

Терапевтическая стратегия преодоления устойчивости к антибиотикам в бактериальных биопленках

Г.Л. Игнатова[✉], <https://orcid.org/0000-0002-0877-6554>, igln@mail.ru

В.Н. Антонов, <https://orcid.org/0000-0002-3531-3491>, ant-vn@yandex.ru

Южно-Уральский государственный медицинский университет; 454092, Россия, Челябинск, ул. Воровского, д. 64

Резюме

В статье обсуждаются вопросы преодоления устойчивости к антибиотикам в современных условиях. Основной акцент делается на образовании микроорганизмами биопленок как одного из главных механизмов антибактериальной резистентности. Одной из ключевых проблем с использованием антибиотиков для лечения биопленок является необходимость достижения требуемой минимальной ингибирующей концентрации (МИК) препарата в месте нахождения биопленки, которая может быть в 100–800 раз больше, чем МИК для планктонных клеток. Учитывая значительные человеческие и финансовые затраты, возникает все более настоятельная необходимость в разработке новых стратегий терапевтического воздействия на биопленки. Эффективность лечения связана со способностью антимикробного агента проникать в гетерогенную структуру субстрата колонии бактерий. Показано, что способность препарата проникать в биопленку зависит от структуры матрикса, рода и штамма бактерий, а также от выбранного антибиотика. Приводятся стратегии проникновения основных антибактериальных препаратов в матрикс биопленок, в частности использование комбинированных препаратов, таких как тиамфеникола глицината ацетилцистеинат (ТГА). Обсуждаются возможности применения ТГА при различных состояниях – хронический бронхит, хроническая обструктивная болезнь легких, муковисцидоз, риносинуситы. Кроме того, приводятся данные о положительном влиянии N-ацетилцистеина (НАС) на биопленки при различных других локализациях, в гастроэнтерологии, катетер-ассоциированных инфекциях. Обзор доступной медицинской литературы показывает, что НАС в комбинации с тиамфениколом обладает, помимо антибактериальных свойств, способностью влиять на образование биопленки и нарушать работу биопленок. Использование НАС может быть новой стратегией лечения хронических респираторных инфекций, связанных с колониеобразующими микроорганизмами.

Ключевые слова: антибиотикорезистентность, биопленки, N-ацетилцистеин, тиамфеникола глицината ацетилцистеинат, хронические респираторные инфекции

Для цитирования: Игнатова ГЛ, Антонов ВН. Терапевтическая стратегия преодоления устойчивости к антибиотикам в бактериальных биопленках. *Медицинский совет*. 2024;18(20):176–182. <https://doi.org/10.21518/ms2024-486>.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Therapeutic strategy for overcoming antibiotic resistance in bacterial biofilms

Galina L. Ignatova[✉], <https://orcid.org/0000-0002-0877-6554>, igln@mail.ru

Vladimir N. Antonov, <https://orcid.org/0000-0002-3531-3491>, ant-vn@yandex.ru

South Ural State Medical University; 64, Vorovskiy St., Chelyabinsk, 454092, Russia

Abstract

The presented article discusses the issue of overcoming antibiotic resistance in modern conditions. The main focus is on the formation of biofilms by microorganisms as one of the key mechanisms of antibacterial resistance. One of the key problems with the use of antibiotics for the treatment of biofilms is the necessity to achieve the required minimum inhibitory concentration (MIC) of the drug at the biofilm site, which may be 100–800 times greater than the MIC for planktonic cells. Considering the significant human and financial costs, there is an increasing need to develop new strategies for therapeutic intervention in biofilms. The effectiveness of treatment is linked to the ability of the antimicrobial agent to penetrate the heterogeneous structure of the bacterial colony's substrate. It has been shown that the ability of the drug to penetrate the biofilm depends on the structure of the matrix, the genus and strain of the bacteria, as well as the selected antibiotic. Strategies for the penetration of major antibacterial drugs into the biofilm matrix are provided, in particular the use of combination drugs such as thiamphenicol glycinate acetylcysteinate (TGA). The possibilities of using TGA in various conditions – chronic bronchitis, chronic obstructive pulmonary disease, cystic fibrosis, and rhinosinusitis – are discussed. In addition, data are presented on the positive impact of N-acetylcysteine (NAC) on biofilms in various other locations, including gastroenterology and catheter-associated infections. A review of the available medical literature shows that NAC in combination with thiamphenicol possesses, in addition to antibacterial properties, the ability to influence biofilm formation and disrupt biofilm function. The use of NAC may be a new strategy for the treatment of chronic respiratory infections associated with colony-forming microorganisms.

