

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-146-152

УДК 616.92:579.844.91

А.Ю. Попова^{1,2}, А.А. Плоскирева³, Н.Г. Куликова³, Л.А. Битюмина³, А.Ф. Чемеденко³, В.В. Сафандеев⁴,
М.А. Порошин⁴, Н.Д. Евдокимов⁴, М.В. Вострикова⁴, А.И. Виноградова⁴, Р.И. Латипова⁴,
М.В. Бидевкина⁴, А.В. Богданова⁴, Т.А. Синицкая⁴, С.В. Кузьмин⁴, А.В. Горелов³

Патогенетические эффекты бактерий рода *Desulfovibrio*. Экспериментальное исследование. Часть первая. Обмен железа

¹Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация;

²ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», Москва, Российская Федерация;

³ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии», Москва, Российская Федерация;

⁴ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана», Мытищи, Российская Федерация

Цель работы – изучение специфического системного влияния сульфатредуцирующих бактерий рода *Desulfovibrio* на системы организма путем создания экспериментальной модели внутрижелудочной бактериальной инвазии на фоне дисбиотических состояний желудочно-кишечного тракта грызунов. **Материалы и методы.** Экспериментальное исследование проведено на крысах линии Wistar. Дисбиоз кишечника моделировался с помощью антибиотиков амоксициллина и метронидазола. В качестве инфекционного агента использован типовой штамм *Desulfovibrio desulfuricans* subsp. *desulfuricans* VKM B-1799^T. **Результаты и обсуждение.** В результате проведенного эксперимента в период острой инфекции (на 15-й день эксперимента) наблюдалась прямая корреляция между концентрацией вводимой суспензии бактерий *D. desulfuricans* VKM B-1799^T с уровнем сывороточного железа: чем выше заражающая доза инфекционного агента, тем ниже наблюдалась концентрация сывороточного железа. В период отдаленных последствий (38-й день эксперимента) при оценке концентрации уровня *D. desulfuricans* VKM B-1799^T в кишечнике грызунов выявлена обратная корреляционная зависимость между концентрациями инфекционного агента и уровнем сывороточного железа: при увеличении концентрации *D. desulfuricans* VKM B-1799^T от 10³ КОЕ/г и выше уровень железа снижается с 43,5 до 38,5 мкмоль/л. В период острой инфекции и период отдаленных последствий у всех групп крыс при сравнении уровня трансферрина и ненасыщенной железосвязывающей способности наблюдалось повышение этих показателей, а процент насыщения трансферрина железом снижался, что свидетельствует о возникшем дефиците железа на фоне воздействия инфекционного агента. Дисбиоз кишечника способствует колонизации условно-патогенной флорой, в том числе *Desulfovibrio* spp. Изменения со стороны маркеров обмена железа в организме подопытных животных на фоне инвазии *D. desulfuricans* VKM B-1799^T выше 10³ КОЕ/г и способность данного микроорганизма к связыванию железа в недоступную форму позволяют думать, что бактерии рода *Desulfovibrio* являются одним из ключевых этиологических факторов развития железодефицитной анемии.

Ключевые слова: микробиоценоз, железодефицитная анемия, *Desulfovibrio desulfuricans*.

Корреспондирующий автор: Плоскирева Антонина Александровна, e-mail: antoninna@mail.ru.

Для цитирования: Попова А.Ю., Плоскирева А.А., Куликова Н.Г., Битюмина Л.А., Чемеденко А.Ф., Сафандеев В.В., Порошин М.А., Евдокимов Н.Д., Вострикова М.В., Виноградова А.И., Латипова Р.И., Бидевкина М.В., Богданова А.В., Синицкая Т.А., Кузьмин С.В., Горелов А.В. Патогенетические эффекты бактерий рода *Desulfovibrio*. Экспериментальное исследование. Часть первая. Обмен железа. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 2:146–152. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-146-152

Поступила 14.04.2023. Принята к публ. 03.05.2023.

A.Yu. Popova^{1,2}, A.A. Ploskireva³, N.G. Kulikova³, L.A. Bityumina³, A.F. Chemedenko³,
V.V. Safandeev⁴, M.A. Poroshin⁴, N.D. Evdokimov⁴, M.V. Vostrikova⁴, A.I. Vinogradova⁴,
R.I. Latipova⁴, M.V. Bidevkina⁴, A.V. Bogdanova⁴, T.A. Sinitskaya⁴, S.V. Kuz'min⁴, A.V. Gorelov³

Pathogenetic Effects of Bacteria of the Genus *Desulfovibrio*. Experimental Study. Part One: Iron Metabolism

¹Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Well-being, Moscow, Russian Federation;

²Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russian Federation;

³Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation;

⁴Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman, Mytishchi, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to study specific systemic effect of sulfate-reducing bacteria of the genus *Desulfovibrio* on organism systems through creating an experimental model of intragastric bacterial invasion against the background of dysbiotic conditions of rodent gastrointestinal tract. **Materials and methods.** The experimental study was conducted on Wistar rats. Intestinal dysbiosis was modeled with the help of antibiotics, amoxicillin and metronidazole. Typical strain *Desulfovibrio desulfuricans* subsp. *desulfuricans* VKM B-1799^T was used as an infectious agent. **Results and discussion.** As a result of the experiment performed, during the period of acute infection (on day 15 of the experiment), a direct correlation between the concentration of the injected *D. desulfuricans* VKM B-1799^T bacteria suspension and the serum iron level was observed: the higher the infectious agent dose, the lower the serum iron concentration. During the phase of remote effects (day 38 of the experiment), the inverse correlation between the concentrations of *D. desulfuricans* VKM B-1799^T in the intestines of rodents was revealed: when the concentration of the infecting agent increased from 10³ CFU/g and higher, the iron level decreased from 43.5 μmol/l to 38.5 μmol/l. When comparing the level of transferrin and unsaturated iron binding capacity (UIBC), an increase in those parameters was observed in all

