

# ВЛИЯНИЕ КОМПОЗИЦИОННОГО СОСТАВА НА ОСНОВЕ ЭКЗОМЕТАБОЛИТОВ *SACCHAROMYCES BOULARDII* В ОТНОШЕНИИ ПАТОГЕННЫХ И ПЕРСИСТЕНТНЫХ СВОЙСТВ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA*

Барышникова Н.В., Васева Е.М., Сивкова Д.С., Борисенко А.И.,  
Малишевская О.И., Приходько Ю.С., Николенко М.В.

ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,  
г. Тюмень, Россия

**Резюме.** Клинические проявления микозов широко варьируют от слабовыраженных повреждений слизистых до тяжелых инвазивных форм. В настоящее время на фармацевтическом рынке представлен широкий спектр антимикотических препаратов, включающих в себя пероральные и инъекционные препараты системного и наружного, местного применения. Разная степень эффективности, обусловлена химической структурой и особенностями фармакокинетики. Существенную проблему представляют рецидивы кандидоза слизистых оболочек. Одним из возможных вариантов решения этой проблемы можно рассматривать использование экзометаболитов бактериального или грибкового происхождения, воздействующих на морфофункциональные структуры грибов рода *Candida spp.* Целью исследования было получение бесклеточного супернатанта *Saccharomyces boulardii* (*S. boulardii*) и экстрактов трав, являющихся основой композиции с профилактическим действием против грибов рода *Candida*. Авторами предложен композиционный состав на основе экзометаболита *S. boulardii* и экстрактов трав для профилактики кандидоза. Контролем служил пропиленгликоль. Эффективность композиции оценивали на клинических изолятах *C. albicans*, *C. glabrata* и *C. krusei*, выделенных из вагинального биотопа в разведении  $10^3$ - $10^6$  КОЕ/мл. На первом этапе изучили влияние метаболитов *S. boulardii*, на биологические свойства грибов. Далее определяли фунгицидную активность метаболитов и экстрактов методом серийных разведений в отношении изолятов микромицетов. На заключительном этапе исследовали влияние композиционного состава с наиболее эффективными экстрактами. Под влиянием супернатанта *S. boulardii* микромицеты утратили способность формировать ростовые трубки, наблюдалось снижение каталазной активности *Candida spp.* как при носитель-

**Адрес для переписки:**

Барышникова Наталья Викторовна  
ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский  
университет» Министерства здравоохранения РФ  
625023, Россия, г. Тюмень, ул. Одесская, 54.  
Тел.: 8 (3452) 69-07-82, 8 (912) 397-52-32.  
E-mail: barnv7600@mail.ru

**Address for correspondence:**

Natalia V. Baryshnikova  
Tyumen State Medical University  
54 Odesskaya St  
Tyumen  
625023 Russian Federation  
Phone: +7 (3452) 69-07-82, +7 (912) 397-52-32.  
E-mail: barnv7600@mail.ru

**Образец цитирования:**

Н.В. Барышникова, Е.М. Васева, Д.С. Сивкова,  
А.И. Борисенко, О.И. Малишевская, Ю.С. Приходько,  
М.В. Николенко «Влияние композиционного состава  
на основе экзометаболитов *Saccharomyces boulardii*  
в отношении патогенных и персистентных свойств  
грибов рода *Candida*» // Российский иммунологический  
журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 493-498.  
doi: 10.46235/1028-7221-16693-TIO

© Барышникова Н.В. и соавт., 2024  
Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

**For citation:**

N.V. Baryshnikova, E.M. Vaseva, D.S. Sivkova,  
A.I. Borisenok, O.I. Malishevskaya, Yu.S. Prikhodko,  
M.V. Nikolenko "The influence of a composition based on  
exometabolites of *Saccharomyces boulardii* in relation to  
the pathogenic and persistent properties of fungi of the genus  
*Candida*", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy  
Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 493-498.  
doi: 10.46235/1028-7221-16693-TIO

