

УДК 616–095. 34

ОСОБЕННОСТИ МИКРОФЛОРЫ ТОЛСТОКИШЕЧНОГО БИОТОПА, КОЛОНИЗИРОВАННОГО *S. AUREUS* И *C. ALBICANS*

Годовалов А. П., Антонян А. А., Горбунова Е. А.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е. А. Вагнера» Минздрава России (Пермь, Россия)

PECULIARITIES OF MICROFLORA OF THE COLONIC BIOTOPE COLONIZED BY *S. AUREUS* AND *C. ALBICANS*

Godovalov A. P., Antonyan A. A., Gorbunova E. A.

Acad. E. A. Wagner Perm State Medical University (Perm, Russia)

Для цитирования: Годовалов А. П., Антонян А. А., Горбунова Е. А. Особенности микрофлоры толстокишечного биотопа, колонизированного *S. aureus* и *C. albicans*. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2018;153(5): 61–65.

For citation: Godovalov A. P., Antonyan A. A., Gorbunova E. A. Peculiarities of microflora of the colonic biotope colonized by *S. aureus* and *C. albicans*. Experimental and Clinical Gastroenterology. 2018;153(5): 61–65.

Годовалов А. П. — кафедра микробиологии и вирусологии, к.м.н.

Антонян А. А. — лечебный факультет, студент

Горбунова Е. А. — лечебный факультет, студент

Godovalov A. P. — Microbiology and Virology Department, PhD

Antonyan A. A. — medical faculty, student

Gorbunova E. A. — medical faculty, student

Годовалов

Анатолий Петрович

Godovalov Anatoliy P.

AGodovalov@gmail.com

Резюме

Кишечную микрофлору рассматривают как основную детерминанту здоровья и болезней людей. Имеются доказательства того, что изменение взаимосвязи между составом кишечной микробиоты и организмом человека может сопровождаться развитием аллергических и иммунопатологических состояний, а также ряда заболеваний.

Цель исследования — оценить изменения просветной части микробного состава толстого кишечника в случае изоляции комбинации *S. aureus* и *C. albicans*.

Результаты исследования. В случае присутствия *S. aureus* происходит снижение частоты изоляции типичных вариантов *E. coli* (с 99,5% до 94,4%; $p < 0,05$). Такая активность *S. aureus* подавляется грибами рода *Candida*, когда встречаемость *E. coli* соответствует уровню контрольной группы (100%). В присутствии только *C. albicans* происходит незначительное уменьшение выделения типичных вариантов *E. coli* (с 99,5 до 98,0; $p < 0,05$). Установлено, что при наличии в биотопе *S. aureus* чаще встречаются лактозонегативные варианты *E. coli* (22%, а в контрольной группе 0,5%; $p < 0,05$). Аналогичная ситуация наблюдается в случае обнаружения *C. albicans* и комбинации ее с *S. aureus*. В 1-й и 3-й группах наблюдается относительное повышение встречаемости лактозонегативных вариантов *E. coli* (19,0% и 17,1% соответственно; $p < 0,05$).

Заключение. Присутствие *C. albicans* нивелирует антагонистические взаимоотношения *S. aureus* и *E. coli*. С другой стороны, присутствие *S. aureus* и *C. albicans* как по отдельности, так и совместно способствуют развитию нетипичных вариантов *E. coli*. Таким образом, проведенные исследования показали, что обнаружение в толстокишечном биотопе *S. aureus* и/или *C. albicans* может существенно менять состав микробиоты, что, возможно, отражается на функциональной активности слизистой оболочки толстого кишечника и в целом всего организма человека.

Ключевые слова: *S. aureus*, *C. albicans*. толстокишечный биотоп, антагонизм, микробиота

Summary

Intestinal microflora is considered as the main determinant of human health and disease. There is evidence that changes in the relationship between the composition of intestinal microbiota and the human body can be accompanied by the development of allergic and immunopathological conditions, as well as a number of diseases.

The aim of the investigation was to assess changes in the lumen of the microbial composition of the large intestine in the case of isolation of *S. aureus* and *C. albicans*.

Results. In the case of the presence of *S. aureus* a decrease in the frequency of isolation of typical variants of *E. coli*. This activity of *S. aureus* is suppressed by *Candida*, when the occurrence of *E. coli* corresponds to the level of the control group. In the presence of *C. albicans* alone, there is a slight decrease in the allocation of typical *E. coli* variants.