Keywords: antibiotic resistance, biofilms, N-acetylcysteine, thiamphenicol glycinate acetylcysteinate, chronic respiratory infections

For citation: Ignatova GL, Antonov VN. Therapeutic strategy for overcoming antibiotic resistance in bacterial biofilms. *Meditsinskiy Sovet*. 2024;18(20):176–182. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/ms2024-486>.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время увеличивается число лекарственно-устойчивых бактериальных инфекций, которые угрожают здоровью людей во всем мире [1]. В 2015 г. «Трехсторонний альянс», включающий в себя Всемирную организацию здравоохранения (ВОЗ), Всемирную организацию по охране здоровья животных (ВОАХ) и Продовольственную и сельскохозяйственную Организацию Объединенных Наций (ФАО), представил Глобальный план действий по борьбе с устойчивостью к противомикробным препаратам (GAP)¹ [2]. Недавно также была учреждена Программа Организации Объединенных Наций по окружающей среде (UNEP), что привело к появлению «Четырехстороннего альянса». Разрабатываются и реализуются национальные планы действий (NAP) по борьбе с устойчивостью к противомикробным препаратам (AMR). Общая ситуация в мире по антимикробной резистентности признается ВОЗ как катастрофическая, особенно усугубившаяся во время пандемии COVID-19, что повысило риск распространения устойчивых штаммов, привело к утяжелению хронических заболеваний, увеличению случаев сепсиса и смертей. Антимикробная резистентность и антибактериальная устойчивость были объявлены ВОЗ двумя из 10 главных угроз общественному здоровью во всем мире² [2]. В глобальном масштабе предполагаемое количество смертей от инфекций с несколькими лекарственно-устойчивыми патогенами составляет примерно 700 000 в год [3].

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ

Большая часть заболеваемости и смертности, связанных с антибактериальной резистентностью, обусловлена способностью микроорганизмов легко образовывать биопленки, что является причиной более 80% всех инфекций, особенно у пациентов, находящихся длительное время в стационарах, имеющих медицинские имплантированные устройства, такие как катетеры, костные и суставные протезы и искусственные сердечные клапаны, а также это касается ожоговых больных и пациентов с муковисцидозом [4]. Важно отметить, что биопленки часто участвуют в катетер-ассоциированных инфекциях [5]. Наличие биопленок приводит к осложнениям при жизненно важных вмешательствах, таких как эндотрахеальная интубация [6].

Биопленка – это неподвижная трехмерная матрица микроскопических организмов, которые адгезируются на поверхности пораженной ткани, образуя колонию [7].

Организмы бактерий выделяют белки и внеклеточный матрикс, которые помогают цементировать клетки на поверхности и защищают колонию от повреждения, экологических опасностей, защитных механизмов хозяина и антимикробных соединений [8]. Одной из ключевых проблем с использованием антибиотиков для лечения биопленок является необходимость достижения требуемой минимальной ингибирующей концентрации (МИК) препарата в месте нахождения биопленки, которая может быть в 100–800 раз больше, чем МИК для планктонных клеток [8]. Сама матрица биопленки образует барьер для проникновения антибиотиков. Кроме того, бактерии биопленки могут приобретать гены резистентности от других видов бактерий с течением времени или могут развить врожденную устойчивость путем сублетального воздействия антибиотиков. Этот последний процесс впоследствии приводит к появлению популяций устойчивых микроорганизмов [9]. Формирование биопленки у пациентов позволяет легко распространять инфекции, поскольку в некоторых случаях бактериальные клетки могут оторваться от зрелых биопленок, чтобы прикрепиться к новым участкам и сформировать новые, потенциально более устойчивые колонии [10].

Учитывая значительные человеческие и финансовые затраты, возникает все более настоятельная необходимость в разработке новых стратегий терапевтического воздействия на биопленки. Эффективность лечения связана со способностью антимикробного агента проникать в гетерогенную структуру субстрата колонии бактерий. Было показано, что способность препарата проникать в биопленку сильно зависит от структуры матрикса, рода и штамма бактерий, а также от выбранного антибиотика [11]. Было продемонстрировано, что внеклеточная ДНК, являющаяся составляющей частью данной структуры, вызывает устойчивость к антибиотикам [12]. Кроме того, на устойчивость биопленок к антибиотикам значительно влияют бактериальные экзополисахариды (EPS), которые являются ключевым компонентом в формировании и поддержании жизнедеятельности биопленок. Производство EPS служит адаптивным механизмом, при этом бактерии синтезируют их в стрессовых условиях, включая воздействие антибиотиков [13]. Уменьшенное проникновение через матрицу EPS представляет собой механизм, с помощью которого биопленки сопротивляются антибиотикам [13]. Факторы, влияющие на проникновение антибиотиков, включают увеличение толщины биопленки, эффективность диффузии препарата, а также концентрацию и продолжительность вводимого антибиотика. Кроме того, медленная или неполная диффузия антибиотиков может задерживать их в биопленке, что приводит к их инактивации ферментами внеклеточного матрикса [14].

¹ World Health Organization. Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. 2015. Available at: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/254884/9789244509760-rus.pdf> (accessed on 20 August 2024).

² World Health Organization. One Health Joint Plan of Action (2022–2026): Working Together for the Health of Humans, Animals, Plants and the Environment; WHO: Geneva, Switzerland; 2022. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240059139>.

ВОЗМОЖНОСТИ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ

Комбинированная терапия в настоящее время стала терапевтической стратегией лечения большинства инфекций, протекающих с образованием биопленки. Было показано, что сочетание антибиотиков с другими агентами, такими как N-ацетилцистеин, значительно снижает количество биопленок [15]. Кроме того, некоторые возможные компоненты, включая катехиновую, протокатехиновую и ванилиновую кислоты, проявляют синергетические эффекты в сочетании с антибиотиками, ингибируя бактериальную адгезию и, таким образом, образование биопленки [16].