© Baryshnikova N.V. et al., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16693-TIO

стве, так и при болезни. Экзометаболиты достоверно снижали способность к пленкообразованию у культур, выделенных от больных вагинальным кандидозом. Наибольшую эффективность среди экстрактов показали экстракты зверобоя продырявленного и кориандра. Фунгицидные свойства композиции сохранялись на протяжении 12 часов после соинкубирования со всеми изолятами *Candida spp.* Таким образом, композиция эффективна как в отношении *C. albicans*, так и *C. non-albicans* при носительстве и болезни.

**Ключевые слова:** *Candida*, кандидоз, супернатант, биопленкообразование, морфогенез, каталаза

## THE INFLUENCE OF A COMPOSITION BASED ON EXOMETABOLITES OF *SACCHAROMYCES BOULARDII* IN RELATION TO THE PATHOGENIC AND PERSISTENT PROPERTIES OF FUNGI OF THE GENUS *CANDIDA*

Baryshnikova N.V., Vaseva E.M., Sivkova D.S., Borisenok A.I., Malishevskaya O.I., Prikhodko Yu.S., Nikolenko M.V.

Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

**Abstract.** Clinical manifestations of mycoses vary widely from mild mucosal damage to severe invasive forms. Currently, the pharmaceutical market offers a wide range of antimycotic drugs, including oral and injectable drugs for systemic and external and local use. Varying degrees of effectiveness are due to the chemical structure and pharmacokinetics. A significant problem is the recurrence of mucosal candidiasis. One of the possible solutions to this problem can be considered the use of exometabolites of bacterial or fungal origin, affecting the morphofunctional structures of fungi of the genus *Candida spp.* The purpose of the study was to obtain cell-free supernatant of *Saccharomyces boulardii* (*S. boulardii*) and herbal extracts, which are the basis of a composition with a preventive effect against fungi of the genus *Candida*. The authors proposed a composition based on the exometabolite of *S. boulardii* and herbal extracts for the prevention of candidiasis. Propylene glycol served as a control. The effectiveness of the composition was assessed on clinical isolates of *C. albicans*, *C. glabrata* and *C. krusei* isolated from the vaginal biotope at a dilution of  $10^3$ - $10^6$  CFU/mL. At the first stage, we studied the effect of *S. boulardii* metabolites on the biological properties of fungi. Next, the fungicidal activity of metabolites and extracts was determined by serial dilution against micromycete isolates. At the final stage, the effect of the composition with the most effective extracts was studied. Under the influence of the supernatant of *S. boulardii*, micromycetes lost the ability to form growth tubes, and a decrease in the catalase activity of *Candida spp.* was observed both during carriage and disease. Exometabolites significantly reduced the ability to form film in cultures isolated from patients with vaginal candidiasis. The most effective among the extracts were the extracts of St. John's wort and coriander. The fungicidal properties of the composition were maintained for 12 hours after co-incubation with all isolates of *Candida spp.* Thus, the composition is effective against both *C. albicans* and *C. non-albicans* carriage and disease.

**Keywords:** *Candida*, candidiasis, supernatant, biofilm formation, morphogenesis, catalase

### Введение

Среди микотических оппортунистических инфекций кандидоз, вызванный грибами рода *Candida*, играет ведущую роль. В подавляющем большинстве случаев (85-90%) возбудителем кандидоза является *Candida albicans* (*C. albicans*), наиболее патогенный и значимый в клинической практике вид. Среди остальных видов *Candida sp.* клиническое значение имеют преиму-

щественно *Candida glabrata* (*C. glabrata*) – 5-10%, *Candida tropicalis* (*C. tropicalis*) – 3-5%, *Candida parapsilosis* (*C. parapsilosis*) – 3-5%, *Candida krusei* (*C. krusei*) – 1-3%, а также *Candida guilliermondi* (*C. guilliermondi*) и значительно реже – *Candida pseudotropicalis* (*C. pseudotropicalis*) [3, 10, 11].

