

Л.П.Базанова, Е.Г.Токмакова, Г.А.Воронова, С.В.Балахонов

## ВЛИЯНИЕ ПЛАЗМИДНОГО СОСТАВА *YERSINIA PESTIS* НА ОБРАЗОВАНИЕ БИОПЛЕНКИ В ОРГАНИЗМЕ БЛОХ С РАЗНОЙ ВЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Иркутский научно-исследовательский противочумный институт

**Цель.** Анализ влияния плазмидного состава возбудителя чумы на формирование биопленки *in vivo* и смертность блох-переносчиков с разной векторной активностью в эксперименте. **Материалы и методы.** Использованы три штамма *Yersinia pestis*: вирулентные И-3230 (pYT, pYV, pYP) и И-2638 (pYT, pYV, pYP, pTP 33) и селекционированный от него авирулентный изогенный клон И-3480, утративший две плазмиды (pYV, pYP). Искусственно инфицировали блох трех видов: 477 особей *Xenopsylla cheopis* (высокоактивный переносчик), 441 — *Citellophilus tesquorum* (активный переносчик), 519 — *Frontopsylla luculenta* (малоактивный переносчик). Особенности формирования в организме блох биопленки *Y. pestis* оценивали по доле особей с бактериальными «глыбками» и «блоками» за подкормку. Смертность насекомых определяли по доле мертвых при каждой подкормке. **Результаты.** У всех трех видов блох, зараженных штаммами возбудителя, имеющими дополнительную плазмиду pTP33 (И-2638 и И-3480), отмечено увеличение числа особей с различными формами биопленки по сравнению с трехплазмидным штаммом И-3230. У *X. cheopis* это происходило за счет блокированных насекомых, у *C. tesquorum* — преимущественно за счет блох, содержавших «глыбки», у *F. luculenta* определялось полностью эктопаразитами с «глыбками». Доля погибших за подкормку *X. cheopis* и *C. tesquorum* была выше среди эктопаразитов, инфицированных штаммом И-3230, а *F. luculenta* — И-2638. **Заключение.** Штаммы *Y. pestis*, обладавшие дополнительным репликоном pTP33, образовывали биопленку у зараженных насекомых чаще и большего размера, чем штамм классического трехплазмидного варианта. Влияние плазмидного состава штаммов на смертность зараженных ими блох зависело от вида переносчика.

Журн. микробиол., 2018, № 2, С. 76—83

Ключевые слова: *Yersinia pestis*, плазмидный состав, блохи, биопленка, смертность переносчиков

Л.П.Базанова, Е.Г.Токмакова, Г.А.Воронова, С.В.Балахонов

## INFLUENCE OF *YERSINIA PESTIS* PLASMID CONTENT ON BIOFILM FORMATION IN FLEAS WITH DIFFERENT VECTOR ACTIVITY

Irkutsk Research Institute for Plague Control, Russia

**Aim.** Influence of the plague agent plasmid content on biofilm formation *in vivo* and death rate of fleas-vectors with different vector activity in experiment were analyzed. **Materials and methods.** Three *Yersinia pestis* strains: virulent I-3230 (pYT, pYV, pYP) and I-2638 (pYT, pYV, pYP, pTP 33), and its selected avirulent isogenic clone I-3480 lacking two plasmids (pYV, pYP) were used. Three species of fleas were artificially infected: 477 individuals of *Xenopsylla cheopis* (a highly active vector), 441 — *Citellophilus tesquorum* (an active vector), 519 — *Frontopsylla luculenta* (a low-active vector). The peculiarities of *Y. pestis* biofilm formation in fleas were estimated by a portion of individuals with bacterial «conglomerates» and «blocks» for a feeding. Death rate of the insects was defined by the percent of the dead fleas at each feeding. **Results.** All three flea species infected by *Y. pestis* strains carrying an additional plasmid pTP33 (I-2638 and I-3480) demonstrated the increase of the individual number with various biofilm forms in comparison with the three-plasmid strain I-3230. In *X. cheopis* it occurred due to the blocked insects, in *C. tesquorum* — mainly due to the fleas containing «conglomerates», in *F. luculenta* it was completely connected with ectoparasites with «conglomerates». A share of *X. cheopis* and *C. tesquorum* died at a

feeding was higher in ectoparasites infected with I-3230 strain and *F. luculenta* — infected by I-2638. *Conclusion.* *Y. pestis* strains possessing an additional replicon pTP33 formed a biofilm in the infected insects more often and larger size than a classical three-plasmid variant. Influence of the strain plasmid content on death rate of the infected fleas depended on a vector species.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 2, P. 76—83

