



Фундаментальная медицина

Дальневосточный медицинский журнал. 2022. № 1
Far Eastern Medical Journal. 2022. № 1

Научная статья
УДК 579(09)
<http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2022-1-5>

ИЗМЕНЧИВОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СТАФИЛОКОККОВ В АССОЦИАЦИЯХ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ МИКРОБОЦЕНОЗОВ

Лилия Мидехатевна Азнабаева^{1✉}, Елена Алексеевна Михайлова², Ольга Олеговна Жеребятьева³

¹⁻³Оренбургский государственный медицинский университет, Оренбург, Россия

^{1✉}lkhus@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4028-5920>

²<https://orcid.org/0000-0003-1074-8963>

³<https://orcid.org/0000-0002-6751-3519>

Аннотация. В работе изучена модификация антилизозимной (АЛА) и антигемоглобиновой (АНбА) активностей у *Staphylococcus aureus* и условно-патогенных видов стафилококков, выделенных со слизистой оболочки миндалин, в условиях микробных ассоциаций. Разработан и апробирован оригинальный метод оценки влияния ассоциативных микроорганизмов на модификацию биологических свойств симбионтов, основанный на оценке уровня изучаемого признака бактерий, выращенных в присутствии стерильных метаболитов культур-ассоциантов. Результаты представлены в виде средней арифметической и стандартного отклонения ($M \pm \sigma$). Установлено, что взаимодействия в паре индиген-индиген, выделенных от здоровых людей, чаще характеризуется снижением АЛА и АНбА (в более 50 % случаев). Усиления АЛА и АНбА (в 78-90 % случаев) в парах патоген-патоген и индиген-патоген могут использоваться для дифференциации микросимбиоза бактерионосителей от больных. Усиление АНбА в паре патоген-индиген и обоих изучаемых признаков в паре индиген-индиген могут быть информативными показателями для дифференциации микробиоза больных хроническим тонзиллитом от биоценоза здоровых и бактерионосителей. Активность ассоциативных пар бактерий, выделенных со слизистой оболочки миндалин, зависит от типов микробиозов и может являться одним из показателей для дифференциации микробиозов.

Ключевые слова: стафилококки, ассоциации, модификация биологических свойств

Для цитирования: Азнабаева Л.М. Изменчивость биологических свойств стафилококков в ассоциациях как показатель дифференциации микробиозов / Л.М. Азнабаева, Е.А. Михайлова, О.О. Жеребятьева // Дальневосточный медицинский журнал. – 2022. – № 1. – С. 29-32. <http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2022-1-5>.

MODIFICATION OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF STAPHYLOCOCCUS IN THE MICROBIAL ASSOCIATIONS AS MICROBIOSIS DIFFERENTIATION INDICATOR

Lilia M. Aznabaeva^{1✉}, Elena A. Mikhailova², Olga O. Zherebyatyeva³

¹⁻³Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia

^{1✉}lkhus@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4028-5920>

²<https://orcid.org/0000-0003-1074-8963>

³<https://orcid.org/0000-0002-6751-3519>

Abstract. The modification of the antilysozyme (ALA) and antihemoglobin (AHbA) activities in *Staphylococcus aureus* and opportunistic staphylococcus species isolated from the mucous membrane of the tonsils under conditions of microbial associations was studied. An original method for assessing the influence of associative microorganisms on the modification of the biological properties of symbionts has been developed and tested, based on assessing the level of the studied trait of bacteria grown in the presence of sterile metabolites of associated cultures. The results are presented



in the form of arithmetic mean and standard deviation ($M \pm \sigma$). It was found that interactions in an indigen-indigen pair isolated from healthy people are more often characterized by a decrease in ALA and AHbA (in more than 50 % of cases). Amplification of ALA and AHbA (in 78-90 % of cases) in pathogen-pathogen and indigen-pathogen pairs can be used to differentiate microsymbiocenosis of bacterial carriers from patients. An increase in AHbA in the pathogen-indigen pair and both studied signs in the indigen-indigen pair can be informative indicators for differentiating the microbiocenosis of patients with chronic tonsillitis from the biocenosis of healthy and bacterial carriers. The activity of associative pairs of bacteria isolated from the mucous membrane of the tonsils depends on the types of microbocenoses and may be one of the indicators for the differentiation of microbocenoses.

