

Научная статья

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-271>

# Исследование *in vitro* механизмов взаимодействия грибов *Candida albicans* с *Klebsiella pneumoniae* и *Enterococcus faecalis*, выделенных из кишечного микробиома ВИЧ-инфицированных пациентов

Захарова Ю.В.<sup>1✉</sup>, Отдушкина Л.Ю.<sup>1</sup>, Марковская А.А.<sup>1</sup>, Несвижский Ю.В.<sup>2,3</sup>, Афанасьев С.С.<sup>3</sup>, Леванова Л.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Кемеровский государственный медицинский университет, Кемерово, Россия;

<sup>2</sup>Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

<sup>3</sup>Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Москва, Россия

## Аннотация

**Цель:** определение *in vitro* мишеней для факторов антагонизма клебсиелл и энтерококков у грибов *Candida albicans*, выделенных из кишечного микробиома ВИЧ-инфицированных пациентов.

**Материалы и методы.** В экспериментах использованы 38 штаммов грибов *Candida albicans*, 28 штаммов *Klebsiella pneumoniae* и 30 штаммов *Enterococcus faecalis*, изолированных из кишечного микробиома 89 ВИЧ-инфицированных детей. Средний возраст пациентов составил  $24 \pm 2$  мес, мальчиков было 49 (55%), девочек — 40 (45%). Микроорганизмы выделяли из кишечного биотопа с использованием селективных питательных сред HiChrome *Candida* Agar, HiChrome *Klebsiella* Selective Agar Base, Энтерококк-агар; проводили видовую идентификацию. В модельных экспериментах изучена антикаталазная активность экзометаболитов *E. faecalis* и влияние *K. pneumoniae* на морфологическую трансформацию грибов *C. albicans*.

**Результаты.** Клебсиеллы на 58,7% снижают интенсивность образования ростовых трубок у *C. albicans* ( $p < 0,01$ ). При совместном культивировании 12,3% дрожжевых клеток дают ростовые трубки, тогда как в монокультуре грибов обнаружили 29,8% трансформированных клеток. Установлено, что экзометаболиты 65,7% штаммов *E. faecalis* снижают продукцию каталазы у *C. albicans*. Исходный уровень каталазы у интактных культур *C. albicans* в среднем составляет 1,02 мкмоль/мин оптической плотности, после обработки экзометаболитами *E. faecalis* снижается до 0,55 мкмоль/мин, т.е. на 46,1% ( $p < 0,05$ ).

**Выводы.** *K. pneumoniae* и *E. faecalis* проявляют антагонизм к *C. albicans* с разной степенью выраженности. Мишенями для факторов антагонизма факультативной микробиоты у *C. albicans* являются морфологическая трансформация и продукция каталазы.

**Ключевые слова:** антагонизм, *Candida albicans*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, антикаталазная активность, морфологическая трансформация

**Этическое утверждение.** Исследование проводилось при добровольном информированном согласии законных представителей пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Кемеровского государственного медицинского университета (протокол № 5 от 31.01.2019).

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Для цитирования:** Захарова Ю.В., Отдушкина Л.Ю., Марковская А.А., Несвижский Ю.В., Афанасьев С.С., Леванова Л.А. Исследование *in vitro* механизмов взаимодействия грибов *Candida albicans* с *Klebsiella pneumoniae* и *Enterococcus faecalis*, выделенных из кишечного микробиома ВИЧ-инфицированных пациентов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022;99(4):420–427.  
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-271>

# An *in vitro* study of interactions of *Candida albicans* with *Klebsiella pneumoniae* and *Enterococcus faecalis* isolated from intestinal microbiome of HIV infected patients

Yuliya V. Zakharova<sup>1</sup>✉, Larisa Yu. Otdushkina<sup>1</sup>, Alina A. Markovskaya<sup>1</sup>, Yuri V. Nesvizhsky<sup>2,3</sup>, Stanislav S. Afanasiev<sup>3</sup>, Lyudmila A. Levanova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia;

<sup>2</sup>I.M. Sechenov First Moscow Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;

<sup>3</sup>G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

## Abstract

**The aim:** *In vitro* identification of targets for antagonism factors in klebsiellas and enterococci for *Candida albicans* isolated from the intestinal microbiome of HIV infected patients.

**Materials and methods.** The tests were performed using 38 *Candida albicans* strains, 28 *Klebsiella pneumoniae* strains, and 30 *Enterococcus faecalis* strains isolated from the intestinal microbiome of 89 HIV infected children. The mean age of the patients was  $24 \pm 2$  months; the group consisted of 49 (55%) boys and 40 (45%) girls. Microorganisms were isolated from the intestinal biotope using such selective media as HiChrome *Candida* Agar, HiChrome *Klebsiella* Selective Agar Base, and *Enterococcus* Agar; the study included identification of species. Model experiments were performed to study anti-catalase activity of *E. faecalis* exometabolites and the impact of *K. pneumoniae* on morphological transformation of *C. albicans* fungi.

**Results.** Klebsiellas decrease the intensity of germ tube formation in *C. albicans* by 58.7% ( $p < 0.01$ ). When cocultured, 12.3% of the yeast cells produce germ tubes, while 29.8% of transformed cells was detected in the fungal monoculture. It has been found that exometabolites of 65.7% of *E. faecalis* strains decrease production of catalase in *C. albicans*. The initial catalase level in untreated cultures of *C. albicans* averages 1.02  $\mu\text{mol}/\text{min}$  of optical density; after they are treated with *E. faecalis* exometabolites, the level decreases to 0.55  $\mu\text{mol}/\text{min}$ , i.e. by 46.1% ( $p < 0.05$ ).