Key words: *Yersinia pestis*, plasmid content, fleas, biofilm, death rate of vectors

## ВВЕДЕНИЕ

Патогенные микроорганизмы способны формировать биопленку, что обеспечивает их выживание, сохранение и распространение в окружающей среде. Возбудитель чумы также формирует биопленку, которая защищает бактериальные клетки от утилизации при попадании в организм блох [12]. Наличие таких структур в организме блох выявляли в форме «блоков» и «глыбок» из клеток *Y. pestis*, заключенных в капсулу [8, 9]. Образование внеклеточной биопленки в организме блох обеспечивает реализацию трансмиссивной передачи возбудителя и долговременную персистенцию *Y. pestis* [Eisen R. J., Gage K.L., 2009]. Длительность персистенции зависит также от жизнедеятельности инфицированных блох (способности питаться и продолжительности жизни). Генетические детерминанты вирулентности *Y. pestis* имеют внехромосомную локализацию. Изучение роли плазмид в реализации патогенных свойств *Y. pestis* позволяет на качественно новом уровне подойти к выяснению механизмов формирования популяций возбудителя в условиях конкретных очагов, к проблеме сохранения бактерий в межэпизоотический период. Сравнительный анализ плазмидного состава возбудителя чумы показал, что профили плазмид штаммов *Y. pestis*, изолированных в одном природном очаге (Сайлюгемском, Тувинском, Забайкальском, Хурхинском), отличаются стабильностью вне зависимости от источника и срока выделения. Установлена особенность штаммов *Y. pestis*, циркулирующих на территории Тувинского природного очага, заключающаяся в наличии дополнительной плазмиды pTP33 с молекулярной массой ~22 МД [3]. Полная нуклеотидная последовательность четвертой маркерной плазмиды, специфической для тувинских штаммов, определена, но ее функциональная роль только предполагается [1, 10]. Значение отдельных плазмид, определяющих основные факторы вирулентности *Y. pestis*, для существования возбудителя в блохе-переносчике оценивалось на моделях *Xenopsylla cheopis* [6, 13] и *Frontopsylla luculenta* [11].

Цель исследований — изучение в эксперименте и анализ влияния плазмидного состава возбудителя чумы на формирование биопленки *in vivo* и смертность блох-переносчиков с разной векторной активностью.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для экспериментального исследования использованы три штамма *Y. pestis*: вирулентный трехплазмидный штамм И-3230, изолированный в Монголии (Хэнтейский аймак, Омнодэлгэр сомон), и референтный для Тувинского природного очага чумы штамм И-2638, имеющий четыре плазмиды (pYT, pYV, pYP, pTP33), а также селекционированный от него авирулентный изогенный клон И-3480, утративший две плазмиды (pYV, pYP). Элиминация плазмид pYV, pYP из исходного штамма описана ранее [Балахонов С.В. и др., 2004].

