

<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-2-20-28>

ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНТЕРОКОККОВ В КИШЕЧНОМ МИКРОБИОЦЕНОЗЕ ПАЦИЕНТОВ С ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ

ОТДУШКИНА Л.Ю., ЗАХАРОВА Ю.В. *, ХОЛОДОВ А.А., ЛЕВАНОВА Л.А., ПЬЯНЗОВА Т.В., МАРКОВСКАЯ А.А.

ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Кемерово, Россия

Резюме

Цель. Определение биологической роли энтерококков в кишечном микробном сообществе у пациентов с туберкулезом легких.

Материалы и методы. Количественным бактериологическим методом изучен кишечный культуром у 64 пациентов с туберкулезом легких и множественной устойчивостью возбудителя до противотуберкулезной терапии (группа 1) и через месяц приема химиотерапевтических средств (группа 2). Группа 1 включала 30 впервые выявленных пациентов с туберкулезом легких. В группу 2 вошли 34 пациента с туберкулезом легких, находящихся на противотуберкулезной терапии по IV режиму. Изучены биологические свойства 118 культур рода *Enterococcus*, в том числе 55 штаммов от пациентов первой группы и 63 штамма от пациентов второй группы. Проведено 590 опытов по изучению биологических свойств энтерококков. Изучена распространенность продукции цитолитинов (гемолизина), цинк-зависимой металлопротеазы (желатиназы), фосфолипазы, факторов адгезии, продукция органических кислот. Для обработки материала использована программа IBM SPSS Statistics / PS IMAGO.

Результаты. У пациентов уже до начала противотуберкулезной терапии выявлены микробиологические нарушения кишечного микробиома с преобладанием в структуре III степени дисбиоза (66,7%). При назначении химиотерапевтических средств отмечали

снижение титров лактобацилл ($p=0,05$), увеличение титров *C. perfringens* ($p=0,05$) и грибов рода *Candida* ($p=0,05$), рост частоты обнаружения *E. coli lac* - ($p=0,04$). Микроорганизмы рода *Enterococcus* у впервые выявленных пациентов обладали высокой способностью к адгезии, обеспечивали колонизацию слизистой кишечника в титрах $6 (4; 7) \lg \text{КОЕ/г}$, не продуцировали ферментов инвазии. При назначении противотуберкулезных препаратов адгезия снижалась, 36% штаммов были низкоадгезивными. Увеличение до 18% штаммов, продуцирующих липазу ($p=0,0007$), демонстрирует адаптацию энтерококков к высокому содержанию липидов и жирных кислот в кишечнике, что может быть результатом химиотерапевтических воздействий на микробактерии.

Заключение. У пациентов с туберкулезом легких энтерококки при микробиологических нарушениях кишечного микробиома являются постоянными микросимбионтами, формирующими положительные симбиотические связи с макроорганизмом.

Ключевые слова: энтерококки, биологические свойства, микробиом, туберкулез легких.

Конфликт интересов

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

Источник финансирования

Собственные средства.

Для цитирования:

Отдушкина Л. Ю., Захарова Ю. В., Холодов А. А., Леванова Л. А., Пьянзова Т. В., Марковская А. А. Характеристика энтерококков в кишечном микробиоценозе пациентов с туберкулезом легких. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2022;7(2): 20-28. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-2-20-28>

*Корреспонденцию адресовать:

Захарова Юлия Викторовна, 650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, 22а, e-mail: yvz@bk.ru
© Отдушкина Л.Ю. и др.

ORIGINAL RESEARCH

ENTEROCOCCUS SPP. IN GUT MICROBIOTA OF PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS

Larisa Yu. Otdushkina, Yuliya V. Zakharova *, Artem A. Kholodov, Lyudmila A. Levanova, Tatiana V. Pyanzova, Alina A. Markovskaya

Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation

Abstract

Aim. To define the role of *Enterococcus spp.* in the gut microbiota ensemble in patients with pulmonary tuberculosis.

Materials and Methods. Inoculation of intestinal cultures was performed in 64 patients with multidrug-resistant tuberculosis before the specific therapy (30 patients and 55 strains) and after 1 month of the treatment (34 patients and 63 strains). We then assessed the production of haemolysins, gelatinase, phospholipase, adhesion factors, and organic acids.

Results. A high prevalence of intestinal dysbiosis (66.7%) were detected in patients before the start of anti-tuberculosis therapy. Specific treatment was associated with a decrease in *Lactobacillus spp.* along with an increase in *C. perfringens* and *Candida spp.* titers as well as with higher prevalence of *E. coli lac*. Before the treatment, *Enterococcus spp.* showed pronounced adhesion proper-

ties, providing colonization of the intestinal mucosa in titers of 6 (4; 7) lg CFU/g, although not producing invasion enzymes. Upon the 1 month of anti-tuberculosis treatment, adhesion capability reduced and 36% of the strains were low-adhesive. An increase of lipase-producing strains to 18% suggested the adaptation of *Enterococcus spp.* to a high content of lipids and fatty acids in the intestine.

