
 9. Costerton J.W., Cheng K.J., Geesey G.G., Ladd T.I., Nickel J.C., Dasgupta M., et al. Bacterial biofilms in nature and disease. *Annu Rev Microbiol*. 1987;41:435-464. DOI: 10.1146/annurev.mi.41.100187.002251
 10. Ilyina T.S., Romanova Yu.M. Bacterial biofilms: their role in chronic infection processes and the means to combat them. *Molecular genetics, microbiology and virology*. 2021;39(2):14-24. Russian. (Ильина Т.С., Романова Ю.М. Бактериальные биопленки: роль в хронических инфекционных процессах и поиск средств борьбы с ними. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2021;39:14-24.) DOI: 10.17116/molgen20213902114
 11. Nikolaev Y.A., Plakunov V.K. Biofilm-«city of microbes» or an analogue of multicellular organisms? *Microbiology*. 2007;76(2):125-138. Russian. (Николаев Ю.А., Плакунов В.К. Биопленки – город микробов или аналог многоклеточных организмов? Микробиология. 2007;76(2):125-138.) DOI: 10.1134/S0026261707020014
 12. Mukherjee S., Bassler B.L. Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments. *Nat Rev Microbiol*. 2019;17(6):371-382. DOI: 10.1038/s41579-019-0186-5
 13. Rani S.A., Pitts B., Beyenal H., Veluchamy R.A., Lewandowski Z., Davison W.M., et al. Spatial patterns of DNA replication, protein synthesis, and oxygen concentration within bacterial biofilms reveal diverse physiological states. *J Bacteriol*. 2007;189(11):4223-4233. DOI: 10.1128/JB.00107-07
 14. Vlamakis H., Aguilar C., Losick R., Kolter R.. Control of cell fate by the formation of an architecturally complex bacterial community. *Chemtracts*. 2007;20(10):427-429. DOI: 10.1101/gad.1645008.4
 15. Xu K.D., Stewart P.S., Xia F., Huang C.T., McFeters G.A. Spatial physiological heterogeneity in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm is determined by oxygen availability. *Appl Environ Microbiol*. 1998;64(10):4035-4039. DOI: 10.1128/aem.64.10.4035-4039.1998
 16. Guilhen C., Forestier C., Balestrino D. Biofilm dispersal: multiple elaborate strategies for dissemination of bacteria with unique properties. *Mol Microbiol*. 2017;105(2):188-210. DOI: 10.1111/mmi.13698
 17. Jamal M., Ahmad W., Andleeb S., Jalil F., Imran M., Nawaz M.A., et al. Bacterial biofilm and associated infections. *J Chinese Med Assoc [Internet]*. 2018;81(1):7-11. DOI: 10.1016/j.jcma.2017.07.012
 18. Sharma A., Kumar D., Dahiya K., Hawthorne S., Jha S.K., Jha N.K., et al. Advances in pulmonary drug delivery targeting microbial biofilms in respiratory diseases. *Nanomedicine*. 2021;16(21):1905-1923. DOI: 10.2217/nnm-2021-0057
 19. Chakraborty P., Bajeli S., Kaushal D., Radotra B.D., Kumar A. Biofilm formation in the lung contributes to virulence and drug tolerance of *Mycobacterium tuberculosis*. *Nat Commun [Internet]*. 2021;12(1). DOI: 10.1038/s41467-021-21748-6
 20. Fennelly K.P., Ojano-Dirain C., Yang Q., Liu L., Lu L., Prognoske-Fox A., et al. Biofilm formation by *Mycobacterium abscessus* in a lung cavity. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016;193(6):692-693. DOI: 10.1164/rccm.201508-1586IM
 21. Muñoz-Egea M.C., Akir A., Esteban J. *Mycobacterium* biofilms. *Biofilm*. 2023;5:1-7. DOI: 10.1016/j.biofilm.2023.100107
 22. Keating T., Lethbridge S., Allnut J.C., Hendon-Dunn C.L., Thomas S.R., Alderwick L.J., et al. *Mycobacterium tuberculosis* modifies cell wall carbohydrates during biofilm growth with a concomitant reduction in complement activation. *Cell Surf [Internet]*. 2021;7:100065. DOI: 10.1016/j.tcs.2021.100065
 23. Ackart D.F., Hascall-dove L., Caceres S.M., Kirk N.M., Brendan K., Melander C., et al. Expression of antimicrobial drug tolerance by attached communities of *Mycobacterium tuberculosis*. 2015;70(3):359-369. DOI: 10.1111/2049-632X.12144.Expression
 24. Kumar A. House of cellulose – a new hideout for drug tolerant *Mycobacterium tuberculosis*. *Microb Cell*. 2016;3(7):299-301. DOI: 10.15698/mic2016.07.515
 25. Ojha A.K., Baughn A.D., Sambandan D., Hsu T., Trivelli X., Guerardel Y., et al. Growth of *Mycobacterium tuberculosis* biofilms containing free mycolic acids and harbouring drug-tolerant bacteria. *Mol Microbiol*. 2008;69(1):164-174. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2008.06274.x
 26. Wu J., Liu W., He L., Huang F., Chen J., Cui P., et al. Sputum microbiota associated with new, recurrent and treatment failure tuberculosis. *PLoS One*. 2013;8(12):1-11. DOI: 10.1371/journal.pone.0083445
 27. Gorbacheva V.G. Nonspecific bacterial and fungal infection of the respiratory tract in patients with pulmonary tuberculosis. *Materials of the XVI International Burdenkov*

- Scientific Conference April 23-25, 2020. 2020;4:384-386. Russian. (Горбачева В.Г. Неспецифическая бактериальная и грибковая инфекция респираторного тракта у больных туберкулёзом лёгких. Материалы XVI Международной Бурденковской научной конференции 23-25 апреля 2020 года. 2020;4:384-386.)