Блох заражали искусственно на биомембране. Заражающую смесь готовили из равных частей 2 млрд суспензии двухсуточной агаровой культуры, выращенной при 28°C, и дефибрированной крови морской свинки. Исходная зараженность насекомых составляла 80 — 100%. В качестве прокормителя использовали беспородных мышей. Подкормки блох проводили через 2 — 3 суток в течение 3 часов. Между подкормками их содержали в прокаленном песке при температуре 18 — 20°C и относительной влажности 87 — 90%. В каждом опыте проведено не менее 8 подкормок инфицированных эктопаразитов. В опыты взяты инсектарные культуры трех видов блох, представителей по В.С. Вашенок [5] разных категорий как переносчиков возбудителя чумы: *Xenopsylla cheopis* — высокоактивный переносчик; *Citellophilus tesquorum* — активный переносчик; *Frontopsylla luculenta* — малоактивный переносчик. Лабораторная популяция *X. cheopis* происходит от имаго, полученных из Российского научно-исследовательского противочумного института «Микроб». Начало *F. luculenta* положили эктопаразиты из Юго-Восточного Забайкалья (падь Крементуй, район Торейских озер). Блохи собраны из гнезд даурского суслика. Началом инсектарной культуры *C. tesquorum* послужили насекомые из Каргинской популяции Тувинского природного очага чумы, собранные из гнезд длиннохвостого суслика. Всего использовано блох: 477 (361 ♀ и 116 ♂) *X. cheopis*, 441 (272 ♀ и 169 ♂) *C. tesquorum*, 519 (412 ♀ и 107 ♂) *F. luculenta*. Особенности формирования в организме блох биопленки *Y. pestis* с различным плазмидным составом оценивали по доле особей с бактериальными «глыбками», полными и частичными «блоками» за подкормку. Смертность насекомых определяли по доле мертвых имаго при каждой подкормке. Статистическую обработку данных проводили с помощью стандартных методов [7] с применением программы Excel. Влияние различных факторов (штамм *Y. pestis*, вид блох) на изучаемые показатели оценивали с помощью одно- и двухфакторного дисперсионного анализов. Различия между двумя группами по средним показателям оценивались с применением критерия Стьюдента, по изменчивости — F-критерия.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С использованием методов трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии на примере блохи *X. cheopis* отмечено, что по две и более бактериальные клетки, окруженные, как правило, остатками разрушенных форменных элементов крови, осаждаются в лакунах «акантов» преджелудка, что приводит в последующем к формированию «микрocolоний». Данное морфологическое образование в экстрацеллюлярной матриксной оболочке определено как способность возбудителя чумы формировать в организме блохи биопленку [8]. Отмечено различие морфологических форм *Y. pestis* в конгломератах с разной степенью агрегированности в организме *C. tesquorum altaicus*. Так, в мазках из содержимого желудочно-кишечного тракта перезимовавших блох с «глыбками» прослеживается полиморфизм клеток *Y. pestis*: палочковидные и шаровидные формы. Встречаются клетки необычной формы — утолщенные с обоих концов (гантелевидные). Шаровидные формы бактерий бледно окрашены и имеют средние размеры (1,5 — 2 мкм). У «блокированных» блох отмечены только шаровидные очень мелкие (0,2 — 0,5 мкм), бледно окрашенные формы бактерий единичные и в конгломератах [9].

В проведенных нами опытах установлены различия как во времени образования первых конгломератов *Y. pestis* после инфицирования блох, так и в их визуализируемой форме («глыбки» или «блоки»). Так, у *X. cheopis* — высокоактивного переносчика — штаммы, имеющие плазмиду рТР33 (И-2638 и И-3480), формировали «блоки» желудка уже при первой подкормке после заражения блох (на вторые сутки), а бактериальные «глыбки» — после второй подкормки

(на пятые сутки). В то время как трехплазмидный штамм, не несущий эту плазмиду, формировал сначала «глыбки» на пятые сутки, а затем «блоки», причем только на 11 сутки после инфицирования. У активного переносчика *C. tesquorum*, инфицированных штаммами И-2638 и И-3480, формирование первых «глыбок» зарегистрировано при первой подкормке, а «блоков» — при третьей (И-3480) и пятой (И-2638) подкормках. Образование первых бактериальных «глыбок» штаммом И-3230 отмечено после второй подкормки, «блоков» после пятой (16 сутки). У малоактивного переносчика *F. luculenta* все исследуемые штаммы формировали «глыбки» с первой подкормки до конца опыта. Блокированные блохи выявлены только в двух случаях в конце опыта: при инфицировании штаммами И-2638 и И-3480 (по одному самцу на 29 и 25 сутки). Результаты наблюдений за формированием конгломератов (био пленки) *Y. pestis* с различным плазмидным составом в организме блох трех видов, полученные в наших опытах, отражены в табл. 1. Приведены данные визуальной регистрации конгломератов различных форм при просмотре блох после подкормки, из которых следует, что самые низкие показатели частоты формирования био пленки всех регистрируемых образований отмечали у блох, инфицированных трехплазмидным штаммом И-3230.