Keywords: staphylococcus, associations, modification biological properties

For citation: Aznabaeva L.M. Modification of biological properties of staphylococcus in the microbial associations as microbocenosis differentiation indicator / L.M. Aznabaeva, E.A. Mikhailova, O.O. Zherebyatyeva // Far Eastern medical journal. – 2022. – № 1. – С. 29-32. <http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2022-1-5>.

Бактериальные ассоциации составляют самую многочисленную группу микробocenозов тела человека, и биотопа верхних дыхательных путей в частности [3, 7, 8, 12]. Изучение особенностей межмикробных взаимодействий в определенном биотопе, позволит получить новые знания о механизмах формирования микробocenозов при разных формах инфекционного процесса, предложить критерии диагностики нормо- и патocenоза, открывает перспективы биорегуляции персистентного потенциала микроорганизмов [2, 11]. Данные о модификациях антилизоцимной активности у микроорганизмов в пределах одного биотопа немногочисленны [1, 3], а сведения о

модификации антигемоглобиновой активности в условиях ассоциаций отсутствуют. Вместе с тем, оценка модификации факторов патогенности (АЛА и АНбА) важна для понимания патогенеза инфекционного процесса и прогнозирования его исхода.

Цель исследования – оценить модификацию антилизоцимной и антигемоглобиновой активностей стафилококков, выделенных со слизистой оболочки миндалин здоровых людей, больных хроническим тонзиллитом, бактерионосителей золотистого стафилококка, в условиях микробных ассоциаций и предложить микробиологические критерии дифференциации микробocenозов.

Материалы и методы

Ранее авторами описаны микробocenозы слизистой оболочки миндалин трех групп обследуемых: здоровых лиц, больных хроническим тонзиллитом, бактерионосителей золотистого стафилококка, методом корреляционного анализа были определены ассоциативные связи между микроорганизмами в биотопе слизистой оболочки миндалин [1], выявлены наиболее часто встречающиеся стафилококки [2]. Объектом исследований были 40 штаммов *Staphylococcus aureus* и 60 штаммов коагулазоотрицательных стафилококков – представителей индигенной, нормальной (условно-патогенной) [4] микрофлоры (*S.haemolyticus*, *S.warneri*, *S.capitis*, *S.epidermidis*, *S.xylosus*), выделенных со слизистой оболочки миндалин трех групп обследуемых [10].

Моделирование ассоциации в жидкой питательной среде проводилось путем обработки клеток бак-

терий-симбионтов стерильными фильтратами суточных бульонных культур-ассоциантов, содержащих активные метаболиты. Количественную оценку антилизоцимной (АЛА) и антигемоглобиновой (АНбА) активностей микроорганизмов проводили фотометрическими методами [5, 6] на спектрофотометре Genesys 6 (TermoStofic). Модификацию уровня выраженности факторов патогенности стафилококков под действием экзометаболитов ассоциантов определяли в сравнении с исходным уровнем, исключая также АЛА и АНбА супернатанта. Представленные результаты отражают усредненные величины, полученные в трехкратных повторах 10 независимых серий опытов. Статистический анализ проводили с использованием t-теста Стьюдента, критерий вероятности $p < 0,05$ принимали достаточным для достоверной разницы опытной и контрольных групп данных [9].