Conclusion. The presence of *C. albicans* eliminates *S. aureus* antagonistic relationship with *E. coli*. On the other hand, the presence of *S. aureus* and *C. albicans* both individually and jointly contribute to the development of atypical variants of *E. coli*. Thus, the studies have shown that the detection of *S. aureus* and/or *C. albicans* in the large cell biotope can significantly change the composition of the microbiota, which may affect the functional activity of the colon mucosa and the whole human body.

Key words: *S. aureus*, *C. albicans*. colonic biotope, antagonism, microbiota

Кишечную микрофлору рассматривают как основную детерминанту здоровья и болезней людей. Имеются доказательства того, что изменение взаимосвязи между составом кишечной микробиоты и организмом человека может сопровождаться развитием аллергических и иммунопатологических состояний, а также ряда заболеваний, таких как ожирение, сахарный диабет II типа, воспалительные процессы кишечника, различные виды рака [1].

С современной точки зрения микробиоценоз кишечника представляет единую микрoэкологическую систему организма, которая сформировалась в процессе филогенетического развития самого человека и его микробиоты и включает разнообразные по количественному и качественному составу ассоциации микроорганизмов и продукты их биохимической активности. Вместе с тем в микробиоценозе помимо симбиоза между бактериями,

встречаются антагонистические отношения между ассоциантами. Результат такого взаимодействия не может не отразиться на состоянии макроорганизма. Например, известна способность отдельных кислоторезистентных лактобактерий пролиферировать в желудке и конкурировать с *Helicobacter pylori* за органический субстрат, способствуя поддержанию его концентрации в норме [2].

Зачастую в толстом кишечнике обнаруживаются одновременно *S. aureus* и *C. albicans*, однако в литературе мало данных о взаимном влиянии этих микроорганизмов как на функциональную активность эпителиоцитов слизистой оболочки кишечника, так и на симбионтную микрофлору человека.

Цель исследования – оценить изменения просветной части микробного состава толстого кишечника в случае изоляции комбинации *S. aureus* и *C. albicans*.

Материалы и методы

Проведено микробиологическое исследование содержимого толстого кишечника 429 человек. Все обследуемые были разделены на четыре группы. В 1-ю группу включали людей в случае наличия в микрофлоре толстого кишечника *S. aureus* и *C. albicans*. У пациентов 2-й группы отмечалось

наличие только *S. aureus*, а у 3-й – только *C. albicans*. В 4-ю (контрольную) группу входили люди с минимальными изменениями состава микрофлоры толстого кишечника. Для статистической обработки полученных данных использовали *t*-критерий Стьюдента и χ^2 -кватрат.

Результаты исследования

Проведенные исследования показали, что толстокишечный биотоп характеризуется присутствием микробных ассоциаций со сложными трофическими связями между микробами-ассоциантами. В случае присутствия *S. aureus* происходит снижение частоты изоляции типичных вариантов *E. coli* (с 99,5 до 94,4; $p < 0,05$; рис. 1). Подобная ситуация может быть связана с проявлением *S. aureus* выраженных антагонистических свойств в отношении ряда энтеробактерий. Такая активность *S. aureus* подавляется грибами рода *Candida*, когда встречаемость *E. coli* соответствует уровню контрольной группы (100%). В присутствии только *C. albicans* происходит незначительное уменьшение выделения типичных вариантов *E. coli* (с 99,5 до 98,0; $p < 0,05$).

Установлено, что при наличии в биотопе *S. aureus* чаще встречаются лактозонегативные варианты *E. coli* (22%, а в контрольной группе 0,5%; $p < 0,05$) (рис. 2). Аналогичная ситуация наблюдается в случае обнаружения *C. albicans* и комбинации ее с *S. aureus*. В 1-й и 3-й группах наблюдается относительное повышение встречаемости лактозонегативных вариантов *E. coli* (19,0% и 17,1% соответственно; $p < 0,05$). В случае колонизации толстого кишечника гемолитическими вариантами кишечной палочки наблюдается сходная картина.

Известны случаи синергического отношения между *E. coli* и *C. albicans* [3]. Показано, что в отсутствие адьюванта введение животным комбинации *E. coli* и *C. albicans* провоцирует у них летальность.