Conclusion. In patients with pulmonary tuberculosis having high prevalence of intestinal dysbiosis, *Enterococcus spp.* are frequent symbionts well integrated into the gut microbiota.

Keywords: *Enterococcus spp.*, intestinal dysbiosis, microbiome, pulmonary tuberculosis.

Conflict of Interest

None declared.

Funding

There was no funding for this project.

◀ English

For citation:

Larisa Yu. Otdushkina, Yuliya V. Zakharova, Artem A. Kholodov, Lyudmila A. Levanova, Tatiana V. Pyanzova, Alina A. Markovskaya. *Enterococcus spp.* in gut microbiota of patients with pulmonary tuberculosis. *Fundamental and Clinical Medicine*. (In Russ.). 2022;7(2): 20-28. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-2-20-28>

*Corresponding author:

Dr. Yuliya V. Zakharova, 22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation, e-mail: yvz@bk.ru
© Larisa Yu. Otdushkina, et al.

Введение

Состояние кишечного микробиома при различных патологических состояниях и заболеваниях [1,2,3], а также роль и функции отдельных представителей в многокомпонентном микробном сообществе являются предметом активного междисциплинарного изучения [4,5]. Особую актуальность коррекция кишечного микробиома имеет для пациентов фтизиатрического профиля. Это связано с длительной многокомпонентной противотуберкулезной терапией, наличием у пациентов коморбидного фона, снижением иммунологической реактив-

ности макроорганизма различного генеза. О том, что у фтизиатрических пациентов развиваются микробиологические нарушения, свидетельствует доминирование гастроинтестинального синдрома в структуре нежелательных реакций при противотуберкулезной терапии [6]. Показано, что микробиологические нарушения при туберкулезе, как при любой другой патологии, сопровождаются снижением количественного уровня доминантной анаэробной микробиоты и увеличением частоты и уровней условно-патогенных микроорганизмов [7,8]. Однако исследование состава кишечной микробиоты

не дает представление о реальных процессах, происходящих в микробном сообществе. Оценка только внешних факторов, влияющих и поддерживающих нарушения в микробиоценозе, не всегда позволяет прогнозировать их длительность, направленность и риски увеличения тяжести основного заболевания за счет присоединения оппортунистических инфекций. Понимание характера взаимоотношений микроорганизмов друг с другом, механизмов и факторов их взаимодействия – это новое современное направление в микросимбиологии, что обусловлено поиском новых средств и методов модуляции кишечного микробиома для улучшения прогноза течения основного заболевания, повышения эффективности антибактериальной терапии, получения новых классов антимикробных веществ.

Роль в микробиоме анаэробной микробиоты, т.е. бифидобактерий и лактобацилл, изучена и доказана, что лежит в основе пробиотической терапии. Мнения об энтерококках расходятся. С одной стороны, представители рода *Enterococcus* обладают большим набором факторов адгезии [9], бактериоцинов [10], что делает их привлекательными в качестве пробиотических культур. С другой стороны, наличие факторов инвазии, формирование резистентности к антибиотикам, свидетельствует об их патогенном потенциале. Возникает вопрос об оценке биологических свойств энтерококков у пациентов с туберкулезом легких, для того чтобы понимать возможные эффекты их персистенции – «положительные» или «отрицательные».

Цель исследования

Определение биологической роли энтерококков в кишечном микробном сообществе у пациентов с туберкулезом легких.

Материалы и методы

Исследование комбинированное, включало 2 этапа. Первый этап – одномоментное исследование, проведенное на двух независимых выборках пациентов малого объема, у которых был изучен кишечный культуром – качественный и количественный состав кишечной микробиоты до начала противотуберкулезной терапии (группа 1) и через месяц после ее начала (группа 2). Второй этап – фундаментальное (микробиологическое), где в качестве объекта исследования использовали представителей рода *Enterococcus*, у которых изучали биологические свойства до начала химиотерапии и через 1 месяц после приема противотуберкулезных препаратов.

В исследовании принимали участие 64 пациента с туберкулезом легких и множественной устойчивостью возбудителя, проходивших лечение в Кузбасском клиническом фтизиопульмонологическом медицинском центре имени И. Ф. Копыловой весной 2021 года. Группа 1 включала 30 впервые выявленных пациентов с туберкулезом легких. В группу 2 вошли 34 пациента с туберкулезом легких, находящихся на противотуберкулезной терапии по IV режиму. Критерии включения в группу 1 – впервые выявленный туберкулез органов дыхания и отсутствие в анамнезе приема противотуберкулезных препаратов. Критерии включения во вторую группу – туберкулез легких и прием не менее 20 доз противотуберкулезных препаратов по IV режиму. Критерии исключения из групп – это воспалительные и инфекционные заболевания кишечника и печени, прием пробиотических препаратов менее чем за 2 месяца до начала исследования и выраженный иммунодефицит (уровень CD4⁺ клеток менее 200 кл/мкл). Сравнимые группы были сопоставимы по возрастно-половым признакам, по коморбидности и уровню иммуносупрессии (таблица 1).

