

40. Rappuoli R., Pizza M., Del Giudice G. et al. Vaccines, new opportunities for a new society. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2014, 111 (34), 6: 12288-12293.
41. Schuster M., Eskola J., Duclos P. et al. Review of vaccine hesitancy: Rationale, remit and methods. *Vaccine.* 2015, 33 (34): 4157-4160.
42. Shimabukuro T.T., Nguyen M., Martin D. et al. Safety monitoring in the Vaccine Adverse Event Reporting System (VAERS). *Vaccine.* 2015, pii: S0264-410X(15)00982-2.
43. Soriano A., Neshet G., Shoenfeld Y. Predicting post-vaccination autoimmunity: who might be at risk? *Pharmacol. Res.* 2015, 92: 18-22.
44. Thoon K.C., Soh S.B., Liew W.K. et al. Active surveillance of adverse events following childhood immunization in Singapore. *Vaccine.* 2014, 32 (39): 5000-5005.
45. Tozzi A.E., Asturias E.J., Balakrishnan M.R. et al. Assessment of causality of individual adverse events following immunization (AEFI): a WHO tool for global use. *Vaccine.* 2013, 31 (44): 5041-5046.
46. William S.E., Barlow Ph.D., Robert L. Davis et al. The risk of seizures after receipt of whole-cell pertussis or measles, mumps, and rubella vaccine. For the Centers for Disease Control and Prevention Vaccine Safety Datalink Working Group. *The New England Journal of Medicine.* 2001, 345: 656-661.
47. Williams S.E., Klein N.P., Halsey N. et al. Overview of the Clinical Consult Case Review of adverse events following immunization: Clinical Immunization Safety Assessment (CISA) network 2004-2009. *Vaccine.* 2011, 29 (40): 6920-6927.
48. Woo E.J., Wise R.P., Menschik D. et al. Thrombocytopenia after vaccination: case reports to the US vaccine adverse event reporting system, 1990 — 2008. *Vaccine.* 2011, 29: 1319-1323.
49. Yaqub O., Castle-Clarke S., Sevdalis N. et al. Attitudes to vaccination: a critical review. *Soc. Sci. Med.* 2014, 112: 1-11.

Поступила 16.06.16

Контактная информация: Начарова Елена Петровна, к.м.н.,
197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 9, р.т. (815)234-60-04

© И.В. ГЛАДЫШЕВА, С.В. ЧЕРКАСОВ, 2017

И.В. Гладышева, С.В. Черкасов

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КОРИНЕБАКТЕРИЙ РЕПРОДУКТИВНОГО ТРАКТА ЖЕНЩИН

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза, Оренбург

Проанализированы данные литературы и результаты собственных экспериментальных исследований по биологическим свойствам коринебактерий репродуктивного тракта женщин. Дана общая характеристика микроорганизмов. Представлено 20 видов коринебактерий: *C. amycolatum*, *C. aquaticum*, *C. aurimucosum*, *C. bovis*, *C. glucuronolyticum*, *C. coyleae*, *C. freneyi*, *C. jeikeium var. genitalium*, *C. jeikeium var. pseudogenitalium*, *C. lipophiloflavum*, *C. kutscheri*, *C. minutissimum*, *C. nigricans*, *C. pseudodiphtheriticum*, *C. pseudotuberculosis*, *C. renale*, *C. striatum*, *C. tuberculostearicum* (lipophile) (includes most CDC group G-2 strains), *C. xerosis*, *C. urealyticum*. Рассмотрены механизмы и факторы, обеспечивающие коринебактериям возможность существования в вагинальном биотопе независимо от микрoэкологического состояния — наличие высокой резистентности к факторам врожденного иммунитета (лизозиму, комплементу, иммуноглобулинам), pH зависимая адгезия к фибронектину и к вагинальным эпителиоцитам. Описана роль фибронектина в адгезии бактерий к вагинальным эпителиальным клеткам. Показано, что экзометаболиты коринебактерий, подавляя каталазу условно патогенных микроорганизмов-симбионтов, способствуют максимальной реализации антагонистической активности вагинальных пероксидпродуцирующих лактобацилл, непосредственно оказывая влияние на численность и структуру популяции бактерий за счет подавления прироста и биопленкообразования. Приведенные материалы свидетельствуют о существенной роли коринебактерий в реализации физиологического феномена — колонизационной резистентности и позволяют нам рассматривать эти микроорганизмы как неотъемлемую часть нормальной микробиоты репродуктивного тракта женщины.

Ключевые слова: *Corynebacterium* spp., факторы персистенции, фибронектин, вагинальные эпителиоциты, адгезия, антагонистическая активность, репродуктивный тракт женщины, колонизационная резистентность

I.V.Gladysheva, S.V.Cherkasov

PHYSIOLOGICAL FEATURES OF CORYNEBACTERIA OF FEMALE REPRODUCTIVE TRACT

Research Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg, Russia

Literature data and results of authors' research on biological properties of corynebacteria of reproductive tract of women are analyzed. General characteristics of microorganisms is given. 20 species of corynebacteria are presented: *C. amycolatum*, *C. aquaticum*, *C. aurimucosum*, *C. bovis*, *C. glucuronolyticum*, *C. coyleae*, *C. freneyi*, *C. jeikeium* var. *genitalium*, *C. jeikeium* var. *pseudogenitalium*, *C. lipophiloflavum*, *C. kutscheri*, *C. minutissimum*, *C. nigricans*, *C. pseudodiphtheriticum*, *C. pseudotuberculosis*, *C. renale*, *C. striatum*, *C. tuberculostearicum* (lipophile) (includes most CDC group G-2 strains), *C. xerosis* and *C. urealyticum*. Mechanisms and factors ensuring the ability of corynebacteria to exist in vaginal biotope regardless of microecological condition — the presence of high resistance to factors of innate immunity (lysozyme, complement, immunoglobulins), pH-dependent adhesion to fibronectin and vaginal epitheliocytes — are examined. The role of fibronectin in adhesion of bacteria to vaginal epithelial cells is described. Corynebacteria exometabolites are shown to facilitate maximal realization of antagonistic activity of vaginal peroxide-producing lactobacilli by suppressing catalase of opportunistic microorganisms-symbionts, that directly influences the quantity and structure of bacterial population by suppressing growth and biofilm-formation. The materials provided give evidence on the significant role of corynebacteria in realization of physiological phenomenon — colonization resistance and allow us to examine these microorganisms as an integral part of normal microbiota of woman reproduction tract.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2017, No. 1, P. 96—107

