

ПЕРСПЕКТИВА ВПЛИВУ N-ХЛОРТАУРИНУ НА МУЛЬТИРЕЗИСТЕНТНІ МІКРООРГАНІЗМИ, АСОЦІЙОВАНІ З УСКЛАДНЕННЯМИ ДЕНТАЛЬНОЇ ІМПЛАНТАЦІЇ

Анастасія О. Єфіменко, Оксана В. Іщенко, Ірина П. Кошова, Мурашевич В. Богдан, Дмитро О. Степанський

Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро, Україна

Резюме

Вступ. Мікроорганізми, що колонізують поверхню зубних імплантатів можуть утворювати біоплівки, що захищають їх мікроколонії від механічного впливу, антимікробних сполук та імунних факторів. Профілактичне застосування антибіотиків при проведенні дентальної імплантації може чинити селекційний тиск на розвиток антимікробної резистентності. В цьому контексті N-хлортаурин (NCT) є перспективною сполукою для боротьби зі стійкими агентами. **Мета** – дослідити ефективність NCT проти патогенів, пов'язаних з ускладненнями дентальної імплантації.

Матеріали та методи. Для дослідження використовували буферний 1 % розчин NCT, доведений до рН 7,1. Виділено культури з профілем широкої лікарської стійкості (MDR, multidrug-resistant). Визначення активності NCT проведено колодязним та суспензійним методом.

Результати. Після стандартного тестування на чутливість до антибіотиків, було відібрано культури, класифіковані, як MDR. До групи MDR було включено 12 культур, з них сім *S. aureus*, три *K. pneumoniae* та три *A. baumannii*. Отримані MDR культури *S. aureus* мали профіль MRSA. Продукцію карбапенемаз підтверджено в усіх MDR ізолятів *K. pneumoniae*, з них 2 показали продукцію метало-β-лактамаз. MDR ізоляти *A. baumannii* також були продуцентами метало-β-лактамаз. Всі 12 досліджених MDR культур виявилися чутливими до NCT, діаметр зон затримки росту становив щонайменше 15 мм. Не було виявлено достовірної різниці між ефективністю 1 % розчину NCT відносно мікроорганізмів з різними механізмами лікарської стійкості (t-критерій, p>0,05). При проведенні досліджень в рідкому середовищі 1 % розчин NCT показав аналогічні результати, всі MDR-культури були чутливими і показали зменшення мікробного навантаження (КУО/мл) щонайменше на 2 log₁₀ кроки вже через 15 хвилин від початку дослідження. Примітно, що не було суттєвої різниці в ефективності NCT проти умовно чутливих та MDR-агентів.

Висновки. Зменшити небезпеку та тягар MDR патогенів є однією з цілей, оголошених ВООЗ та Центром контролю захворювань. Наше дослідження чітко підтверджує, що різні механізми стійкості до антибіотиків навіть не впливають на бактерицидну активність NCT, що робить його перспективним для лікування резистентних інфекцій.

Ключові слова: резистентність, антисептик, бактерії, ускладнення дентальної імплантації, N-хлортаурин, біоплівки, оральний мікробіоценоз, мікробіота

ВСТУП

Дентальна імплантація широко використовується в сучасній медичній практиці для заміщення втрачених зубів [24]. Однак ризик колонізації зубних протезів мікроорганізмами з високим профілем ре-

зистентності є високим, а наслідки можуть бути катастрофічними і включати, як втрату імплантату, так і появу пулу мутантів, здатних до горизонтального поширення відповідних генів. Мікроорганізми, що колонізують поверхню зубних імплантатів можуть утворювати біоплівки, що захищають їх мікроколо-

нії від механічного впливу, антимікробних сполук та імунних факторів. На сучасному етапі профілактичне застосування антибіотиків при проведенні дентальної імплантації не справляє значного ефекту проти післяопераційної інфекції [1, 5]. Але може чинити селекційний тиск на розвиток антимікробної резистентності. Тож, використання альтернативних стратегій контролю мікробного росту може бути корисним для профілактики та лікування періімплантних інфекційно-запальних процесів [9].