Таблица 1.
Характеристика
пациентов, включен-
ных в исследование

Table 1.
Characteristics of
patients enrolled in
the study

Признак Feature	Впервые выявленные пациенты с туберкулезом, Before the anti-tuberculosis treatment n = 30	Пациенты в условиях противотуберкулезной терапии, After 1 month of anti-tuberculosis treatment, n = 34	p
Средний возраст (M ± m) Average age (M ± m)	41,7 ± 1,27	44,3 ± 1,71	0,24
Мужчины, абс. (отн.) Men, n (%)	24 (80)	29 (85)	0,60
Женщины, абс. (отн.) Women, n (%)	6 (20)	5 (15)	
ВИЧ ⁺ , абс. (отн.) HIV ⁺ , n (%)	17 (56,7)	22 (64,7)	0,52
Уровень CD4 ⁺ Me (25; 75) Level CD4 ⁺ Me (25; 75)	266 (210; 352)	230 (200; 250)	0,71

Исследования пациентов проводились с соблюдением этических норм Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы медицинских исследований с участием людей в качестве субъекта исследования» (2013 г.). Все пациенты, включенные в исследование, подписывали информированное добровольное согласие, дающее возможность использовать результаты исследования в научных целях.

Пациенты получали лечение согласно действующим клиническим рекомендациям [11]. 30 (100%) пациентов 2-й группы получали фторированные хинолоны (Fq) и бедаквилин (Bq), 26 (86,6%) – аминогликозиды и столько же циклосерин (Cs), 22 (73,3%) – пипразинамид (Z), 7 (23,3%) – пара-аминосалициловую кислоту (PAS), 4 (13,3%) – линезолид (Lzd) и 3 (10%) – этамбутол (E).

Микробиоту пациентов исследовали количественным бактериологическим методом. Для выделения энтеробактерий использовали среду Эндо, стафилококков – желточно-солевой агар, энтерококков – энтерококк-агар, грибов рода *Candida* на HiChrome *Candida* Agar, гемофилы на мясопептонном агаре с добавлением 3% взвеси эритроцитов человека, лактобациллы на среде MRS, бифидобактерии на Бифидум-среде, клостридии на среде Вильсона-Блера. Идентификацию бактерий и грибов осуществляли по морфологическим, тинкториальным и биохимическим свойствам с использованием коммерческих тест-систем: STAPHYtest 16 (*Lachema diagnostica* s.r.o., Чехия), ENTEROtest 24 (*Lachema diagnostica* s.r.o., Чехия), API 20A (*bioMérieux*, Франция), En-Coccus Test (*Lachema diagnostica* s.r.o., Чехия), AUXOCOLOR (*BioRad*, Франция). Результаты по составу микробиома пациентов сравнивали с региональными значениями нормы [12].

Выделены 118 культур рода *Enterococcus*, в том числе 55 от впервые выявленных пациентов с туберкулезом легких и 63 штамма от пациентов, принимающих противотуберкулезные препараты. Изучена распространенность факторов вирулентности и антагонизма среди энтерококков – способность продуцировать цитоллизин (гемолизин), протеолитическая активность (желатиназа), липазная активность, факторы адгезии, продукция органических кислот.

Факторы вирулентности изучали качественным методом. Способность продуцировать цитоллизин изучали на 5% кровяном мясопептон-

ном агаре, липазу *Tributhyrin Agar Base without Tributhyrin* (HIMEDIA, Индия), желатиназу с помощью набора МикроЖелатиназа (НИЦФ, Санкт-Петербург). Поверхностные адгезины исследовали на модели эритроцитов Rh+ 0 (I) группы по В. И. Брилису (1986), продукцию органических кислот методом титрования.

Для обработки материала использована программа IBM SPSS Statistics / PS IMAGO. Гипотезу о нормальности распределения данных оценивали по критерию Шапиро-Уилка. Распределение данных отличалось от нормального, поэтому для статистической обработки использовали непараметрические методы. Категориальные переменные сравнивали, используя точный критерий Фишера, количественные показатели – по критерию Манна-Уитни. Для сравнения относительных показателей между двумя группами использовали критерий χ^2 Пирсона. Данные по уровню колонизации кишечного биотопа микросимбионтами представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Me (Q_1 - Q_3)). Критический уровень ошибки при проверке статистических гипотез принимался равным или менее 0,05.