Key words: *Corynebacterium* spp., persistence factors, fibronectin, vaginal epitheliocytes, adhesion, antagonistic activity, woman reproductive tract, colonization resistance

Род *Corynebacterium* spp., известный также как дифтероиды, или коринеформы, объединяет разнообразную группу микроорганизмов, занимающих различные биотопы тела человека. Обычно данный род микроорганизмов рассматривают в качестве возбудителей дифтерии и дифтериеподобных заболеваний у человека [10, 23, 39, 47]. В зависимости от биологических особенностей разные виды коринебактерий способны поражать кожу и внутренние органы, особенно у пожилых людей, пациентов с иммуносупрессией или мультиорганной патологией. Многие из них становятся причиной септического артрита и остеомиелита, инфекций при протезировании, заболеваний мочеполовой системы, эндокардитов, пневмоний [24, 25, 34, 46]. Наряду с тем, что микроорганизмы рода *Corynebacterium* играют роль в развитии инфекции у человека, в последнее время появляются сведения о важной роли отдельных представителей данной группы микроорганизмов в формировании микробиоценозов различных биотопов тела человека. Накопленный фактический материал относительно антагонистической активности коринебактерий по отношению к патогенным и условно патогенным микроорганизмам, открытие у них способности к продукции бактериоцинов, бактериоцинподобных субстанций, биосурфактантов позволило в последние годы взглянуть на коринебактерии с противоположных позиций [27, 40, 45]. Все больше появляется

сведений об участии микроорганизмов рода *Corynebacterium* spp. в поддержании колонизационной резистентности различных биотопов тела человека [2, 12, 13, 18]. Отдельные штаммы коринебактерий рекомендуют использовать в качестве пробиотических микроорганизмов [20, 22, 36]. Кроме того, ведутся исследования по применению коринебактерий в качестве иммуномодуляторов при иммунотерапии опухолей [33].

В вагинальном биотопе непатогенные коринебактерии встречаются у женщин независимо от возраста и микробиологического состояния биотопа. У девочек до наступления пубертатного периода непатогенные коринебактерии наряду с эпидермальным стафилококком составляют основную долю — 80% всей вагинальной микробиоты [9]. В период полового созревания, когда в вагинальном биотопе преобладают лактобациллы, количество непатогенных коринебактерий снижается, но, вместе с тем, они составляют большую часть среди других микроорганизмов. Их количество также возрастает у беременных и родильниц [12, 13]. Коринебактерии обнаруживаются и при различных дисбиотических состояниях репродуктивного тракта женщин [6, 16, 19]. Несмотря на высокую частоту встречаемости коринебактерий в вагинальном биотопе, вопрос об их роли среди исследователей до сих пор остается дискуссионным.

В обзоре мы обобщили данные литературы и результаты собственных исследований относительно биологических свойств коринебактерий, выделенных из репродуктивного тракта женщин, и попытались оценить их роль в занимаемом биотопе.

Коринебактерии относятся не только к традиционно трудноизолируемой, но и труднодифференцируемой, сложной в таксономическом отношении, группе микроорганизмов [21]. По данным литературы в вагинальном биотопе

Видовой спектр микроорганизмов рода *Corynebacterium* spp., выделенных из репродуктивного тракта женщин

Виды	Литературный источник
<i>C.amycolatum</i>	[1, 16, 17]
<i>C.aquaticum</i>	[7, 12, 13]
<i>C.aurimucosum</i>	[52]
<i>C.bovis</i>	[12, 13, 17]
<i>C.glucuronolyticum</i>	[10, 28]
<i>C.coyleae</i>	[17, 29]
<i>C.freneyi</i>	[30]
<i>C.jejikeium</i> var. <i>genitalium</i>	[8, 12, 13]
<i>C.jejikeium</i> var. <i>pseudogenitalium</i>	[8, 12, 13, 32]
<i>C.lipophiloflavum</i>	[31]
<i>C.kutscheri</i>	[8, 13]
<i>C.minutissimum</i>	[1, 12, 13, 15, 17]
<i>C.nigricans</i>	[49]
<i>C.pseudodiphtheriticum</i>	[13, 17]
<i>C.pseudotuberculosis</i>	[13, 16]
<i>C.renale</i>	[8, 13, 17]
<i>C.striatum</i>	[16, 17]
<i>C.tuberculostearicum</i> (lipophile) (includes most CDC group G-2 strains)	[35]
<i>C.xerosis</i>	[6–8, 10, 13, 16]
<i>C.urealyticum</i>	[1, 10, 17]

было выделено около 20 видов непатогенных коринебактерий (табл.).