В контексті вище сказаного, особливий інтерес сьогодні викликає N-хлоротаурин (NCT) [9, 12]. NCT – це N-хлорпохідна амінокислоти таурину; є довгоживучим окислювачем, що продукується активованими гранулоцитами та моноцитами людини. NCT має протизапальні властивості і приймає участь в пригніченні запального процесу. Окрім прямої бактеріцидної активності, після сублетальної інкубації сполука справляє постантибіотичний ефект і призводить до втрати вірулентності у різних патогенів, включаючи дріжджі [12].

В 2019 році Центр з контролю і профілактики захворювань (CDC) опублікував перелік патогенів, що становлять глобальну загрозу людству [8]. Серед інших, до них належать карбапенем-стійкі *Acinetobacter*, карбапенем-стійкі Enterobacterales, метицилін-резистентні *Staphylococcus aureus* (MRSA), еритроміцин-стійкі *Streptococcus A*, кліндаміцин-стійкі *Streptococcus B* [2, 10]. Згадані збудники часто асоційовані з гнійно-запальними процесами періімплантних тканин, а тому перспектива впливу на них є актуальним питанням сьогодні.

Мета – дослідити ефективність NCT проти патогенів, пов'язаних з ускладненнями дентальної імплантації. Робота виконана згідно плану НДР кафедри пропедевтики кафедри мікробіології, вірусології, імунології, епідеміології й медико-біологічної фізики та інформатики і кафедри біохімії та медичної хімії Дніпровського державного медичного університету «Багатофункціональні полімерні матеріали з потужними антимікробними властивостями для антисептичної обробки ранових поверхонь та знезараження повітря і води» (номер державної реєстрації 0120U101548).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

N-хлоротаурин. Для дослідження використовували буферний 1 % розчин NCT, доведений до рН 7,1. Така концентрація була обрана з огляду на добре описану клінічну переносимість при різних шляхах введення і хорошу мікробіцидну активність проти широкого ряду збудників [9, 12].

Визначення чутливості до антибіотиків. Вивчення чутливості отриманих ізолятів до антибіотиків проводили диск-дифузійним методом або шля-

хом визначення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) згідно з рекомендаціями EUCAST [22, 23, 24].

Для прогнозування чутливості до β -лактамів у мікроорганізмів роду *Staphylococcus* використовували тест з диском цефоксітином 30 мкг, позитивний результат якого, як відомо, є надійним предиктором існування генів *mecA* або *mecC* [22, 23]. Для виявлення продукції карбапенемаз грам-негативними ізолятами використовували тест з диском меропенему 10 мкг, який, як відомо, володіє оптимальною чутливістю та специфічністю для індикації механізмів резистентності до карбапенемів. Для диференціації типу продукованих карбапенемаз та виявлення інших механізмів стійкості було використано тести з фенілбороновою кислотою, етилендіамінтетраоцтовою кислотою (ЕДТА) та з диском клоксациліну, як описано раніше [11].

У відповідності до існуючих визначень, проведено визначення культур з профілем широкої лікарської стійкості (MDR, multidrug-resistance), тобто були резистентними щонайменше до 1 препарату з 3 та більше груп антибіотиків, визначених міжнародною групою експертів [17]. Тож, культури в нашому дослідженні були розділені на 2 групи – «чутливі» та «MDR».

Якісна оцінка мікробіцидної активності NCT. Для дослідження підготували розчин NCT необхідної концентрації та рН, а також стандартизовані суспензії досліджуваних MDR культур з оптичною густиною 0,5 за МакФарланд. Досліджувані MDR культури газом засівали на агар Мюллера-Хінтона. В найкоротший проміжок часу в товщі агару робили «колодязи» діаметром до 5 мм, в які вносили аліквоти розчину NCT. Після нічної інкубації проводили замір зон затримки росту. Оскільки, референсні значення відсутні, то за критерій «чутливий» до NCT був взятий рубіж 15 мм [25]. Для кожної культури досліди проведені в 3 повтореннях.