В связи с неуклонным ростом антибиотикорезистентности внебольничных возбудителей респираторных заболеваний возникает необходимость в пересмотре подходов к антибактериальной терапии (АБТ) и оценке потенциальной возможности использования топических аэрозольных препаратов для терапии данных инфекций, вызванных респираторными патогенами. Одним из таких может рассматриваться тиамфеникола глицината ацетилцистеинат (ТГА). Данный интерес обусловлен специфическими свойствами его компонентов – антибиотика тиамфеникола и муколитика N-ацетилцистеина (НАС).

Тиамфеникол относится к группе амфениколов и является метилсульфонильным аналогом хлорамфеникола. Обладая сходной активностью, тиамфеникол, в отличие от хлорамфеникола, характеризуется значительно меньшей миело- и гепатотоксичностью. Тиамфеникол активен в отношении многих штаммов, устойчивых к бета-лактамам и макролидным антибиотикам, широко применяемым при лечении внебольничных инфекций верхних и нижних дыхательных путей, в т. ч. при лечении обострений хронического бронхита и хронической обструктивной болезни легких [17].

Тиамфеникол в составе комбинированного препарата Флуимуцил-антибиотик ИТ оказывает антибактериальное и муколитическое действие, может назначаться ингаляционно с использованием небулайзеров, а также внутримышечно. В клинических исследованиях продемонстрирован положительный эффект при применении тиамфеникола глицината ацетилцистеината у взрослых и детей при терапии инфекций верхних и нижних дыхательных путей, вызванных преимущественно внебольничной микрофлорой. При воздействии ацетилцистеина в составе данного препарата не только достигается существенный муколитический эффект, но также усиливается антибактериальное действие препарата в целом, что подтверждается способностью ацетилцистеина препятствовать и нарушать формирование биопленок в дыхательных путях [17].

Эффективность ТГА подтверждается во многих отечественных и зарубежных исследованиях. В отчете, представляющем собой обобщение 9 клинических исследований ТГА, проведенных во Франции в период с 1972 по 1976 г., сообщается об участии в общей сложности 587 пациентов (475 взрослых и 112 детей) с бактериальными бронхолегочными инфекциями. Большинство пациентов были госпитализированы, все получили ТГА в среднем в течение 7 дней. Эффекты ТГА были оценены клинически,

рентгенологически, биологически и бактериологически. Результаты лечения ТГА были оценены как положительные у 337 пациентов (58%), с меньшим эффектом – у 160 пациентов (27%), без ухудшения – у 90 пациентов (15%). Во время лечения наблюдались различные незначительные побочные эффекты. В случае двух пациентов лечение было признано малоэффективным и поэтому было приостановлено. В конце лечения гиперэозинофилия легкой степени наблюдалась у 5 пациентов, а тромбоцитопения, анемия или лейкоцитоз зафиксированы у 22 пациентов из-за присутствия глицината тиамфеникола в молекуле. Эти эффекты оказались спонтанно обратимыми [18].

В экспериментальной работе L. Drago на морских свинках, инфицированных *Haemophilus influenzae*, сравнивалась эффективность ТГА с кларитромицином, цефтриаксоном и амоксициллином/клавулановой кислотой. Антибактериальная активность тестируемых антибиотиков была сопоставима. По сравнению с контрольной группой экспозиция бактерий в легочной ткани была значительно ниже для группы ТГА через 3 ч после введения препарата по сравнению с контрольной группой, в то время как для других препаратов снижение было зарегистрировано только через 6 ч. Авторы сделали вывод, что хотя активность тестируемых препаратов *in vitro*, оцененная по кривым времени, оказалась сопоставимой, некоторые фармакокинетические и фармакодинамические характеристики ТГА, в частности скорость наступления эффекта, способствуют улучшению разрешения инфекционного процесса [19].

Результаты исследования, проведенного НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России, включавшего определение чувствительности 875 изолятов бактерий, выделенных из материала у пациентов с клиническими признаками инфекций дыхательных путей, центральной нервной системы, кожи и мягких тканей, костей и суставов, в 20 городах Российской Федерации с января 2018 г. по декабрь 2019 г., свидетельствуют о достаточно высокой *in vitro* активности тиамфеникола в отношении протестированных штаммов *H. influenzae*, *S. pneumoniae* и *S. pyogenes*, в т. ч. в отношении протестированных штаммов *S. pneumoniae* со сниженной чувствительностью к пенициллину (МПК тиамфеникола не превышало 2 мг/л у 90,6% штаммов, резистентных или чувствительных при увеличенной экспозиции к бензилпенициллину), а также в отношении пневмококков, резистентных к эритромицину (МИК тиамфеникола не превышала 2 мг/л у 88,1% эритромицинорезистентных штаммов), а также в отношении штаммов *H. influenzae*, устойчивых к ампициллину (МИК тиамфеникола не превышала 2 мг/л у 76,9% штаммов, устойчивых к ампициллину). Полученные данные свидетельствуют о том, что активность тиамфеникола в отношении *H. influenzae*, *S. pneumoniae* и *S. pyogenes* сравнима с активностью хлорамфеникола [20].