**Conclusions.** *K. pneumoniae* and *E. faecalis* demonstrate antagonism of different intensity toward *C. albicans*. Morphological transformation and catalase production are targets for antagonism factors of facultative microbiota in *C. albicans*.

**Keywords:** antagonism, *Candida albicans*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, anti-catalase activity, morphological transformation

**Ethics approval.** The study was conducted with the informed consent of the legal representatives of the patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Kemerovo State Medical University (protocol No. 5, January 31, 2019).

**Funding source.** This study was not supported by any external sources of funding.

**Conflict of interest.** The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**For citation:** Zakharova Yu.V., Otdushkina L.Yu., Markovskaya A.A., Nesvizhsky Y.V., Afanasiev S.S., Levanova L.A. An *in vitro* study of interactions of *Candida albicans* with *Klebsiella pneumoniae* and *Enterococcus faecalis* isolated from intestinal microbiome of HIV infected patients. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2022;99(4):420–427.  
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-271>

## Введение

Кишечный микробиом представляет собой интегральную систему взаимодействующих микроорганизмов, которая способна к саморегуляции посредством формирования различных типов микробных взаимоотношений [1, 2]. Одним из факторов формирования микробиоценоза является антагонизм микробов [3]. Антагонизм симбионтов характеризуется синтезом антимикробных веществ [3], литических ферментов (пептидазы, амилазы), разрушающих структуры микроорганизмов или секретуемые ими молекулы [4, 5]. Некоторые бактерии

продуцируют низкомолекулярные вещества, изменяющие ростовые свойства и персистенцию бактерий за счёт влияния на их генетическую программу [6, 7], ингибирующие антиоксидантные системы конкурентов [8, 9], активирующие метаболические шунты, позволяющие конкурировать им за источники питания и железа [10].

Взаимодействия бактериального и грибкового микробиомов в кишечном биотопе играют центральную роль в формировании и поддержании симбиоза и определяют возможность развития кандидамикоза [3]. Бифидобактерии, лактобациллы

лы формируют антагонистические взаимоотношения с грибами, направленные на предотвращение избыточной грибковой колонизации различных биотопов [4, 11]. Есть работы, демонстрирующие взаимное действие факторов вирулентности условно-патогенных бактерий и грибов на макроорганизм, вплоть до развития патологических процессов [12]. Микромицеты и условно-патогенные бактерии, конкурируя за рецепторы на слизистой оболочке, вступают в антагонистические взаимоотношения с индигенной микробиотой. Однако, когда условно-патогенные бактерии достигают высокой плотности популяции, отмечают их антагонизм по отношению к грибам рода *Candida* [13].

При этом факторы антагонизма и мишени воздействия условно-патогенных бактерий разных таксономических групп на грибы, условия реализации антагонистических взаимоотношений, факторы регуляции антагонизма условно-патогенных симбионтов требуют дальнейшего изучения. Остается неясным вопрос о механизмах выживания грибов в условиях «двойного» антагонизма (индигенных и факультативных бактерий) кишечных симбионтов. Выяснение биокоммуникативных механизмов предотвращения развития эндогенной кандидозной инфекции особенно актуально для ВИЧ-инфицированных пациентов.

**Цель работы** — определение *in vitro* мишеней для факторов антагонизма клебсиелл и энтерококков у грибов *Candida albicans*, выделенных из кишечного микробиома ВИЧ-инфицированных пациентов.

### Материалы и методы

В исследование включены 89 детей с диагнозом ВИЧ-инфекция, поступивших в отделение капельных инфекций Кемеровской областной клинической инфекционной больницы в 2019–2021 гг., из них 10 (11%) были госпитализированы по поводу вторичных бактериальных заболеваний (пневмонии, тонзиллиты) и 79 (89%) — по поводу острых респираторных вирусных инфекций. Средний возраст пациентов составил  $24 \pm 2$  мес, мальчиков было 49 (55%), девочек — 40 (45%). У большинства (76,3%) детей была 2-я стадия ВИЧ-инфекции (2А — 4,5%; 2Б — 56,1%; 2В — 15,7%), у 14,6% — 3-я стадия, у 8,9% — 4-я стадия. Стадии ВИЧ-инфекции соответствуют классификации В.И. Покровского (2001) с дополнениями от 2006 г.<sup>1</sup>

На проведение исследования было получено согласие Этического комитета КемГМУ (протокол

№ 5 от 31.01.2019). Законные представители всех пациентов, включённых в исследование, подписывали информированное добровольное согласие, дающее возможность использовать результаты исследования в научных целях.