В то же время, у всех трех видов блох заражение штаммами возбудителя, имеющими дополнительную плазмиду рТР33 (И-2638 и И-3480), приводило к увеличению количества особей с различными формами био пленки по сравнению с трехплазмидным штаммом. Причем у *X. cheopis* это происходило за счет блокированных насекомых, у *C. tesquorum*, в первую очередь, было связано с нарастанием количества блох, содержавших компактные свободноплавающие «глыбки» и, в меньшей степени, блокированных блох, у *F. luculenta* определялось полностью эктопаразитами с «глыбками» возбудителя. Представляет интерес, что изогенный мутантный вариант штамма *Y. pestis* И-3480, утративший две плазмиды (pCad, pPst), в условиях опыта по способности формировать био пленку у блох либо не отличался (*X. cheopis*, *F. luculenta*) от полноценного штамма И-2638, имеющего четыре плазмиды (pCad, pPst, pFra, pТР33), либо отличался (*C. tesquorum*), но значительно

Таблица 1. Формирование конгломератов *Y. pestis* с различным плазмидным составом в организме блох трех видов

Вид блохи	Штамм <i>Y. pestis</i>	Доля блох в среднем за подкормку с конгломератами <i>Y. pestis</i> , %			
		«блоками»	частичными «блоками»	«глыбками»	конгломератами всех форм
<i>X. cheopis</i>	И-2638	5,4±1,78	5,9±0,94	3,1±0,73	14,3±2,85
	И-3480	7,8±1,91	6,0±1,13	3,8±0,66	17,5±2,61
	И-3230	<b>1,7±0,66</b>	<b>0,8±0,28</b>	8,9±4,18	<b>11,4±4,52</b>
<i>C. tesquorum</i>	И-2638	0,8±0,43	1,6±0,76	44,4±4,64	46,8±5,35
	И-3480	0,2±0,16	0,2±0,17	22,1±3,44	22,6±3,51
	И-3230	<b>0,3±0,31</b>	<b>0,2±0,16</b>	<b>7,0±1,63</b>	<b>7,4±1,77</b>
<i>F. luculenta</i>	И-2638	—	0,2±0,19	18,0±1,78	19,3±1,22
	И-3480	0,1±0,13	—	28,2±2,15	28,5±2,17
	И-3230	—	—	<b>6,9±1,02</b>	<b>6,9±1,02</b>

Примечание. Жирным шрифтом выделены самые низкие показатели частоты формирования конгломератов в организме данного вида блохи.

меньше, чем трехплазмидный штамм. Необходимо добавить, что формирование биопленки разными штаммами у блох *F. luculenta* характеризовалось не только количественными, но и качественными различиями. Агрегаты, образованные штаммами, содержащими плазмиду рТР33, достигали очень крупных размеров, представляя по сути слепок с преджелудка и желудка блохи до подкормки. Скорее всего, разросшаяся биопленка в таких случаях сохраняется в блохе пожизненно, поскольку ее размеры не позволяют пройти из желудка в кишечник. У насекомых, инфицированных трехплазмидным штаммом, как правило, наблюдали небольшие одиночные образования. Таким образом, присутствие плазмиды рТР33 усиливало формирование биопленки *in vivo* вне зависимости от активности вида блох как переносчика.

Двухфакторный дисперсионный анализ показал значительное влияние на формирование конгломератов всех форм («глыбки», частичные и полные «блоки» преджелудка) факторов: «штамм» ( $F=10,44$ ;  $P<0,001$ ) и «вид блохи» ( $F=27,65$ ;  $P<0,001$ ), а также их взаимодействие ( $F=12,33$ ;  $P<0,001$ ). То есть взаимодействие каждого штамма с определенным видом блохи имеет свои особенности. В табл. 2 приведены результаты двухфакторного дисперсионного анализа, свидетельствующие о высокой степени достоверности влияния обоих анализируемых факторов (вид блохи, штамм *Y. pestis*) на образование всех форм биопленки в организме блох. При этом наиболее высока достоверность влияния двух факторов на формирование бактериальных «глыбок» и частичных «блоков», в то время как на блокообразование (полных «блоков») фактор «вид блохи» оказывал даже большее влияние, чем фактор «штамм».

У инфицированных блох, различающихся по векторной активности, наблюдали прямо противоположную картину в частоте формирования «глыбок» и «блоков». Так, у высокоактивных переносчиков — *X. cheopis* — показатель частоты блокообразования при заражении штаммами И-2638 и И-3480 (несущими плазмиду рТР33) выше, чем показатель частоты формирования «глыбок». В то время как у тех же блох, зараженных трехплазмидным штаммом И-3230, выше частота формирования «глыбок». У *S. tesquorum* — активного переносчика — «глыбки» формировались значительно чаще «блоков», что показано при заражении всеми тремя штаммами. У *F. luculenta* — малоактивного переносчика — все три штамма формировали в основном «глыбки». Отмечены только единичные случаи «блокообразования», причем среди блох, зараженных штаммами, имеющими плазмиду рТР33 (табл. 1).