Коринебактерии имеют форму прямых или слегка изогнутых палочек с заостренными иногда булабовидными концами 0,3 — 0,8×1,5 — 8,0 мкм; характерными признаками этих бактерий являются полиморфизм — наличие, помимо типичных палочек, длинных, коротких, ветвящихся форм [14]. Как правило, одиночные или в парах, часто V-образной конфигурации либо в стопках (палисад) из нескольких параллельно лежащих клеток. Грамположительные, хотя некоторые клетки окрашиваются неравномерно (вид «четок»). Внутри клеток, как правило, образуются метакроматиновые гранулы поли-

метафосфата. Неподвижные, неспорообразующие, некислотоустойчивые, каталазоположительные. По типу дыхания одни из них — облигатные аэробы, другие — факультативные анаэробы либо строгие анаэробы. Оптимальная температура для роста большинства видов 35 — 37°C, для некоторых видов оптимальное значение рН 4,3 — 4,5, для других рН 7,6 — 7,8. Для выращивания используют сывороточные среды и среды с теллуридом калия: кровяно-теллуридовые, сывороточно-теллуридовые, для некоторых видов необходимо наличие в среде Твин-80. В зависимости от видовой принадлежности, коринебактерии на средах образуют колонии круглые, выпуклые, гладкие (редко шероховатые), матовые или слегка блестящие, сероватые, беловато-кремовые до светло-желтых, желтые; некоторые штаммы образуют черный пигмент [47]. Костюковская О.Н. и др. [8] и Мартикайнен З.М. [12] классифицировали коринебактерии, выделенные из репродуктивного тракта женщин, независимо от микробиологического статуса, на макрокоринеформы и микрокоринеформы. Макрокоринеформы образуют чаще средние и крупные колонии диаметром 1 — 4 мм, непрозрачные, серые или кремовые (иногда желтоватые), чаще с неровными, нередко ажурными краями и выпуклым в виде шарика центром, диаметром 0,5 мм, матовые, сухие, ломкие, крошащиеся (R-формы) или серые, гладкие с ровными краями и белым выпуклым центром, блестящие, влажные, немного вязкие (S-формы). Микрокоринеформы — мелкие, диаметром 0,5 — 1,0 мм, белого и серого цвета с серебристым оттенком, выпуклые с ровными краями. Макрокоринеформы авторы отнесли к представителям нормальной резидентной микрофлоры влагалища. Типичными представителями по данным Мартикайнен З.М. были *S. aquaticum* и *S. minutissimum*. Микрокоринеформами условно обозначали *S. genitalium* и *S. pseudogenitalium*.

Коринебактерии — хемоорганотрофы. Основной конечный продукт у большинства видов при сбраживании глюкозы — L(+) — молочная кислота. Также коринебактерии при сбраживании мальтозы, галактозы, лактозы, сахарозы, маннита, ксилозы продуцируют уксусную, муравьиную, пропионовую, пировиноградную, янтарную кислоты и следы этанола [29, 51]. Пропионовую кислоту продуцируют *S. amycolatum*, *S. glucuronolyticum*. Коринебактерии *S. minutissimum*, *S. striatum*, *S. matruchotii* ферментируют эскулин [29]. Виды *S. renale*, *S. urealyticum* обладают наличием фермента уреазы [24].

Первоначальной ступенью колонизации вагинального биотопа коринебактериями является адгезия. Способность прикрепляться к поверхности эукариотических клеток макроорганизма обеспечивает их сохранение в биотопе и реализацию своих биологических свойств при взаимодействии с макроорганизмом.

При изучении адгезивной активности коринебактерий, выделенных из репродуктивного тракта женщин, на клетках вагинального эпителия было установлено, что штаммы, выделенные как у здоровых женщин (*S. aquaticum* и *S. jeikeium* var. *genitalium*), так и у женщин с воспалительными заболеваниями влагалища (*S. kutscheri* и *S. jeikeium* var. *genitalium*) обладали небольшой адгезивной активностью. Штаммы *S. aquaticum*, *S. jeikeium* var. *genitalium*, *S. vitrumen*, *S. minutissimum* и *S. xerosis*, выделенные у рожениц, обладали высокой адгезивной активностью к клеткам вагинального эпителия [13]. Автор предположила, что, вероятно, в раннем послеродовом периоде на фоне восстановления вагинального микробиоценоза происходит усиление рецепторной активности клеток коринеформных и нокардиоподобных бактерий, которое необходимо для осуществления полноценной колонизации вагиналь-

ного биотопа. Возрастание адгезивной активности также может быть связано с активизацией процессов взаимодействия поверхностных бактериальных структур с комплементарными им рецепторами на клетках вагинального эпителия. Нами была выявлена зависимость адгезивной способности коринебактерий к вагинальным эпителиоцитам от микроэкологического состояния биотопа. В условиях нормоценоза были выделены коринебактерии, обладающие низкой, средней и высокой адгезивной способностью. При микроэкологических нарушениях преобладали в основном низкоадгезивные штаммы коринебактерий, при отсутствии высокоадгезивных [4].

Нами описана фибронектинсвязывающая способность у вагинальных изолятов коринебактерий. К фибронектину адгезировались 100% штаммов, выделенных у здоровых женщин, и 66,7% штаммов, выделенных у женщин с микроэкологическими нарушениями. При этом коэффициент адгезии у штаммов, выделенных у здоровых женщин, был достоверно выше. Наиболее выраженной способностью связывать фибронектин человека обладали штаммы *S. minutissimum*, *S. amycolatum*, выделенные у здоровых женщин. Минимальной адгезивной способностью обладал штамм *S. afermentans*, выделенный при микроэкологических нарушениях. Было показано, что адгезия коринебактерий к фибронектину зависела от уровня pH и достигала наиболее высоких показателей при низких значениях этого фактора. При этом адгезивная способность коринебактерий к фибронектину под влиянием температуры, ультрафиолетового облучения, трипсина, маннозы и хлорамфеникола достоверно снижалась. Учитывая подавление адгезии у коринебактерий протеазами (в частности трипсином), хлорамфениколом — ингибитором синтеза белка и углеводами (маннозой), мы высказали предположение о том, что у исследуемых штаммов медиаторами адгезии выступают адгезины белковой природы, возможно, лектины, что предполагает наличие адгезии коринебактерий к различным структурам на поверхности вагинального эпителия [3]. Полученные результаты легли в основу разработки «Способа усиления адгезии бактерий к вагинальным эпителиоцитам», основанного на предварительной обработке эпителиоцитов фибронектином [5].