28. Spiridonova L.G., Ten M.B., Labutin I.V., Mezhebovsky V.R. Features of detection of nonspecific microflora and its drug resistance in patients with respiratory tuberculosis. Effective pharmacotherapy. 2019;79:8-11. Russian. (Спиридонова Л.Г., Тен М.Б., Лабутин И.В., Межебовский В.Р. Выявление неспецифической микрофлоры и ее лекарственной резистентности у больных туберкулезом легких. Эффективная фармакотерапия. 2019;79:8-11.) DOI: 10.33978/2307-3586-2019-15-7-8-11
 29. Rodríguez-Sevilla G., Crabbé A., García-Coca M., Aguilera-Correa J.J., Esteban J., Pérez-Jorge C. Antimicrobial treatment provides a competitive advantage to mycobacterium abscessus in a dual-species biofilm with *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother. 2019;63(11):1-7. DOI: 10.1128/AAC.01547-19
 30. Rodríguez-Sevilla G., García-Coca M., Romera-García D., Aguilera-Correa J.J., Mahillo-Fernández I., Esteban J., et al. Non-Tuberculous *Mycobacteria* multispecies biofilms in cystic fibrosis: development of an *in vitro* *Mycobacterium abscessus* and *Pseudomonas aeruginosa* dual species biofilm model. Int J Med Microbiol. 2018;308(3):413-423. DOI: 10.1016/j.ijmm.2018.03.003
 31. Carazo-Fernández L., González-Cortés C., López-Medrano R., Díez-Tascón C., Marcos-Benavides M.F., Rivero-Lezcano O.M. *Mycobacterium avium* complex infected cells promote growth of the pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. Microb Pathog. 2022 May;166:105549. DOI: 10.1016/j.micpath.2022.105549
 32. Ogarkov O.B., Badleeva M. V., Bel'kova N.L., Adelshin R.V., Tsyrenova T.A., Khromova P.A., et al. The phenomenon of biofilm formation by *Brevibacillus* spp. and *Bacillus* spp. with the *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates presence. Molekuljarnaja genetika, mikrobiologija i virusologija. 2017;35(3):98-103. Russian. (Огарков О.Б., Бадлеева М.В., Белькова Н.Л., Адельшин Р.В., Цыренова Т.А., Хромова П.А. и соавт. Феномен образования биоплёнок штаммами *Brevibacillus* spp. и *Bacillus* spp. в присутствии клинических штаммов *Mycobacterium tuberculosis*. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2017;35(3):98-103.) DOI: 10.18821/0208-0613-2017-35-3-98-103
 33. Shleeva M.O., Kondratieva D.A., Kaprelyants A.S. *Bacillus licheniformis*: a producer of antimicrobial substances, including antimycobacterials, which are feasible for medical applications. Pharmaceutics. 2023;15(7):1-44. DOI: 10.3390/pharmaceutics15071893
 34. Esteban J., García-Coca M. *Mycobacterium* biofilms. Front Microbiol. 2018;8:1-8. DOI: 10.3389/fmicb.2017.02651
 35. Chakraborty P., Kumar A. The extracellular matrix of mycobacterial biofilms: could we shorten the treatment of mycobacterial infections? Microb Cell. 2019;6(2):105-122. DOI: 10.15698/mic2019.02.667
 36. Portell-Buj E., González-Criollo C., López-Gavín A., Fernández-Pittol M., Busquets M.A., Estelrich J., et al. Activity of antibiotics and potential antibiofilm agents against biofilm-producing *Mycobacterium avium*-intracellulare complex causing chronic pulmonary infections. Antibiotics. 2022;11(5):1-10. DOI: 10.3390/antibiotics11050589
 37. Muñoz-Egea M.-C., García-Pedrazuela M., Mahillo-Fernandez I., Esteban J. Effect of antibiotics and antibiofilm agents in the ultrastructure and development of biofilms developed by nonpigmented rapidly growing mycobacteria. Microb Drug Resist. 2016;22(1):1-6. DOI: 10.1089/mdr.2015.0124
 38. Sharma K., Pagedar Singh A. Antibiofilm effect of DNase against single and mixed species biofilm. Foods. 2018;7(3):1-12. DOI: 10.3390/foods7030042