Кількісна оцінка мікробіцидної активності NCT. Для дослідження підготували розчин NCT необхідної концентрації та рН, а також стандартизовані суспензії досліджуваних «чутливих» та «MDR» культур після нічної інкубації (оптична густина 0,5 за МакФарланд). В пробірці з NCT вносили досліджувану культуру в співвідношенні 1:10, отриману суспензію періодично струшуючи витримували до 30 хв. за температури 37°C. Відбір суспензії для дослідження провели через 5, 15, 25 та 30 хв. від початку експерименту. Для інактивації NCT аліквоти похідної суспензії по 100 мкл змішували з 1 % метіоном та 1 % гистицином, як було показано раніше [4]. Після відповідної інкубації, аліквоти по 100 мкл отриманої суміші наносили на чашки з агаром Мюллера-Хінтона. Мінімальний рівень детекції становив 10^2 КУО/мл. Після нічної інкубації проводили підрахунок виростих колоній.

Статистична обробка даних. Статистична обробка результатів досліджень проводилася з використанням ліцензійної програми STATISTICA 6.1. Перед застосуванням статистичних критеріїв проводилася перевірка характеру розподілу випадкових величин за критерієм Шапіро-Уїлка. Якщо дані не відповідали закону нормального розподілу, порівняльний аналіз кількісних змінних проводили за допомогою непараметричного U – критерію Мана-Уїтні. Для категоріальних показників порівняння груп проводилося з використанням точного критерію Фішера (F). Відмінності вважали статистично достовірними при $p < 0,05$.

Дотримання етичних норм в біомедичних дослідженнях. Дослідження проведено відповідно до принципів біоетики, викладених у Гельсінській декларації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людей», «Загальній декларації про біоетику та права людини (ЮНЕСКО)», та Наказу МОЗ України «Про затвердження Порядку проведення клінічних випробувань лікарських засобів та експертизи матеріалів клінічних випробувань і типового положення про комісії з питань етики» № 690 від 23.09.2009.

РЕЗУЛЬТАТИ

Загалом в дослідженні отримано унікальні 174 ізоляти від пацієнтів з ускладненнями дентальної імплантації. Більшість ідентифікованих культур належали до наступних родів – Staphylococcus

($n = 36$), Streptococcus ($n = 41$), Fusobacterium ($n = 16$), Porphyromonas та Prevotella (разом $n = 11$), Neisseria ($n = 3$), Acinetobacter ($n = 4$), Klebsiella ($n = 6$) та Haemophilus ($n = 4$), а також включали гриби роду Candida ($n = 17$). Під Staphylococcus був переважно представлений Staphylococcus aureus ($n = 28$), але також включав коагулаза-негативних представників (Єфіменко та ін., 2023).

Механізми лікарської стійкості мікроорганізмів, асоційованих з ускладненнями дентальної імплантації. Після стандартного тестування на чутливість до антибіотиків наведених вище культур, було відібрано культури класифіковані, як MDR. До групи MDR було включено 12 культур, з них сім S. aureus, п'ять K. pneumoniae та три A. baumannii. Отримані MDR культури S. aureus мали профіль MRSA. Продукцію карбапенемаз підтверджено в усіх MDR ізоляти K. pneumoniae, з них 2 показали продукцію метало- β -лактамаз. MDR ізоляти A. baumannii також були продуцентами метало- β -лактамаз.

Ефективність NCT проти MDR культур. Всі 12 досліджених MDR культур виявилися чутливими до NCT, діаметр зон затримки росту становив щонайменше 15 мм. Не було виявлено достовірної різниці між ефективністю 1 % розчину NCT відносно мікроорганізмів з різними механізмами лікарської стійкості (t-критерій, $p > 0,05$). Результати дослідження наведені в табл. 1.

Таблиця 1

Чутливість до 1 % розчину NCT мікроорганізмів, що наділені різними механізмами резистентності, Me (Q1; Q3)

MRSA	K. pneumoniae KPC	K. pneumoniae MBL	A. baumannii MBL
n = 7	n = 3	n = 2	n = 3
20 (19; 25)	18 (16; 22)	18 (16; 20)	18 (16; 20)

MRSA – метицилін-резистентний S. aureus

KPC – продукція карбапенемаз класу A

MBL – продукція метало- β -лактамаз

На рис. 1 зображено результати проведених дослідів з визначення чутливості до NCT методом «колодязів».