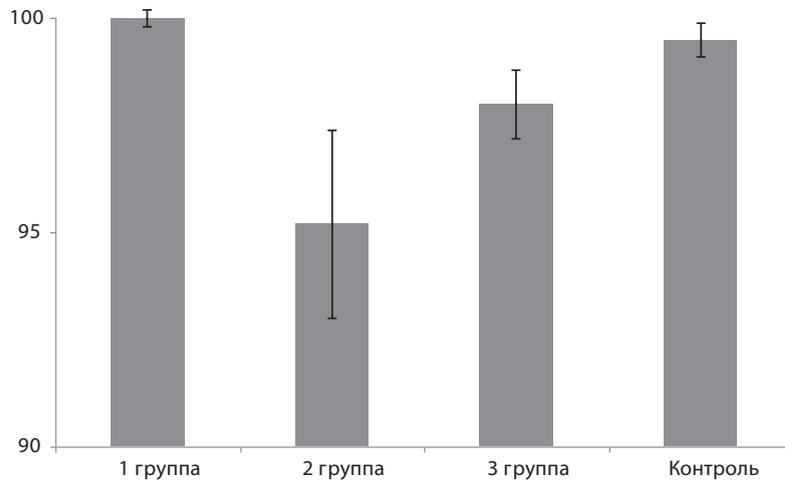


Рисунок 1.
Частота изоляции *E. coli* из содержимого толстокишечного биотопа (% пациентов).

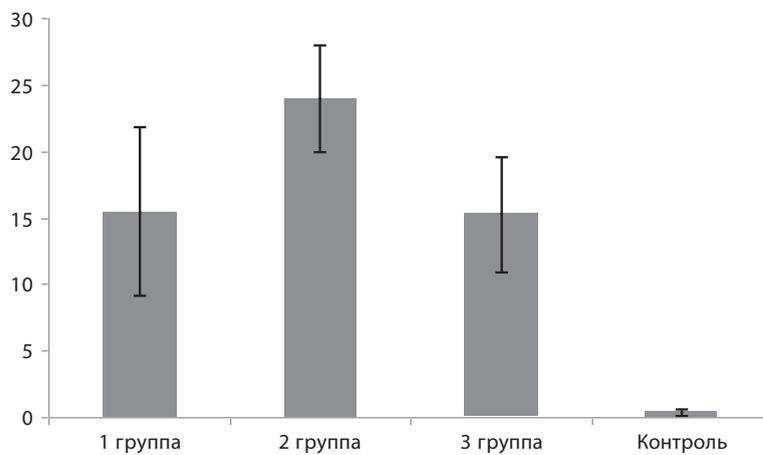


Рисунок 2.
Встречаемость лактозонегативных вариантов *E. coli* в толстокишечном биотопе (% человек).

Однако в присутствии гемоглобина-муцина синергический эффект этих микроорганизмов не наблюдался. Таким образом, подтверждено, что *C. albicans* способна действовать как ко-патоген в ходе экспериментального перитонита, но этот эффект может быть нивелирован присутствием адьювантного вещества, которое само по себе заметно усиливает рост микроорганизмов [3]. Есть данные, что *C. albicans* вырабатывают β -1,3-глюкан, который увеличивает у *E. coli*, находящихся в составе биопленки, состоящей из *E. coli* и *C. albicans*, толерантность к токсинам [4].

Показано, что *C. albicans* и *S. aureus* имеют синергические эффекты. У мышей, инфицированных только *S. aureus*, установлена более низкая смертность по сравнению с группой животных, инфицированных стафилококком и *C. albicans*. В настоящее время мало сведений о выраженности иммунного ответа хозяина в случае одновременной колонизации бактериальными и грибковыми патогенами. Кооперативные эффекты, наблюдаемые при смешанных грибково-бактериальных инфекциях *in vivo*, могут быть связаны с образованием биопленок, поскольку эта форма существования микроорганизмов может способствовать различным видам устойчивости. Harriott и Noverг продемонстрировали, что *S. aureus*, выделенный из грибково-бактериальных

биопленок обладает повышенной резистентностью к ванкомицину [5].

Ранее проведенные исследования показали влияние липополисахаридов грамотрицательных энтеробактерий на *Candida* [6]. Отмечено, что смертность экспериментальных животных, связанная с колонизацией организма *Candida spp.*, может быть увеличена в присутствии липополисахаридов *E. coli*. Было указано, что сам липополисахарид не оказывает прямого влияния на рост *Candida*, но иммуномодулирующие эффекты могут быть вызваны вторичным воздействием на полиморфоядерные лейкоциты и моноциты. На сегодняшний день влияние липополисахаридов *E. coli* на смешанные биопленки, образованные *Candida spp.* и *E. coli* оценено недостаточно [6].