 39. Deng W., Lei Y., Tang X., Li D., Liang J., Luo J., et al. DNase inhibits early biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*- or *Staphylococcus aureus*-induced empyema models. Front Cell Infect Microbiol. 2022;12:1-15. DOI: 10.3389/fcimb.2022.917038
 40. Rose S.J., Babrak L.M., Bermudez L.E. *Mycobacterium avium* possesses extracellular DNA that contributes to biofilm formation, structural integrity, and tolerance to antibiotics. PLoS One. 2015;10(5):1-17. DOI: 10.1371/journal.pone.0128772
 41. Chaddha U., Agrawal A., Feller-Kopman D., Kaul V., Shojaee S., Maldonado F., et al. Use of fibrinolytics and deoxyribonuclease in adult patients with pleural empyema: a consensus statement. Lancet Respir Med. 2021;9(9):1050-1064. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30533-6
 42. Zhang Z., Zhang Y., Yang M., Hu C., Liao H., Li D., et al. Synergistic antibacterial effects of ultrasound combined nanoparticles encapsulated with cellulase and levofloxacin on *Bacillus Calmette-Guérin* biofilms. Front Microbiol. 2023;14:1-17. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1108064
 43. Arias L., Otwombe K., Waja Z., Tukvadze N., Korinteli T., Moloantoa T., et al. SMA-TB: study protocol for the phase 2b randomized double-blind, placebo-controlled trial to estimate the potential efficacy and safety of two repurposed drugs, acetylsalicylic acid and ibuprofen, for use as adjunct therapy added to, and compared with the standard WHO recommended TB regimen. Trials. 2023;24(1):1-16. DOI: 10.1186/s13063-023-07448-0
 44. Kroesen V.M., Gröschel M.I., Martinson N., Zumla A., Maeurer M., van der Werf T.S., et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs as host-directed therapy for tuberculosis: a systematic review. Front Immunol. 2017;8:1-9. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00772
 45. Vilaplana C., Marzo E., Tapia G., Diaz J., Garcia V., Cardona P.J. Ibuprofen therapy resulted in significantly decreased tissue bacillary loads and increased survival in a new murine experimental model of active tuberculosis. J

- Infect Dis. 2013;208(2):199-202. DOI: 10.1093/infdis/jit152
46. Ackart D.F., Lindsey E.A., Podell B.K., Melander R.J., Basaraba R.J., Melander Ch. Reversal of *Mycobacterium tuberculosis* phenotypic drug resistance by 2-aminoimidazole based small molecules. Pathog Dis. 2014;70(3):370-378. DOI: 10.1111/2049-632X.12143
47. Belardinelli J.M., Li W., Martin K.H., Zeiler M.J., Lian E., Avanzi C., et al. 2-aminoimidazoles inhibit *Mycobacterium abscessus* biofilms in a zinc-dependent manner. Int J Mol Sci. 2022;23(6):2950. DOI: 10.3390/ijms23062950
48. Nguyen T.V., Minrovic B.M., Melander R.J., Melander C. Identification of novel anti-mycobacterial biofilm agents based upon the 2-aminoimidazole scaffold ChemMedChem. 2019;14(9):927-937. DOI: 10.1002/cmdc.201900033
49. García-Coca M., Rodríguez-Sevilla G., Pérez-Domingo A., Aguilera-Correa J.J., Esteban J., Muñoz-Egea M.C.. Inhibition of *Mycobacterium abscessus*, *M. chelonae*, and *M. fortuitum* biofilms by *Methylobacterium* sp. J Antibiot (Tokyo). 2020;73(1):40-47. DOI: 10.1038/s41429-019-0232-6
50. Rossi G.G., Guterres K.B., Bonez P.C., da Silva Gundel S., Aggertt V.A., Siqueira F.S., et al. Antibiofilm activity of nanoemulsions of *Cymbopogon flexuosus* against rapidly growing mycobacteria. Microb Pathog. 2017;113:335-341. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.11.002