Способность коринебактерий адгезироваться к вагинальным эпителиоцитам и связывать белки межклеточного матрикса, в частности, фибронектин, характеризует их как высокоадгезивные микроорганизмы. Данное свойство позволяет коринебактериям конкурировать за сайты адгезии с условно патогенными микроорганизмами и существовать в вагинальном биотопе как в условиях нормо-, так и патоценоза.

С одной стороны, высокую адгезивную способность коринебактерий к белкам межклеточного матрикса можно расценить как фактор патогенности, так как известно, что специфичность такого рода адгезии позволяет штаммам бактерий не только выживать в микробиоценозах, но и проявлять свои патогенные свойства. Так, выявлен фибронектин связывающий белок у *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pyogenes*, играющий ключевую роль в персистенции данных микроорганизмов и развитии инфекций у человека [38, 42]. С другой стороны, увеличение способности связывания фибронектина у вагинальных непатогенных штаммов коринебактерий при низких значениях pH может играть роль в поддержании колонизационной резистентности вагинального биотопа. Сходные данные были получены при изучении адгезии вагинальных лактобацилл к фибронектину [41, 44]. Важно, что коринебактерии, как и лактобациллы, благодаря продукции органических кислот, сами поддерживают низкий уровень pH [29].

Существование коринебактерий в вагинальном биотопе определяется способностью ими секретировать различные субстанции, направленные на инактивацию факторов местного иммунитета хозяина.

Одинцова О.В. [13], исследуя антилизоцимную (АЛА) и антикомплементарную активность (АКА) коринеформных бактерий, выделенных от здоровых женщин, родильниц и женщин с воспалительными процессами влагалища неспецифической этиологии, показала, что данными свойствами обладают следующие виды: *S. aquaticum*, *S. jeikeium* var. *genitalium*, *S. kutscher*, *S. xerosis*, *S. jeikeium* var. *pseudogenitalium*, *S. minutissimum* и *S. pseudodiphtheriticum*. Культуры с АЛА чаще встречались у больных и родильниц. При этом средний уровень выраженности признака был невысоким и незначительно отличался во всех группах наблюдения. Распространенность и выраженность АКА были высокими независимо от состояния вагинального микробиоценоза. Автор предположила, что низкая частота АЛА среди культур, выделенных от здоровых женщин, и высокая частота АЛА культур, полученных от родильниц, в сочетании с малой выраженностью данного признака может определяться как необходимый фактор для закрепления коринеформ в качестве резидентной микрофлоры. В то же время, высокая частота встречаемости культур с АКА среди коринеформных бактерий в сочетании с высокой выраженностью признака отражает адаптационные способности данных микроорганизмов и способствует длительной персистенции коринеформных бактерий в вагинальном микробиоценозе.

Константинова О.Д. [7] описала высокую распространенность АЛА и АКА у клинических изолятов вагинальных коринебактерий, выделенных как у здоровых женщин, так и у женщин с эндометритами. В популяционной структуре *Сorynebacterium* spp. были представлены клоны с различной выраженностью указанных признаков.

В наших исследованиях [3, 17] также была выявлена высокая распространенность антилизоцимной и антикомплементарной активности среди клинических изолятов коринебактерий. Причем распространенность признаков не зависела от микрoэкологического состояния биотопа, при котором исследуемые микроорганизмы были выделены. Уровень выраженности антилизоцимной активности у штаммов, выделенных при дисбиозе, был выше по сравнению со штаммами, выделенными от здоровых женщин. Уровень выраженности антикомплементарной активности у коринебактерий, выделенных как у здоровых женщин, так и у женщин с микрoэкологическими нарушениями был высоким.

К секретлируемым факторам, обеспечивающим сохранение коринебактерий во влагалище женщин, следует отнести антииммуноглобулиновый признак, характеризующий способность коринебактерий быть устойчивыми к факторам врожденного иммунитета человека.

Антииммуноглобулиновая активность у клинических изолятов коринебактерий, выделенных у женщин с острыми кольпитами, впервые была описана Харсевой Г.Г. и др. [16]. Данным свойством обладали виды *S. xerosis*, *S. striatum*, *S. amycolatum*, *S. pseudotuberculosis*. Уровень антииммуноглобулиновой активности коринебактерий по отношению к IgM и IgA составил 100% для всех исследованных штаммов, IgG: 56,1 — 69,7%. Автор также выявила наличие ДНКазной активности у трех штаммов *S. amycolatum* и *S. xerosis*, выделенных из цервикального канала.

Рассматривая роль экзоклеточно секретлируемых факторов, обеспечивающих выживание коринебактерий в вагинальном биотопе, следует отметить

бактериальную каталазу. Благодаря секреции каталазы коринебактерии способны противостоять перексиду водорода, вырабатываемому клетками иммунной системы хозяина и представителями нормофлоры [15].

Высокая устойчивость коринебактерий к лизоциму и комплементу макроорганизма, продукция каталазы, выраженная антииммуноглобулиновая активность в отношении IgM и IgA, а также продукция ДНКазы отражает их адаптивный потенциал и, вероятно, определяет возможность сохранения во влажной среде микробиоценозе как при различных микроэкологических состояниях биотопа, так и при различных физиологических состояниях женщины.

Колонизируя вагинальный биотоп, коринебактерии взаимодействуют с другими членами микробного сообщества. Их выделяют в ассоциациях с *Lactobacillus* spp., *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus durans*, *Escherichia coli*, а также с *Candida albicans*, *S. aureus*, *Gardnerella vaginalis*, *Klebsiella pneumoniae* и *Neisseria* spp. [12, 16].