C. albicans обладают способностью нарушать функциональные характеристики энтероцитов. Например, кандидозная колонизация желудочно-кишечного тракта может снижать защиту слизистой оболочки от колонизации грамотрицательными бактериями [7].

В ходе проведенных нами исследований показано, что *S. aureus* позволяет размножаться *Klebsiella spp.*, которые встречаются в 20,7% случаев в данной группе (в контрольной – 14,5%; $p=0,05$). При комбинации *S. aureus* и *C. albicans* подобная ситуация нивелируется.

Candida spp. не способна подавлять деление *Klebsiella* spp., однако при сочетании с *S. aureus* наблюдается меньшая колонизация кишечника клебсиеллами. Так, у пациентов 1-й группы *Klebsiella* spp. выделена в 16,2%, 2-й – 20,2%, 3-й – 13,1% и 4-й – 14,5% случаев. Показано, что 54% *E. coli* и 64% изолятов *Klebsiella*, устойчивые к двум или более антибиотикам, способны к переносу одного или нескольких генов устойчивости в культуру реципиента *E. coli* K-12. Наиболее часто резистентность, передаваемая обоими видами, развивается к канамицину и неомицину. Кроме этого, культуры *E. coli* способны переносить устойчивость к тетрациклину, хлорамфениколу, ампициллину и карбенициллину, тогда как изоляты *Klebsiella* – только к тетрациклину и хлорамфениколу. Экстраполяция этих результатов на большой ряд выделений *E. coli* и *Klebsiella* от госпитализированных пациентов показала, что 21 и 18% культур *E. coli* и *Klebsiella* соответственно переносили элементы резистентности [8].

В случае изоляции или *Candida*, или *S. aureus* выделение *Citrobacter* из толстокишечного биотопа не меняется по сравнению с контрольной группой (12,1; 12,5 и 7,1% соответственно; $p>0,05$). При комбинации *C. albicans* и *S. aureus* высеваемость *Citrobacter* spp. повышается (16,2%; $p=0,05$). Показано, что *C. rodentium* может являться этиологическим агентом гиперплазии толстой кишки,

тогда как *C. freundii* был реклассифицирован как патоген человека.

В настоящем исследовании показано, что присутствие в толстокишечном биотопе *S. aureus* способствует росту *Enterobacter* spp. (5,4 и 10% соответственно). Этот эффект отменяется при совместном обитании *S. aureus* и *C. albicans* (5,4%). Показано, что *Enterobacter* spp. могут быть выделены вместе с другой кишечной флорой из внутрибрюшных абсцессов или при перитонитах.

При комбинации *S. aureus* и *C. albicans* в 21% случае наблюдается снижение количества КОЕ *Lactobacillus* spp., что отсутствует в контрольной группе. Кроме этого, в 1-й группе у 40% пациентов число КОЕ *Bifidobacterium* spp. значительно снижено. Однако следует заметить, что в 1-й группе случаев снижения КОЕ и *Lactobacillus* spp., и *Bifidobacterium* spp. не выявлено. Показано, что *L. fermentum* способна уменьшать образование биопленки *S. aureus*. Ингибирование формирования биопленки, вероятно, зависит от модуляции оперона *ica* [9]. Кроме этого, *Lactobacillus* spp. ингибирует адгезию *S. aureus* к клеткам HeLa [10–12]. Существуют компоненты, продуцируемые *Lactobacillus* spp., которые могут ингибировать рост метициллин-резистентных *S. aureus*. Эти эффекты открывают перспективу возможного использования протективных свойств *Lactobacillus* spp. против инфекций, обусловленных метициллин-резистентными *S. aureus* [13–15].

Заключение

Толстокишечный биотоп является составной частью сложной многоуровневой системы, образованной прокариотическими и эукариотическими клетками, между которыми наблюдаются разнонаправленные взаимоотношения. Так, присутствие *C. albicans* нивелирует антагонистические взаимоотношения *S. aureus* и *E. coli*. С другой стороны, присутствие *S. aureus* и *C. albicans* как по отдельности, так и совместно способствуют развитию нетипичных вариантов *E. coli*. Кроме этого, изучаемые виды микроорганизмов могут оказывать действие и на другие энтеробактерии. Несмотря на обнаружение *Lactobacillus* spp.