Результаты и обсуждение

Все изучаемые штаммы характеризовались значениями АЛА в диапазоне $1,6 \pm 0,1$ – $2,7 \pm 0,2$ мкг/мл и значениями АНбА в диапазоне $4 \pm 0,8$ – $6,4 \pm 1,1$ г/л. Уровень выраженности свойств определялся состоянием биocenоза, из которого были изолированы штаммы. Выявлено, что штаммы условно-патогенной микрофлоры, выделенные от бактерионосителей, по сравнению со штаммами, выделенными от здоровых и больных лиц, характеризовались более высокими значениями АЛА ($2,6 \pm 0,2$ мкг/мл против $1,6 \pm 0,1$ и

$2,1 \pm 0,1$ мкг/мл соответственно) и АНбА ($6,2 \pm 1,1$ г/л против $4,0 \pm 0,8$ г/л, $p < 0,05$). Штаммы патогена, выделенные как от бактерионосителей, так и от больных, характеризовались сходными значениями изучаемых признаков (уровень АЛА составлял $2,6 \pm 0,2$ и $2,7 \pm 0,2$ мкг/мл соответственно, значения АНбА составляли $6,7 \pm 0,7$ и $5,9 \pm 0,7$ г/л).

Ассоциации микроорганизмов со слизистой оболочки миндалин здоровых людей были представлены только индигенами. Уровень АЛА симбионтов в ассо-



циации составил $2,4 \pm 0,2$ мкг/мл, что в 1,5 раза выше значений в монокультуре ($1,6 \pm 0,1$ мкг/мл, $p < 0,05$). Уровень АНбА составил $4,5 \pm 0,4$ г/л против $4,0 \pm 0,4$ г/л в монокультуре. Полученные данные могут быть объяснены экологической ролью индигенов – поддержание колонизационной устойчивости биотопа, что достигается закреплением индигена в биотопе за счет усиления продукции фактора персистенции.

При взаимодействии индигенов, выделенных из биотопа бактерионосителей отмечалось усиление продукции АЛА в 1,4 раза по сравнению с монокультурой ($3,7 \pm 0,3$ мкг/мл против $2,6 \pm 0,2$ мкг/мл, $p < 0,05$), АНбА в 1,8 раза ($11,1 \pm 1,1$ г/л в ассоциациях против $6,1 \pm 0,5$ г/л в монокультуре, $p < 0,05$). Взаимодействия патогенов между собой также сопровождалось повышением уровня АЛА в 1,4 раза ($3,6 \pm 0,3$ мкг/мл против $2,6 \pm 0,2$ мкг/мл $p < 0,05$), АНбА в 1,3 раза ($8,1 \pm 0,8$ г/л против $6,1 \pm 0,6$ г/л, $p < 0,05$). Влияние экзометаболитов золотистого стафилококка на индигены сопровождалось снижением АЛА в 1,5 раза ($2,6 \pm 0,2$ мкг/мл в монокультуре против $1,8 \pm 0,1$ мкг/мл в ассоциациях, $p < 0,05$) и усилением АНбА в 1,9 раза ($12,1 \pm 1,2$ г/л в ассоциации против $6,1 \pm 0,6$ г/л в монокультуре, $p < 0,05$). Метаболиты индигенов также повышали уровень АНбА *S.aureus* в 1,8 раза ($11,7 \pm 1,1$ г/л в опыте против $6,4 \pm 0,6$ г/л в контроле, $p < 0,05$). Подобный тип межмикробных взаимодействий: повышение патогенности и персистенции у патогена при одновременном подавлении персистентного потенциала условно-патогена свидетельствует о состоянии дисбиоза при бактерионосительстве. Это подтверждают исследования [11], в которых описано модифицирующее действие метаболитов представителя нормальной микрофлоры – лактобацилл на активность каталазы, антилизозимную, антикомплементарную активность и прирост биомассы условно-патогенных видов: *S.epidermidis* и *E.coli*.

При взаимодействии индигенов, выделенных от больных хроническим тонзиллитом отмечалось усиление АЛА в 1,6 раза по сравнению с монокультурой ($3,3 \pm 0,3$ мкг/мл против $2,1 \pm 0,2$ мкг/мл, $p < 0,05$), продукция АНбА усиливалась в 2 раза ($11,5 \pm 1,1$ г/л против $5,9 \pm 0,6$ г/л, $p < 0,05$). Взаимодействие патогенов между собой не сопровождалось значительными изменениями в продукции АЛА (АЛА патогенов

как в монокультуре, так и в ассоциации составляла $2,7 \pm 0,2$ мкг/мл) и АНбА (уровень признака в ассоциации был на $0,9$ г/л выше, чем в монокультуре).