groups of rats both during the period of acute infection and the period of long-term effects, and the percentage of transferrin iron saturation decreased, indicating the occurrence of iron deficiency against the background of exposure to the infectious agent. Intestinal dysbiosis promotes colonization by opportunistic flora, including *Desulfovibrio* sp. Changes in the iron metabolism markers in experimental animals against the background of *D. desulfuricans* VKM B-1799^T infestation above 10³ CFU/g and the ability of this microorganism to bind iron into an unavailable form suggest that the bacteria *Desulfovibrio* sp. are one of the key etiological factors of iron deficiency anemia.

Key words: micro-bioecoenosis, iron deficiency anemia, *Desulfovibrio desulfuricans*.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

Bioethics: Experiments were conducted in strict compliance with the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and the Council of 22 September 2010 on protection of animals used for scientific purposes and approved by the Committee for the control of care and use of laboratory animals at the Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman of the Rospotrebnadzor.

Corresponding author: Antonina A. Ploskireva, e-mail: antoninna@mail.ru.

Citation: Popova A.Yu., Ploskireva A.A., Kulikova N.G., Bityumina L.A., Chemedenko A.F., Safandeev V.V., Poroshin M.A., Evdokimov N.D., Vostrikova M.V., Vinogradova A.I., Latipova R.I., Bidevkina M.V., Bogdanova A.V., Sinitskaya T.A., Kuz'min S.V., Gorelov A.V. Pathogenetic Effects of Bacteria of the Genus *Desulfovibrio*. Experimental Study. Part One: Iron Metabolism. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 2:146–152. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-146-152

Received 14.04.2023. Accepted 03.05.2023.

Popova A.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4315-5307>
 Ploskireva A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3612-1889>
 Kulikova N.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1716-6969>
 Bityumina L.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5378-0827>
 Safandeev V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0073-1677>
 Poroshin M.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9668-8361>
 Evdokimov N.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4080-6060>

Vostrikova M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4090-5202>
 Vinogradova A.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3253-4571>
 Latipova R.I., ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-4148-8439>
 Bidevkina M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6433-899X>
 Bogdanova A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3070-5901>
 Sinitskaya T.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1344-3866>
 Gorelov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9257-017>

Бактерии рода *Desulfovibrio* представляют собой не образующую спор, изогнутую грамотрицательную палочку, которая относится к сульфатредуцирующим бактериям (СРБ). Для бактерий рода *Desulfovibrio* характерно наличие пигмента десульфовиридина, который флуоресцирует в длинноволновом ультрафиолетовом свете красным при щелочном pH и синезеленым при кислом pH. Также характерно наличие сильного запаха сероводорода, который появляется в процессе дыхания бактерий при восстановлении сульфата и серы посредством сульфитредуктазы десульфовиридина [1, 2]. Бактерии рода *Desulfovibrio* являются строгими анаэробами, растут медленно, для образования видимых колоний в питательных средах им требуется от 4 до 7 дней [3].

Сероводород, образующийся в процессе жизнедеятельности бактерий, связывается с ионами металлов и образует сульфиды [4]. Известны данные о том, что *Desulfovibrio desulfuricans* в некоторых средах образует кристаллические сульфиды железа: пирит, марказит, грейгит и макинавит [5]. Возможным механизмом воздействия *Desulfovibrio* spp. на организм человека является превращение железа в биологически недоступные формы сульфидов, вызывающие его дефицит [6].

Бактерии рода *Desulfovibrio* широко распространены в окружающей среде и являются преобладающими среди сульфатредуцирующих бактерий в микробиоценозе кишечника человека [2, 7].

В некоторых исследованиях было установлено, что у пациентов с когнитивными и психическими расстройствами бактерии рода *Desulfovibrio* в образцах кала выделяются в значительно большей концентрации по сравнению со здоровыми пациентами. В исследованиях наблюдалась прямая корреляция

между концентрацией бактерий *Desulfovibrio* spp. и тяжестью протекания заболеваний. В психических и когнитивных расстройствах могут быть общие биомаркеры риска на уровне кишечного микробиоценоза, в роли которых, возможно, выступают сульфатредуцирующие бактерии рода *Desulfovibrio* [8–10].

Ось «микробиоценоз – кишечник – мозг» имеет большее значение в областях, изучающих биологические и физиологические основы психических, неврологических, возрастных и нейродегенеративных расстройств [11]. В то же время микробиоценоз кишечника подвержен ряду неблагоприятных факторов, таких как инфекции и антибиотикотерапия, в результате чего наблюдаются потеря бактериального разнообразия, уменьшение комменсальных и увеличение условно-патогенных микроорганизмов [12].

До настоящего времени не описано экспериментальных исследований по изучению влияния сульфатредуцирующих бактерий *Desulfovibrio* spp. *in vivo*. В связи с этим целью исследования являлось изучение специфического системного влияния сульфатредуцирующих бактерий рода *Desulfovibrio* на различные системы организма путем создания экспериментальной модели внутрижелудочной бактериальной инвазии на фоне дисбиотических состояний желудочно-кишечного тракта грызунов.

Материалы и методы

Характеристика инфекционного агента.

В роли инфекционного агента использован типовой штамм рода *Desulfovibrio* из Всероссийской коллекции микроорганизмов (Пушино): *Desulfovibrio desulfuricans* subsp. *desulfuricans* VKM B-1799^T.