Анализ литературных источников выявил противоречивые данные об антагонистической активности коринебактерий.

В серии опытов Мартикайнен З.М. [12] *in vitro* по выявлению возможного антагонизма между штаммами коринебактерий и штаммами *S. epidermidis*, *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans*, *G. vaginalis*, *K. pneumoniae*, выделенных из влагалища, а также референс-штаммами показала, что ни в одном случае не было отмечено задержки роста тест-микробов. Автор предположила, что коринебактерии *in vitro* не проявляют антагонистических свойств по отношению к другим представителям вагинального микробиоценоза. Харсева Г.Г. [16] при исследовании межбактериальных взаимодействий также установила, что штаммы *C. non diphtheriae*, выделенные из цервикального канала, не обладали антагонистическим действием в отношении *K. pneumoniae*, *E. coli*, *S. aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*.

Однако Одинцова О.В. [13] опровергла данное утверждение. По данным автора различные виды коринебактерий проявляли антагонистическую активность по отношению к *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *C. albicans*, независимо от микроэкологического состояния биотопа. Изменялась только частота и выраженность угнетения прироста тест-культур. У здоровых женщин антагонистически-активные штаммы преобладали среди доминирующих видов. Штаммы *C. kutscheri* в 50% случаев вызывали угнетение роста *K. pneumoniae*. *C. jeikeium* var. *genitatum* и *C. aquaticum* в основном проявляли антагонизм в отношении *E. coli*, *C. xerosis* в отношении *S. aureus* и *E. faecalis*. У женщин в раннем послеродовом периоде возрастала численность штаммов-антагонистов к *S. aureus*, *E. faecalis*, *C. albicans*. Антагонистическую активность проявляли *C. aquaticum*, *C. jeikeium* var. *genitatum*, *C. minutissimum*, *C. pseudodiphtheriticum*, *C. renale*. У женщин с воспалительными заболеваниями влагалища неспецифической этиологии наибольшее количество антагонистически активных штаммов зарегистрировано по отношению к *E. faecalis*, *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis* и *P. vulgaris*. Наиболее выраженной антагонистической направленностью обладали виды *C. minutissimum*, *C. kutscheri*, *C. jeikeium* var. *genitatum*.

Нами выявлено разнонаправленное влияние экзометаболитов коринебактерий на прирост планктонной культуры и биопленкообразование у *E. coli* и *S. aureus*. Модификация биологических свойств условно патогенных микроорганизмов

экзометаболитами коринебактерий напрямую зависела от микроэкологического состояния биотопа. Коринебактерии, выделенные у здоровых женщин, незначительно стимулировали прирост планктонной культуры *E. coli*, при этом подавляли прирост *S. aureus*. Коринебактерии, выделенные при микроэкологических нарушениях, наоборот, подавляли прирост планктонной культуры *E. coli*, при этом незначительно стимулировали его у *S. aureus*. Значительное подавление биопленкообразования *E. coli* и *S. aureus* было выявлено преимущественно экзометаболитами коринебактерий, выделенными у здоровых женщин [3].

Способность коринебактерий подавлять прирост планктонной культуры и биопленкообразование условно патогенных микроорганизмов может быть связано с продукцией ими бактериоцинов, бактериоцин-подобных субстанций и биосурфактантов. Полученные результаты не противоречат исследованиям других авторов. Kwaszewska A. et al. [40] определили наличие бактериоцин-подобной субстанции у 90% исследуемых коринебактерий, выделенных с кожи пациентов. Спектр ее активности охватывал грамположительные бактерии. Dalili D. et al. [27] описали липопептид Coryxin у *S. xerosis* NS5, изолированной из локтевой ямки здорового человека, который существенно подавлял адгезивную способность и биопленкообразование *S. aureus*, *Streptococcus mutans*, *E. coli* и *P. aeruginosa*.

Помимо собственного антагонистического действия, коринебактерии обладают непрямой антагонизмом по отношению к условно патогенным микроорганизмам. В данном случае речь идет о способности коринебактерий усиливать действие антибактериальных факторов как врожденного иммунитета хозяина, так и доминирующих микроорганизмов — пероксидпродуцирующих лактобацилл.

Известно, что основная роль в поддержании колонизационной резистентности вагинального биотопа принадлежит доминирующим микроорганизмам лактобациллам. При этом один из механизмов ее реализации у них заключается в продукции пероксида водорода. Хотя последняя и является бактерицидным фактором, тем не менее, возможно образование гидроксильного радикала в реакции Фентона, обладающего более выраженным антибактериальным действием, что экспериментально установлено А.В. Сгибневым [15]. Однако аллохтонные микроорганизмы благодаря наличию каталазы способны предотвратить действие активных форм кислорода, разрушая перекись водорода и тем самым препятствуя образованию гидроксильного радикала. Поэтому весьма существенной оказывается роль коринебактерий, обладающих ингибиторным действием на каталазную активность аллохтонных бактерий.

В то же время, коринебактерии оказывают влияние на продукцию цитокинов вагинальными эпителиоцитами. Изучая эпителиально-бактериальные взаимодействия Е.А. Кремлева [11] обнаружила, что изменение экспрессии цитокинов при взаимодействии эпителиоцитов с коринебактериями в эксперименте *in vitro* было во многом аналогично результатам взаимодействия с лактобациллами: умеренная стимуляция продукции IL-8, IL-6, IL-1b и подавление продукции TNF- γ . Кроме того, под влиянием метаболитов вагинальных эпителиоцитов происходило повышение антагонистической активности коринебактерий по отношению к *S. aureus* и *E. coli*, что было выше по сравнению с влиянием эпителиоцитов на антагонистическую активность лактобацилл.