Преимущества использования ТГА по сравнению с системными антибактериальными препаратами были продемонстрированы в работе М.Р. Богомилского и соавт. 2021 г. Представлена оценка эффективности ингаляционного способа введения комплексного препарата тиамфеникола глицината ацетилцистеината по сравнению

с перорально назначенным системным антибиотиком в комплексном лечении при неосложненном риносинусите в амбулаторных условиях.

В проспективное одноцентровое рандомизированное пилотное открытое сравнительное исследование включили пациентов (61 ребенок в возрасте от 3 до 9 лет) с острым риносинуситом, соответствующих критериям включения. Детям 1-й группы назначали тиамфеникола глицинат ацетилцистеинат (0,125 мг на ингаляцию 2 раза в день), а пациенты 2-й группы получали амоксициллина клавуланат в возрастной дозировке из расчета 40–45 мг/кг перорально 2 или 3 раза в день. На каждом из визитов (день 0 и день 7–8) оценивали такие симптомы, как состояние носового дыхания и данные риноскопии (отек, гиперемия слизистой оболочки и выделения в полости носа) по 10-балльной визуально-аналоговой шкале. При повторном осмотре (день 7–8) оценивали эффективность проведенного лечения (выздоровление/улучшение/излечение), длительность лечения (в днях) и число принимаемых одномоментно препаратов, а также переносимость лечения по наличию/отсутствию нежелательных или побочных явлений на фоне их применения. Прием тиамфеникола глицината ацетилцистеината сокращал потребность в применении других препаратов в комплексном лечении синусита. Оценка эффективности проведенного лечения показала, что результат в большинстве случаев был оценен как выздоровление. Ни у одного из наблюдаемых пациентов на фоне лечения не отмечено нежелательных побочных эффектов. Применение препарата тиамфеникола глицината ацетилцистеината в виде ингаляций эффективно так же, как и прием амоксициллина клавуланата, в лечении детей с острым неосложненным риносинуситом. Преимуществом назначения препарата в комплексном лечении при неосложненном риносинусите можно считать уменьшение необходимости приема дополнительных лекарственных средств [21].

Важным компонентом тиамфеникола глицината ацетилцистеината является входящий в состав N-ацетилцистеин. Как известно, NAC выступает в качестве предшественника для биосинтеза глутатиона. Согласно более ранним исследованиям [22] глутатион является важным модулятором активности антибиотиков у бактерий; следовательно, закономерен интерес в изучении влияния NAC на восприимчивость бактерий к антибактериальным препаратам. Это становится еще более важным, поскольку NAC достаточно часто используется в качестве муколитического агента в сочетании с антибиотиками при лечении инфекции нижних дыхательных путей.

Влияние NAC на бактериальную устойчивость к 10 антибиотикам, принадлежащим к разным группам, было изучено в работе M. Goswami и N. Jawali 2010 г. Измерялась МИК в присутствии или при отсутствии 10 мМ NAC в исследуемой среде. Для этой цели была определена восприимчивость к антибиотикам трех штаммов *Escherichia coli*, двух штаммов *Klebsiella* и одного штамма *Pseudomonas*. Поскольку обычно используемая терапевтическая концентрация NAC варьируется от 4 до 10 мМ в день, для лечения тяжелых респираторных заболеваний для этого

исследования была выбрана концентрация NAC в 10 мМ. Наличие 10 мМ NAC не повлияло на рост этих штаммов бактерий, за исключением *Klebsiella pneumoniae*. Дальнейший анализ показал, что даже при концентрации до 2,5 мМ NAC был ингибирующим для роста штамма *K. pneumoniae*. В случае фторхинолонов МИК как ципрофлоксацина, так и офлоксацина значительно увеличилась для всех штаммов *E. coli* и *Klebsiella aerogenes* и умеренно для *Pseudomonas aeruginosa* в присутствии NAC. Аналогичным образом наличие NAC привело к значительному увеличению МИК аминогликозидов, таких как стрептомицин, канамицин и спектиномицин, против всех протестированных штаммов бактерий. Эти наблюдения показывают, что наличие NAC обеспечивает защиту от широкого спектра аминогликозидных и фторхинолоновых антибиотиков. Сходно с аминогликозидами и фторхинолонами NAC также обеспечивает существенную защиту от эритромицина для всех штаммов. Однако NAC не изменил МИК хлорамфеникола и тетрациклина для любого штамма бактерий, предполагая, что на действие этих антибиотиков не влияет присутствие NAC. Наличие NAC не изменило МИК пенициллина против *K. aerogenes* или любого из штаммов *E. coli*, хотя это привело к снижению МИК пенициллина против *P. aeruginosa*. Кроме того, NAC снизил МИК ампициллина для всех штаммов, кроме штаммов *K. aerogenes*. Авторы пришли к выводу, что наличие NAC может либо снизить антибактериальную активность аминогликозидов, фторхинолонов и эритромицина, либо повысить эффективность β-лактамов против нескольких штаммов бактерий. Кроме того, добавление NAC к антибактериальной терапии может быть чувствительным для таких бактерий, как *K. pneumoniae*. Данное исследование показывает, что NAC является важным модулятором активности антибиотиков [23].