Согласно паспорту культуры, источником выделения коллекционного штамма была смесь смолы и песка вокруг проржавевшего газопровода.

Бактерии культивировали на питательной среде, рекомендованной ФГБУН «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина» РАН (г/л): KH_2PO_4 – 0,5; NH_4Cl – 1,0; Na_2SO_4 – 2,0; $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ – 0,5; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 1,0; дрожжевой экстракт – 1,0; резазурин – 0,001; раствор витаминов [13] – 10 мл/мл; DL-На-лактат – 3,0; раствор микроэлементов SL-10 – 1 мл/мл; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; Na-тиогликолят – 0,1; аскорбиновая кислота – 0,1; дистиллированная вода – 1000 мл/мл, pH=7,5, в течение 5–7 дней при температуре 37 °С в анаэробных условиях. Анаэробные условия создавали в специальных системах типа ГазПак производства фирмы Oxoid (Thermo Fisher Scientific, США), работающих на принципе химической адсорбции кислорода, или в термостате с концентрацией CO_2 – 5 %.

Животные и условия их содержания. Экспериментальное исследование выполнено на 80 здоровых самцах крыс линии Wistar, одного возраста, массой тела 180–200 г на начало эксперимента. Животные получены из филиала «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Содержание, питание, уход и выведение животных из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами». Все животные во время карантина (12 дней) и эксперимента содержались при одинаковых условиях в отношении

температуры (22±3 °С), влажности (30–70 %) и освещения в течение 12-часового цикла «свет/темнота» (свет с 8 до 20 ч), а также рациона питания (комбикорм ООО «Провими», рецепт ПК-120, Россия).

Дизайн исследования. В ходе эксперимента моделировали развитие дисбиоза, вызванного разными концентрациями антибиотических средств и инфекционного агента *D. desulfuricans* VKM B-1799^T.

Животных разделили на 8 групп по 10 крыс в каждой в зависимости от схем внутрижелудочно-го введения противомикробных препаратов и инфекционного агента *D. desulfuricans* VKM B-1799^T (табл. 1).

В течение 3 дней животным вводили растворы противомикробных препаратов в субтерапевтической и терапевтической дозах. Затем в течение 7 дней крысам проводили внутрижелудочное введение суспензии, содержащей различные концентрации *D. desulfuricans* VKM B-1799^T.

В ходе эксперимента у всех животных был единый план обследования: ежедневно отслеживали наличие диспепсических симптомов, вес животных измеряли 6 раз (1, 5, 7, 11, 14, 38-й дни эксперимента), частоту дыхательных движений регистрировали 1 раз на 5-й день эксперимента. Для оценки показателей маркеров статуса железа произведен забор крови у подопытных животных 2 раза (15-й и 39-й дни эксперимента). Для бактериологического исследования микробиоценоза кишечника произведен сбор болюсов крыс 5 раз (1, 3, 5, 11, 38-й дни эксперимента). Когнитивные функции подопытных животных оценивались 4 раза (1, 4, 14, 36-й дни эксперимента).

Таблица 1 / Table 1

Дизайн исследования

Research design

Группа крыс Group of rats	1–3-й дни эксперимента 1–3 days of the experiment	4–11-й дни эксперимента 4–11 days of the experiment	Количество животных Number of animals
1	АБс / АВс	<i>D. desulfuricans</i> VKM B-1799 ^T (0,01 КОЕ/мл / 0,01 КОЕ/ml)	10
2	АБс / АВс	<i>D. desulfuricans</i> VKM B-1799 ^T (10 ² КОЕ/мл / 10 ² КОЕ/ml)	10
3	АБс / АВс	<i>D. desulfuricans</i> VKM B-1799 ^T (10 ⁴ КОЕ/мл / 10 ⁴ КОЕ/ml)	10
4	АБс / АВс	<i>D. desulfuricans</i> VKM B-1799 ^T (10 ⁸ КОЕ/мл / 10 ⁸ КОЕ/ml)	10
5	АБт / АВт	<i>D. desulfuricans</i> VKM B-1799 ^T (0,01 КОЕ/мл / 0,01 КОЕ/ml)	10
6	АБт / АВт	<i>D. desulfuricans</i> VKM B-1799 ^T (10 ² КОЕ/мл / 10 ² КОЕ/ml)	10
7	АБт / АВт	<i>D. desulfuricans</i> VKM B-1799 ^T (10 ⁴ КОЕ/мл / 10 ⁴ КОЕ/ml)	10
8	АБт / АВт	<i>D. desulfuricans</i> VKM B-1799 ^T (10 ⁸ КОЕ/мл / 10 ⁸ КОЕ/ml)	10

Примечание: АБс – антибиотики в следовых количествах 0,01 от терапевтической дозы; АБт – антибиотики в лечебных дозах 75 мг/кг амоксицилина и 50 мг/кг метронидазола; 0,01 КОЕ/мл – следовые количества *D. desulfuricans* VKM B-1799^T.

Note: АВс – antibiotics in trace amounts of 0.01 of the therapeutic dose; АВт – antibiotics in therapeutic doses of 75 mg/kg amoxicillin and 50 mg/kg metronidazole; 0.01 CFU/ml – trace amounts of *D. desulfuricans* VKM B-1799^T.

Забор органов для морфологического исследования производился в день забоя животных.

Экспериментальная модель дисбиоза у крыс.

Дисбиоз индуцировали с помощью трехдневного внутрижелудочного введения различных доз антибиотиков амоксициллина («Хемофарм», Сербия) и метронидазола (ООО «Озон», Россия): субтерапевтические дозы (следовые количества) составили 0,01 от терапевтической дозы, терапевтическая доза – 75 и 50 мг/кг соответственно.