Влияние экзометаболитов *S.aureus* на индигенов, выделенных от больных людей, сопровождалось снижением уровня АЛА в 1,4 раза ($2,1 \pm 0,2$ мкг/мл в монокультуре против $1,5 \pm 0,2$ мкг/мл в ассоциациях, $p < 0,05$) и повышением АНбА в 2,2 раза ($13,2 \pm 1,3$ г/л в ассоциации против $5,9 \pm 0,6$ г/л в монокультуре ($p < 0,05$). Метаболиты индигенов существенно не изменяли уровень АЛА золотистого стафилококка, однако, усиливали продукцию им АНбА ($12,8 \pm 1,3$ г/л против $5,9 \pm 0,6$ г/л ($p < 0,05$). Аналогичные результаты описаны [2], где приводятся данные о синергетическом взаимодействии *S.aureus* и *S.epidermidis*: взаимном усилении ростовых показателей в 68,1 % случаев.

Активность ассоциативных пар бактерий на слизистой оболочке миндалин зависит от типов микробиоценозов (здоровые, бактерионосители, больные хроническим тонзиллитом).

Ассоцианты, выделенные из микробиоценозов здоровых лиц в условиях межмикробных взаимодействий усиливали продукцию фактора персистенции (АЛА), при этом изменения уровня фактора патогенности (АНбА) не происходило, что может способствовать колонизационной резистентности биотопа.

Взаимодействия микроорганизмов из биоценоза бактерионосителей сопровождалось взаимной стимуляцией продукции АНбА во всех парах симбионтов, АЛА усиливалась в парах индиген-индиген, патоген-патоген, патогены снижали персистентный потенциал индигена. Полученные данные могут говорить о риске развития резидентной формы бактерионосительства.

Межмикробные взаимодействия симбионтов из микробиоценоза миндалин больных хроническим тонзиллитом в парах индиген-индиген приводили к усилению АЛА, но подавлению продукции данного фактора персистенции у индигена под влиянием экзометаболитов патогена. Одновременно отмечено повышение уровня фактора патогенности (АНбА) в парах индиген-индиген и патоген-патоген, что указывает на усиление патогенности как возбудителя, так и условно-патогенной микрофлоры, определяющее развитие патологического процесса.

Список источников

1. Азнабаева Л.М., Усвяцов Б.Я. Микробиологические критерии диагностики хронического тонзиллита у часто болеющих детей // Педиатрия им. Сперанского. – 2012. – № 2. – С. 57-61.
2. Азнабаева Л.М., Михайлова Е.А., Киргизова С.Б., Жеребятьева О.О., Фомина М.В. Микрoэкологическая характеристика биоценоза слизистой оболочки миндалин в норме и при хроническом инфекционном процессе // Оренбургский медицинский вестник. – 2019. – Т. 7. – № 2 (26). – С. 31-36.
3. Борисова О.Ю., Алешкин В.А., Пименова А.С. и др. Микробный состав микрофлоры ротоглотки у больных с тонзиллярной патологией // Инфекция и иммунитет. – 2015. – Т. 5. – № 3. – С. 225-232.
4. Бочков И.А., Селин Н.А., Лизько Н.Н., Юрко Л.П. Микрофлора зева у здоровых лиц в условиях экстремальных состояний // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 1998. – № 3. – С. 26-30.
5. Бухарин О.В., Вальшев А.В., Елагина Н.Н., Черкасов С.В., Иванов Ю.Б. Фотометрическое определение антилизозимной активности микроорганизмов // Журн. Микробиологии. – 1997. – № 4. – С. 117-120.