и *Bifidobacterium* spp. у всех пациентов, количество КОЕ этих микроорганизмов в случае присутствия *S. aureus* и/или *C. albicans* было снижено. Таким образом, проведенные исследования показали, что обнаружение в толстокишечном биотопе *S. aureus* и/или *C. albicans* может существенно менять состав микробиоты, что, возможно, отражается на функциональной активности слизистой оболочки толстого кишечника и в целом всего организма человека. Коррекция толстокишечного микробиома вероятно может быть использована как для профилактики развития ряда заболеваний, так и для их патогенетического лечения.

Литература | Reference

1. Булатова Е.М., Богданова Н.М. Кишечная микрофлора – один из факторов формирования здоровья человека. Медицинский совет. – 2013. – № 1. – С. 30–33.
Bulatova E. M., Bogdanova N. M. Intestinal microflora is one of the factors in the formation of human health. Medical Council. 2013; 1: 30–33.
2. Симонова Е.В., Пономарева О.А. Роль нормальной микрофлоры в поддержании здоровья человека. Сибирский медицинский журнал. – 2008. – № 8. – С. 20–25.
Simonova E. V., Ponomareva O. A. The role of normal microflora in maintaining human health. The Siberian Medical Journal. 2008; 8: 20–25.
3. Klaerner H. G., Uknis M. E., Acton R. D., Dahlberg P. S., Carlone-Jambor C., Dunn D. L. *Candida albicans* and *Escherichia coli* are Synergistic Pathogens during Experimental Microbial Peritonitis. Journal of Surgical Research. – 1997. – Vol. 70(2). – P. 161–165.
4. De Brucker K., Tan Y., Vints K., De Cremer K. et al. Fungal β -1,3-glucan increases ofloxacin tolerance of *Escherichia coli* in a polymicrobial *E. coli*/*Candida albicans* biofilm. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2015. – Vol. 59(6). – P. 3052–3058.
5. Morales D. K., Hogan D. A. *Candida albicans* Interactions with Bacteria in the Context of Human Health and Disease. PLOS Pathogens. – 2010. – № 6 (4). Volume 6 (4). – P. 1–4.
6. Bandara H. M. H. N., Yau J. Y. Y., Watt R. M. et al. *Escherichia coli* and its lipopolysaccharide modulate in vitro *Candida* biofilm formation. Journal of Medical Microbiology. – 2009. – № 12 (58). – P. 1623–1631.

7. Diebel L. N., Liberati D. M., Diglio C. A. et al. Synergistic effects of *Candida* and *Escherichia coli* on gut barrier function. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. – 1999. – № 6 (47). – P. 1045–1051.
8. Chadwick P., Niell M. Transferable antibiotic resistance in *E. coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Canadian Medical Association Journal*. – 1973. – Vol. 109(8). – P. 691–696.
9. Melo T. A., Dos Santos T. F., De Almeida M. E. et al. Inhibition of *Staphylococcus aureus* biofilm by *Lactobacillus* isolated from fine cocoa. *BMC Microbiology*. – 2016. – Vol. 16. – P. 250–9.
10. Wang J., Zhang R., Zhou L. et al. *Lactobacillus* inhibit adhesion of *Staphylococcus aureus* to HeLa cells. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao*. – 2012. – Volume 28 (6). – P. 715–725.
11. Haileselassie Y., Navis M., Vu N. et al. *Lactobacillus reuteri* and *Staphylococcus aureus* differentially influence the generation of monocyte-derived dendritic cells and subsequent autologous T cell responses. *Immunity, Inflammation and Disease*. – 2016. 4(3). – P. 315–326.
12. Karska-Wysocki B., Bazo M., Smoragiewicz W. Antibacterial activity of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Microbiological Research*. – 2010. – № 165 (8). – P. 674–686.
13. Годовалов А. П., Быкова Л. П., Никулина Е. А., Ожгибесов Г. П. Изучение микробного пейзажа толстого кишечника при кандидозном носительстве. *Медицинский вестник МВД*. – 2016. – Т. 80, № 1 (80). – С. 41–43.
14. Годовалов А. П., Быкова Л. П., Никулина Е. А., Ожгибесов Г. П., и соавт. Выявление *Staphylococcus aureus* при изменении микробиоценоза толстой кишки. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. – 2016. – № 12 (136). – С. 36–38.
15. Годовалов А. П., Карпунина Н. С., Карпунина Т. И. Микробиота кишечника и влагалища женщин со вторичным бесплодием и заболеваниями желудочно-кишечного тракта. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. – 2016. – № 6 (130). – С. 109–113.