

УДК 576.809.7

ФАКТОРЫ ПЕРСИСТЕНЦИИ STAPHYLOCOCCUS AUREUS ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ПРЕПАРАТОВ ИНДУКТОРОВ ЭНДОГЕННОГО ИНТЕРФЕРОНА

Киргизова С.Б.*Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН,
Оренбург, e-mail: infosector@mail.ru*

Изучено влияние препаратов индукторов интерферона: «Полудан» и «Циклоферон» на персистентные свойства *Staphylococcus aureus*. Микроорганизмы инкубировали с препаратами ежедневно в течение 12 дней. Выделение бактерий осуществляли путем посева на питательную среду. Антилизозимную и антикарнозиновую активности изучали фотометрическим методом. Выявлено воздействие индукторов интерферона (полудан, циклоферон) на персистентный потенциал условно-патогенных микроорганизмов. Установлено, что биологически активные вещества, в терапевтических концентрациях оказывают угнетающее действие на антилизозимную и антикарнозиновую активности микроорганизмов. Отмечено снижение персистентного потенциала в среднем на $57,9 \pm 9,0\%$ – $74,6 \pm 7,9\%$ от исходного уровня показателей. Полученные данные показывают, что область применения препаратов индукторов интерферона можно значительно расширить, используя их как для подавления персистентного потенциала патогенов, так и для коррекции дисбиотических нарушений в микробиоценозах тела человека.

Ключевые слова: иммуномодуляторы, индукторы интерферона, факторы персистенции, *Staphylococcus aureus*

THE PERSISTENCE FACTORS OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS UNDER THE INFLUENCE DRUGS INDUCTORS OF ENDOGENOUS INTERFERON

Kirgizova S.B.*Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UrB RAS, Orenburg, e-mail: infosector@mail.ru*

The influence of drugs interferon inductors – «Poludan» and «Cycloferon» on the properties of persistent *S. aureus* was studied. Microorganisms were incubated with the drug daily for 12 days. Isolation of bacteria was carried out by sieving on a nutrient medium. Antilysozyme and anticarnosine activity was studied by the photometric method. The action of interferon inductors (poludan, cycloferon) on persistence potential opportunistic microorganisms was revealed. It is established that the biologically active substances in therapeutic concentrations, have a depressing effect on the antilysozyme and anticarnosine activity of microorganisms. Decreased persistence capacity by an average of $57,9 \pm 9,0\%$ – $74,6 \pm 7,9\%$ of the baseline indicator. Obtained data show that the region of interferon inducers drugs can be greatly expanded, using them as to suppress the persistence potential pathogens and for the correction of microbiocenosis.

Keywords: immunomodulators, interferon inducers, persistence factors, *Staphylococcus aureus*

Среди наиболее интенсивно разрабатываемых в последние годы лекарственных средств противовирусные препараты занимают одно из первых мест, при этом особую значимость приобретают препараты, влияющие на механизмы естественного (врожденного) иммунитета (интерфероны и их индукторы). Главной особенностью препаратов является широкий спектр биологической активности, выявленный в процессе многолетнего клинического применения, но если механизм действия на макроорганизм подробно описан [6, 7], то характер их влияния на биологические свойства бактериальных патогенов изучен недостаточно.

Имеются лишь единичные сведения о влиянии препаратов-иммуномодуляторов, в том числе индукторов интерферона на биологические свойства патогенных и условно-патогенных микроорганизмов [4, 8].

Staphylococcus aureus обладает высокой этиологической значимостью в патологии человека и является причиной дисбиотических изменений в микробиоценозах верхних дыхательных путей [3]. Известно, что

S. aureus благодаря наличию набора биологических, в частности персистентных свойств, способен колонизировать слизистые оболочки носовой полости, что может способствовать развитию ряда гнойно-воспалительных заболеваний различной локализации [5].