В исследовании T. Zhao и Y. Liu изучались минимальные ингибирующие концентрации NAC для изолятов *P. aeruginosa*. NAC уже при МИК 0,5 мг/мл может воздействовать на зрелые биопленки *P. aeruginosa*, а при концентрации 10 мг/мл NAC биопленки были полностью разрушены. Анализ с использованием программного обеспечения COMSTAT также показал, что биомасса биопленки уменьшается, а ее неоднородность увеличивалась по мере увеличения концентрации NAC. NAC и ципрофлоксацин показали значительное уничтожение *P. aeruginosa* в биопленках при 2,5 мг/мл и > 2 МИК соответственно ($p < 0,01$). Комбинации NAC-ципрофлоксацина последовательно уменьшали жизнеспособные бактерии, связанные с биопленкой, по сравнению с контролем; эта комбинация была синергетической. Производство внеклеточных полисахаридов (EPS) *P. aeruginosa* также снизилось на 27,64 и 44,59% при концентрациях NAC 0,5 и 1 мг/мл. NAC обладает антибактериальными свойствами против *P. aeruginosa* и может воздействовать на биопленки *P. aeruginosa*. Использование NAC может быть новой стратегией лечения хронических респираторных инфекций, связанных с биопленкой, из-за воздействия на *P. aeruginosa* [24].

Еще более доказательно выглядит исследование Е. Карповой и соавт., целью которого являлось определение минимальных подавляющих концентраций

тиамфеникола и тиамфеникола глицината ацетилцистеината в отношении клинически значимых микроорганизмов и определение эффективности их воздействия на микроорганизмы в составе биопленок. В исследование были включены 48 клинических изолятов микроорганизмов, выделенных из мокроты пациентов с инфекциями дыхательных путей (по 16 изолятов *S. pneumoniae*, *K. pneumoniae* и *S. aureus*). Определение чувствительности к антибиотикам выполнено методом последовательных микроразведений в бульоне. Оценку интенсивности образования микробных биопленок в присутствии антибиотиков, N-ацетилцистеина и их комбинаций выполняли в 96-луночных планшетах в бульоне Мюллера – Хинтона и сердечно-мозговом бульоне с фиксацией биопленок 2,5%-ным раствором глютаральдегида, окрашиванием 0,25%-ным раствором кристаллического фioletового и экстракцией красителя 33%-ным раствором уксусной кислоты. Значения МИК тиамфеникола и тиамфеникола глицината ацетилцистеината (в пересчете на тиамфеникол) совпадали для 87,5% штаммов. Показана высокая микробиологическая активность тиамфеникола и тиамфеникола глицината ацетилцистеината в отношении штаммов *S. pneumoniae* (МИК50 0,5 мг/л, МИК90 1–2 мг/л). Обработка хлорамфениколом, тиамфениколом, тиамфеникола глицином ацетилцистеинатом, комбинацией хлорамфеникола и тиамфеникола с N-ацетилцистеином приводила к значимому снижению значений оптической плотности биопленок *S. pneumoniae*. Добавление тиамфеникола увеличивало интенсивность биопленкообразования у ряда устойчивых к нему штаммов *S. aureus* и *K. pneumoniae*, дополнительное внесение N-ацетилцистеина нивелировало данный эффект. Таким образом, было показано потенцирование антибактериальной активности тиамфеникола в присутствии N-ацетилцистеина в отношении биопленок, образованных штаммами *S. pneumoniae* [25].

N-ацетилцистеин является муколитическим средством с антиоксидантными свойствами. Окислительный стресс является ключевым патогенным механизмом при хронических респираторных заболеваниях, таких как ХОБЛ и хронический бронхит (ХБ). В метаанализах, проведенных A. Paré et al. в 2024 г., исследовалась эффективность НАС у субъектов с ХОБЛ или ХБ, причем последний рассматривался потенциальным состоянием до развития ХОБЛ (ХБ/pre-ХОБЛ). Метаанализы проводились в соответствии с руководящими принципами PRISMA. Обострения оценивались с использованием общего количества ухудшений течения заболеваний. Улучшение респираторных симптомов пациентов и/или качества жизни пациентов (QoL) измерялось с помощью проверенных инструментов или оценивалось в конце исследования. Было включено двадцать исследований, из которых семь оценивали эффективность НАС у пациентов с симптомами ХБ/pre-ХОБЛ.

Пациенты, получавшие лечение НАС, показали значительное снижение частоты обострений по сравнению с плацебо как при ХОБЛ (ОШ = 0,76; 95% доверительный интервал (ДИ) 0,59–0,99), так и при ХБ/pre-ХОБЛ (ОШ = 0,81; 95% ДИ 0,69–0,95). Анализ чувствительности

в исследованиях с продолжительностью более 5 мес. подтвердил общие результаты. Пациенты с ХБ/pre-ХОБЛ, получавшие НАС, значительно чаще испытывали улучшение симптомов и/или качества жизни по сравнению с плацебо (коэффициент ОШ = 3,47; 95% CI 1,92–6,26). Аналогичная тенденция наблюдалась в нескольких оцениваемых исследованиях ХОБЛ. Анализ чувствительности показал значительную связь НАС с улучшением симптомов и/или качества жизни у пациентов как с ХБ/pre-ХОБЛ, так и с ХОБЛ. Эти результаты предоставляют новые данные НАС об улучшении симптомов и качества жизни в дополнение к профилактике обострений при ХОБЛ и ХБ/pre-ХОБЛ [26].

