

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

THE EFFECT OF N-ACETYL-L-CYSTEINE ON BIOFILM OF *VIBRIO CHOLERA*

Rostov-on-Don Research Institute for Plague Control, Russia

Aim. To study the effect of N-acetyl-L-cysteine on biofilm of *V. cholerae* of different serogroups isolated from various sources and with different epidemiological significance (the presence/absence of the ctx AB genes and tcpA). *Materials and methods.* Bacterial culture of *Vibrio cholerae* El Tor O1 and O139 serogroups were grown as biofilms. We have estimated the influence of the drug N-acetyl-L-cysteine at a concentration of 0.5 — 4 mg/ml on the formation, of the formed biofilm and in planktonic form. *Results.* Discovered antibacterial activity of N-acetyl-L-cysteine. Noted that it was influenced as in the formation, of the already formed biofilm and the planktonic form, the representatives of the *Vibrio cholerae* El Tor O1 and O139 serogroups in concentrations of 2 — 4 mg/ml, showing an antibacterial effect regardless of the presence/absence of genes ctx and tcpA AB. *Conclusion.* Identified the antibacterial action of the drug N-acetyl-L-cysteine against biofilm of *V. cholerae* indicates the desirability of considering the possibility of using drug therapy in cases variety of diseases caused by causative agents II — IV groups pathogenicity.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No 2, P. 83—87

Key words: *Vibrio cholerae*, strain, N-acetyl-L-cysteine

В настоящее время в России и во всем мире продолжается активный поиск лекарственных средств с высоким потенциалом воздействия на биопленки микроорганизмов. Это объясняется тем, что растущие в составе биопленки бактерии проявляют высокую устойчивость к антибиотикам и дезсредствам, создавая серьезные проблемы для здравоохранения. Стандартная терапия антибиотиками часто неэффективна, что диктует необходимость апробации новых средств, проявляющих активность в отношении биопленок, особенно патогенных микроорганизмов. Актуальным является не только разработка новых фармацевтических препаратов, но и анализ и возможность использования давно известных и хорошо себя зарекомендовавших на практике препаратов, имеющих невысокую себестоимость, доступность, расшифрованный механизм действия и возможность производства в России.

Так, на основании многочисленных экспериментальных и клинических исследований стало известно, что N-ацетил-L-цистеин (АЦЦ) ($C_5H_9NO_3S$) — ацилированная тиолсодержащая аминокислота, являющаяся одновременно предшественником L-цистеина и глутатиона, широко применяется в различных областях медицины. Препарат представлен на отечественном фармацевтическом рынке и издавна используется в качестве муколитического агента для лечения хронических заболеваний легких. Применяется он также внутривенно в виде 20% раствора в качестве антидота при отравлении парацетамолом [8], может конкурентно ингибировать утилизацию цистеина, реагировать через свою SH-группу с мембранами бактерий и подавлять у них синтез полисахарида, не влияя при этом на его структуру, замедлять образование биопленки у бактерий [5]. Обладает выраженным антиоксидантным действием, способен восстанавливать уровень клеточного глутатиона, используется при воспалениях (панкреатиты), фиброзе легких, нарушениях эндотелия сосудов, сохранении трансплантантов, а также лечении гастритов, вызванных *Helicobacter pylori* [6]. В настоящее время обсуждается применение ацетилцистеина при поражении почек, ишемической болезни сердца, ВИЧ-инфекции и других заболеваниях. Механизм его действия основан на разрыве

дисульфидных (-S-S-) связей высокомолекулярных гликопротеинов слизи, что сопровождается уменьшением вязкости. Антибактериальные свойства N-ацетил-L-цистеина характеризуются высокими значениями минимальных подавляющих концентраций (МПК), достигающих до 5 — 80 мг/мл [5], хотя имеются отдельные сообщения о повышенной чувствительности штаммов, например, псевдомонад до уровня 2 — 20 мкг/мл [7]. Низкая токсичность препарата (ЛД₅₀ для крыс при оральном применении составляет более 5 г/кг), а также хорошая переносимость позволяют длительно использовать его в высоких концентрациях и разных способах введения при лечении различных заболеваний. Как было установлено в последнее время в экспериментальных и клинических исследованиях, препарат обладает способностью уменьшать адгезию некоторых возбудителей к слизистым оболочкам, а также оказывает прямое разрушающее воздействие на внеклеточный матрикс, что позволяет рассматривать N-ацетил-L-цистеин в терапии инфекций, связанных с образованием биопленок [1]. Потенциал действия АЦЦ к настоящему времени остается не до конца изученным. Данные о влиянии N-ацетил-L-цистеина на биопленки холерных вибрионов в литературе отсутствуют. Учитывая способность препарата подавлять образование биопленок на примере *Pseudomonas aeruginosa* [10], мы провели исследование чувствительности к нему биопленок штаммов *Vibrio cholerae* O1 и O139 серогрупп.