Результаты

В группе впервые выявленных туберкулезных больных 66,7% человек имели микробиологические нарушения III степени, 33,3% – II степень. После начала химиотерапии по IV режиму количество лиц с III степенью дисбактериоза увеличилось незначительно и составило 76,5% ($\chi^2 = 0,746$, $df=1$, $p=0,39$).

В целом у пациентов до начала противотуберкулезной терапии относительно региональных значений нормы [12] регистрировали снижение количественного содержания бифидобактерий, лактобацилл и типичных кишечных палочек (таблица 2).

Из постоянных представителей кишечного микробиома уровень колонизации в пределах установленных значений нормы имели только энтерококки. У 20% пациентов регистрировали высокие титры бактерий рода *Klebsiella*. У 16,7% из кишечника выделяли патогенные микроорганизмы – представителей рода *Salmonella*. Медиана количественного содержания сальмонелл составила 6,0 (5; 6). У 93,3% пациентов кишечник был колонизирован грибами рода *Candida* в титрах 3 lg КОЕ/г. В 16,7% случаев в составе кишечной микробиоты регистрировали сапрофитические микроорганизмы – *Pseu-*

Таблица 2.
Характеристика кишечной микрофлоры у больных туберкулезом

Table 2.
Characteristics of the intestinal microbiota in tuberculosis patients

Микроорганизмы Microorganisms	Впервые выявленные пациенты с туберкулезом Patients initially identified with tuberculosis n=30		Пациенты в условиях противотуберкулезной терапии Patients in antitubercular therapy n=34		Достигнутая значимость различий Achieved significance of differences p ₁ – p ₃	Достигнутая значимость различий Achieved significance of differences p ₂ – p ₄
	Частота колонизации, Frequency of colonization (%), p ₁	Уровень колонизации Colonization level Me (Q ₁ ; Q ₃) (lg KOE/г), p ₂	Частота колонизации Frequency of colonization (%), p ₃	Уровень колонизации Colonization level Me (Q ₁ ; Q ₃) (lg KOE/г), p ₄		
<i>Bifidobacterium</i> spp.	100	8,0 (7; 8)	100	8,0 (4; 9)	0,99	0,28
<i>Lactobacillus</i> spp.	100	6,0 (5; 8)	100	5,0 (4; 8)	0,99	0,05
<i>Escherichia coli</i> lac+	93,3	5,5 (4; 7)	88,2	6,0 (4; 7)	0,99	0,42
<i>Enterococcus faecalis</i>	70,0	6,0 (4; 7)	76,7	6,0 (4; 8)	0,55	0,49
<i>Enterococcus faecium</i>	70,6	6,0 (5; 8)	67,6	6,0 (3; 8)	0,79	0,56
<i>Escherichia coli</i> lac-	6,70	6,0 (6; 6)	26,5	6,0 (4; 7)	0,04	0,53
<i>Clostridium perfringens</i>	30,0	4,0 (2; 5)	35,3	5,0 (3; 5)	0,67	0,05
<i>Klebsiella</i> spp.	20,0	5,0 (4; 6)	8,8	5,5 (5; 6)	0,20	0,56
<i>Citrobacter</i> spp.	10,0	5,0 (4; 6)	11,8	5,5 (4; 6)	0,82	0,69
<i>Enterobacter</i> spp.	16,7	4,0 (4; 6)	8,8	6 (5; 7)	0,34	0,93
<i>Salmonella</i> spp.	16,7	6,0 (5; 6)	5,9	5,5 (5; 6)	0,17	0,18
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16,7	6,0 (5; 6)	-	-	-	-
<i>Staphylococcus</i> spp.	56,7	3,0 (2; 5)	73,5	3,0 (2; 6)	0,16	0,12
<i>Candida</i> spp.	93,3	3,0 (2; 5)	85,3	4,0 (2; 6)	0,31	0,003

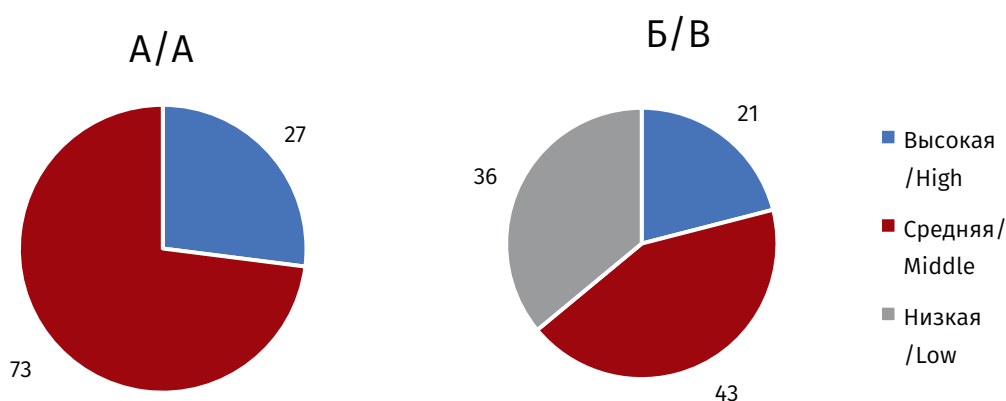


Рисунок 1.