Бактериологические исследования. Болюсы крыс отбирали и доставляли в лабораторию в стерильных пробирках. Для приготовления суспензии 1 г биоматериала эмульгировали в 0,9 % хлорида натрия. Затем готовили ряд последовательных десятикратных разведений материала на том же буфере и засеивали на чашки Петри с готовыми питательными средами: агар Эндо и Плоскирева для изоляции бактерий семейства *Enterobacteriales*, желточно-солевой агар – для бактерий семейства *Staphylococcaceae*, энтерококковый агар – для культур рода *Enterococcus*, среда МРС с сорбиновой кислотой – для лактобактерий, Бифидум-среда – для бифидобактерий, среда Шедлера – для выделения основной группы анаэробных бактерий и 5 % кровяной агар – для бактерий *Streptococcus* spp., *Clostridium* spp., а также для других видов микроорганизмов, нуждающихся для своего роста в крови или гемолизирующих ее, среда Sulphate API Agar w/o Sodium Lactate – для обнаружения сульфатредуцирующих бактерий. Анаэробные бактерии культивировали в специальных системах типа ГазПак производства фирмы Oxoid (Thermo Fisher Scientific, США), работающих на принципе химической адсорбции кислорода.

Идентификацию выделенных штаммов бактерий осуществляли традиционными методами и методом матрично-активированной лазерной ионизации – времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS) с применением системы Microflex LT и программного обеспечения MALDI Biotyper Compass v. 4.1.80 (Bruker Daltonics, Германия). После определения вида микроорганизма производили пересчет количества его колоний на 1 г фекалий (КОЕ/г).

Оценка показателей обмена железа в крови.

Оценку уровня сывороточного железа, трансферрина, ненасыщенной железосвязывающей способности сыворотки (НЖСС) и процента насыщения трансферрина железом проводили на приборе Architect 16000 (Abbott, США), а ферритина – на Architect 2000 (Abbott, США). Кровь брали из подъязычной вены крыс двукратно: на 11-й день после затравки и по окончании эксперимента.

Статистический анализ. Все экспериментальные группы содержали по десять крыс. Статистическую обработку результатов исследований проводили с помощью стандартных методов описательной статистики Microsoft Office Excel 2010. Совместное воздействие различных факторов на организм подопытных животных рассчитано согласно

распределению Гаусса. Статистические различия между группами рассчитаны с помощью дисперсионного анализа с последующей проверкой среднего квадратичного отклонения. Статистическую значимость различий сравниваемых показателей оценивали с помощью t-критерия Стьюдента при уровне значимости $p < 0,05$ ($t > 2$).

Результаты и обсуждение

В данной части работы мы представляем результаты влияния *D. desulfuricans* VKM В-1799^T на маркеры железа в организме подопытных животных.

Известно, что железodefицитная анемия (ЖДА) связана с дисбактериозом желудочно-кишечного тракта [14–19]. В исследованиях Н. Seo *et al.* выявлено, что по мере улучшения показателей уровня железа в организме пациентов с ЖДА кишечный микробиоценоз восстанавливался [14].

В наших исследованиях на момент окончания эксперимента *D. desulfuricans* VKM В-1799^T выявлен у всех крыс, независимо от вводимой дозы инфекционного агента. Сравним количественные данные содержания *D. desulfuricans* VKM В-1799^T в микробиоценозе толстого кишечника крыс и показателей крови, указывающих на обмен железа в организме подопытных животных, мы получили следующие результаты.

В период острой инфекции (на 15-й день эксперимента) наблюдалась прямая корреляция между концентрацией вводимой суспензии бактерий *D. desulfuricans* VKM В-1799^T и уровнем сывороточного железа: чем выше была заражающая доза инфекционного агента, тем ниже наблюдалась концентрация сывороточного железа (рис. 1).

В период отдаленных последствий (38-й день эксперимента) при оценке концентрации уровня *D. desulfuricans* VKM В-1799^T в кишечнике экспериментальных животных выявлена обратная корреляционная зависимость между концентрациями инфекционного агента и уровнем сывороточного железа. Так, при увеличении концентрации *D. desulfuricans* VKM В-1799^T от 10^3 КОЕ/г и выше – уровень железа снижается с 43,5 до 38,5 мкмоль/л (рис. 2). Вследствие этого концентрация инфекционного агента 10^3 КОЕ/г определена нами как инфицирующая доза, при которой происходят изменения показателей крови, свидетельствующие о влиянии *D. desulfuricans* VKM В-1799^T на обмен железа в организме крыс.

Концентрация ферритина в сыворотке является маркером ретикулоэндотелиальных запасов железа. Снижение ферритина является наиболее специфическим биохимическим индикатором дефицита железа [20]. Согласно данным научных публикаций, при восстановлении нормальной микрофлоры кишечника происходило увеличение ферритина – белка, который регулирует внутриклеточный гомеостаз железа в толстой кишке [14]. В наших исследованиях содержание ферритина снижается при повышении кон-