В связи с вышесказанным, нами была предпринята попытка оценить способность препаратов индукторов эндогенного интерферона оказывать влияние на факторы персистенции *Staphylococcus aureus*.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования послужил *Staphylococcus aureus* (коллекция ИКВС УрО РАН), выделенный из переднего отдела носовой полости стафилококкового бактерионосителя и обладающий уровнем выраженности антилизозимной активности – $2,47$ мкг/мл×ОП и антикарнозиновой активности – $2,79$ мг/мл. Выделение и идентификацию *S. aureus* проводили общепринятыми методами на основании морфологических, тинкториальных, культуральных свойств [9]; биохимический профиль оценивали с помощью тест-систем «STAPHYtest» фирмы LACHEMA (Чехия).

В работе были использованы коммерческие препараты индукторы эндогенного интерферона: «Полудан» – синтетический высокомолекулярный индуктор интерферона, состоящий из двунитового комплекса полиадениловой и полиуридилловой кислоты, индуцирующий синтез ИНФ- α и β типов (лиофилизат для приготовления назальных капель с концентрация 20 ЕД/мл), «Циклоферон» – синтетический низкомолекулярный индуктор интерферона, индуцирующий синтез ИНФ- α (раствор для инъекций 125 мг/мл доведенный изотоническим раствором хлорида натрия до концентрации 50 мг/мл).

В связи с тем, что индукторы интерферона способны индуцировать в организме человека эндогенный интерферон, представляло интерес сравнить их действие с влиянием на персистентные свойства бактерий препарата экзогенного интерферона. В качестве препарата сравнения был взят «Гриппферон» – рекомбинантный экзогенный ИНФ- α -2b (назальные капли с концентрацией 10 000 МЕ/мл).

Антимикробный эффект препаратов изучали в описанных ранее концентрациях, применяемых для терапии вирусных и бактериальных инфекций, с использованием тест-культуры: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P (из музея патогенных и условно патогенных культур при Государственном научно – исследовательском институте стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А. Тарасевича). В чашки Петри разливали 1,5% питательный агар (НПО «Питательные среды», Махачкала) с добавлением 0,1 мл взвеси тест-культуры в концентрации $1 \cdot 10^9$ КОЕ/мл. В толще агара делали лунки диаметром от 6 до 8 мм, в которые вносили 0,1 мл испытуемых препаратов. В качестве контроля использовали изотонический раствор хлорида натрия. Затем чашки инкубировали при температуре 37°C в течение 16–18 ч. Оценку влияния препаратов на бактерии проводили путем сравнения опытных и контрольных лунок на наличие зон угнетения роста тест-культуры. При отсутствии антимикробного действия препарата вокруг контрольных и опытных лунок наблюдался рост стафилококка.

Антилизоцимную и антикарнозиновую активности изучали фотометрическим методом [2].

Для оценки влияния лекарственных веществ на антилизоцимную и антикарнозиновую активности бактерий ежедневно в течение 12 дней проводили соинкубирование взвеси *S. aureus* с препаратами в условиях шейкер-инкубатора при 37°C – 60 минут. Затем смесь центрифугировали при 3000 оборотов в минуту, после чего двукратно отмывали клетки физиологическим раствором и засеивали на 1,5% мясо-пептонный агар. Чашки инкубировали при температуре 37°C в течение 16–18 ч с последующим определением у 20 изолятов персистентных свойств. В качестве контроля вместо препаратов использовали изотонический раствор хлорида натрия.

Все эксперименты проводили в двух сериях при трехкратном воспроизведении. Полученные результаты обрабатывали с использованием t-критерия Фишера-Стьюдента и представляли в виде средней арифметической и ее ошибки ($M \pm m$).

Результаты исследования и их обсуждение

При изучении антимикробной активности препаратов в используемых концен-

трациях установлено, что они не обладали бактерицидным и бактериостатическим действием, о чем свидетельствовало отсутствие разницы в росте стафилококка вокруг контрольных и опытных лунок.

Тестирование воздействия лекарственных веществ на распространенность антилизоцимной и антикарнозиновой активности у изолятов *S. aureus* показало, что препарат полудан *in vitro* оказывал ингибирующее влияние на антилизоцимную и антикарнозиновую активности у $15,0 \pm 4,3\%$ изолятов золотистого стафилококка. Циклоферон подавлял персистентные свойства: антилизоцимную активность у $15,0 \pm 4,3\%$, а антикарнозиновую – у $30,0 \pm 8,6\%$ штаммов. Препарат экзогенного интерферона гриппферон не оказывал ингибирующего влияния на изученные персистентные свойства бактерий.