Особый интерес представляет изучение использования НАС при муковисцидозе. Муковисцидоз (CF) – это заболевание, вызванное мутациями в трансмембранном регуляторе проводимости муковисцидоза (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator CFTR), который кодирует белок, участвующий в транспорте хлора через мембрану клеток. В результате дисбаланс хлорида и бикарбоната образует толстую статическую мокроту, которая трудно выводится из легких и может быть колонизирована бактериями, что приводит к образованию биопленки. Инфекция легких CF с комплексом *Burkholderia cepacia* (BC), особенно подвид *B. cenocepacia*, приводит к более высокой заболеваемости и смертности. Пациенты, инфицированные BC, могут быстро перерасти к «синдрому цепации», смертельной некротизирующей пневмонии. Целью исследования A. Ayer было определить, значительно ли комбинированная терапия НАС и антибиотика способна воздействовать на биопленки *B. cenocepacia*, а также оптимальные концентрации препарата для лечения. Используя контролируемую спектрофотометрию in vitro, анализы формирования колоний и микроскопии, три антиоксиданта (N-ацетилцистеин, глутатион и витамин C) и три антибиотика (ципрофлоксацин, цефтазидим и тобрамицин) были проверены и оценены на предмет их способности нарушать ранние и зрелые биопленки шести изолятов *B. cenocepacia* при муковисцидозе. Комбинация НАС и ципрофлоксацина привела к статистически значимому нарушению биопленки во всех протестированных штаммах, при этом ингибирование роста ($>5-8 \log_{10}$) наблюдалось при воздействии 4890 или 8150 мкг/мл НАС в сочетании с 32 или 64 мкг/мл ципрофлоксацина. Нарушение биопленки, опосредованное НАС, может быть вызвано кислотным pH НАС при более высоких концентрациях. Это исследование показало, что НАС является эффективным средством, снижающим необходимость высоких концентраций антибиотиков [27]. Также стоит отметить, что впервые сочетание НАС с антибактериальными препаратами у пациентов с муковисцидозом было предложено еще в 1965 г. D. Lawson [28].

Как было показано ранее, биопленки могут образовываться и влиять на исходы терапии не только при респираторной патологии. *Helicobacter pylori* прикрепляется к слизистой оболочке желудка и может существовать в виде биопленки. Это представляет собой защиту от противомикробных средств. В работе Giovanni Cammarota была оценена роль предварительного лечения n-ацетилцистеином

в разрушении биопленки и преодолении резистентности к антибиотикам *H. pylori*. В открытом рандомизированном контролируемом исследовании 40 субъектов, продемонстрировавших неэффективность предшествующей эрадикации *H. pylori*, были оценены на наличие биопленки, восприимчивость к антибиотикам и генотипы *H. pylori*. Субъекты были случайным образом рандомизированы для получения (группа А) или неполучения (группа В) N-ацетилцистеина до лечения антибиотиками. Первичной конечной точкой был уровень эрадикации *H. pylori*, оцененный с помощью теста на дыхательную мочевины. В результате *H. pylori* был не обнаружен у 13 из 20 участников группы А и 4 из 20 в группе В. Биопленки сохранялись только в единичных образцах. Генотипы *H. pylori* не повлияли на исход лечения. Авторы сделали выводы, что предварительная обработка N-ацетилцистеином перед процедурой приема антибиотиков эффективна в преодолении устойчивости к антибиотикам *H. pylori* [29].

Еще одним состоянием, связанным с образованием биопленок, являются катетер-ассоциированные инфекции, которые могут вызвать серьезные осложнения и даже смерть. Эффективная противомикробная обработка катетеров, которая может предотвратить колонизацию бактерий, может предотвратить инфекцию. М. Mansouri et al. в 2013 г. изучили *in vitro* антимикробную активность центральных венозных катетеров, пропитанных NAC

и антибиотиком широкого спектра действия против ряда важных клинических патогенов. Катетеры, пропитанные NAC-левофлоксацином (NACLEV), также были оценены на предмет их антиадгезивной активности. Катетеры NACLEV произвели наиболее активный и длительный противомикробный эффект как против грамположительных, так и против грамотрицательных изолятов и значительно снизили колонизацию всеми протестированными патогенами по сравнению с контрольными катетерами. Эти результаты *in vitro* свидетельствуют о том, что эта антимикробная комбинация потенциально может быть использована для борьбы с катетер-ассоциированными инфекциями [30].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вышеизложенный обзор доступной медицинской литературы показывает, что NAC в комбинации с тиамфениколом обладает, помимо антибактериальных свойств, способностью влиять на образование биопленки и нарушать работу биопленок. Использование NAC может быть новой стратегией лечения хронических респираторных инфекций, связанных с колониеобразующими микроорганизмами.