В экспериментах использованы 38 штаммов грибов *C. albicans*, 28 штаммов *Klebsiella pneumoniae* и 30 штаммов *Enterococcus faecalis*, изолированных из кишечного биотопа. Выделение микроорганизмов проводили с помощью селективных и дифференциально-диагностических питательных сред. Для выделения *K. pneumoniae* использовали среду HiChrome *Klebsiella* Selective Agar Base («HIMEDIA»), посевы культивировали при 37°C 24 ч. Пурпурные колонии пересекали на среду Клиглера (Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии (ГНЦ ПМБ)) для накопления чистой культуры и предварительного изучения биохимических свойств. Для выделения *E. faecalis* посевы проводили на среду Энтерококк-агар (ГНЦ ПМБ), через 24 ч отбирали типичные колонии, изучали морфологию и проводили накопление чистых культур. Грибы *C. albicans* выделяли на среде «HiChrome *Candida* Agar» («HIMEDIA»), отбирали колонии, соответствующие *C. albicans* по цвету на дифференциальной шкале инструкции-производителя. Для того чтобы устранить возможность получения ложноотрицательного результата в экспериментах по ингибированию морфогенеза грибов, у всех штаммов определяли способность образовывать ростовые трубки в лошадиной сыворотке через 3 ч после культивирования при 37°C [14]. Окончательную видовую идентификацию всех микроорганизмов осуществляли на анализаторе «VITEK 2 Compact» («BioMerieux»). В экспериментах использовали пары *E. faecalis*–*C. albicans*, каждый симбионт в паре получен от одного и того же пациента, что позволило нивелировать феномен «чужого» [15]. Таким образом было сформировано 26 пар симбионтов. Эксперименты проведены дважды в 3 повторностях.

Оценивали влияние *K. pneumoniae* на морфологическую трансформацию грибов *C. albicans* [14]. Предварительно культуры *K. pneumoniae* выращивали на среде Мюллера–Хинтона (ГНЦ ПМБ) в течение 18 ч при 37°C, грибы *C. albicans* — на агаре Сабуро ГРМ (ГНЦ ПМБ) в течение 24 ч, что соответствовало окончанию стадии экспоненциального роста [16]. Готовили взвесь *C. albicans* в стерильном 0,9% растворе NaCl мутностью 0,5 ед. Мак-Фарланда, что соответствовало  $1-5 \times 10^6$  КОЕ/мл [17]. Взвесь клебсиелл готовили с такой же мутностью, поэтому дополнительно взвесь разводили в 100 раз. Конечная концентрация клебсиелл составила  $1 \times 10^6$  КОЕ/мл. В пробирку с 0,5 мл лошадиной сыворотки (НПО «Микроген») помещали по 100 мкл взвеси *K. pneumoniae* и *C. albicans*. Инкуби-

<sup>1</sup> Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 17.03.2006 № 166 «Инструкция по заполнению годовой формы федерального государственного статистического наблюдения № 61 «Сведения о контингентах больных ВИЧ-инфекцией».

ровали микроорганизмы при 37°C. Через 3 ч делали мазки «раздавленная капля» и просматривали под микроскопом «Carl Zeiss Primostar» 100 клеток грибов *C. albicans*, учитывали процент клеток, образующих ростовые трубки. В качестве контроля использовали интактные культуры грибов *C. albicans*, у которых также определяли способность образовывать ростовые трубки в белковой среде.

Исследовали влияние экзосометаболитов *E. faecalis* на каталазу грибов *C. albicans* по методике [9] с модификациями. Модификация заключалась в использовании вместо нестойкого йодида калия стабильного молибдата аммония. Из двухсуточной бульонной культуры *E. faecalis* получали супернатант, двукратно центрифугируя культуру при 3000 об/мин в течение 15 мин. Надосадочную жидкость отделяли от бактериальных клеток с помощью мембранных фильтров. Из культур *C. albicans* готовили взвесь в стерильном 0,9% физиологическом растворе плотностью 0,5 ед. по Мак-Фарланду. Опытные пробы готовили путём смешивания 0,1 мл взвеси грибов *C. albicans*, 2,6 мл бульона Сабуро и 0,3 мл супернатанта из бульонных культур *E. faecalis*. В качестве сравнения использовали показатели каталазной активности бульонных культур грибов, не экспонированных с экзосометаболитами энтерококков (0,1 мл взвеси грибов и 2,9 бульона). Для определения активности каталазы в опытные образцы и в образцы сравнения объёмом по 0,2 мл добавляли по 1 мл 0,0125 М раствора  $H_2O_2$ , через 10 мин реакцию останавливали добавлением 1 мл 4% раствора молибдата аммония. Оставшаяся неинaktivированной  $H_2O_2$  образовывала с молибдатом аммония окрашенные комплексы, оптическую плотность (ОП) которых оценивали спектрофотометрически на приборе «СФ 2000» (ОКБ «Спектр») при  $\lambda = 550$  нм против питательной среды. Расчёт активности каталазы проводили по формуле, согласно используемой методике [9]. Полученные результаты сравнивали с каталазной активностью культур *C. albicans*, не обработанных супернатантами энтерококков.

Для статистического анализа использовали программный комплекс анализа данных «IBM SPSS Statistics / PS IMAGO 5» («IBM/Predictive Solutions Sp z.o.o.»). Проверку гипотезы о нормальности распределения переменных в рассматриваемых совокупностях оценивали с помощью критерия Шапиро–Уилка. Для сравнительного анализа применяли непараметрические методы оценки статистической значимости (критерий  $\chi^2$  и критерий Манна–Уитни) [18]. Экспериментальные данные представлены в виде среднего значения и среднеквадратичного отклонения, медианы с интерквартильным размахом (Ме [25-й; 75-й квартили]). Критический уровень ошибки при проверке статистических гипотез принимали равным или менее 0,05 [18].

## Результаты

В экспериментах установлено, что *K. pneumoniae* ингибирует способность грибов образовывать ростовые трубки. При совместном культивировании с клебсиеллами в среднем 12,3 [6,33; 15]% дрожжевых клеток давали ростовые трубки, тогда как в монокультуре грибов обнаруживали 29,8 [25; 36,7]% клеток с бластоспорами. Таким образом, ингибирование морфологической трансформации *C. albicans* в ассоциациях с *K. pneumoniae* составило 58,72% ( $p < 0,01$ ).