Структура энтерококков по адгезивной активности, выделенных от впервые выявленных больных туберкулезом (А) и от пациентов через месяц от начала терапии по IV режиму (Б), %

Figure 1.

Adhesive properties of *Enterococcus* spp. isolated from tuberculosis patients before the anti-tuberculosis therapy (A) and after 1 month of specific treatment (B), %

domonas aeruginosa. Их количественный уровень достигал 6,0 (5; 6) lg КОЕ/г.

Под влиянием противотуберкулезных препаратов статистически значимо снизился уровень лактобацилл ($p = 0,05$), увеличилась в 10 раз плотность колонизации *C.perfringens* ($p = 0,05$) и грибами рода *Candida* ($p = 0,05$). Значимо повысилась частота обнаружения кишечных палочек со слабыми ферментативными свойствами ($p = 0,04$) (таблица 2).

Как у впервые выявленных пациентов с туберкулезом, так и у пациентов на противотуберкулезной терапии энтерококки формировали двухкомпонентные ассоциации «*Enterococcus-Enterococcus*» с частотой 90 и 88% соответственно. Видовая структура энтерококков у пациентов первой группы характеризовалась следующим составом: *E. faecalis* (40%), *E. faecium* (42%), *E. durans* (5%), *E. mundii* (4%), *E. gallinarum* (4%), *E. solitarius* (4%), *E. hirae* (1%). У пациентов второй группы видовой состав энтерококков был представлен *E. faecalis* (36%), *E. faecium* (39%), *E. solitarius* (9,7%), *E. gallinarum* (6%), *E. durans* (3,3%), *E. raffinosus* (2%), *E. mundii* (2%), *E. casseliflavus* (2%). Таким образом, видовая структура популяций энтерококков значимо не изменялась ($\chi^2 = 47,7$, $df = 7$, $p = 0,06$).

Среди энтерококков первой группы были обнаружены только штаммы с высокой или средней адгезивной активностью, с преобладанием в структуре среднеадгезивных биовариантов. На фоне противотуберкулезной терапии регистрировали снижение числа энтерококков со средней адгезией и появлялись низкоадгезивные штаммы ($\chi^2 = 24,5$, $df = 2$, $p = 0,04$) (рисунок 1).

Только 2% штаммов энтерококков первой группы продуцировали цитоллизин (гемолизин).

Они характеризовались отсутствием ферментов инвазии, т.е. не выделяли цинкзависимую металлопротеиназу (желатиназу) и фосфолипазу. Уровень продукции органических кислот был низким и составил 23,9 (23,2; 31,1) °Т.

У энтерококков, изолированных из кишечника фтизиатрических пациентов, находящихся на противотуберкулезной терапии, 6,5% штаммов продуцировали цитоллизин (гемолизин) ($p = 0,07$). Появлялись биоварианты с желатиназной и липазной активностью – 8,2% ($p = 0,001$) и 18% ($p = 0,0007$) соответственно. Кислоотообразование не изменялось и составляло 27,3 (16,4; 40,2) °Т ($p = 0,142$).

Обсуждение

Исследования состояния кишечного микробиома у впервые выявленных пациентов позволили выявить у них еще до начала противотуберкулезной терапии наличие выраженных микрoэкологических нарушений. В основе механизма их развития, вероятно, лежат токсические эффекты компонентов клеточной стенки микобактерий [13,14], которые попадают в кишечник с током крови, поэтому вызывают изменения в микробиоме. У пациентов преобладал дисбиоз III степени, так как он зарегистрирован у 66,7% пациентов. Отмечено снижение количественных уровней той части микробиоты, которая обеспечивает колонизационную резистентность – бифидобактерий, лактобацилл, типичной кишечной палочки. Только энтерококки имели плотность популяции, соответствующую региональным значениям нормы. Обусловлено это явление высокой устойчивостью и неприхотливостью представителей рода *Enterococcus* [9], которые в условиях дефицита анаэробных бактерий берут на себя функцию по колонизации слизи-

стой. Это подтверждают опыты по изучению адгезивной активности, так как большая часть штаммов у пациентов первой группы имела среднюю или высокую способность адгезироваться на гликопротеиновых рецепторах. В видовой структуре преобладали *E. faecalis* и *E. faecium*, причем в 90% случаев эти виды энтерококков выделялись в ассоциации друг с другом. Обнаружение редких видов энтерококков, свойственных животным и растениям [15], еще раз подтверждает наличие выраженных микроэкологических нарушений у пациентов, когда в состав микробиома включаются близкородственные бактерии из окружающей среды. Популяция выделенных энтерококков характеризовалась отсутствием фенотипически выраженных факторов инвазии, только 2% штаммов продуцировали цитоллизин. Таким образом, у впервые выявленных пациентов представители рода *Enterococcus* компенсируют количественный недостаток анаэробной микробиоты, обеспечивают механическую защиту биотопа, не проявляют патогенных свойств, т.е. формируют положительные симбиотические связи с макроорганизмом.