Поступила / Received 09.09.2024
Поступила после рецензирования / Revised 07.10.2024
Принята в печать / Accepted 14.10.2024

Список литературы / References

- Strathdee SA, Davies SC, Marcelin JR. Confronting antimicrobial resistance beyond the COVID-19 pandemic and the 2020 US election. *Lancet*. 2020;396(10257):1050–1053. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32063-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32063-8).
- Jesudason T. A new One Health Joint Action Plan. *Lancet Infect Dis*. 2022;22(12):1673. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(22\)00751-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(22)00751-4).
- Adebisi YA, Ogunkola IO. The global antimicrobial resistance response effort must not exclude marginalised populations. *Trop Med Health*. 2023;51(1):33. <https://doi.org/10.1186/s41182-023-00524-w>.
- Rather MA, Gupta K, Mandal M. Microbial biofilm: formation, architecture, antibiotic resistance, and control strategies. *Braz J Microbiol*. 2021;52(4):1701–1718. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00624-x>.
- Grooters KE, Ku JC, Richter DM, Krinock MJ, Minor A, Li P et al. Strategies for combating antibiotic resistance in bacterial biofilms. *Front Cell Infect Microbiol*. 2024;14:1352273. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1352273>.
- Gominet M, Compain F, Beloin C, Lebeaux D. Central venous catheters and biofilms: where do we stand in 2017? *APMIS*. 2017;125(4):365–375. <https://doi.org/10.1111/apm.12665>.
- Sharma D, Misra L, Khan AU. Antibiotics versus biofilm: an emerging battleground in microbial communities. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2019;8:76. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0533-3>.
- Jacqueline C, Caillon J. Impact of bacterial biofilm on the treatment of prosthetic joint infections. *J Antimicrob Chemother*. 2014;69(Suppl. 1):i37–i40. <https://doi.org/10.1093/jac/dku254>.
- Perry EK, Tan MW. Bacterial biofilms in the human body: prevalence and impacts on health and disease. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023;13:1237164. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1237164>.
- Toyofuku M, Inaba T, Kiyokawa T, Obana N, Yawata Y, Nomura N. Environmental factors that shape biofilm formation. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2016;80(1):7–12. <https://doi.org/10.1080/09168451.2015.1058701>.
- Singh R, Sahore S, Kaur P, Rani A, Ray P. Penetration barrier contributes to bacterial biofilm-associated resistance against only select antibiotics, and exhibits genus-, strain- and antibiotic-specific differences. *Pathog Dis*. 2016;74(6):ftw056. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftw056>.
- Panlilio H, Rice CV. The role of extracellular DNA in the formation, architecture, stability, and treatment of bacterial biofilms. *Biotechnol Bioeng*. 2021;118(6):2129–2141. <https://doi.org/10.1002/bit.27760>.
- Liu J, Zhang J, Guo L, Zhao W, Hu X, Wei X. Inactivation of a putative efflux pump (LmrB) in *Streptococcus mutans* results in altered biofilm structure and increased exopolysaccharide synthesis: implications for biofilm resistance. *Biofouling*. 2017;33(6):481–493. <https://doi.org/10.1080/08927014.2017.1323206>.
- Pinto RM, Soares FA, Reis S, Nunes C, Van Dijk P. Innovative Strategies Toward the Disassembly of the EPS Matrix in Bacterial Biofilms. *Front Microbiol*. 2020;11:952. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00952>.
- Belfield K, Bayston R, Hajduk N, Levell G, Birchall JP, Daniel M. Evaluation of combinations of putative anti-biofilm agents and antibiotics to eradicate biofilms of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother*. 2017;72(9):2531–2538. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx192>.
- Bernal-Mercado AT, Gutierrez-Pacheco MM, Encinas-Basurto D, Mata-Haro V, Lopez-Zavala AA, Islas-Osuna MA et al. Synergistic mode of action of catechin, vanillic and protocatechuic acids to inhibit the adhesion of uropathogenic *Escherichia coli* on silicone surfaces. *J Appl Microbiol*. 2020;128(2):387–400. <https://doi.org/10.1111/jam.14472>.
- Macchi A, Ardito F, Marchese A, Schito GC, Fadda G. Efficacy of N-acetylcysteine in combination with thiamphenicol in sequential (intramuscular/aerosol) therapy of upper respiratory tract infections even when sustained by bacterial biofilms. *J Chemother*. 2006;18(5):507–513. <https://doi.org/10.1179/joc.2006.18.5.507>.
- Mayaud C, Lentschner C, Bouchoucha S, Marsac J. L'acétylcystéine de thiamphénicol glycinate dans le traitement des infections respiratoires aiguës avec mucostase [Thiamphenicol glycinate acetylcysteinate in the treatment of acute respiratory infections with mucostasis]. *Eur J Respir Dis Suppl*. 1980;111:70–73. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6938412>.
- Drago L, Fassina MC, Mombelli B, De Vecchi E, Lombardi A, Gismondo MR. Comparative effect of thiamphenicol glycinate, thiamphenicol glycinate N-acetylcysteinate, amoxicillin plus clavulanic acid, ceftriaxone and clarithromycin on pulmonary clearance of *Haemophilus influenzae* in an animal model. *Chemotherapy*. 2000;46(4):275–281. <https://doi.org/10.1159/00007299>.
- Козлов PC, Авдеев CH, Гаращенко ТИ, Генпе НА, Дронов ИА, Зайцев АА и др. Резолюция совета экспертов по вопросу использования тиамфеникола глицинат ацетилцистеината в лечении внебольничных респираторных инфекций. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2021;23(2):195–196. Режим доступа <https://cmac-journal.ru/publication/2021/2/cmac-2021-t23-n2-p195/cmac-2021-t23-n2-p195.pdf>. Kozlov RS, Avdeev SN, Garashchenko TI, Geppe NA, Dronov IA, Zaytsev AA et al. Official statements of the board of experts on the use of topical thiamphenicol in patients with community-acquired respiratory infections. *Klinicheskaja Mikrobiologija i Antimikrobnaja Khimioterapija*. 2021;23(2):195–196. (In Russ.) Available at: <https://cmac-journal.ru/publication/2021/2/cmac-2021-t23-n2-p195/cmac-2021-t23-n2-p195.pdf>.