Последнее десятилетие наблюдается устойчивая тенденция к росту кандидозов. Около 75% женщин за всю жизнь имеет хотя бы один эпизод

вагинального кандидоза (ВК), доминирующим возбудителем которого является *C. albicans*. Около 50% пациенток фиксируют 2 и более эпизодов ВК на протяжении своей жизни. Примерно 15% женщин являются бессимптомными носителями грибов [9, 14]. Зачастую ВК протекает как рецидивирующая инфекция, трудно поддающаяся лечению. Ежегодно в мире фиксируется около 3 млн случаев рецидивирующих форм кандидоза, что является достаточно серьезным вызовом. Исходя из имеющихся данных, можно предположить, что заболеваемость ВК будет возрастать вследствие роста инфицирования грибами рода *Candida* других видов, обладающих резистентностью к большинству антимикотических препаратов. Анализ распространенности заболевания в разных возрастных группах показал, что чаще всего ВК страдают женщины репродуктивного возраста от 21 до 40 лет [9]. Решение данной проблемы может быть многосторонним. Получение композиции, содержащей экзометаболиты и экстракты трав, может стать одним из возможных вариантов комбинированного терапевтического подхода.

## Материалы и методы

Эффективность композиции оценивали на 17 клинических изолятах *C. albicans*, 6 штаммов *C. glabrata* и 5 штаммов *C. krusei*, выделенных из вагинального биотопа в разведении  $10^3$ - $10^4$  КОЕ/мл и от больных вагинальным кандидозом с высеваемостью  $10^6$  КОЕ/мл. Бесклеточный супернатант из *Saccharomyces boulardii* (*S. boulardii*) получали по методике Маркова А.А. с соавт [6]. Культивирование *S. boulardii* проводилось на бульоне Шедлера при 37 °С в течение 24 часов.

Биологические свойства дрожжей в условиях межмикробных взаимоотношений изучали, добавляя в питательную среду стерильный бесклеточный супернатант.

Стерильность метаболитов проверяли путем посева на 5% кровяной агар с последующим инкубированием при 37 °С в течение 24 ч.

Полученный экзометаболит *S. boulardii* являлся основой предлагаемой композиции с профилактическим действием против грибов рода *Candida*. В состав композиции добавлялись экстракты трав полыни горькой, розы лепестков высококонцентрированный, хвоща, шалфея, ромашки аптечной, коры осины, зверобоя продырявленного, донника, коры березы, масло полыни таврической, масло кориандра. Получено было 11 образцов. Контролем служил пропиленгликоль.

В первой серии экспериментов изучали влияние метаболитов *S. boulardii* на биологические

свойства грибов: пролиферации [8], морфогенеза [13], пленкообразование [7] и каталазы [1].

Во второй серии исследований определялась фунгицидная активность метаболитов методом серийных разведений [4] на *Candida spp.* каждые 6, 12, 18 и 24 часа.

Следующий этап включал изучение фунгицидной активности экстрактов на предложенные изоляты микромицетов.

На заключительном этапе изучалось влияние композиционного состава: бесклеточный супернатант с наиболее эффективными экстрактами зверобоя продырявленного и масла кориандра.

Статистическую обработку материалов и графическое изображение результатов осуществляли с использованием программ: Primer of Biostatistics Version 4.03 by Stanton A. Glantz, 1998; Microsoft Office Excel 2010. Определяли  $M$  – среднее арифметическое,  $\delta$  – среднеквадратичное отклонение,  $m$  – средняя ошибка среднего арифметического, данные представляли по форме  $M \pm m$  или  $M \pm \delta$ . В случае соответствия сравниваемых выборок нормальному закону распределения (по  $\chi^2$ ) использовали  $t$  – критерий Стьюдента.