Цель исследования состояла в изучении действия 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*).

При выполнении исследований использовали разные группы штаммов: 4 штамма *V. cholerae* O1 Эль Тор (*ctx+* *tcp+*), 4 дефектных по синтезу токсина и токсинорегулируемых пилей штаммов ($\Delta ctx\Delta tcp$), выделенных из воды поверхностных водоемов, 8 штаммов *V. cholerae* O139 серогруппы, из которых 4 (*ctx+* *tcp+*) были выделены из клинического материала, а 4 атоксигенных ($\Delta ctx\Delta tcp$) — из проб воды поверхностных водоемов. Штаммы получали из музея живых культур Ростовского НИПЧИ, где их хранили в лиофилизированном состоянии.

В работе использовали препарат N-ацетил-L-цистеина (BioChemica, Россия). Для культивирования микроорганизмов использовали агар Мартена (рН 7.6). Получение биопленок холерных вибрионов проводили способом, описанным ранее [3]. Действие препарата N-ацетил-L-цистеина (0.5 — 4 мг/мл) анализировали по его влиянию на этапы формирования биопленки, на уже сформированные 5 — 30-суточные биопленки и планктонную культуру. Инкубацию с препаратом проводили при 20°C. Через 0, 1, 3, 6, 24, 48 часов, 5 — 14 суток инкубации осуществляли высев планктонной культуры и биопленок на пластинки агара Мартена (рН 7.7). Результаты учитывали через 24 часа по наличию или отсутствию роста холерных вибрионов.

В результате проведенного исследования обнаружено, что препарат АЦЦ влиял как на формирование, 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* (срок наблюдения до 30 дней). Концентрация АЦЦ 0.5 мг/мл не действовала на планктонную форму, формирование и на сформированную биопленку. N-ацетил-L-цистеин в концентрации 2 — 4 мг/мл влиял на планктонную и зрелые 5 — 7-суточные

био пленки, проявляя антибактериальный эффект в экспериментах *in vitro* у представителей *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп уже через 3 часа после добавления независимо от объектов выделения, наличия или отсутствия генов *ctxA* и *tcpA*. Следует отметить, что антибактериальный эффект исследуемый препарат оказывал на планктонную культуру и сформированную 30-суточную био пленку в концентрациях 4 мг/мл у штаммов *V. cholerae* O139 серогруппы (*ctx+* *tcp+*/Δ*ctx*Δ*tcp*). В ходе исследования не удалось обнаружить штаммы, образующие нечувствительную к АЦЦ био пленку.

Обнаружение в ходе проведенного исследования способности препарата АЦЦ оказывать антибактериальный эффект на формирование, зрелую био пленку, а также на планктонную форму у всех взятых в исследование штаммов *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп, с разной эпидемической значимостью и выделенных из различных источников расширяет наши представления о механизме его действия. Выявленная активность N-ацетил-L-цистеина в отношении био пленок холерных вибрионов указывает на целесообразность рассмотрения вопроса об использовании препарата в терапии случаев диареегенных заболеваний, обусловленных возбудителями II — IV групп патогенности.

N-ацетил-L-цистеин относится к лекарственным средствам, интерес к которым со временем не только не ослабевает, но и усиливается, так как открываются все новые области и возможности его применения.

Отсутствие в доступной литературе сведений по влиянию АЦЦ на био пленки холерного вибриона диктует целесообразность дальнейшего изучения действия этого препарата.

В связи с низкой себестоимостью и доступностью на отечественном фармацевтическом рынке, возможностью его производства в России и всё увеличивающимся спектром показаний к применению данного препарата в комплексе с его низкой токсичностью и хорошей переносимостью, а также в выявленном антибактериальном действии на био пленку холерного вибриона позволяет позиционировать N-ацетил-L-цистеин в терапии случаев диареегенных заболеваний, обусловленных возбудителями II — IV групп патогенности. Нельзя исключить и возможность N-ацетил-L-цистеина подавлять биологическую активность *ctxA* и *ctxB*-субъединиц, а также *zot*-токсина, токсинов-корегулируемых пилей и гемагглютинин/протеазы (НА/Р) холерных вибрионов, несущих в своем составе от 2 до 4 остатков цистеина, на которые и оказывает свое действие препарат. Наличие у многих бактериальных ферментов остатков цистеина объясняет возможные точки приложения N-ацетил-L-цистеина в ингибировании ряда ферментов патогенности и персистенции холерных вибрионов и других микроорганизмов.