При проведении противотуберкулезной терапии биологические свойства энтерококков изменялись. Почти треть популяции стала низкоадгезивной, что демонстрирует эффекты нарушения или изменения синтеза белков под влиянием химиотерапевтических средств (линезолид, этамбутол, аминогликозиды) не только у микобактерий, но и у кишечных микросимбионтов. Статистически значимо увеличилось количество штаммов, продуцирующих желатиназу и липазу. С позиций микробиоценоза это может быть компенсаторной реакцией, направленной на поддержание адгезивной активности энтерококков, так как эти ферменты играют роль в биопленкообразовании и являются адгезинами «второй» волны в условиях недостатка структурных (специализированных) адгезинов. Но если учесть, что при противотуберкулезной терапии значительно увеличивается количество продуктов распада *Mycobacterium tuberculosis*, а протеолитические ферменты энтерококков являются индубибельными, то их синтез свидетельствует о наличии в кишечнике субстратов, стимулирующих их выработку, а значит, об эффективности проводимой терапии. Кроме того, ферменты энтерококков будут способствовать удалению токсических продуктов распада ми-

кобактерий из кишечника, выполняя роль «мусорщиков». Таким образом, изменение биологических свойств энтерококков у пациентов второй группы обусловлено противотуберкулезными препаратами, и, вероятнее всего, эти изменения направлены не против макроорганизма, а лишь отражают адаптивные реакции этих микроорганизмов к агрессивным условиям среды.

Полученные результаты раскрывают дальнейшую перспективу по изучению механизмов развития дисбиоза у пациентов с туберкулезом легких, направленных на исследование влияния различных компонентов микобактерий на размножение, биохимическую активность, жирнокислотный состав стенок кишечных микросимбионтов, выявление групп микроорганизмов, устойчивых к токсическому действию липидов микобактерий, способных поддерживать колонизационную резистентность. Это позволит конструировать пробиотические препараты для когорты туберкулезных больных, обладающие одновременно колонизационными и детоксикационными свойствами.

Заключение

У впервые выявленных пациентов уже до начала противотуберкулезной терапии выявлены микроэкологические нарушения кишечного микробиома с преобладанием в структуре III степени дисбиоза (66,7%). При назначении химиотерапевтических средств отмечали снижение титров лактобацилл ($p = 0,05$), увеличение титров *C. perfringens* ($p = 0,05$) и грибов рода *Candida* ($p = 0,05$), рост частоты обнаружения *E.coli lac* – ($p = 0,04$).

Представители рода *Enterococcus* у впервые выявленных пациентов формировали положительные симбиотические связи с макроорганизмом, так как обладали высокой способностью к адгезии, обеспечивали колонизацию слизистой кишечника, не продуцировали ферментов инвазии.

При назначении противотуберкулезных препаратов у энтерококков снижалась способность к специфической адгезии. Увеличение до 18% числа штаммов, продуцирующих фосфолипазу ($p = 0,0007$), свидетельствует о наличии в кишечнике субстратов для фермента – липидов и жирных кислот, что может быть результатом химиотерапевтических воздействий на микобактерии.

Литература :