21. Богомилский МР, Радциг ЕЮ, Пивнева НД, Куянова ВЕ. Эффективность препарата тиамфеникола глицинат ацетилцистеинат при ингаляционном лечении детей с риносинуситом. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2021;66(1):73–79. <https://doi.org/10.21508/1027-4065-2021-66-1-73-79>.
Bogomil'skiy MR, Radtsig EYu, Pivneva ND, Kuyanova VE. Effectiveness of thiamphenicol glycinate acetylcysteinate in inhalation treatment of children with rhinosinusitis. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*. 2021;66(1):73–79. (In Russ.) <https://doi.org/10.21508/1027-4065-2021-66-1-73-79>.
22. Чикина СЮ. Тиамфеникола глицинат ацетилцистеинат – место в терапии респираторных заболеваний (обзор литературы). *Медицинский совет*. 2020;(17):109–112. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2020-17-109-112>.
Chikina SY. A role of thiamphenicol glycinate acetylcysteinate for therapy of respiratory diseases (a review). *Meditsinskiy Sovet*. 2020;(17):109–112. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2020-17-109-112>.
23. Goswami M, Jawali N. N-acetylcysteine-mediated modulation of bacterial antibiotic susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(8):3529–3530. <https://doi.org/10.1128/aac.00710-10>.
24. Zhao T, Liu Y. N-acetylcysteine inhibit biofilms produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Microbiol*. 2010;10:140. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-140>.
25. Карпова ЕВ, Колчанова НЭ, Петровская ТА, Тапальский ДВ. Микробиологическая активность тиамфеникола и тиамфеникола глицината ацетилцистеината в отношении клинически значимых микроорганизмов и образуемых ими биопленок. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2024;26(1):31–39. <https://doi.org/10.36488/cmasc.2024.1.31-39>.
Karpova EV, Kolchanova NE, Petrovskaya TA, Tapalskiy DV. Microbiological activity of thiamphenicol and thiamphenicol glycinate acetylcysteinate against clinically significant microorganisms and their biofilms. *Klinicheskaya Mikrobiologiya i Antimikrobnaya Khimioterapiya*. 2024;26(1):31–39. (In Russ.) <https://doi.org/10.36488/cmasc.2024.1.31-39>.
26. Papi A, Alfano F, Bigoni T, Mancini L, Mawass A, Baraldi F et al. N-acetylcysteine Treatment in Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) and Chronic Bronchitis/Pre-COPD: Distinct Meta-analyses. *Arch Bronconeumol*. 2024;60(5):269–278. <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2024.03.010>.
27. Ayer A, Manoharan A, Paino D, Farrell J, Whiteley GS, Kriel FH et al. Disruption of biofilms and killing of *Burkholderia cenocepacia* from cystic fibrosis lung using an antioxidant-antibiotic combination therapy. *Int J Antimicrob Agents*. 2021;58(2):106372. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2021.106372>.
28. Lawson D, Siggers BA. N.A.C. And Antibiotics In Cystic Fibrosis. *Br Med J*. 1965;1(5430):317. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.5430.317>.
29. Cammarota G, Branca G, Ardito F, Sanguinetti M, Ianaro G, Cianci R et al. Biofilm demolition and antibiotic treatment to eradicate resistant *Helicobacter pylori*: a clinical trial. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2010;8(9):817–820.e3. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2010.05.006>.
30. Mansouri MD, Hull RA, Stager CE, Cadle RM, Darouiche RO. In vitro activity and durability of a combination of an antibiofilm and an antibiotic against vascular catheter colonization. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57(1):621–625. <https://doi.org/10.1128/AAC.01646-12>.

Информация об авторах:

Игнатова Галина Львовна, д.м.н., профессор, заведующая кафедрой терапии института дополнительного профессионального образования, директор Института пульмонологии, Южно-Уральский государственный медицинский университет; 454092, Россия, Челябинск, ул. Воровского, д. 64; igln@mail.ru

Антонов Владимир Николаевич, д.м.н., профессор кафедры терапии института дополнительного профессионального образования, главный научный сотрудник Института пульмонологии, Южно-Уральский государственный медицинский университет; 454092, Россия, Челябинск, ул. Воровского, д. 64; ant-vn@yandex.ru

Information about the authors:

Galina L. Ignatova, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Therapy at the Institute of Continuing Professional Education, Director of the Institute of Pulmonology, South Ural State Medical University; 64, Vorovskiy St., Chelyabinsk, 454092, Russia; igln@mail.ru

Vladimir N. Antonov, Dr. Sci. (Med.), Professor of the Department of Therapy of the Institute of Continuing Professional Education, Chief Researcher of the Institute of Pulmonology, South Ural State Medical University; 64, Vorovskiy St., Chelyabinsk, 454092, Russia; ant-vn@yandex.ru