Супернатанты энтерококков по-разному воздействовали на грибы *C. albicans* (таблица). В 65,4% случаев энтерококки ингибировали каталазу микромицетов, в 19,2% случаев каталазная активность у грибов после обработки супернатантами *E. faecalis* не изменялась, и только в 15,4% случаев продукция каталазы увеличивалась. Исходный уровень каталазы у интактных культур *C. albicans* в среднем составил 1,02 [0,87; 1,13] мкмоль/мин ОП, после обработки экзосометаболитами *E. faecalis* снизился до 0,55 [0,36; 0,73] мкмоль/мин ОП ( $p < 0,05$ ).

В среднем каталазная активность *C. albicans* ингибировалась на 46,1% ( $p < 0,05$ ).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что антагонизм клебсиелл и энтерококков по отношению к *C. albicans* имеет разные таргетные точки, разную степень выраженности и является результатом конкурентной борьбы в многокомпонентном микробном сообществе.

## Обсуждение

В условиях роста числа ВИЧ-инфицированных кандидозы являются широко распространённым сопутствующим заболеванием, поэтому актуален поиск новых подходов в предупреждении развития процесса и своевременной диагностике оппортунистического микоза до появления симптомов [19]. Перспективно использование биоценологических связей и факторов, позволяющих регулировать биологические свойства *C. albicans* в микробиоценозах и нивелировать реализацию их патогенного потенциала [20, 21]. Независимо от биотопа постоянная микробиота регулирует вирулентность *C. albicans*. Под влиянием молочной кислоты и бактериоцинов, продуцируемых *Lactobacillus* spp., угнетается активность генов пролиферации и тормозится рост и образование гифов у *C. albicans*, снижается экспрессия гифальных белков адгезии (Als3 и Hwp1) [11, 12]. Антибиоплёночный эффект в отношении грибов оказывают масляная, пентадекановая кислоты как продукты метаболизма жирных кислот анаэробных бактерий [22]. В основе антагонизма со стороны *E. faecalis* лежит также секреция бактериоцина (ENTV), ингибирующего образование гифов, влияющего на формирование биопленок *C. albicans*. Микроорганизмы рода *Bacteroides*, *Prevotella*,

Влияние экзометаболических *E. faecalis* на каталазную активность *C. albicans* ( $M \pm SD$ )The influence of *E. faecalis* exometabolites on the catalase activity of *C. albicans* ( $M \pm SD$ )

№ пары симбионтов Pair of symbionts	Исходный уровень каталазы, мкмоль/мин ОП, контроль Initial catalase level, $\mu\text{mol}/\text{min OD}$ , control	Уровень каталазы после обработки экзометаболическими, мкмоль/мин ОП, опыт Catalase level after exometabolite treatment, $\mu\text{mol}/\text{min OD}$ , experience	Изменение каталазной активности, % Change in catalase activity, %
<b>Уменьшение активности каталазы / Decrease in catalase activity</b>			
1	1,09 ± 0,03	0,57 ± 0,02	47,7
2	1,26 ± 0,04	0,53 ± 0,02	57,9
3	0,56 ± 0,05	0,25 ± 0,03	55,4
4	1,42 ± 0,03	0,75 ± 0,02	47,2
5	1,28 ± 0,05	0,65 ± 0,03	49,2
6	0,93 ± 0,05	0,37 ± 0,04	60,2
7	1,07 ± 0,04	0,47 ± 0,02	56,1
8	1,05 ± 0,04	0,65 ± 0,08	38,1
9	0,87 ± 0,05	0,35 ± 0,02	59,8
10	1,41 ± 0,02	0,74 ± 0,03	47,5
11	1,14 ± 0,05	1,09 ± 0,01	4,40
12	1,11 ± 0,05	0,75 ± 0,03	32,4
13	0,90 ± 0,07	0,72 ± 0,02	20,0
14	0,86 ± 0,04	0,43 ± 0,02	50,0
15	0,77 ± 0,03	0,33 ± 0,02	57,1
16	0,87 ± 0,03	0,23 ± 0,02	73,6
17	1,06 ± 0,03	0,26 ± 0,05	75,5
<b>Повышение активности каталазы / Increased catalase activity</b>			
18	0,57 ± 0,31	1,17 ± 0,07	105,3
19	0,78 ± 0,08	1,16 ± 0,04	48,7
20	0,74 ± 0,07	1,09 ± 0,03	47,3
21	0,13 ± 0,02	0,57 ± 0,09	338,5
<b>Активность каталазы не изменялась / Catalase activity did not change</b>			
22	0,78 ± 0,01	0,78 ± 0,03	0,00
23	1,17 ± 0,05	1,18 ± 0,03	0,00
24	0,98 ± 0,03	0,97 ± 0,03	0,00
25	0,56 ± 0,11	0,45 ± 0,01	0,00
26	0,42 ± 0,02	0,43 ± 0,02	0,00

*Bifidobacterium* снижают антикомплементарную активность грибов [23].