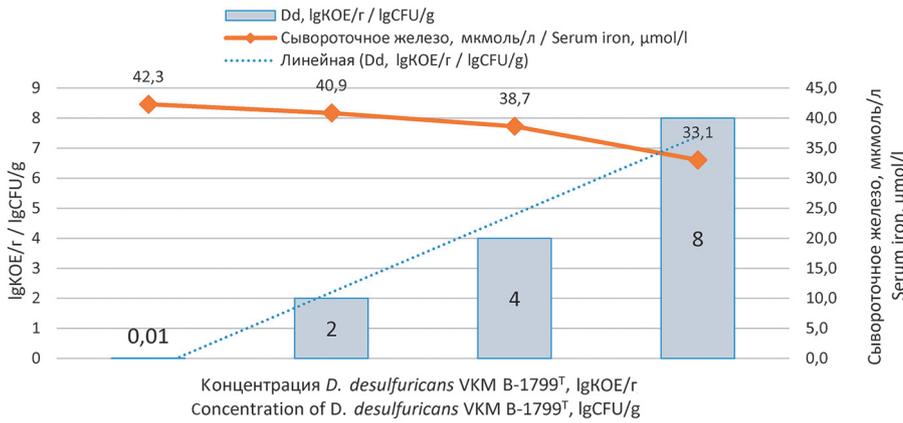


Рис. 1. Зависимость уровня сывороточного железа от концентрации инфекционного агента:

Dd – *D. desulfuricans* VKM B-1799^T; lgKOE/г – количество бактерий *D. desulfuricans* VKM B-1799^T в lg колониеобразующих единиц (КОЕ) на 1 г болусов крыс

Fig. 1. Dependence of serum iron levels on the concentration of the infectious agent:

Dd – *D. desulfuricans* VKM B-1799^T; lgCFU/g – number of *D. desulfuricans* VKM B-1799^T bacteria in lg colony-forming units (CFU) per 1 g of rat boluses

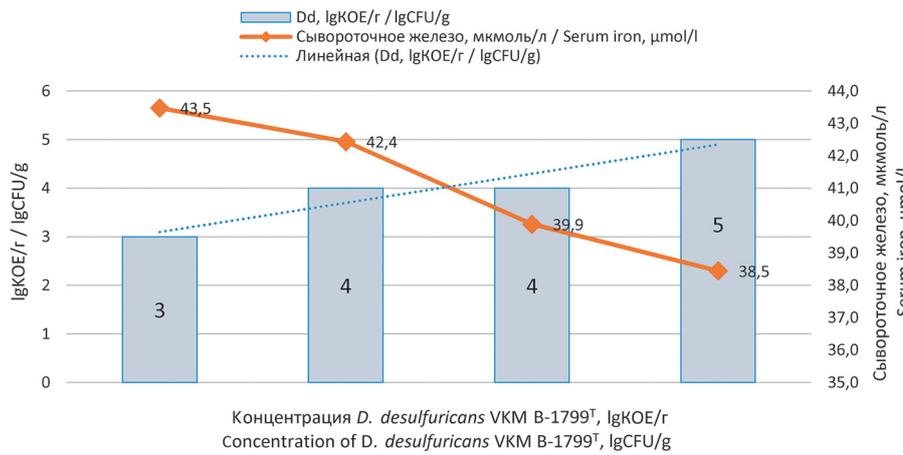


Рис. 2. Зависимость уровня сывороточного железа от концентрации инфекционного агента в кишечнике экспериментальных животных:

Dd – *D. desulfuricans* VKM B-1799^T; lgKOE/г – количество бактерий *D. desulfuricans* VKM B-1799^T в lg колониеобразующих единиц (КОЕ) на 1 г болусов крыс

Fig. 2. Dependence of serum iron levels on the concentration of the infectious agent in the intestine of experimental animals:

Dd – *D. desulfuricans* VKM B-1799^T; lgCFU/g – number of *D. desulfuricans* VKM B-1799^T bacteria in lg colony-forming units (CFU) per 1 g of rat boluses

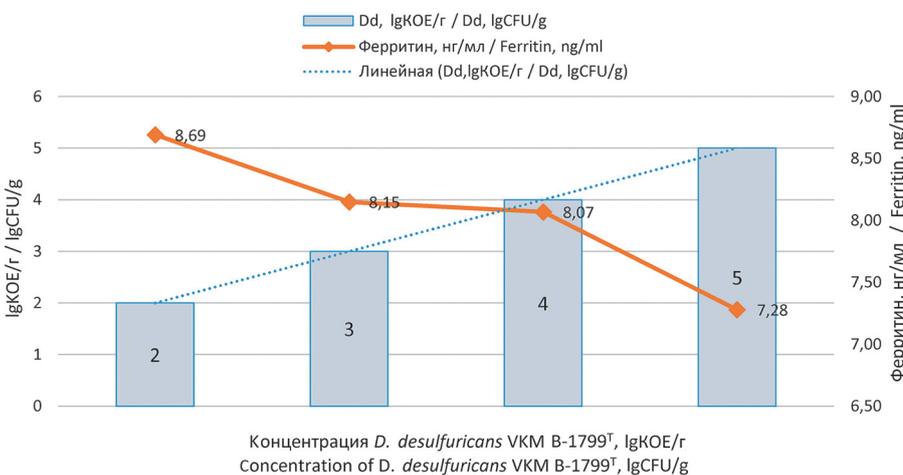


Рис. 3. Зависимость уровня ферритина от концентрации инфекционного агента в кишечнике экспериментальных животных:

Dd – *D. desulfuricans* VKM B-1799^T; lgKOE/г – количество бактерий *D. desulfuricans* VKM B-1799^T в lg колониеобразующих единиц (КОЕ) на 1 г болусов крыс

Fig. 3. Dependence of ferritin levels on the concentration of the infectious agent in the intestine of experimental animals:

Dd – *D. desulfuricans* VKM B-1799^T; lgCFU/g – number of *D. desulfuricans* VKM B-1799^T bacteria in lg colony-forming units (CFU) per 1 g of rat boluses

центрации бактериального патогена *D. desulfuricans* VKM B-1799^T в микробиоценозе кишечника крыс (рис. 3).