При изучении действия лекарственных веществ на уровень экспрессии факторов персистенции золотистого стафилококка оказалось, что наиболее эффективное ингибирование экспрессии персистентных свойств регистрировалось под влиянием препаратов индукторов эндогенного интерферона. Так, при оценке влияния полудана на персистентный потенциал исследованных изолятов *S. aureus* установлено, что у бактерий, инкубированных с препаратом, по сравнению с контролем, наблюдалось снижение уровня антилизоцимной активности на $57,9 \pm 9,0\%$ (средний показатель – $1,04 \pm 0,06$ мкг/мл \times ОП) и антикарнозинового признака на $67,4 \pm 8,6\%$ (средняя величина – $0,91 \pm 0,08$ мг/мл).

Соинкубирование золотистого стафилококка с циклофероном приводило к снижению уровня антилизоцимной активности среди всех исследованных изолятов до среднего значения $0,89 \pm 0,07$ мкг/мл \times ОП, что составляло $63,8 \pm 8,8\%$ от исходного уровня признака. Сходные данные были получены при анализе влияния циклоферона на антикарнозиновую активность изолятов *S. aureus*: под действием препарата средняя величина данного признака среди всех исследуемых опытных изолятов, по сравнению с контролем, снизилась на $74,6 \pm 7,9\%$ и составила $0,71 \pm 0,09$ мг/мл.

При изучении характера влияния на изоляты *S. aureus* препарата экзогенного интерферона было установлено, что стафилококки к нему менее чувствительны. Так, снижение уровня антилизоцимной активности среди штаммов *S. aureus* под действием гриппферона составило $13,8 \pm 0,02\%$ от начальных значений (средний показатель – $2,13 \pm 0,02$ мкг/мл \times ОП), а антикарнозиновой активности на $10,4 \pm 5,6\%$ (в среднем – $2,5 \pm 0,01$ мг/мл).

Таким образом, экспериментальные данные демонстрируют модифицирующую способность препаратов индукторов эндогенного интерферона на персистентный потенциал *S. aureus*, причем более выраженную, по сравнению с препаратом рекомбинантного интерферона.

Полученные результаты по влиянию индукторов интерферона на персистентный потенциал *S. aureus* показывают, что биологически активные вещества в применяемых концентрациях могут оказывать угнетающее действие на распространенность и выраженность факторов персистенции.

Характерной особенностью современной инфекционной патологии является рост числа хронических инфекционно-воспалительных заболеваний разнообразной этиологии и локализации, вызываемых слабопатогенными оппортунистическими микроорганизмами, обладающими множественной антибиотико-резистентностью [1]. Изучение клинической эффективности индукторов интерферона выявило их способность нормализовать микробиоценоз слизистых оболочек носа и зева и восстанавливать уровень нормальной микрофлоры кишечника [10].

Двойная направленность действия препаратов с иммуномодулирующим действием, проявляющаяся, с одной стороны, активацией механизмов естественной иммунологической защиты организма [6], а с другой стороны, влиянием на биологические свойства микроорганизмов [4], может потенцировать результат терапевтического воздействия, что позволит использовать их для более эффективной борьбы с возбудителями бактериальных инфекций и разработки новых подходов к коррекции дисбиотических нарушений в микробиоценозах тела человека.

Заключение

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что область применения индукторов интерферона может быть значительно расширена путем использования их в качестве весьма перспективных лекарственных веществ, подавляющих персистентный потенциал патогенов, что может иметь существенное значение в лечении и профилактике бактериальных инфекций, а также коррекции дисбиотических нарушений в микробиоценозах тела человека.

Список литературы

1. Беседнова Н.Н., Запорожец Т.С. Антиинфекционное, антиоксидантное и антипаразитарное действие экзогенной ДНК // Антибиотики и химиотерапия. – 2010. – Т. 55, № 7–8. – С. 46–54.
2. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий. – М.: Медицина; Екатеринбург: УрО РАН, 1999. – 366 с.