## Результаты и обсуждение

В ряде экспериментов была установлена минимальная действующая концентрация экзометаболитов, оптимальное время соинкубирования, исключающее рост грибов. Также был подобран наиболее действенный состав экстрактов, ингибирующих *Candida spp.*

Доказано, что под влиянием бесклеточного супернатанта *S. boulardii* микромицеты грибов утратили способность формировать ростовые трубки – важнейший фактор патогенности. Воздействие экзометаболитов *S. boulardii* способствовало утрате возможности образовывать псевдомицелий, регистрировались единичные клетки, деформированные очень крупные или наоборот мелкие. Морфогенез дрожжей в гифальные элементы может быть отнесен к факторам патогенности, так как встречается только у больных инвазивным кандидозом, в то время как для состояния носительства и не инвазивного кандидоза характерно нахождение грибов на поверхности эпителия [12].

В настоящее время описаны следующие морфологические варианты *Candida sp.*: дрожжи, гифальные элементы (несептированный мицелий) и псевдогифы (псевдомицелий) – тонкие удлиненные клетки, расположенные друг за другом в виде нитей и не имеющие общей оболочки. Установлено, что штаммы *C. albicans*, не образующие псевдогиф и настоящего мицелия, постепенно теряют вирулентность.

Наблюдалось снижение каталазной активности *Candida spp.* всех изучаемых культур как при носительстве, так и при болезни под влиянием метаболитов. Каталаза – гемсодержащий фермент, защищающий от действия перекиси водорода эндогенного и экзогенного происхождения.

Экзометаболиты достоверно снижали способность к пленкообразованию у культур, выделенных от больных вагинальным кандидозом с высеваемостью  $10^6$  КОЕ/мл ( $p < 0,05$ ).

Для усиления действия композиции в отношении *Candida spp.* использовали экстракты растений. Наибольшую эффективность показали экстракты зверобоя продырявленного и кориандра, которые влияли на пролиферативные свойства грибов, ингибируя их рост. В химический состав данных экстрактов входят флавоноиды и эфирные масла. Флавоноиды – это обширная группа фенольных соединений, которая относится к продуктам метаболизма растений и играет важнейшую роль в их росте и жизнедеятельности. Изменяя проницаемость цитоплазматической мембраны микроорганизмов, флавоноиды способствуют выходу ионов калия из клетки. Нарушение ионных градиентов ведет к изменению водного баланса и гибели клеток грибов [5].

Экспериментальными исследованиями установлено, что наряду с подавлением роста эфир-

ные масла обладали способностью к инактивации факторов персистенции грибов рода *Candida*. Следующая серия экспериментов позволила определить, что фунгицидные свойства композиции сохраняются на протяжении 12 часов после соинкубирования со всеми изолятами *Candida spp.* [2].

Формирование кандидозной биопленки происходит через три отличные друг от друга фазы роста, в течение которых происходит преобразование отдельных бластоспор в четкие клеточные сообщества с матрицей из полисахарида, заключенные в кожух волокнистой структуры [2].

## Заключение

Таким образом, композиция, в состав которой входит бесклеточный супернатант *S. boulardii* и экстракты трав кориандра и зверобоя продырявленного, эффективна как в отношении *C. albicans*, так и *C. non-albicans* при носительстве и болезни.

## Благодарности

Исследования проведены коллективом за счет средств программы «Приоритет 2030». Коллектив авторов выражает благодарность ректору Тюменского ГМУ И.М. Петрову, проректору по научно-исследовательской работе и инновационной политике Е.Б. Храмовой.