Характеризуя межбактериальные взаимодействия коринебактерий в ваги-

нальном биотопе, следует отметить, что данные микроорганизмы обладают широким набором биологических характеристик, определяющих как их антагонистические взаимоотношения с условно патогенными микроорганизмами, так и симбиотические взаимодействия с представителями нормофлоры. Вероятно, это не только определяет сохранение коринебактерий в условиях нормо- и патоценоза, но и является одним из ключевых факторов поддержания колонизационной резистентности репродуктивного тракта женщин.

В настоящее время имеются немногочисленные работы, посвященные изучению непатогенных коринебактерий организма человека, хотя это таксономически и биологически разнообразная группа микроорганизмов, составляющих значительную часть микробиоты человека. Привычные подходы рассматривать данные микроорганизмы как возбудителей инфекционных заболеваний не дают возможность в целом оценить их роль в норме и при патологии хозяина. Благодаря широкому внедрению в научную практику современных методов исследования, в том числе и молекулярно-генетических, был обнаружен ряд новых видов коринебактерий и их биологических свойств. Подробно изучается антагонистическая активность коринебактерий по отношению к патогенным и условно патогенным микроорганизмам. Способность коринебактерий к продукции бактериоцинов, бактериоцин-подобных субстанций и биосурфактантов становится одним из главных аспектов в рассмотрении данной группы микроорганизмов как потенциальных пробиотических культур [20, 22, 27, 36, 37].

Примером могут служить непатогенные коринебактерии, выделенные с кожи, со слизистой конъюнктивы, уретры, верхних дыхательных путей, где в целом они рассматриваются не только как представители резидентной микрофлоры, но и как главные микроорганизмы, участвующие в поддержании колонизационной резистентности данных биотопов [22, 26, 43, 48, 50, 53]. Штаммы *Corynebacterium accolens* рекомендуют для санации слизистой носа от *Streptococcus pneumoniae* [22], а *C. pseudodiphtheriticum* — для элиминации *S. aureus* [37].

По-видимому, результаты исследований относительно непатогенных коринебактерий, выделенных из других биотопов, можно экстраполировать и на репродуктивный тракт женщин. Проведенный нами анализ литературных источников показал, что данные микроорганизмы обладают высоким адаптационным потенциалом, что позволяет им существовать как в репродуктивном тракте здоровых женщин, так и у женщин с неспецифическими инфекционными заболеваниями влагалища, кольпитами, аднекситами, эндометритами [1, 7, 16, 19]. На наш взгляд, выделение непатогенных коринебактерий при микробиологических нарушениях еще не свидетельствует о том, что именно они стали этиологическим фактором этих нарушений. Необходимо отметить, что есть таксономические и штаммовые различия, и только детальные молекулярно-генетические исследования биологических свойств коринебактерий с определением маркеров патогенности помогут решить задачу дифференцировки их как представителей резидентной микрофлоры или возбудителей инфекции.

Таким образом, анализ современной литературы и данных собственных исследований об антагонистической активности коринебактерий, а также симбиотических взаимодействиях с организмом хозяина и лактобациллами свидетельствует о существенной роли коринебактерий в реализации физиологического феномена — колонизационной резистентности и позволяет нам рассматривать эти микроорганизмы как неотъемлемую часть нормальной микробиоты репродуктивного тракта женщины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдалкин М.Е., Абдалкина Е.Н. Нарушения микробной экологии при неспецифических вульвовагинитах: роль эпидермального стафилококка и коринебактерий. Современные проблемы науки и образования. 2011, 3; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=4670>.
2. Бухарин О.В., Лобакова Е.С., Немцева Н.В., Черкасов С.В. Ассоциативный симбиоз. Екатеринбург, 2007.
3. Гладышева И.В. Характеристика коринебактерий в ассоциативном симбиозе репродуктивного тракта женщин. Автореф. дисс. канд. мед. наук. Оренбург, 2015.
4. Гладышева И.В., Черкасов С.В. Роль фибронектина в адгезии коринебактерий к вагинальным эпителиоцитам. Журн. микробиол. 2014, 6: 64-72.
5. Гладышева И.В., Черкасов С.В., Бухарин О.В. Способ усиления адгезии бактерий к вагинальным эпителиоцитам. № RU 2580247, 10.04.2016.
6. Ивандеева О.И. Особенности репродуктивного здоровья и микроценоза влагалища при метаболической синдроме. Пути коррекции: Автореф. дисс. канд. мед. наук. Самара, 2009.
7. Константинова О.Д. Микробиологические подходы к диагностике и лечению воспалительных заболеваний придатков матки неспецифической этиологии. Автореф. дисс. канд. мед. наук. Оренбург, 2004.
8. Костюковская О.Н., Гладкая Е.А. Идентификация недифтерийных бактерий рода *Corynebacterium* и определение их антибиотикочувствительности. Клини. лаб. диагн. 1992, 9 — 10: 29-31.
9. Кохреидзе Н.А., Кравченко М.Е. Становление вагинальной микрофлоры в возрастном аспекте. Журн. детская больница. 2002, 3: 45-47.
10. Краева Л.Л., Манина Ж.Н., Ценева Г.Я., Радченко А.Г. Этиологическая значимость *Corynebacterium non diphtheriae* у больных с различной патологией. Журн. микробиол. 2007, 5: 3-7.
11. Кремлева Е.А. Роль эпителиально-бактериальных взаимодействий в ассоциативном симбиозе репродуктивного тракта женщин. Автореф. дисс. д-ра мед. наук. Оренбург, 2013.
12. Мартикайнен З.М. Коринебактерии женских гениталий. Автореф. дисс. канд. мед. наук. Санкт-Петербург, 1996.
13. Одинцова О.В. Коринеподобные и нокардиоподобные бактерии как компонент вагинального микробиоценоза. Автореф. дисс. канд. мед. наук. Пермь, 2002.
14. Определитель бактерий Берджи. Дж. Хоулт, Н. Криг, П. Снит и др. (ред.). М., Мир, 1997.
15. Сгибнев А.В. Регуляция активности бактериальной каталазы в межмикробных взаимодействиях. Автореф. дисс. канд. мед. наук. Оренбург, 2002.
16. Харсеева Г.Г., Воронина Н.А., Гасретова Т.Д., Мамычева Н.И., Голованова Н.А. Персистентные свойства *Corynebacterium non diphtheriae*, циркулирующие в Ростовена-дону и Ростовской области. Журн. микробиол. 2012, 3: 13-17.
17. Черкасов С.В., Гладышева И.В. Антибиотикорезистентность коринеформных бактерий репродуктивного тракта женщин. Антибиотики и химиотерапия. 2010, 55 (9 — 10): 45-49.
18. Черкасов С.В., Гладышева И.В., Бухарин О.В. Симбиотические взаимодействия вагинальных коринебактерий и лактобацилл в реализации окислительных механизмов антагонизма. Журн. микробиол. 2012, 6: 13-16.
19. Шаталова А.Ю. Вульвовагиниты, вызванные условно-патогенными микроорганизмами, у пациенток репродуктивного возраста: этиология, клиника, диагностика и терапия. Автореф. дисс. канд. мед. наук. М., 2011.
20. Шмелева Е.А. Способ получения пробиотического бактериального препарата, содержащего структурные компоненты микробной клетки. № RU 2230113, 10.06.2004.
21. Bernard K. The genus *Corynebacterium* and other medically relevant coryneform-like bacteria. J. Clin. Microbiol. 2012, 50 (10): 3152-3158.
22. Bomar L., Brugger S.D., Yost B.H. *Corynebacterium accolens* releases antipneumococcal free fatty acids from human nostril and skin surface triacylglycerols. MBio. 2016, 7 (1): e01725-15. doi: 10.1128/mBio.01725-15.
23. Both L., Collins S., de Zoysa A. et al. Molecular and epidemiological review of toxigenic