Помимо сывороточного железа и ферритина, оценку воздействия инфекционного агента на маркеры железа в организме подопытных животных проводили по следующим показателям крови: белка трансферрина, ненасыщенной железосвязывающей способности, процента насыщения трансферрина железом. Повышение трансферрина, НЖСС и уменьшение процента насыщения трансферрина

железом – признак анемии, связанной с дефицитом железа. В период острой инфекции и период отдаленных последствий у всех групп крыс при сравнении уровня трансферрина и НЖСС наблюдалось повышение этих показателей, а процент насыщения трансферрина железом снижался, что свидетельствует о возникшем дефиците железа после воздействия инфекционного агента (табл. 2).

Железодефицитная анемия достигла масштабов эпидемии в развивающихся странах и стала серьезной глобальной проблемой общественного

Таблица 2 / Table 2

Показатели трансферрина, НЖСС и процент насыщения трансферрина железом
Transferrin indicators, UIBC and the percentage of transferrin saturation with iron

Dd, lgKOE/г Dd, lgCFU/г	Трасферрин, г/л Transferrin, g/l		НЖСС, мкмоль/л UIBC, mmol/l		Процент насыщения трансферрина железом Percentage of transferrin saturation with iron	
	15 д.э. 15 d.e.	39 д.э. 39 d.e.	15 д.э. 15 d.e.	39 д.э. 39 d.e.	15 д.э. 15 d.e.	39 д.э. 39 d.e.
2	1,28±0,01	1,54±0,01	37,19±0,18	57,57±0,29	123,43±0,61	108,38±0,54
3	1,25±0,01	1,51±0,01	40,44±0,20	56,34±0,28	114,40±0,57	113,52±0,56
4	1,29±0,01	1,56±0,01	37,61±0,12	58,88±0,19	122,69±0,40	109,61±0,35
5	1,29±0,01	1,53±0,02	40,40±0,43	57,73±0,62	122,47±1,32	101,04±1,09

Примечание: Dd – *Desulfovibrio desulfuricans* VKM B-1799^T; lgKOE/г – количество бактерий *D. desulfuricans* VKM B-1799^T в lg колониюобразующих единиц (КОЕ) на 1 г болюсов крыс; д.э. – дни эксперимента; НЖСС – ненасыщенная железосвязывающая способность сыворотки.

Note: Dd – *D. desulfuricans* VKM B-1799^T; lgCFU/g – the number of bacteria *D. desulfuricans* VKM B-1799^T in lg colony-forming units (CFU) per 1 g of rat boluses; d.e. – day of the experiment; UIBC – unsaturated iron binding capacity of serum.

здравоохранения [21]. В связи с этим Всемирной организацией здравоохранения борьба с анемией признана глобальным приоритетом здравоохранения с целью снижения распространенности анемии у женщин [17]. ЖДА возникает, когда нарушается синтез гемоглобина и железосодержащих ферментов из-за недостатка железа [14]. Факторами риска развития ЖДА являются диеты, инфекции, генетика, воспалительные состояния, метаболические заболевания и нарушения микробиоценоза кишечника [21]. ЖДА является одной из основных проблем общественного здравоохранения в мире. Элементарное железо участвует в нескольких фундаментальных биологических процессах, таких как дыхание, репликация ДНК, производство энергии и пролиферация клеток. Дефицит железа может привести к снижению физической силы, одышке, нарушению терморегуляции, нарушению иммунной функции и нейрокогнитивным нарушениям. Более того, ЖДА, вызванная дефицитом железа, может спровоцировать задержку двигательного, когнитивного развития и роста у детей [14]. В исследованиях микробиоценоза кишечника О.В. Karnachuk *et al.* из фекалий детей с диагностированным расстройством аутистического спектра (РАС) выделили две чистые культуры *D. desulfuricans* и экспериментально доказали, что эти бактерии образуют нерастворимые комплексы железа в биореакторах [22]. Имеются данные, что у детей с РАС железodefицитная анемия и бактерии рода *Desulfovibrio* встречаются чаще, чем в общей популяции [23, 24]. Согласно этим исследованиям, можно предположить, что дефицит железа у экспериментальных животных, возникающий при инвазии *D. desulfuricans* VKM B-1799^T больше 10³ КОЕ/г может быть связан с образованием нерастворимых для организма форм сульфида железа. Наши исследования впервые установили значение *D. desulfuricans* VKM B-1799^T в кишечнике, при котором происходит сдвиг показателей маркеров дефицита железа, – 10³ КОЕ/г. Известны случаи, когда установленная концентрация инфекционного агента

10³ КОЕ/г была ассоциирована со случаями бактериемии у людей [25].

Сульфатредуцирующие бактерии являются представителями желудочно-кишечного тракта млекопитающих и, согласно научным данным, наиболее распространены в области наибольшей плотности бокаловидных клеток, содержащих сульфомуцин [26]. Таким образом, сульфомуцин может являться субстратом для бактерий рода *Desulfovibrio*, а образовавшиеся в кишечнике в результате их метаболизма сульфиды связывают железо в нерастворимую форму, что и приводит к ЖДА.

Ввиду того, что в наших исследованиях прослеживается обратная корреляционная зависимость между *D. desulfuricans* VKM B-1799^T и маркерами уровня железа, возможно предположить, что железо и его гомеостаз тесно связаны с ростом *D. desulfuricans* VKM B-1799^T в толстом кишечнике. На фоне антимикробной терапии антибиотики могут выступать триггерами в развитии ЖДА даже в остаточных количествах (<0,01 от терапевтической дозы), так как вызывают дисбиоз кишечника с преобладанием условно-патогенной флоры.