Рис. 1. Вплив 1 % розчину NCT на MDR-патогени, асоційовані з ускладненнями дентальної імплантації (за годинниковою стрілкою – MDR K. pneumoniae, MDR A. baumannii, MRSA)

Порівняння чутливості грам-позитивних та грам-негативних мікроорганізмів проводилося в попередніх дослідженнях (Єфіменко та ін., 2023). Тож, на даному етапі ми мали на меті з'ясувати, чи може існувати різниця в ефективності NCT між умовно чутливими та MDR-мікроорганізмами. З огляду на виявлені схожі механізми набутої лікарської стійкості, а також схожі результати на попередньому етапі, K. pneumoniae та A. baumannii, об'єднали в одну групу задля нівелювання ризику статистичних помилок при розрахунках.

Оцінка ефективності 1 % NCT проти MDR патогенів в порівнянні з умовно чутливими.

При проведенні досліджень в рідкому середовищі 1 % розчин NCT показав аналогічні результати, всі MDR-культури були чутливими і показали зменшення

мікробного навантаження (КУО/мл) щонайменше на $2 \log_{10}$ кроки вже через 15 хвилин від початку дослідження. Примітно, що не було суттєвої різниці в ефек-

тивності NCT проти умовно чутливих та MDR-агентів. На рис. 2 зображено динамічні криві редукції мікробного навантаження під час експозиції в NCT.

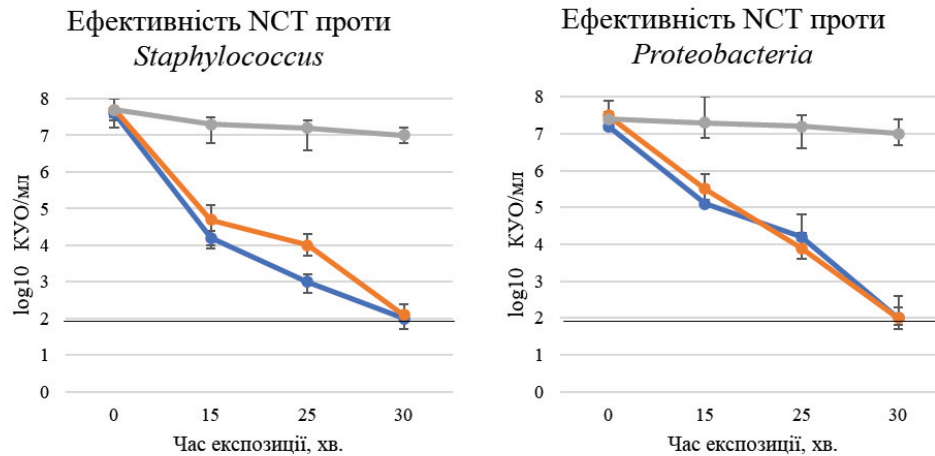


Рис. 2. Ефективність 1 % розчину NCT проти мультирезистентних мікроорганізмів, асоційованих з ускладненнями дентальної імплантатції

ДИСКУСІЯ

Тож, в нашому дослідженні 1 % розчин NCT показав ефективність проти MDR патогенів, асоційованих з ускладненнями дентальної імплантатції. Повідомлення щодо мікробіцидної активності NCT є непоодинокими і свідчать про активний розвиток медичної науки в даному напрямку [18]. Результати, отримані в експерименті на MDR-культурах з «колодязями» співзвучні з опублікованими повідомленнями авторів Тогорін та ін. (2019) [25]. Проте тут автори вивчали чутливість до масиву збудників, не вказуючи результати тестування на чутливість до антибіотиків та виявлені механізми резистентності. Щодо MDR-патогенів аналогічні результати з ефективності та швидкості регресії мікробного навантаження були отримані Anich та ін. (2021). Автори показали ефективність NCT in vitro проти широкого ряду резистентних патогенів, зокрема MRSA, *Staphylococcus epidermidis* зі стійкістю до лінезоліду, *Enterococcus faecium* зі стійкістю до ванкоміцину та лінезоліду, а також MDR *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *A. baumannii* та *K. pneumoniae* [4]. Окрім того, повідомляли й про успішне лікування інфекції сечостатевої шляхів, викликаній панрезистентним збудником *P. aeruginosa*. Розчин NCT вводили шляхом щоденних інстиляцій в сечовий міхур [17].