При взаимодействии грибов с условно-патогенной микробиотой чаще описывают взаимное усиление антагонизма к индигенными бактериям [23]. В бактериально-грибковых ассоциациях грибы чаще выступают «помощниками» факультативных микроорганизмов. Метаболиты грибов *Candida* усиливают антилизоцимную активность *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* spp., *E. coli lac<sup>-</sup>/hly<sup>+</sup>*, оказывают прямое ингибирующее воздействие на антилизоцимный фактор бифидобактерий [24]. Компонент клеточной стенки *C. albicans* b-1,3-глюкан повышает устойчивость *S. aureus* к антибиотикам [25]. Однако появляются данные, демонстрирующие, что

условно-патогенные бактерии при высокой плотности популяции так же, как индигенные микроорганизмы, проявляют антагонизм к грибам [22, 26].

Исследованы некоторые молекулярные механизмы межмикробных взаимодействий *C. albicans* с *K. pneumoniae* и *E. faecalis*, изолированных от ВИЧ-инфицированных пациентов. В целом взятые в опыт виды бактерий проявляют антагонизм по отношению к *C. albicans*, что согласуется с данными зарубежных исследователей [13].

Установлено, что *K. pneumoniae* обладают эффективным биопотенциалом по регуляции численности *C. albicans*. Мишенью для *K. pneumoniae* является морфологическая трансформация *C. albicans*. Морфогенез грибов в гифальную форму рас-

смаатривают как фактор патогенности микромицетов, т.к. у них увеличиваются спектр адгезинов для слизистых, скорость распространения в тканях, количество фосфолипаз, которые концентрируются на концах гифальных элементов [27].

Антагонизм по отношению к грибам регистрировали не только со стороны *K. pneumoniae*, но и со стороны *E. faecalis*. *E. faecalis* ингибировали каталазу, которая является мощным антиоксидантным ферментом у микроорганизмов с аэробным типом дыхания [28, 29]. Изменение активности или ингибирование ферментов антиоксидантных систем у микроорганизмов ведёт к накоплению токсических форм кислорода, что отражается на проницаемости мембраны, скорости поступления питательных веществ и в целом на скорости пролиферации микроорганизмов [30, 31].

### Заключение

Полученные результаты дополняют данные о роли факультативных бактерий в функционировании кишечного микробиома и демонстрируют их регулирующее влияние на *C. albicans*. В основе антагонизма факультативных бактерий по отношению к *C. albicans* лежит ингибирование морфологической трансформации и продукции каталазы, что перспективно для разработки методов предупреждения развития кандидоза, основанных на усилении антагонизма не только постоянной, но и факультативной микробиоты. Результаты экспериментов и подходы к изучению бактериально-грибковых взаимоотношений имеют значительную научно-практическую перспективу, т.к. позволяют осуществлять моделирование *in vitro* процесса управления биологическими свойствами грибов рода *Candida* с помощью факторов антагонизма кишечной бактериальной микробиоты.

### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Хайтович А.Б., Воеводкина А.Ю. Микробиом и его влияние на здоровье человека. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2019; 9(1): 61–70. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01931-x>
2. Dekaboruah E., Suryavanshi M.V., Chettri D., Verma A.K. Human microbiome: an academic update on human body site specific surveillance and its possible role. *Arch. Microbiol.* 2020; 202(8): 2147–67. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01931-x>
3. Adadea E.E., Lakhena K.A., Lemusa A.A., Valm A.M. Recent progress in analyzing the spatial structure of the human microbiome: Distinguishing biogeography and architecture in the oral and gut communities. *Curr. Opinion Endocr. Metab. Res.* 2021; 18: 275–83. <https://doi.org/10.1016/j.coemr.2021.04.005>
4. Meisner A., Wepner B., Kostic T., Overbeek L.S., Bunthof C.J., Souza S.R.C., et al. Calling for a systems approach in microbiome research and innovation. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2022; 73: 171–8. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.08.003>
5. Олескин А.В., Эль-Регистан Г.И., Шендеров Б.А. Межмикробные химические взаимодействия и диалог микробио-