Итак, дисбиоз кишечника, вызванный воздействием противомикробных препаратов, даже в субтерапевтических дозах, способствует колонизации условно-патогенной флорой, в том числе *Desulfovibrio* spp. Изменения со стороны маркеров обмена железа в организме подопытных животных на фоне инвазии *D. desulfuricans* VKM B-1799^T выше 10³ КОЕ/г и способность данного микроорганизма к связыванию железа в недоступную форму позволяют думать, что бактерии рода *Desulfovibrio* являются одним из ключевых этиологических факторов развития железodefицитной анемии.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Биоэтика. Эксперименты проведены в полном соответствии с Директивой Европейского Совета (The European Council Directive 2010/63/EU) по соблюдению этических принципов в работе с лабораторными животными и одобрены Комиссией по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных при ФБУН ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана Роспотребнадзора.

References / Список литературы

- Postgate J.R., Campbell L.L. Classification of *Desulfovibrio* species, the nonsporulating sulfate-reducing bacteria. *Bacteriol. Rev.* 1966; 30(4):732–8. DOI: 10.1128/br.30.4.732-738.1966.
- Marquis T.J., Williams V.J., Banach D.B. Septic arthritis caused by *Desulfovibrio desulfuricans*: A case report and review of the literature. *Anaerobe.* 2021; 70:102407. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2021.102407.
- Machaca M., Bodean M.L., Montaña S., García S.D., Stecher D., Vay C.A., Almuzara M.N. [Description of a case of abdominal sepsis due to *Desulfovibrio desulfuricans*]. *Rev. Argent. Microbiol.* 2022; 54(4):314–7 (In Spanish). DOI: 10.1016/j.ram.2022.05.002.
- Neal A.L., Techkarnjanaruk S., Dohnalkova A., McCready D., Peyton B.M., Geesey G.G. Iron sulfides and sulfur species produced at hematite surfaces in the presence of sulfate-reducing bacteria. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 2001; 65(2):223–35. DOI: 10.1016/S0016-7037(00)00537-8.
- Rickard D. The microbiological formation of iron sulphides. *Stockh. Contrib. Geol.* 1969; 20(3):49–66.
- Ikkert O.P., Ivanov M.V., Ukhova A., Zyusman V.S., Glukhova L.B., Avakyan M.R., Karnachuk O.V. *Desulfovibrio* isolate from the microbiote of children with autistic spectrum disorders immobilizes iron in poorly soluble crystalline sulfides. *Microbiology.* 2021; 90:268–71. DOI: 10.1134/S0026261721020041.
- Chen Y.R., Zhou L.Z., Fang S.T., Long H.Y., Chen J.Y., Zhang G.X. Isolation of *Desulfovibrio* spp. from human gut microbiota using a next-generation sequencing directed culture method. *Lett. Appl. Microbiol.* 2019; 68(6):553–61. DOI: 10.1111/lam.13149.
- Christophersen C.T., Morrison M., Conlon M.A. Overestimation of the abundance of sulfate-reducing bacteria in human feces by quantitative PCR targeting the *Desulfovibrio* 16S rRNA gene. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011; 77(10):3544–6. DOI: 10.1128/AEM.02851-10.
- Murros K.E., Huynh V.A., Takala T.M., Saris P.E.J. *Desulfovibrio* bacteria are associated with Parkinson's disease. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2021; 11:652617. DOI: 10.3389/fcimb.2021.652617.
- Murros K.E. Hydrogen sulfide produced by gut bacteria may induce Parkinson's disease. *Cells.* 2022; 11(6):978. DOI: 10.3390/cells11060978.
- Cryan J.F., O'Riordan K.J., Cowan C.S.M., Sandhu K.V., Bastiaansen T.F.S., Boehme M., Codagnone M.G., Cusotto S., Fulling C., Golubeva A.V., Guzzetta K.E., Jaggar M., Long-Smith C.M., Lyte J.M., Martin J.A., Molinero-Perez A., Moloney G., Morelli E., Morillas E., O'Connor R., Cruz-Pereira J.S., Peterson V.L., Rea K., Ritz N.L., Sherwin E., Spichak S., Teichman E.M., van de Wouw M., Ventura-Silva A.P., Wallace-Fitzsimons S.E., Hyland N., Clarke G., Dinan T.G. The Microbiota-Gut-Brain Axis. *Physiol. Rev.* 2019; 99(4):1877–2013. DOI: 10.1152/physrev.00018.2018.
- Kazmierczak-Siedlecka K., Vitale E., Makarewicz W. COVID-19 – gastrointestinal and gut microbiota-related aspects. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2020; 24(20):10853–9. DOI: 10.26355/eurrev_202010_23448.
- Wolin E.A., Wolin M.J., Wolfe R.S. Formation of methane by bacterial extracts. *J. Biol. Chem.* 1963; 238:2882–6.
- Seo H., Yoon S.Y., Ul-Haq A., Jo S., Kim S., Rahim M.A., Park H.A., Ghorbanian F., Kim M.J., Lee M.Y., Kim K.H., Lee N., Won J.H., Song H.Y. The effects of iron deficiency on the gut microbiota in women of childbearing age. *Nutrients.* 2023; 15(3):691. DOI: 10.3390/nu15030691.
- Kumar R., Sharma V., Das S., Patial V., Srivatsan V. *Arthrospira platensis* (Spirulina) fortified functional foods ameliorate iron and protein malnutrition by improving growth and modulating oxidative stress and gut microbiota in rats. *Food Funct.* 2023; 14(2):1160–78. DOI: 10.1039/d2fo02226e.
- Deschemin J.C., Noordine M.L., Remot A., Willemetz A., Afif C., Canonne-Hergaux F., Langella P., Karim Z., Vaulont S., Thomas M., Nicolas G. The microbiota shifts the iron sensing of intestinal cells. *FASEB J.* 2016; 30(1):252–61. DOI: 10.1096/fj.15-276840.
- Malesza I.J., Bartkowiak-Wieczorek J., Winkler-Galicki J., Nowicka A., Dzieciolowska D., Błaszczyk M., Gajniak P., Słowińska K., Niepolski L., Walkowiak J., Mądry E. The dark side of iron: The relationship between iron, inflammation and gut microbiota in selected diseases associated with iron deficiency anaemia – A narrative review. *Nutrients.* 2022; 14(17):3478. DOI: 10.3390/nu14173478.
- Zakrzewski M., Wilkins S.J., Helman S.L., Brill E., Tarantino G., Anderson G.J., Frazer D.M. Supplementation with Sucrosomial® iron leads to favourable changes in the intestinal microbiome when compared to ferrous sulfate in mice. *Biometals.* 2022; 35(1):27–38. DOI: 10.1007/s10534-021-00348-3.
- Soriano-Lerma A., García-Burgos M., Alférez, M.J.M., Pérez-Carrasco V., Sanchez-Martin V., Linde-Rodríguez A., Ortiz-González M., Soriano M., García-Salcedo J.A., López-Aliaga I. Gut microbiome-short-chain fatty acids interplay in the context of iron deficiency anaemia. *Eur. J. Nutr.* 2022; 61(1):399–412. DOI: 10.1007/s00394-021-02645-6.
- Means R.T. Iron deficiency and iron deficiency anemia: implications and impact in pregnancy, fetal development, and early childhood parameters. *Nutrients.* 2020; 12(2):447. DOI: 10.3390/nu12020447.
- Kumar S.B., Arnipalli S.R., Mehta P., Carrau S., Ziouzenkova O. Iron deficiency anemia: efficacy and limitations of nutritional and comprehensive mitigation strategies. *Nutrients.* 2022; 14(14):2976. DOI: 10.3390/nu14142976.
- Karnachuk O.V., Ikkert O.P., Avakyan M.R., Knyazev Y.V., Volochaev M.N., Zyusman V.S., Panov V.L., Kadnikov V.V., Mardanov A.V., Ravin N.V. *Desulfovibrio desulfuricans* AY5 isolated from a patient with autism spectrum disorder binds iron in low-soluble greigite and pyrite. *Microorganisms.* 2021; 9(12):2558. DOI: 10.3390/microorganisms9122558.
- Sidrak S., Yoong T., Woolfenden S. Iron deficiency in children with global developmental delay and autism spectrum disorder. *J. Paediatr. Child Health.* 2014; 50(5):356–61. DOI: 10.1111/jpc.12483.
- Bezawada N., Phang T.H., Hold G.L., Hansen R. Autism spectrum disorder and the gut microbiota in children: A systematic review. *Ann. Nutr. Metab.* 2020; 76(1):16–29. DOI: 10.1159/000505363.
- Nasreddine R., Argudin M.A., Herpol M., Miendje Deyi V.Y., Dauby N. First case of *Desulfovibrio desulfuricans* bacteraemia successfully identified using MALDI-TOF MS. *New Microbes New Infect.* 2019; 32:100614. DOI: 10.1016/j.nmni.2019.100614.
- Deplancke B., Hristova K.R., Oakley H.A., McCracken V.J., Aminov R., Mackie R.I., Gaskins H.R. Molecular ecological analysis of the succession and diversity of sulfate-reducing bacteria in the mouse gastrointestinal tract. *Appl. Environ. Microbiol.* 2000; 66:2166–74. DOI: 10.1128/AEM.66.5.2166-2174.2000.