Считается, что способность формировать биопленку в преджелудке блохи является решающей для долговременной энзоотичной персистенции *Y. pestis* [Eisen R.J., Gage K.L., 2009]. В то же время, для длительной персистенции не-

Таблица 2. Влияние вида блохи и штамма *Y. pestis* на формирование биопленки *in vivo* (двухфакторный дисперсионный анализ)

Источник вариации	«глыбки»			частичные «блоки»			полные «блоки»		
	df	MS	F	df	MS	F	df	MS	F
Вид блохи	2	2512,06	39,73***	2	122,48	47,55***	2	160,52	21,24***
Штамм	2	1373,35	21,72***	2	32,90	12,77***	2	30,33	4,02*
Взаимодействие	4	1367,81	21,63***	4	21,13	8,20***	4	28,37	3,75**
Случайная	63	63,23		63	2,58		63	7,56	
	71			71			71		

Примечание. \*  $P<0,05$ ; \*\*  $P<0,01$ ; \*\*\*  $P<0,001$ .

маловажным фактором может служить и жизнедеятельность инфицированных блох (способность питаться и продолжительность жизни). В этой связи, мы провели анализ влияния штамма *Y. pestis*, использованного для заражения блох, на их гибель (табл. 3).

Из приведенных в табл. 3 данных видно, что доля погибших за подкормку *X. cheopis* и *C. tesquorum* была выше среди эктопаразитов, инфицированных штаммом И-3230, а *F. luculenta* — И-2638. Такая тенденция отмечена как среди самок, так и среди самцов. Аналогичные результаты получены при разных

способах учета смертности блох. Так, погибших за весь опыт в целом особей *X. cheopis* и *C. tesquorum* было также больше среди инфицированных И-3230 (30,8% ♀ и 51,9% ♂ для *X. cheopis*; 45,9% ♀ и 88,6% ♂ для *C. tesquorum*). В то время, как у *F. luculenta* большее количество погибших зарегистрировано у зараженных четырехплазмидным штаммом И-2638 (24,7% ♀ и 90,6% ♂). Таким образом, возбудитель чумы с различным плазмидным составом в неодинаковой степени подавлял жизнеспособность видов блох, использованных в опытах. Различия в смертности переносчиков, зараженных анализируемыми штаммами микроба, высоко достоверны. У *X. cheopis*, зараженных штаммом И-3230, выявлено большее количество погибших особей по сравнению как со штаммом И-2638 ( $t=3,83$ ;  $P<0,001$ ), так и И-3480 ( $t=5,34$ ;  $P<0,001$ ). У *C. tesquorum*, зараженных трехплазмидным штаммом И-3230, гибель блох также была значительно выше, по сравнению с двумя другими штаммами ( $t=3,73$ ,  $P<0,001$  для штамма И-2638;  $t=3,29$ ,  $P<0,001$  для штамма И-3480). У *F. luculenta* отмечена более высокая смертность особей обоего пола при заражении четырехплазмидным штаммом И-2638, по сравнению с инфицированными *Y. pestis* И-3230 ( $t=2,32$ ;  $P<0,05$ ). При сравнении со штаммом И-3480 по анализируемому показателю И-2638 вызывал гибель преимущественно самцов ( $t=2,49$ ;  $P<0,05$ ), у самок различия недостоверны.

Возможное патогенное действие возбудителя чумы на членистоногих, в организм которых он может попадать при кровососании, неоднократно обсуждалось в специальных монографиях [4, 5, 8]. В целом ряде экспериментальных работ выявлено значительное сокращение сроков жизни у инфицированных *Y. pestis*, но не заблокированных блох [5]. При этом прослеживается прямая связь между степенью вирулентностью штаммов *Y. pestis* для лабораторных животных и патогенностью для разных видов блох. Нами установлено влияние фактора «штамм» на смертность инфицированных блох всех использованных в опытах видов, однако действие одного и того же штамма на разные виды различалось. В опытах с классическим переносчиком *X. cheopis* и *Y. pestis* И-2638 и И-3480 не установлено различий в смертности особей, зараженных этими штаммами [6]. Сходные результаты получены и в опытах других авторов [13], использовавших тот же вид блох и изогенные варианты