- diphtheria infections in England between 2007 and 2013. *J. Clin. Microbiol.* 2015, 53 (2): 567-572.
24. Cappuccino L., Bottino P., Torricella A., Pontremoli R. Nephrolithiasis by *Corynebacterium urealyticum* infection: literature review and case report. *J. Nephrol.* 2014, 27(2): 117-25. doi: 10.1007/s40620-014-0064-1.
 25. Cazanave C., Greenwood-Quaintance K.E. et al. *Corynebacterium* prosthetic joint infection. *J. Clin. Microbiol.* 2012, 50 (5): 1518-1523.
 26. Cogen A.L., Nizet V., Gallo R.L. Skin microbiota: a source of disease or defence? *Br. J. Dermatol.* 2008, 158 (3): 442-55. doi: 10.1111/j.1365-2133.2008.08437.x.
 27. Dahili D., Amini M., Faramarzi M.A. et al. Isolation and structural characterization of Coryxin, a novel cyclic lipopeptide from *Corynebacterium xerosis* NS5 having emulsifying and anti-biofilm activity. *Colloids Surf. B: Biointerfaces.* 2015, 1 (135): 425-432. doi: 10.1016/j.colsurfb.2015.07.005.
 28. Devriese L.A., Riegel P., Hommez J. et al. Identification of *Corynebacterium glucuronolyticum* strains from the urogenital tract of humans and pigs. *J. Clin. Microbiol.* 2000, 38 (12): 4657-4659.
 29. Funke G.A. et al. Clinical microbiology of coryneform bacteria — a review. *Clin. Microbiol.* 1997, 10: 125-159.
 30. Funke G., Frodl R. Comprehensive study of *Corynebacterium freneyi* strains and extended and emended description of *Corynebacterium freneyi* Renaud, Aubel, Riegel, Meugnier, and Bollet 2001. *J. Clin. Microbiol.* 2008, 46 (2): 638-643.
 31. Funke G., Hutson R. A., Hilleringmann M. et al. *Corynebacterium lipophiloflavum* sp. nov. isolated from a patient with bacterial vaginosis. *FEMS Microbiol. Lett.* 1997, 150: 219-224.
 32. Furness G., Sambury S., Evangelista A.T. *Corynebacterium pseudogenitalium* sp. nov. Commensals of the human male and female urogenital tracts. *Invest Urol.* 1979, 16 (4): 292-295.
 33. Gao S., Liu C., Qu S. et al. Non-cell *Corynebacterium parvum* generated by nanotechnology: a promising immunomodulator with less sideeffects. *Int. Immunopharmacol.* 2007, 7 (10): 1334-1342.
 34. Hagemann J.B., Essig A., Herrmann M. et al. Early prosthetic valve endocarditis caused by *Corynebacterium kroppenstedtii*. *Int. J. Med. Microbiol.* 2015, 305 (8): 957-959. doi: 10.1016/j.ijmm.2015.10.003.
 35. Hinic V., Lang C., Weisser M. et al. *Corynebacterium tuberculostearicum*: a potentially misidentified and multiresistant *Corynebacterium* species isolated from clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.* 2012, 50 (8): 2561-2567. doi: 10.1128/JCM.00386-12.
 36. Karlyshev A.V., Melnikov V.G. Draft Genome Sequence of *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* Strain 090104 «Sokolov». *Genome Announc.* 2013, 1 (6): e00921-13.
 37. Kiryukhina N.V., Melnikov V.G., Suvorov A.V. et al. Use of *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* for elimination of *Staphylococcus aureus* from the nasal cavity in volunteers exposed to abnormal microclimate and altered gaseous environment. *Probiotics Antimicrob. Proteins.* 2013, 5 (4): 233-238. doi: 10.1007/s12602-013-9147x.
 38. Kreikemeyer B., Oehmcke S., Nakata M. et al. *Streptococcus pyogenes* Fibronectin-binding protein F2. Expression profile, binding characteristics, and impact on eukaryotic cell interactions. *J. Biol. Chem.* 2004, 279: 15850-15859.
 39. Konrad R., Hörmansdorfer S., Sing A. Possible human-to-human transmission of toxigenic *Corynebacterium ulcerans*. *Clin. Microbiol. Infect.* 2015, 21 (8): 768-771. doi: 10.1016/j.cmi.2015.05.021
 40. Kwaszewska A., Szewczyk E.M. Production of antibacterial substances by resident corynebacteria isolated from human skin. *Med. Dosw. Mikrobiol.* 2007, 59: 251-257.
 41. McMillan A., Macklaim J.M., Burton J.P. et al. Adhesion of *Lactobacillus iners* AB-1 to Human fibronectin: a key mediator for persistence in the vagina? *Reprod. Sci.* 2013, 20 (7): 791-796.
 42. Mongodin E., Bajolet O., Cutrona J. et al. Fibronectin-binding proteins of *Staphylococcus aureus* are involved in adherence to human airway epithelium. *Infect. Immun.* 2002, 70: 620-630.
 43. Montagnini Spaine D., Mamizuka E.M., Pereira Cedenho A. et al. Microbiologic aerobic studies on normal male urethra. *Urology.* 2000, 56 (2): 207-210.
 44. Nagy E., Froman G., Mardh P-A. Fibronectin binding of *Lactobacillus* species isolated from women with and without bacterial vaginosis. *J. Med. Microbiol.* 1992, 37: 38-42.