- Manor O, Borenstein E. Systematic characterization and analysis of the taxonomic drivers of functional shifts in the human microbiome. *Cell Host and Microbe*. 2017;21:254-267. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.12.014>
- Бухарин О.В., Перунова Н.Б. Роль микробиоты в регуляции гомеостаза организма человека при инфекции. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020;5(97):458-467. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-5-8>
- Червинец В.М., Червинец Ю.В., Петрова О.А., Антонова Л.К., Погасян С.В., Ганина Е.Б., Миронов А.Ю. Микробиота желудочно-кишечного тракта новорожденных первого месяца жизни в Тверской области. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018;63(9):579-583. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-9-579-583>
- Захарова Ю.В., Леванова Л.А., Отдушкина Л.Ю. Фундаментальные и прикладные аспекты исследования экзополисахаридов бифидобактерий. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2021;6(1):53-59. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2021-6-1-53-59>
- Limon JJ, Skalski JH, Underhill D.M. Commensal Fungi in health and disease. *Cell Host and Microbe*. 2017;22(2):156-165. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.07.002>
- Родина О.В., Борисов Е.В., Иванова Д.А. Нежелательные реакции при различных режимах химиотерапии больных туберкулезом органов дыхания. *Туберкулез и социально-значимые заболевания*. 2020;2:44-54.
- Юсубова А.Н., Киселевич О.К., Выхристюк О.Ф. Состояние микробиоценоза кишечника у детей раннего и дошкольного возраста, больных туберкулезом. *Вопросы детской диетологии*. 2015;13(4):63-67.
- Холодов А.А., Захарова Ю.В., Отдушкина Л.Ю., Галайда Н.М., Пьянзова Т.В. Микробиоценоз кишечника у больных туберкулезом с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя с синдромом кишечной диспепсии, возникшим в условиях противотуберкулезной терапии. *Вестник ЦНИИТ*. 2022;1:79-86. <https://doi.org/10.7868/S2587667822010083>
- Иванова Е.И., Кунгурцева Е.А., Немченко У.М., Григорова Е.В. Энтерококки желудочно-кишечного тракта: особенности, факторы патогенности, антибиотикорезистентность. *Инфекционные болезни*. 2017;15(3):58-64. <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2017-3-58-64>
- Du R, Ping W, Ge J. Purification, characterization and mechanism of action of enterocin HDX-2, a novel class IIa bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* HDX-2. *LWT-Food Science and Technology*. 2022;153:112451. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112451>
- Туберкулез у взрослых. Клинические рекомендации. Москва : 2022. 151 с. Ссылка активна на 24.04.2022. https://gonktb.mznso.ru/media/cms_page_media/5893/klin-rek-tub-vzroslyih-2022_1.pdf
- Леванова Л. А., Алешкин В. А., Воробьев А. А., Афанасьев С. С., Зинин-Бермес Н. Н., Рубальский О. В., Алешкин А. В. Возрастные особенности микробиоценоза кишечника у жителей г. Кемерово. *Микробиология*. 2001; 3:72-75.
- Салина Е.Г., Жогина Ю.А., Шлеева М.О., Сорокумова Г.М., Селищева А.А., Капсельянц А.С. Биохимические и морфологические изменения в покоящихся (некультивируемых) клетках *Mycobacterium smegmatis*. *Биохимия*. 2010;75(1):88-98.
- Прозоров А.А., Федорова И.А., Беккер О.Б., Даниленко В.Н. Факторы вирулентности *Mycobacterium tuberculosis*: генетический контроль, новые концепции. *Генетика*. 2014;50(8):885-908. <https://doi.org/10.7868/S0016675814080050>
- Сычева М.В. Биологические свойства энтерококков, выделенных из организма животных и человека: фенотипическая характеристика и генетический контроль. *Шаг в науку*. 2021;2:4-9.

References:

- Manor O, Borenstein E. Systematic characterization and analysis of the taxonomic drivers of functional shifts in the human microbiome. *Cell Host and Microbe*. 2017;21:254-267. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.12.014>
- Bukharin OV, Perunova NB. The role of microbiota in the regulation of homeostasis in the human body during infection. *Journal of Microbiology Epidemiology Immunobiology*. 2020;5(97):458-467. (In Russ). <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-5-8>
- Chervinets VM, Chervinets YuV, Petrova OA, Antonova LK, Pogasyan SV, Ganina EB, Mironov AYU. Gastrointestinal microbiota of the newborns of the first month of life of the Tver region. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2018;63(9):579-583 (in Russ). <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-9-579-583>
- Zakharova YuV, Levanova LA, Otdushkina LYU. Bifidobacterial exopolysaccharides: a brief review. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2021;6(1):53-59. (In Russ). <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2021-6-1-53-59>
- Limon JJ, Skalski JH, Underhill D.M. Commensal Fungi in health and disease. *Cell Host and Microbe*. 2017;22(2):156-165. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.07.002>
- Rodina OV, Borisov EV, Ivanova DA. Adverse events of the new and traditional chemotherapy regimens in the patients with multi drug resistant pulmonary tuberculosis. *Tuberkulez i sotsialno-znachimye zabolevaniia*. 2020;2:44-54. (in Russ).
- Usubova AN, Kiselevich OK, Vykhristiuk OF. The state of intestinal microbiocenosis in infants and preschool children suffering from tuberculosis. *Pediatric Nutrition*. 2015;13(4):63-67. (in Russ).
- Kholodov AA, Zakharova YuV, Otdushkina LYU, Galaida NM, Pianzova TV. Intestinal microbiocenosis in patients with multi-drug-resistant pulmonary tb and intestinal dyspepsia syndrome due to tb treatment. *CTRI Bulletin*. 2022;1:79-86. (in Russ). <https://doi.org/10.7868/S2587667822010083>
- Ivanova EI, Kungurtseva EA, Nemchenko UM, Grigorova EV. Enterococci of the gastrointestinal tract: specificities, pathogenicity factors, antibiotic resistance. *Infectious diseases*. 2017;15(3):58-64. (in Russ). <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2017-3-58-64>
- Du R, Ping W, Ge J. Purification, characterization and mechanism of action of enterocin HDX-2, a novel class IIa bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* HDX-2. *LWT-Food Science and Technology*. 2022;153:112451. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112451>
- Tuberkulez u vzroslykh. Klinicheskie rekomendatsii. Moscow : 2022;151 s. (in Russ). Available at: https://gonktb.mznso.ru/media/cms_page_media/5893/klin-rek-tub-vzroslyih-2022_1.pdf. Accessed: April 24, 2022.
- Levanova L. A., Aleshkin V. A., Vorobyev A. A., Afanasyev S. S., Zinin-Bermes N. N., Rubalsky O. V., Aleshkin A.V. Age-related features of intestinal microbiocenosis in residents of Kemerovo. *Microbiology*. 2001;3:72-75. (in Russ).
- Salina EG, Shleeve MO, Kaprelants AS, Zhogina YuA, Sorokoumova GM, Selishcheva AA. Biochemical and Morphological changes in dormant ("Nonculturable") *Mycobacterium smegmatis* cells. *Biokhimiya*. 2010;75(1):88-98. (in Russ).
- Prozorov AA, Fedorova IA, Bekker OB, Danilenko VN. The virulence factors of mycobacterium tuberculosis: genetic control, new conceptions. *Genetika*. 2014;50(8):885-908. (in Russ). <https://doi.org/10.7868/S0016675814080050>
- Sycheva MV. Biological properties of enterococci isolated from the organism of animals and humans: phenotypic characteristics and genetic control. *Shag v nauku*. 2021;2:4-9. (in Russ).