Виражена бактерицидна дія NCT пов'язана з окисним та хлоруючим механізмом дії, ураженням кількох цілей одночасно та інактивацією факторів вірулентності, в тому числі ферментів та токсинів [3]. Було показано, що дія хлор-вмісних сполук,

в тому числі NCT, може бути пов'язана з підвищенням ефективності терапевтичних заходів [7, 21]. З іншого боку, використання дезінфектантів на основі хлору в сублетальній концентрації може призводити до збільшення вірулентності та стійкості до антибіотиків [14, 15, 16]. Наростання цитотоксичності *Acanthamoeba* внаслідок дії сублетальних концентрацій гіпохлориту кальцію було продемонстровано Bahrami та ін. (2023) [6]. Для більш традиційних патогенів людини аналогічні результати також були описані. Показано, що сублетальна експозиція хлору сприяє здатності *Salmonella enterica* serovar *enteritidis* утворювати біоплівки [27]. Короточасна дія різних концентрацій хлору призводила до експресії генів резистентності у клінічних ізолятів *A. baumannii* [15].

Хлорування питної води хлором відіграє важливу роль для профілактики та контролю інфекційних захворювань. Тим не менш, мало відомо про те, чому заходи направлені на покращення санітарного благополуччя, пов'язані з експресією у бактерій генів стійкості до антибіотиків після хлорування. Було встановлено, що процес хлорування сприяє горизонтальному перенесенню плазмід шляхом природної трансформації, що призводить до обміну генами резистентності на рівні не тільки видів, але й родів [14, 16].

NCT має високу переносимість, що дозволяє використовувати його в терапевтичній концентрації 55 ммоль/л, що в 1000 разів перевищує концентрацію природну – 20-50 мкмоль/л. В такому діапазоні ризик селекції резистентних мутантних клонів, вірогідно, залишається низьким, а резистентність не розвивається навіть внаслідок повторної експозиції [4].

ВИСНОВКИ

Зменшити небезпеку та тягар MDR патогенів є однією з цілей, оголошених ВООЗ та Центром контролю захворювань. Наше дослідження чітко підтверджує, що різні механізми стійкості до антибіотиків навіть не впливають на бактеріцидну активність

NCT, що робить його перспективним для лікування резистентних інфекцій.

ФІНАНСУВАННЯ ТА КОНФЛІКТ ІНТЕРЕСІВ

Дослідження не має зовнішніх джерел фінансування. Конфлікт інтересів відсутній.