45. Nakano H., Tomita F., Yamaguchi K. et al. Corynecein (chloramphenicol analogs) fermentation studies: selective production of Corynecein I by *Corynebacterium hydrocarboclastus* grown on acetate. *Biotechnol. Bioeng.* 1977, 19 (7): 1009-1018.
46. Nishiyama A., Ishida T., Ito A., Arita M. Bronchopneumonia caused by *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*. *Intern. Med.* 2013, 52 (16): 1847.
47. Santos L.S., Sant'anna L.O., Ramos J.N. et al. Diphtheria outbreak in Maranh o, Brazil: microbiological, clinical and epidemiological aspects. *Epidemiol. Infect.* 2015, 143 (4): 791-798. doi: 10.1017/S0950268814001241.
48. Scharschmidt T.C., Fischbach M.A. What lives on our skin: ecology, genomics and therapeutic opportunities of the skin microbiome. *Drug Discov. Today Dis. Mech. Drug Discov.* 2013, 10 (3 – 4). pii: e83-e89.
49. Shukla S.K., Bernard K.A., Harney M. et al. *Corynebacterium nigricans* sp. nov.: proposed name for a black-pigmented *Corynebacterium* species recovered from the human female urogenital tract. *J. Clin. Microbiol.* 2003, 41 (9): 4353-4358.
50. Thiel H.J., Schumacher U. Normal flora of the human conjunctiva: examination of 135 persons of various ages. *Klin. Monbl. Augenheilkd.* 1994, 205 (6): 348-357.
51. Tong J., Liu C., Summanen P.H. et al. *Corynebacterium pyruviciproducens* sp. nov., a pyruvic acid producer. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2010, 60 (Pt 5): 1135-1140.
52. Trost E. et. al. Complete genome sequence and lifestyle of black pigmented *Corynebacterium aurimucosum* ATCC 700975 (formerly *C. nigricans* CN-1) isolated from a vaginal swab of a woman with spontaneous abortion. *BMC Genomics.* 2010, 5 (11): 91. doi: 10.1186/1471-2164-11-91.
53. Uehara Y., Nakama H., Agematsu K. et al. Bacterial interference among nasal inhabitants: eradication of *Staphylococcus aureus* from nasal cavities by artificial implantation of *Corynebacterium* sp. *J. Hosp. Infect.* 2000, 44 (2): 127-133.

Поступила 25.08.16

Контактная информация: Гладышева Ирина Вячеславовна,
460000, Оренбург, ул. Пионерская, 11, р.т. (3532)77-54-17

© Г.Г.ХАРСЕЕВА, Н.А.ВОРОНИНА, 2017

Г.Г.Харсеева, Н.А.Воронина

КОРИНЕБАКТЕРИИ: ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Ростовский-на-Дону государственный медицинский университет

В обзоре рассмотрены особенности структуры бактериальной клетки коринебактерий: охарактеризован верхний слой, сложноорганизованная клеточная стенка, цитоплазматическая мембрана, цитоплазма, нуклеоид. Подробно описано строение верхнего слоя, содержащего пили (фимбрии), микрокапсулу, поверхностные белки — PS-2, DIP1281, белок 67-72p (гемагглютинин), порины, сиалидазу (нейраминидазу). Эти компоненты инициируют способность коринебактерий к последовательному взаимодействию с клетками хозяина с последующей колонизацией. Представлено подробное описание строения и функций структур клеточной стенки — корд-фактора, представляющего собой второй барьер проницаемости; арабиногалактана, пептидогликана, липоманнана и липоарабиноманнана. Рассмотрено строение и функции цитоплазматической мембраны как основного диффузного барьера клеток, цитоплазмы и генома коринебактерий. Представлены различные молекулярно-генетические методы для идентификации и дифференциации близкородственных видов коринебактерий.

Журн. микробиол., 2017, № 1, С. 107—114

Ключевые слова: коринебактерии, пили (фимбрии), поверхностные белки, корд-фактор, пептидогликан, нуклеоид