## Список литературы / References

1. Бухарин О.В. Проблемы персистенции патогенов в инфектологии // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии, 2006. № 4. С. 4-8. [Bukharin O.V. Problems of pathogen persistence in infectology. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2006, no. 4, pp. 4-8. (In Russ.)]
2. Капустина О.А., Карташова О.Л. Факторы патогенности грибов рода *Candida* и возможность их регуляции эфирными маслами // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН, 2013. № 1. С. 1-10. [Kapustina O.A., Kartashova O.L. Factors of pathogenicity of fungi of the genus *Candida* and the possibility of their regulation by essential oils. *Byulleten Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN = Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*, 2013, no. 1, pp. 1-10. (In Russ.)]
3. Климко Н.Н., Васильева Н.В., Антонов В.Б. Проект рекомендаций по лечению кандидоза // Проблемы медицинской микологии, 2001. Т. 3. № 3. С. 12-25. [Klimko N.N., Vasilyeva N.V., Antonov V.B. Draft recommendations for the treatment of candidiasis. *Problemy meditsinskoj mikologii = Problems in Medical Mycology*, 2001, Vol. 3, no. 3, pp. 12-25. (In Russ.)]
4. Клиническая лабораторная диагностика / под ред. В.В. Меншикова. Лабинформ – РАМЛД. 1999. 352 с. [Clinical laboratory diagnostics / ed. V.V. Menshikov]. Labinform, RAMLD, 1999. 352 p.
5. Куркин В.А., Куркина А.В., Авдеева Е.В. Флавоноиды как биологически активные соединения лекарственных растений // Фундаментальные исследования, 2013. № 11-9. С. 1897-1901. [Kurkin V.A., Kurkina A.V., Avdeeva E.V. The flavonoids as biologically active compounds of medicinal plants. *Fundamentalnye issledovaniya = Fundamental Research*, 2013, no. 11-9, pp. 1897-1901. (In Russ.)]
6. Марков А.А., Тимохина Т.Х., Перунова Н.Б., Паромова Я.И. Регулирующее влияние экзометаболитов *Bifidobacterium bifidum* на пролиферативную активность условно-патогенных микроорганизмов // Вестник Смоленской государственной медицинской академии, 2018. № 1 (17). С. 56-62. [Markov A.A., Timokhina T.Kh., Perunova N.B., Paromova Ya.I. Regulatory effect of exometabolites *Bifidobacterium bifidum* on the proliferative activity of conditionally pathogenic microorganisms. *Vestnik Smolenskoy gosudarstvennoy meditsinskoj akademii = Bulletin of the Smolensk State Medical Academy*, 2018, no. 1 (17), pp. 56-62. (In Russ.)]
7. Николенко М.В., Барышникова Н.В., Малишевская О.И., Еноктаева О.В., Васева Е.М. Изучение динамики биопленкообразования *Candida sp.* в течение суток модифицированным макрометрическим

методом // Инфекция и иммунитет, 2022. Т.12, № 6. С. 1129-1135. [Nikolenko M.V., Baryshnikova N.V., Malishevskaya O.I., Enoктаeva O.V., Vaseva E.M. A 24-hour *Candida* sp. biofilm formation dynamically assessed with modified macrometric method. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, Vol. 12, no. 6, pp. 1129-1135. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-АНС-1929.

8. Патент на изобретение № 2285258 РФ Способ диагностики госпитальных штаммов / Э.А. Кашуба, Т.Х. Тимохина, Н.А. Курлович.; опуб. 27.04.2006 // Бюллетень, 2006, № 28. 11 с. [The patent for the invention № 2285258 of the Russian Federation. Ability to diagnose hospital strains / E.A. Kashuba, T.H. Timokhina, N.A. Kurlovich.; publ. 27/04/2006. // Bull. 2006, no. 28. 11 p. (In Russ.)]

9. Руководство по амбулаторно-поликлинической помощи в акушерстве и гинекологии / под ред. В.Н. Серова, Г.Т. Сухих, В.Н. Прилепской, В.Е. Радзинского. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. 1136 с. [Guidelines for outpatient care in obstetrics and gynecology / ed. V.N. Serova, G.T. Suhih, V.N. Prilepskoj, V.E. Radzinskogo]. Moscow: GEOTAR-Media, 2018. 1136 p.

10. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции: Руководство для врачей. М.: Биномпресс, 2003. 440 с. [Sergeev A.Yu., Sergeev Yu.V. Fungal infections: A guide for doctors]. Moscow: Binompress, 2003. 440 p.

11. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Кандидоз: Природа инфекции, механизмы агрессии и защиты, лабораторная диагностика, клиника и лечение. М.: Триада-Х, 2001. 472 с. [Sergeev A.Yu., Sergeev Yu.V. Candidiasis: Nature of infection, mechanisms of aggression and defense, laboratory diagnostics, clinical picture and treatment]. Moscow: Triada-X, 2001. 472 p.

12. Шевяков М.А. Кандидоз пищевода: диагностика и современный выбор лечения // Лечащий врач, 2008. № 9. С. 16-18. [Shevyakov M.A. Esophageal candidiasis: diagnosis and modern choice of treatment. *Lechashchiy vrach = Attending Physician*, 2008, no. 9, pp. 16-18. (In Russ.)]

13. *Candida*. Кандидозы. Лабораторная диагностика / Н.П. Елинов, Н.В. Васильева, А.А. Степанова, Г.А. Чилина, под ред. Н.П. Елинова. СПб.: Коста, 2010. 224 с. [Candida. Candidiasis. Laboratory diagnostics / N.P. Elinov, N.V. Vasilyeva, A.A. Stepanova, G.A. Chilina, ed. N.P. Elinova]. St. Petersburg: Costa, 2010. 224 p.

14. Mendling W. Guideline vulvovaginal candidosis of the German Society for gynecology and Obstetrics, the Working Group for Infections and Infectimmunology in Gynecology and Obstetrics. *Mucoses*, 2012, Vol. 55, Suppl. 3, pp. 1-13.

---

**Авторы:**

**Барышникова Н.В.** — старший преподаватель кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Тюмень, Россия

**Васева Е.М.** — к.фарм.н., доцент кафедры фармацевтических дисциплин ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Тюмень, Россия

**Сивкова Д.С.** — ассистент кафедры микробиологии, младший научный сотрудник лаборатории микробиома, регенеративной медицины и клеточных технологий ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Тюмень, Россия

**Authors:**

**Baryshnikova N.V.**, Senior Lecturer, Department of Microbiology, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

**Vaseva E.M.**, PhD (Pharmaceuticals), Associate Professor, Department of Pharmaceutical Disciplines, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

**Sivkova D.S.**, Assistant Professor of the Department of Microbiology, Junior Research Associate of the Laboratory of Microbiome, Regenerative Medicine and Cellular Technologies, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

**Борисенко А.И.** — к.фарм.н., доцент кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Тюмень, Россия

**Малишевская О.И.** — к.фарм.н., доцент кафедры фармацевтических дисциплин ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Тюмень, Россия

**Приходько Ю.С.** — ассистент кафедры фармацевтических дисциплин ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Тюмень, Россия

**Николенко М.В.** — д.б.н., профессор кафедры микробиологии, заведующий лабораторией микробиома, регенеративной медицины и клеточных технологий ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Тюмень, Россия

**Borisenok A.I.**, PhD (Pharmaceuticals), Associate Professor, Department of Microbiology, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

**Malishevskaya O.I.**, PhD (Pharmaceuticals), Associate Professor, Department of Pharmaceutical Disciplines, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

**Prikhodko Yu.S.**, Assistant Professor, Department of Pharmaceutical Disciplines, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

**Nikolenko M.V.**, PhD, MD (Biology), Professor of Microbiology Department, Head of the Laboratory of Microbiome, Regenerative Medicine and Cellular Technologies, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

---

Поступила 28.03.2024

Отправлена на доработку 06.04.2024

Принята к печати 18.04.2024

Received 28.03.2024

Revision received 06.04.2024

Accepted 18.04.2024