Таблица 3. Смертность блох трех видов, инфицированных *Y. pestis* с различным плазмидным составом

Вид блохи	Штамм <i>Y. pestis</i>	Доля погибших в среднем за подкормку блох, %		
		♀	♂	оба пола
<i>X. cheopis</i>	И-2638	1,6±0,52	5,6±1,13	2,5±0,43
	И-3480	0,9±0,26	3,5±1,18	1,6±0,24
	И-3230	<b>4,6±1,22</b>	<b>8,5±2,59</b>	<b>5,4±1,35</b>
<i>C. tesquorum</i>	И-2638	4,2±1,01	10,7±2,70	6,1±0,88
	И-3480	4,6±1,47	9,4±1,77	6,5±1,30
	И-3230	<b>6,9±3,41</b>	<b>21,5±6,52</b>	<b>10,7±3,76</b>
<i>F. luculenta</i>	И-2638	<b>3,9±0,79</b>	<b>11,3±2,12</b>	<b>6,8±0,83</b>
	И-3480	2,5±0,92	8,4±2,31	4,7±0,86
	И-3230	2,5±0,98	7,5±1,87	4,3±0,71

Примечание. Жирным шрифтом выделены самые высокие показатели смертности блох данного вида.

штаммов 195/P и KIM, различающиеся по плазмидному профилю. В то же время, средняя доля погибших за подкормку *X. cheopis*, зараженных трехплазмидным штаммом И-3230, была выше, чем инфицированных двумя другими штаммами. Смертность зараженных самок *F. luculenta* не зависела от использованного штамма и подчинялась общей закономерности: более высокая в первые подкормки, во второй половине опыта снижалась в 1,5 — 2 раза. Самцы *F. luculenta*, инфицированные четырехплазмидным штаммом, погибли почти все. Лучше имаго данного вида переносили сосуществование с классическим трехплазмидным штаммом. Менее всего ухудшало состояние блох присутствие в них дефектного по плазмидам вирулентности и пестициногенности варианта, сохранившего, тем не менее, плазмиду рTP33. В то время как более высокая смертность среди *C. tesquorum*, наоборот, отмечена в группе особей, зараженных штаммом И-3230 из Монголии.

Таким образом, обнаружено, что штаммы *Y. pestis*, обладавшие дополнительным репликоном рTP33, образовывали биопленку у зараженных насекомых чаще и большего размера, чем штамм классического трехплазмидного варианта. Более крупная биопленка означает повышенную бактериальную нагрузку как в числе микробных клеток, так и в дозе вырабатываемых ими метаболитов. Учитывая многочисленные данные о негативном влиянии *Y. pestis* на организм блох-переносчиков, логично ожидать, что присутствие именно этих штаммов будет иметь наиболее выраженные отрицательные последствия для эктопаразитов. Однако не наблюдалось закономерной связи между плазмидным составом штаммов и смертностью зараженных ими блох: *F. luculenta*, происходившие из Забайкалья, чаще гибли при инфицировании четырехплазмидным штаммом из Тувы, а *C. tesquorum* из Тувинского природного очага — от трехплазмидного штамма из Хэнтейского аймака Монголии, граничащего с Забайкальским краем Российской Федерации. Ранее на примере блох двух видов и возбудителя чумы из Тувинского природного очага было показано, что частота образования биопленки выше в том случае, если штамм выделен с той же территории, что и популяция переносчика [2]. По-видимому, смертность блох имеет обратную зависимость: чем ближе территориально возбудитель, тем менее он вредоносен для насекомого.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Афанасьев М.В., Балахонов С.В., Токмакова Е.Г., Половинкина В.С., Сидорова Е.А., Синьков В.В. Анализ нуклеотидной последовательности криптической плазмиды рTP33 *Yersinia pestis* из Тувинского природного очага чумы. Генетика. 2016, 9: 1012-1020.
2. Базанова Л.П., Вержуцкий Д.Б., Никитин А.Я., Токмакова Е.Г., Воронова Г.А., Хабаров А.В. Особенности взаимоотношений возбудителя чумы и блох с различных участков Тувинского природного очага. Мед. паразитол. 2006, 3: 35-38.
3. Балахонов С.В. Результаты скрининга плазмид штаммов *Yersinia pestis* из разных очагов центрально-азиатской зоны природной очаговости чумы. Молекуляр. генетика, микробиол. и вирусол. 1989, 4: 39-42.
4. Бибилова В.А., Класовский Л.Н. Передача чумы блохами. М., Медицина, 1974.
5. Вашенок В.С. Блохи (Siphonaptera) — переносчики возбудителей болезней человека и животных. Л., Наука, 1988.
6. Воронова Г.А., Токмакова Е.Г., Балахонов С.В., Базанова Л.П. Взаимоотношения штаммов чумного микроба с различным плазмидным составом и блох *Xenopsylla cheopis* (Roths. 1903). Мед. паразитол. 2011, 2: 15-18.