Современные представления о роли био пленок в патогенезе инфекционных заболеваний требуют новых подходов к их диагностике и лечению. В настоящее время ведется разработка и изменение тактики антибиотикотерапии. Изучается действие новых антибактериальных препаратов на био пленки с расшифровкой механизма их действия [2].

Нельзя не согласиться с мнением Ушкаловой Е.А. [4] о том, что исследования N-ацетил-L-цистеина могут в перспективе значительно расширить показания к его применению, а проведенное изучение его влияния на био пленки, в составе которых микроб приобретает свою гиперинфекционность [9], поможет решить ряд задач практического здравоохранения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Голуб А.В. Бактериальные биопленки — новая цель терапии? *Клин. микробиол. и анти-микроб. химиотер.* 2012, 1: 23-29.
2. Селянская Н.А., Титова С.В., Головин С.Н. и др. Действие антибактериальных препаратов на биопленки холерных вибрионов Эль Тор. *Журн. микробиол.* 2017, 2: 8-15.
3. Титова С.В., Кушнарева Е.В. Оценка способности холерных вибрионов к образованию биопленок in vitro с помощью нового методического подхода. *Фундаментальные исследования.* 2014, 10: 375-379.
4. Ушкалова Е. А. Ацетилцистеин в клинической практике: настоящее и перспективы. *Фармацевтика.* 2007, 17: 30-36.
5. Aslam S., Darouiche R.O. Role of antibiofilm — antimicrobial agents in control of device — related infections. *Int. J. Artif. Organs.* 2011, 34 (9): 752-758.
6. Huynh H.Q., Couper R.T., Tran C.D. et al. N-acetylcysteine, a novel treatment for *Helicobacter pylori* infection. *Dig. Dis. Sci.* 2004, 49: 1853-1861.
7. Parry M.F., Neu H.C. Effect of N-acetylcysteine on antibiotic activity and bacterial growth in vitro. *J. Clin. Microbiol.* 1977, 5 (1): 58 —61.
8. Prescott L.F., Illingworth R.N., Critchley J.A. et al. Intravenous N-acetylcystein : the treatment of choice for paracetamol poisoning. *Brithish Med. J.* 1979, 2: 1097-1100.
9. Tamayo R., Patimalla B., Camilli A. Growth in a biofilm induces a hyperinfectious phenotype in *Vibrio cholerae*. *Infect. Immun.* 2010, 78 (8): 3560-3569.
10. Zhao T., Liu Y. N-acetylcystein inhibit biofilms produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 2010, 10: 140.

Поступила 12.09.17

Контактная информация: Дуванова Ольга Викторовна, к.б.н., 344002, Ростов-на дону, ул. Горького, 117/40, р.т. (8863)240-91-13

ОБЗОРЫ

© Т.А.СЕМЕНЕНКО, В.Г.АКИМКИН, 2018

Т.А.Семененко¹, В.Г.Акимкин²

СЕРОЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В СИСТЕМЕ НАДЗОРА ЗА ВАКЦИНОУПРАВЛЯЕМЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

¹Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи, ²Центральный НИИ эпидемиологии, Москва

Сероэпидемиологические исследования, основанные на оценке превалентности антител в популяции, являются мощным инструментом для прогнозирования и контроля эффективности программ специфической профилактики. Наличие паспортизированной коллекции сывороток крови (банка сывороток) позволяет проводить достоверную оценку состояния популяционного иммунитета к вакциноуправляемым инфекциям; определять степень эпидемиологической опасности распространения заболеваний на отдельных территориях страны; осуществлять краткосрочное и долгосрочное прогнозирование изменения ситуации по актуальным инфекциям; научно обосновывать профилактические и противоэпидемические мероприятия в системе биологической безопасности для определенных групп населения и декретированных контингентов; обеспечивать информацией, необходимой для принятия оптимальных управленческих решений.

Журн. микробиол., 2018, № 2, С. 87—94

Ключевые слова: сероэпидемиологические исследования, банк сывороток, надзор, вакциноуправляемые инфекции