Authors:

Popova A.Yu. Federal Service for Surveillance on Consumer's Rights Protection and Human Well-being; 18, Bld. 5 and 7, Vadkovsky Lane, Moscow, 127994, Russian Federation. Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; 2/1, Barrikadnaya St., Moscow, 125993, Russian Federation.

Ploskireva A.A., Kulikova N.G., Bitiyumina L.A., Chemedenko A.F., Gorelov A.V. Central Research Institute of Epidemiology. 3a, Novogireevskaya St., Moscow, 111123, Russian Federation. E-mail: crie@pcr.ru.

Safandeev V.V., Poroshin M.A., Evdokimov N.D., Vostrikova M.V., Vinogradova A.I., Latipova R.L., Bidevkina M.V., Bogdanova A.V., Sinititskaya T.A., Kuz'min S.V. Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman. 2, Semashko St., Mytishchi, Moscow Region, 141014, Russian Federation. E-mail: fncg@fferisman.ru.

Об авторах:

Попова А.Ю. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский пер., 18, строение 5 и 7. Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования; Российская Федерация, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1.

Плоскирева А.А., Куликова Н.Г., Битюмина Л.А., Чемедеко А.Ф., Горелов А.В. Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии. Российская Федерация, 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а. E-mail: crie@pcr.ru.

Сафандеев В.В., Порошин М.А., Евдокимов Н.Д., Вострикова М.В., Виноградова А.И., Латипова Р.И., Бидевкина М.В., Богданова А.В., Синицкая Т.А., Кузьмин С.В. Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана. Российская Федерация, 141014, Московская обл., Мытищи, ул. Семашко, 2. E-mail: fncg@fferisman.ru.