7. Елисеева И.И., Юзбашев М.М. Общая теория статистики. М., Финансы и статистика, 2006.
8. Кутырев В.В., Коннов Н.П., Волков Ю.П. Возбудитель чумы: ультраструктура и локализация в переносчике. М., Медицина, 2007.
9. Маевский М.П., Базанова Л.П., Конов Н.П., Капустин Ю.М., Сахаров С.В. Изменчивость *Yersinia pestis* в организме блохи. Журн. микробиол. 1994, 3: 16-21.
10. Оглодин Е.Г., Ерошенко Г.А., Куклева Л.М., Одинокоев Г.Н., Гусева Н.П., Бугоркова С.А., Кутырев В.В. Структурно-функциональный анализ криптических плазмид штаммов *Yersinia pestis* из двух природных очагов чумы России. Проблемы особо опасн. инф. 2015, 4: 82-85.
11. Токмакова Е.Г., Базанова Л.П., Воронова Г.А., Балахонов С.В. Особенности взаимоотношений блохи *Frontopsylla luculenta luculenta* (J. et R., 1923) и возбудителя чумы с различным плазмидным составом. Мед. паразитол. 2016, 1: 38-41.
12. Jarrett C.O., Deak E., Isherwood K.E. et al. Transmission of *Yersinia pestis* from an infectious biofilm in the flea vector. Infect. Dis. 2004, 190: 783-792.
13. Hinnebusch B.J., Ficher E.R., Schwan T.G. Evaluation of the role *Yersinia pestis* plasminogen activator and other plasmid-encoded factors in temperature-dependent blockage of the flea. J. Infect. Dis. 1998, 178: 1406-1415.

Поступила 27.07.17

Контактная информация: Базанова Любовь Петровна, д.б.н., 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78, р.т. (3952) 23-99-76

## КРАТКОЕ СООБЩЕНИЕ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

*О.В.Дуванова, Б.Н.Мишанькин, С.В.Титова, Л.А.Корнеева*

### **ДЕЙСТВИЕ N-АЦЕТИЛ-L-ЦИСТЕИНА НА БИОПЛЕНКИ ХОЛЕРНОГО ВИБРИОНА**

Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт

*Цель.* Изучить действие N-ацетил-L-цистеина на биопленки холерных вибрионов разных серогрупп, выделенных из различных источников и с разной эпидемической значимостью (наличие/отсутствие генов *ctxAB* и *tcpA*). *Материалы и методы.* Бактериальные культуры *Vibrio cholerae* El Tor O1 и O139 серогрупп выращивали в виде биопленок. Оценивали влияние препарата N-ацетил-L-цистеина в концентрации 0.5 — 4 мг/мл на формирование, сформированную биопленку, а также на планктонную форму. *Результаты.* Обнаружена антибактериальная активность N-ацетил-L-цистеина. Отмечено, что он влиял как на формирование, так и на уже сформированные биопленки, а также на планктонную форму у представителей *Vibrio cholerae* El Tor O1 и O139 серогрупп в концентрации 2 — 4 мг/мл, проявляя антибактериальный эффект независимо от наличия/отсутствия генов *ctxAB* и *tcpA*. *Заключение.* Выявленное антибактериальное действие препарата N-ацетил-L-цистеина в отношении биопленок холерных вибрионов указывает на целесообразность рассмотрения вопроса о возможности использования препарата в терапии случаев диареогенных заболеваний, обусловленных возбудителями II — IV групп патогенности.

Журн. микробиол., 2018, № 2, С. 83—87

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, штамм, N-ацетил-L-цистеин