REFERENCES

1. Avetikov, D. S., Pronina, O. M., Lokes, K. P., Bukhanchenko, O. P. (2017). Suchasni uyavlennya pro umovy, yaki obmezhuuyut' vybir metodu dental'noyi implantatsiyi na verkhniy i nyzhniy shchelepakh. *Visnyk problem biolohiyi i medytsyny*, 4 (141): 20-26. [in Ukrainian] <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2017-4-3-141-20-27>
2. Kusminyh, S. S., Ishchenko, O. V., Stetsenko, I. Yu., Titov, G. I., Makarenko, O. V. (2021). Mikrobiolohichne obgruntuvannya zastosuvannya N-khlortaurynu pry vtorynnomu perytoniti. *Bulletin of problems in biology and medicine*, 2 (160), 184-188. [in Ukrainian] <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2021-2-160-184-188>
3. Adefisoye, M. A., & Olaniran, A. O. (2022). Does Chlorination Promote Antimicrobial Resistance in Waterborne Pathogens? Mechanistic Insight into Co-Resistance and Its Implication for Public Health. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(5), 564. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11050564>
4. Anich, C., Orth-Höller, D., Lackner, M., Nagl, M. (2021). N-chlorotaurine, a potent weapon against multiresistant bacteria. *J Appl Microbiol*, 131 (4): 1742-1748. <https://doi.org/10.1111/jam.15052>
5. Ata-Ali, J., Ata-Ali, F., & Ata-Ali, F. (2014). Do antibiotics decrease implant failure and postoperative infections? A systematic review and meta-analysis. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 43(1), 68-74. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2013.05.019>
6. Bahrami, S., Asadi, Z., Zarei, M., Hamidinejat, H., & Henriquez, F. L. (2023). Exposure to sublethal concentrations of chlorine enhances the cytotoxicity of *Acanthamoeba castellanii*. *Parasitology research*, 122(6), 1371-1380. <https://doi.org/10.1007/s00436-023-07837-z>
7. Bulatovic, V. M., Wengenack, N. L., Uhl, J. R., Hall, L., Roberts, G. D., Cockerill, F. R., 3rd, & Rusnak, F. (2002). Oxidative stress increases susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to isoniazid. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46 (9), 2765-2771. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.9.2765-2771.2002>
8. CDC. Antibiotic resistance threats in the United States. 2019. [Internet] [cited 2023 Oct 3]. Available from: Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019 (cdc.gov)
9. Coraça-Huber, D. C., Ammann, C. G., Fille, M., Hausdorfer, J., Nogler, M., Nagl M. (2014). Bactericidal activity of N-chlorotaurine against biofilm-forming bacteria grown on metal disks. *Antimicrob Agents Chemother*, 58 (4), 2235-9. <https://doi.org/10.1128/AAC.02700-13>
10. Efimenko, A.O., Stepanskyi, O. D., Bogomolny, L. O., Ishchenko, O. V. (2023). Effect of N-chlorotaurine on biofilms of pathogens associated with complications of dental implantation. *Bulletin of problems in biology and medicine*, 2 (169), 432-437. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2023-2-169-432-437>
11. EUCAST guidelines for detection of resistance Mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. EUCAST Guidance Documents [Internet]. [cited 2023 Oct 3]. Available from: <http://www.eucast.org>
12. Gottardi, W., Nagl, M. (2010). N-chlorotaurine, a natural antiseptic with outstanding tolerability. *J Antimicrob Chemother*, 65 (3), 399-409. doi: 10.1093/jac/dkp466.
13. Gupta, N., Gandham, N., Jadhav, S., Mishra, R. N. (2015). Isolation and identification of *Acinetobacter* species with special reference to antibiotic resistance. *J Nat Sci Biol Med*, 6 (1), 159-162. <https://doi.org/10.4103/0976-9668.149116>
14. Jin, M., Liu, L., Wang, D. N., Yang, D., Liu, W. L., Yin, J., Yang, Z. W., Wang, H. R., Qiu, Z. G., Shen, Z. Q., Shi, D. Y., Li, H. B., Guo, J. H., & Li, J. W. (2020). Chlorine disinfection promotes the exchange of antibiotic resistance genes across bacterial genera by natural transformation. *The ISME journal*, 14 (7), 1847-1856. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-0656-9>
15. Karumathil, D. P., Yin, H. B., Kollanoor-Johny, A., & Venkitanarayanan, K. (2014). Effect of chlorine exposure on the survival and antibiotic gene expression of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* in water. *International journal of environmental research*