3. Экология микроорганизмов человека / О.В. Бухарин, А.В. Вальшев, Ф.Г. Гильмутдинова и др. – Екатеринбург: УрО РАН, 2006. – 479 с.

4. Влияние циклоферона на биологические свойства бактериальных внутриклеточных патогенов / О.В. Бухарин, Д.А. Кириллов, Н.В. Шеенков, В.А. Кириллов // Журнал микробиол. – 2005. – № 3. – С. 8–10.

5. Бухарин О.В., Усвятсов Б.Я., Карташова О.Л. Биология патогенных кокков. – М.: Медицина; Екатеринбург: УрО РАН, 2002. – 282 с.

6. Ершов Ф.И. Антивирусные препараты. – М., 2006. – 312 с.

7. Ершов Ф.И. Использование иммуномодуляторов при вирусных инфекциях // Антибиотики и химиотерапия. – 2003. – Т. 48, № 6. – С. 27–32.

8. Влияние иммуномодулятора полиоксидония на биологические свойства микроорганизмов / Д.А. Кириллов, И.Н. Чайникова, Н.Б. Перунова и др. // Журнал микробиол. – 2003. – № 4. – С. 74–78.

9. Методы общей бактериологии / Герхард Ф. (ред.). – М., 1983. – 536 с.

10. Эффективность циклоферона при вирусных и бактериальных заболеваниях у детей (клинический обзор) / М.Г. Романцов, Л.Г. Горячева, М.К. Бехтерева и др. // Антибиотики и химиотерапия. – 2010. – Т. 55, № 11–12. – С. 39–51.

References

1. Besednova N.N., Zaporozhets T.S. Antiinfective, antitoxic and antiparasitic effects of exogenic DNA. Antibiotics and chemotherapy, 2010, Vol. 55, no. 7–8, pp. 46–54.
2. Bukharin O.V. Persistence of pathogenic bacteria. Moscow, Medicine; Ekaterinburg: UrB RAS, 1999. 366 p.
3. Bukharin O.V., Valyshev A.V., Gilmudinova F.G., Gritsenko V.A., Kartashova O.L., Kuzmin M.D., Usvyatsov B. Ya., Cherkasov S.V. Human microbial ecology. Ekaterinburg: Ural Division, RAS, 2006. 479 p.
4. Bukharin O.V., Kirillov D.A., Sheenkov N.V., Kirillov V.A. Influence of cycloferon on the biological properties of bacterial intracellular pathogens. Journal microbial., 2005, no. 3, pp. 8–10.
5. Bukharin O.V., Usvyatsov B. Ya., Kartashova O.L. Biology of pathogenic cocci. Moscow, Medicine; Ekaterinburg: Ural Division, 2002. 282 p.
6. Ershov F.I. Antiviral preparations. Moscow, 2006. 312 p.
7. Ershov F.I. Immunomodulators application at viral infection. Antibiotics and chemotherapy, 2003, Vol. 48, no. 6, pp. 27–32.
8. Kirillov D.A., Chainikova I.N., Perunova N.B., Chel-pachenko O.E., Pankov A.S., Smolyagin A.S., Valyshev A.V. The effect of polyoxydonium immunomodulator on the biological properties of microorganisms. Journal microbial., 2003, no. 4, pp. 74–78.
9. Manual of methods for general bacteriology / Gerhardt Ph. (edit.). Moscow, 1983. 536 p.
10. Romantsov M.G., Goryacheva L.G., Bekhtereva M.K., Sologub T.V., Kovalenko A.L. Cycloferon efficacy in viral and bacterial diseases of children (clinical review). Antibiotics and chemotherapy, 2010, Vol. 55, no. 11–12. pp. 39–51.

Рецензенты:

Чайникова И.Н., д.м.н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии ГБОУ ВПО «Оренбургская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития РФ, г. Оренбург;

Фадеев С.Б., д.м.н., доцент кафедры госпитальной хирургии, урологии ГБОУ ВПО «Оренбургская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития РФ, г. Оренбург.

Работа поступила в редакцию 21.09.2012.