6. Бухарин О.В., Усвятцов Б.Я., Ханина Е.А. Способ определения антигемоглобиновой активности микроорганизмов. Патент РФ на изобретение № 2262705. 2005. Бюл. № 29.
7. Извин А.И., Катаева Л.В. Микробный пейзаж слизистой оболочки верхних дыхательных путей в норме и патологии // Вестник оториноларингологии. – 2009. – № 2. – С. 64-68.
8. Киселев А.Б., Чаукина В.А., Андамова О.В. и др. Формирование микробиоценоза слизистой оболочки верхних дыхательных путей с доминированием непатогенной или малопатогенной микрофлоры // Российская оториноларингология. – 2017. – № 2 (87). – С. 137-141.
9. Петри А., Сэбин К. Наглядная медицинская статистика. 3-е изд., перераб. и доп. – М.: ООО Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа», 2015. – 216 с.
10. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М.О. Биргер. – М.: Медицина, 1982. – 462 с.
11. Черкасов С.В., Забирова Т.М., Сгибнев А.В. и др. Изменение биологических свойств *Staphylococcus epidermidis* и *Escherichia coli* под влиянием метаболитов вагинальных лактобацилл в эксперименте // Журн. микробиологии. – 2001. – № 4. – С. 114-117.
12. Dewhirst F.E., Chen T., Izard J., et al. The human oral microbiome // Journal of bacteriology. – 2010. – Vol. 192, № 19. – P. 5002-50017.

References

1. Aznabayeva L.M., Usvyatsov B.Ya. Microbiological criteria for the diagnosis of chronic tonsillitis in frequently ill children // Journal «Pediatria» named after G.N. Speransky. – 2012. – № 2. – P. 57-61.
2. Aznabayeva L.M., Mikhailova E.A., Kirgizova S.B., Zherybyatyeva O.O., Fomina M.V. Microecological characteristics of biocenosis of the mucous membrane of the tonsils in normal and chronic infectious process // Orenburg Medical Bulletin. – 2019. – Vol. 7. – № 2 (26). – P. 31-36.
3. Borisova O.Yu., Aleshkin V.A., Pimenova A.S., et al. Microbial composition of the oropharyngeal microflora in patients with tonsillar pathology // Infection and Immunity. – 2015. – Vol. 5. – № 3. – P. 225-232.
4. Bochkov I.A., Selin N.A., Lizko N.N., Yurko L.P. The microflora of the pharynx in healthy individuals in conditions of extreme conditions // Epidemiology and Infectious Diseases. – 1998. – № 3. – P. 26-30.
5. Bukharin O.V., Valyshev A.V., Elagina N.N., Cherkasov S.V., Ivanov Yu.B. Photometric determination of the antilysozyme activity of microorganisms // Journal of Microbiology. – 1997. – № 4. – P. 117-120.
6. Bukharin O.V., Usvyatsov B.Ya., Khanina E.A. Method for determining the antihemoglobin activity of microorganisms. Patent of the Russian Federation for invention № 2262705. 2005. Bull. № 29.
7. Izvin A.I., Kataeva L.V. Microbial landscape of the mucous membrane of the upper respiratory tract in norm and pathology // Bulletin of Otorhinolaryngology. – 2009. – № 2. – P. 64-68.
8. Kiselev A.B., Chaukina V.A., Andamova O.V., et al. Formation of microbiocenosis of the mucous membrane of the upper respiratory tract with the dominance of non-pathogenic or low-pathogenic microflora // Russian Otorhinolaryngology. – 2017. – № 2 (87). – P. 137-141.
9. Petri A., Sabin K. Visual medical statistics / 3rd edition, revised and supplemented. – М.: ООО Publishing group «GEOTAR-Media», 2015. – 216 p.
10. Reference book of microbiological and virological research methods / Ed. by M.O. Birger. – М.: Medicine, 1982. – 462 p.
11. Cherkasov S.V., Zabirowa T.M., Sgibnev A.V., et al. Effect of vaginal Lactobacillus metabolites on biological properties of *Staphylococcus epidermidis* and *Escherichia coli* // Journal of Microbiology. – 2001. – № 4. – P. 114-117.
12. Dewhirst F.E., Chen T., Izard J., et al. The human oral microbiome // Journal of bacteriology. – 2010. – Vol. 192, № 19. – P. 5002-50017.

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

The authors declare no conflicts of interests.

Статья принята к публикации 11.01.2022.

The article was accepted for publication 11.01.2022.