- and public health, 11(2), 1844-1854. <https://doi.org/10.3390/ijerph110201844>
16. Liu, S. S., Qu, H. M., Yang, D., Hu, H., Liu, W. L., Qiu, Z. G., Hou, A. M., Guo, J., Li, J. W., Shen, Z. Q., & Jin, M. (2018). Chlorine disinfection increases both intracellular and extracellular antibiotic resistance genes in a full-scale wastewater treatment plant. *Water research*, 136, 131-136. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.02.036>
 17. Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.*, 18(3), 268-281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
 18. Murashevych B, Girenko D, Maslak H. (2022). Acute inhalation toxicity of aerosolized electrochemically generated solution of sodium hypochlorite. *Inhal Toxicol*, 34 (1-2): 1-13. <https://doi.org/10.1080/08958378.2021.2013348>
 19. Murashevych, B., Koshova, I., Surmasheva, E., Girenko, D., Chuiko, V., & Stepanskyi, D. (2022). Broad-purpose antimicrobial chlorine-active polymers: suppression of multidrug-resistant microorganisms and microbial penetration resistance. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 5 (39), 64-73. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2022.266171>
 20. Nagl, M., Hess, M. W., Pfaller, K., Hengster, P., Gottardi, W. (2000). Bactericidal activity of micromolar N-chlorotaurine: evidence for its antimicrobial function in the human defense system. *Antimicrob Agents Chemother*, 44 (9), 2507-2513. <https://doi.org/10.1128/AAC.44.9.2507-2513.2000>
 21. Sheehan, G., Nagl, M., & Kavanagh, K. (2019). Exposure to N-chlorotaurine induces oxidative stress responses in *Aspergillus fumigatus*. *Journal of medical microbiology*, 68(2), 279-288. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000900>
 22. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 11.0 [Internet]. 2021 [cited 2023 Oct 3]. Available from: <http://www.eucast.org>
 23. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST Guidance Documents [Internet]. [cited 2023 Oct 3]. Available from: <http://www.eucast.org>
 24. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Intrinsic resistance and unusual phenotypes. Expert rules. Version 3.3 [Internet]. 2021. [cited 2023 Oct 3]. Available from: <http://www.eucast.org>
 25. Toropin, V. M., Murashevych, B. V., Stepanskyi D. O., Toropin, M. V., Kremenchutskiy, H.M., Burmistrov, K.S. (2019) New forms of immobilized active chlorine and its potential applications in medicine. *Journal on National Academy of medical sciences of Ukraine*, 3, 340-352. [Internet] [Cited 6 Oct 2023]. Available from <http://journal.amnu.gov.ua/images/pdf/2019-25-3/15.pdf>
 26. Yu J, Zhou M, Zhang L, Wei H. Antibacterial Adhesion Strategy for Dental Titanium Implant Surfaces: From Mechanisms to Application. *J Funct Biomater*. 2022; 13 (4): 169. <https://doi.org/10.3390/jfb13040169>.
 27. Zarei, M., Paknejad, M., & Eskandari, M. H. (2023). Sublethal chlorine stress promotes the biofilm-forming ability of *Salmonella enterica* serovars enteritidis and expression of the related genes. *Food microbiology*, 112, 104232. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2023.104232>

Summary

THE PERSPECTIVE OF N-CHLOROTAURINE INFLUENCE ON MULTI-DRUG RESISTANT MICROORGANISMS ASSOCIATED WITH DENTAL IMPLANTATION FAILURE

Anastasiia O. Efimenko, Oksana V. Ishchenko, Iryna P. Koshova,
Bohdan V. Murashevych, Dmytro O. Stepanskyi

Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine

Introduction: Microorganisms colonizing the surface of dental implants can form biofilms that protect their microcolonies from mechanical impact, antimicrobial compounds, and immune factors. Prophylactic use of antibiotics during dental implantation can exert selective pressure on the development of antimicrobial resistance. In this context, N-chlorotaurine (NCT) is a promising compound to combat resistant agents.

The aim is to investigate the efficacy of NCT against pathogens associated with dental implant complications.

Materials and methods. A buffered 1 % NCT solution adjusted to pH 7.1 was used for the study. Multidrug-resistant cultures (MDR) were identified. Determination of NCT activity was carried out by the agar and suspension method.

The results. After standard antibiotic susceptibility testing, cultures classified as MDR were selected. 12 cultures were included in the MDR group, including seven *S. aureus*, three *K. pneumoniae* and three *A. baumannii*. MDR cultures of *S. aureus* had MRSA profile. Production of carbapenemases was confirmed in all MDR *K. pneumoniae* isolates, 2 of them showed production of metallo- β -lactamases. MDR isolates *A. baumannii* were also producers of metallo- β -lactamases. All 12 investigated MDR cultures were sensitive to NCT, the diameter of the zones of growth retardation was at least 15 mm. No significant difference was found between the effectiveness of 1 % NCT solution against microorganisms with different mechanisms of drug resistance (t-test, $p > 0.05$). When conducting studies in a liquid environment, a 1 % NCT solution showed similar results, all MDR cultures were sensitive and showed a decrease in the microbial load (CFU/ml) by at least 2 log₁₀ steps already 15 minutes after the start of the study. Notably, there was no significant difference in the efficacy of NCT against conditionally susceptible and MDR agents.

Conclusions. Reducing the threat and burden of MDR pathogens is one of the goals announced by WHO and the Centres for Disease Control. Our study clearly confirms that various antibiotic resistance mechanisms do not affect the bactericidal activity of NCT, making it promising for the treatment of resistant infections.

Key words: resistance, antiseptics, bacteria, dental complications failure, N-chlorotaurine, biofilms, oral microbiocenosis, microbiota