- та-хозяин: роль нейромедиаторов. *Микробиология*. 2016; 85(1): 3–25. <https://doi.org/10.7868/S0026365616010080>
6. Бухарин О.В., Андрущенко С.В., Перунова Н.Б., Иванова Е.В. Механизмы персистенции индигенных бифидобактерий под действием ацетата в кишечном биоотопе человека. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021; 98(3): 276–82. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-86>
7. Бухарин О.В. Инфекционная симбиология — новое понимание старых проблем. *Вестник Российской академии наук*. 2016; 86(10): 915–20. <https://doi.org/10.7868/S0869587316070033>
8. Green J., Crack J.C., Thomson A.J., LeBrum N.E. Bacterial sensors of oxygen. *Curr. Opin. Microbiol.* 2009; 12(2): 145–51. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2009.01.008>
9. Bukharin O.V., Sgibnev A.V., Cherkasov S.V., Ivanov I.B. The effect of the intra and extracellular metabolites of microorganisms isolated from various ecotopes on the catalase activity of *Staphylococcus aureus* 6538P. *Mikrobiologiya*. 2002; 71(2): 183–6.
10. Миронов А.Ю., Леонов В.В. Железо, вирулентность и межмикробные взаимодействия условно-патогенных микроорганизмов. *Успехи современной биологии*. 2016; 136(3): 301–10.
11. Boris S., Barbés C. Role played by Lactobacilli in controlling the population of vaginal pathogens. *Microbes Infect.* 2000; 2(5): 543–6. [https://doi.org/10.1016/s1286-4579\(00\)00313-0](https://doi.org/10.1016/s1286-4579(00)00313-0)
12. Mayer F.L., Wilson D., Hube B. Candida albicans pathogenicity mechanisms. *Virulence*. 2013; 4(2): 119–28. <https://doi.org/10.4161/viru.22913>
13. Wang F., Yea Y., Xina C., Liua F., Zhao C., Xiang L., et al. Candida albicans triggers qualitative and temporal responses in gut bacteria. *J. Mycol. Med.* 2021; 31(3): 101164. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2021.101164>
14. Елинов Н.П., Васильева Н.В., Степанова А.А., Чилина Г.А. *Candida*. Кандидозы. *Лабораторная диагностика*. СПб.: Коста; 2010.
15. Бухарин О.В., Перунова Н.Б., Иванова Е.В., Андрущенко С.В. Межмикробное распознавание «свой-чужой» в паре «доминант-ассоциант» пробиотических штаммов *Escherichia coli* M17 и *Escherichia coli* ЛЭГМ 18. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2016; 93(3): 3–9.
16. Тимохина Т.Х., Николенко М.В. Суточная динамика темпа роста микроорганизмов в бактериально-грибковых ассоциациях. *Медицинская наука и образование Урала*. 2010; 11(4): 84–6.
17. Gandhi B., Summerbell R., Mazzulli T. Evaluation of the Copan ESwab transport system for viability of pathogenic fungi by use of a modification of clinical and laboratory standards institute document M40-A2. *J. Clin. Microbiol.* 2018; 56(2): e01481-17. <https://doi.org/10.1128/JCM.01481-17>
18. Новиков Д.А., Новочадов В.В. *Статистические методы в медико-биологическом эксперименте (типовые случаи)*. Волгоград; 2005.
19. Акинфиев И.Б., Кубрак Д.Н., Балмасова И.П., Шестакова И.В., Ющук Н.Д. Оппортунистические инфекции небактериальной природы как причина летальных исходов у ВИЧ-инфицированных пациентов. Часть II. Микозы. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. 2015; 7(4): 17–27.
20. Kalia N., Singh J., Kaur M. Microbiota in vaginal health and pathogenesis of recurrent vulvovaginal infections: a critical review. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 2020; 19(1): 5. <https://doi.org/10.1186/s12941-020-0347-4>
21. Леонов В.В., Миронов А.Ю., Пачганов С.А., Леонова Л.В., Булатов И.А. Рост и экспрессия факторов вирулентности *Candida albicans* при экспериментальной инфекции у мышей в зависимости от нагрузки организма железом. *Успехи медицинской микологии*. 2017; 17: 174–5.