Сведения об авторах

Отдушкина Лариса Юрьевна, ассистент кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а).

Вклад в статью: бактериологические исследования, изучение биологических свойств энтерококков, статистическая обработка материала.

ORCID: 0000-0003-4126-4312

Захарова Юлия Викторовна, доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а).

Вклад в статью: бактериологические исследования, формулирование концепции и написание первоначального варианта статьи.

ORCID: 0000-0002-3475-9125

Холодов Артем Андреевич, клинический ординатор кафедры фтизиатрии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а).

Вклад в статью: сбор и доставка образцов для исследования, сбор и анализ клинической информации о пациентах, первичная обработка данных.

ORCID: 0000-0001-5249-8822

Леванова Людмила Александровна, доктор медицинских наук, заведующая кафедрой микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а).

Вклад в статью: выполнение практической части исследования, утверждение окончательной версии и техническое оформление статьи.

ORCID: 0000-00025977-9149

Пьянзова Татьяна Владимировна, доктор медицинских наук, проректор по научной, лечебной работе и развитию регионального здравоохранения, заведующая кафедрой фтизиатрии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а).

Вклад в статью: общее руководство и организация формирования групп пациентов, административное регулирование взаимосвязей с фтизиатрической клиникой.

ORCID: 0000-0002-4854-5734

Марковская Алина Анатольевна, ассистент кафедры эпидемиологии, инфекционных болезней и дерматовенерологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а).

Вклад в статью: участие в переработке и анализе полученной информации.

ORCID: 0000-0002-5001-7068

Статья поступила: 18.04.2022 г.

Принята в печать: 31.05.2022 г.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

Authors

Dr. Larisa Yu. Otdushkina, MD, Assistant Professor, Department of Microbiology and Virology, Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation).

Contribution: conducted the experiments; performed the data analysis.

ORCID: 0000-0003-4126-4312

Prof. Yuliya V. Zakharova, MD, DSc, Professor, Department of Microbiology and Virology, Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation).

Contribution: conceived and designed the study; conducted the experiments; wrote the manuscript.

ORCID: 0000-0002-3475-9125

Dr. Artem A. Kholodov, MD, Resident Doctor, Department of Phthysiology, Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation).

Contribution: collected and processed the data.

ORCID: 0000-0001-5249-8822

Prof. Lyudmila A. Levanova, MD, DSc, Head of the Department of Microbiology and Virology, Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation).

Contribution: conducted the experiments; wrote the manuscript.

ORCID: 0000-0002-5977-9149

Prof. Tatiana V. Pyanzova, MD, DSc, Head of the Department of Phthysiology, Chief Scientific Officer, Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation).

Contribution: conceived and designed the study.

ORCID: 0000-00024854-5734

Dr. Alina A. Markovskaya, MD, Assistant Professor, Department of Epidemiology, Infectious Diseases, Dermatology and Venereology, Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation).

Contribution: performed the data analysis.

ORCID: 0000-0002-5001-7068

Received: 18.04.2022

Accepted: 31.05.2022

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.