22. Galdiero E., Ricciardelli A., D'Angelo C., Alteriis E., Maione A., Albarano L., et al. Pentadecanoic acid against *Candida albicans* — *Klebsiella pneumoniae* biofilm: towards the development of an anti-biofilm coating to prevent polymicrobial infections. *Res. Microbiol.* 2021; 172(7-8): 103880. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2021.103880>
  23. Бухарин О.В., Перунова Н.Б., Челпаченко О.Е., Иванова Е.В., Черных Л.П. Роль межмикробных взаимодействий *Candida* spp. при патологии опорно-двигательного аппарата у детей. *Проблемы медицинской микологии.* 2013; 15(3): 14–7.
  24. Cheng R., Xu Q., Hu F., Li H., Yang B., Duan Z., et al. Antifungal activity of MAF-1A peptide against *Candida albicans*. *Int. Microbiology.* 2021; 24(2): 233–42. <https://doi.org/10.1007/s10123-021-00159-z>
  25. Charlet R., Bortolus C., Barbet M., Sendid B., Jawhara S. A decrease in anaerobic bacteria promotes *Candida glabrata* overgrowth while  $\beta$ -glucan treatment restores the gut microbiota and attenuates colitis. *Gut Pathog.* 2018; 10: 50. <https://doi.org/10.1186/s13099-018-0277-2>
  26. Лисовская С.А., Халдеева Л.В., Глушко Н.И. Взаимодействие *Candida albicans* и бактерий-ассоциантов при кандидозах различной локализации. *Проблемы медицинской микологии.* 2013; 15(2): 40–3.
  27. Pinto E., Queiroz M.J., Vale-Silva L.A., Oliveira J.F., Begouin A., Begouin J.M., et al. Antifungal activity of synthetic di(hetero)arylamines based on the benzo[b]thiophene moiety. *Bioorg. Med. Chem.* 2008; 16(17): 8172–7. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.07.042>
  28. Saville S.P., Lazzell A.L., Monteagudo C., Lopez-Ribot J.L. Engineered control of cell morphology *in vivo* reveals distinct roles for yeast and filamentous forms of *Candida albicans* during infection. *Eukaryot. Cell.* 2003; 2(5): 1053–60. <https://doi.org/10.1128/EC.2.5.1053-1060.2003>
  29. Курбанов А.И. Экспериментальное изучение роли антиоксидантных ферментов *Candida albicans* в патогенезе кандидоза. *Проблемы медицинской микологии.* 2008; 10(2): 14–6.
  30. Diezmann S. Oxidative stress response and adaptation to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the model eukaryote *Saccharomyces cerevisiae* and its human pathogenic relatives *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *Fungal Biol. Rev.* 2014; 28(4): 126–36. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2014.12.001>
  31. Шипко Е.С., Дуванова О.В. Изменение спектра жирных кислот как один из механизмов адаптации/персистенции микроорганизмов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.* 2019; 96(5): 109–118. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-5-109-118>
- REFERENCES
1. Khaytovich A.B., Voevodkina A.Yu. Microbiomes and his effects on human health. *Krymskiy zhurnal eksperimental'noy i klinicheskoy meditsiny.* 2019; 9(1): 61–70. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01931-x> (in Russian)
  2. Dekaboruah E., Suryavanshi M.V., Chettri D., Verma A.K. Human microbiome: an academic update on human body site specific surveillance and its possible role. *Arch. Microbiol.* 2020; 202(8): 2147–67. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01931-x>
  3. Adadea E.E., Lakhena K.A., Lemusa A.A., Valm A.M. Recent progress in analyzing the spatial structure of the human microbiome: Distinguishing biogeography and architecture in the oral and gut communities. *Curr. Opin. Endocr. Metab. Res.* 2021; 18: 275–83. <https://doi.org/10.1016/j.coemr.2021.04.005>
  4. Meisner A., Wepner B., Kostic T., Overbeek L.S., Bunthof C.J., Souza S.R.C., et al. Calling for a systems approach in microbiome research and innovation. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2022; 73: 171–8. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.08.003>
  5. Oleskin A.V., El'-Registan G.L., Shenderov B.A. Role of neuro-mediators in the functioning of the human microbiota: «Business talks» among microorganisms and the microbiota–host dialogue. *Mikrobiologiya.* 2016; 85(1): 1–22. <https://doi.org/10.7868/S0026365616010080>
  6. Bukharin O.V., Andryushchenko S.V., Perunova N.B., Ivanova E.V. Mechanism of persistence of indigenous bifidobacteria under the impact of acetate in the human colon biotope. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2021; 98(3): 276–82. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-86> (in Russian)
  7. Bukharin O.V. Infectious symbiology: a new understanding of old problems. *Vestnik Rossiyskoy akademii nauk.* 2016; 86(5): 396–401. <https://doi.org/10.1134/S101931616040018>
  8. Green J., Crack J.C., Thomson A.J., LeBrum N.E. Bacterial sensors of oxygen. *Curr. Opin. Microbiol.* 2009; 12(2): 145–51. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2009.01.008>
  9. Bukharin O.V., Sgibnev A.V., Cherkasov S.V., Ivanov I.B. The effect of the intra and extracellular metabolites of microorganisms isolated from various ecotopes on the catalase activity of *Staphylococcus aureus* 6538P. *Mikrobiologiya.* 2002; 71(2): 183–6.
  10. Mironov A.Yu., Leonov V.V. Iron, virulence and intermicrobial interactions of opportunistic pathogens. *Uspekhi sovremennoy biologii.* 2016; 136(3): 301–10. (in Russian)
  11. Boris S., Barbés C. Role played by *Lactobacilli* in controlling the population of vaginal pathogens. *Microbes Infect.* 2000; 2(5): 543–6. [https://doi.org/10.1016/s1286-4579\(00\)00313-0](https://doi.org/10.1016/s1286-4579(00)00313-0)
  12. Mayer F.L., Wilson D., Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence.* 2013; 4(2): 119–28. <https://doi.org/10.4161/viru.22913>
  13. Wanga F., Yea Y., Xina C., Liua F., Zhaoa C., Xiang L., et al. *Candida albicans* triggers qualitative and temporal responses in gut bacteria. *J. Mycol. Med.* 2021; 31(3): 101164. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2021.101164>
  14. Elinov N.P., Vasil'eva N.V., Stepanova A.A., Chilina G.A. *Candida. Candidiasis. Laboratory Diagnostics [Candida. Kandidozy. Laboratornaya diagnostika]*. St. Petersburg: Kosta; 2010. (in Russian)
  15. Bukharin O.V., Perunova N.B., Ivanova E.V., Andryushchenko S.V. Intermicrobial "self-non-self" discrimination in "dominant–associate" pair of probiotic strains of *Escherichia coli* M-17 and *E. coli* LEGM-18. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2016; 93(3): 3–9. (in Russian)
  16. Timokhina T.Kh., Nikolenko M.V. Daily dynamics of rate of increase of microorganisms in bacterial-fungoid associations. *Meditinskaya nauka i obrazovanie Urala.* 2010; 11(4): 84–6. (in Russian)
  17. Gandhi B., Summerbell R., Mazzulli T. Evaluation of the Copan ESwab transport system for viability of pathogenic fungi by use of a modification of clinical and laboratory standards institute document M40-A2. *J. Clin. Microbiol.* 2018; 56(2): e01481-17. <https://doi.org/10.1128/JCM.01481-17>
  18. Novikov D.A., Novochadov V.V. *Statistical Methods in a Biomedical Experiment (Typical Cases) [Statisticheskie metody v mediko-biologicheskoy eksperimente (tipovye sluchai)]*. Volgograd; 2005. (in Russian)
  19. Akinfiev I.B., Kubrak D.N., Balmasova I.P., Shestakova I.V., Yushchuk N.D. Opportunistic infections non-bacterial nature as the cause of death in HIV infected patients. Part II. Mycosis. *VICH-infektsiya i immunosupressii.* 2015; 7(4): 17–27. (in Russian)
  20. Kalia N., Singh J., Kaur M. Microbiota in vaginal health and pathogenesis of recurrent vulvovaginal infections: a critical review. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 2020; 19(1): 5. <https://doi.org/10.1186/s12941-020-0347-4>
  21. Leonov V.V., Mironov A.Yu., Pachganov S.A., Leonova L.V., Bulatov I.A. The growth and expression of virulence factors of *Candida albicans* in experimental infections in mice, depending on the load of the body iron. *Uspekhi meditsinskoy mikologii.* 2017; 17: 174–5. (in Russian)

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

22. Galdiero E., Ricciardelli A., D'Angelo C., Alteriis E., Maione A., Albarano L., et al. Pentadecanoic acid against *Candida albicans* — *Klebsiella pneumoniae* biofilm: towards the development of an anti-biofilm coating to prevent polymicrobial infections. *Res. Microbiol.* 2021; 172(7-8): 103880. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2021.103880>
23. Bukharin O.V., Perunova N.B., Chelpachenko O.E., Ivanova E.V., Chernykh L.P. Role of *Candida* spp. intermicrobial interactions in pathology of locomotor apparatus in children. *Problemy meditsinskoy mikologii.* 2013; 15(3): 14–7. (in Russian)
24. Cheng R., Xu Q., Hu F., Li H., Yang B., Duan Z., et al. Antifungal activity of MAF-1A peptide against *Candida albicans*. *Int. Microbiology.* 2021; 24(2): 233–42. <https://doi.org/10.1007/s10123-021-00159-z>
25. Charlet R., Bortolus C., Barbet M., Sendi B., Jawhara S. A decrease in anaerobic bacteria promotes *Candida glabrata* overgrowth while  $\beta$ -glucan treatment restores the gut microbiota and attenuates colitis. *Gut Pathog.* 2018; 10: 50. <https://doi.org/10.1186/s13099-018-0277-2>
26. Lisovskaya S.A., Khaldeeva L.V., Glushko N.I. Interaction of *Candida albicans* and associated bacteria in candidosis of various localization. *Problemy meditsinskoy mikologii.* 2013; 15(2): 40–3. (in Russian)
27. Pinto E., Queiroz M.J., Vale-Silva L.A., Oliveira J.F., Begouin A., Begouin J.M., et al. Antifungal activity of synthetic di(hetero)arylamines based on the benzo[b]thiophene moiety. *Bioorg. Med. Chem.* 2008; 16(17): 8172–7. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.07.042>
28. Saville S.P., Lazzell A.L., Monteagudo C., Lopez-Ribot J.L. Engineered control of cell morphology in vivo reveals distinct roles for yeast and filamentous forms of *Candida albicans* during infection. *Eukaryot. Cell.* 2003; 2(5): 1053–60. <https://doi.org/10.1128/EC.2.5.1053-1060.2003>
29. Kurbanov A.I. The role of candida albicans' antioxidant enzymes on pathogenesis in candidosis (experimental studying). *Problemy meditsinskoy mikologii.* 2008; 10(2): 14–6. (in Russian)
30. Diezmann S. Oxidative stress response and adaptation to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the model eukaryote *Saccharomyces cerevisiae* and its human pathogenic relatives *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *Fungal Biol. Rev.* 2014; 28(4): 126–36. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2014.12.001>
31. Shipko E.S., Duvanova O.V. Changing the spectrum of fatty acids as one of the mechanisms of adaptation/persistence of microorganisms. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2019; 96(5): 109–118. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-5-109-118> (in Russian)

**Информация об авторах**

Захарова Юлия Викторовна<sup>✉</sup> — д.м.н., доцент, профессор каф. микробиологии и вирусологии КемГМУ, Кемерово, Россия, [yvz@bk.ru](mailto:yvz@bk.ru), <https://orcid.org/0000-0002-3475-9125>

Отдушкина Лариса Юрьевна — ассистент каф. микробиологии и вирусологии КемГМУ, Кемерово, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4126-4312>

Марковская Алина Анатольевна — ассистент каф. эпидемиологии, инфекционных болезней и дерматовенерологии КемГМУ, Кемерово, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5001-7068>

Несвижский Юрий Владимирович — д.м.н., профессор, профессор каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии ПМГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия; г.н.с. МНИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0386-3883>

Афанасьев Станислав Степанович — д.м.н., профессор, г.н.с. МНИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-6497-1795>

Леванова Людмила Александровна — д.м.н., доцент, зав. каф. микробиологии и вирусологии КемГМУ, Кемерово, Россия, <https://orcid.org/0000-00025977-9149>

**Участие авторов.** Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 24.04.2022;  
принята к публикации 23.06.2022;  
опубликована 30.08.2022

**Information about the authors**

Yuliya V. Zakharova<sup>✉</sup> — D. Sci. (Med.), Associate Professor, Professor, Department of microbiology and virology, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia, [yvz@bk.ru](mailto:yvz@bk.ru), <https://orcid.org/0000-0002-3475-9125>

Larisa Yu. Otdushkina — Assistant Professor, Department of microbiology and virology, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4126-4312>

Alina A. Markovskaya — Assistant Professor, Department of epidemiology, infectious diseases and dermatovenerology, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5001-7068>

Yuri V. Nesvizhsky — D. Sci. (Med.), Professor, Department of microbiology, virology and immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia; main researcher, Gabrichevsky Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0386-3883>

Stanislav S. Afanasiev — D. Sci. (Med.), Professor, main researcher, Gabrichevsky Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-6497-1795>

Lyudmila A. Levanova — D. Sci. (Med.), Associate Professor, Head, Department of microbiology and virology, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5977-9149>

**Author contribution.** All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 24.04.2022;  
accepted for publication 23.06.2022;  
published 30.08.2022