

УДК: 616.33-002:616.34-008.87-07-053.8

ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТАВА КИШЕЧНОГО МИКРОБИОЦЕНОЗА У ВЗРОСЛОГО НАСЕЛЕНИЯ С ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ДИСПЕПСИЕЙ

У.М. Немченко, Е.И. Иванова, Е.В. Григорова, М.В. Савелькаева, Л.В. Рычкова

ФГБНУ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск, Россия

Охарактеризован состав кишечного микробиоценоза у взрослого населения с функциональной диспепсией. Исследован копрологический материал от 572 пациентов в возрасте от 22 до 74 лет. Для выявления долевого участия разных видов микроорганизмов в структуре биоценоза рассчитан коэффициент постоянства вида (C). Показано, что при функциональной диспепсии происходят качественные и количественные изменения в составе кишечного микробиоценоза. У более 70% обследованных регистрировалось снижение концентрации основного компонента индигенной флоры – бифидобактерий. В состав добавочной микрофлоры у 25,8% входили обладающие сниженными протеолитическими свойствами *Escherichia coli*, у 48,1% – представители транзитной грамотрицательной условно-патогенной микрофлоры. Превышение количества атипичных эшерихий, УПМ, на фоне снижения бифидобактерий и нормальной кишечной палочки у взрослого населения соответствует декомпенсированной стадии нарушений микробиоты кишечника, имеет спектр клинических симптомов и требует коррекции пробиотическими препаратами.

Ключевые слова: мужчины, женщины, дисбиоз кишечника, индигенная микрофлора, УПМ

THE CHARACTERISTIC COMPOSITION OF THE INTESTINAL MICROBIOTA IN ADULTS WITH FUNCTIONAL DYSPEPSIA

U.M. Nemchenko, E.I. Ivanova, E.V. Grigороva, M.V. Savelkaeva, L.V. Rychkova

Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia

Characterized by the composition of the intestinal microbiota in adults with functional dyspepsia. Coprological material from 572 patients aged 22 to 74 years was studied. To identify the share of different species of microorganisms in the structure of biocenosis calculated coefficient of species constancy (C). It is shown that in functional dyspepsia there are qualitative and quantitative changes in the composition of intestinal microbiocenosis. In more than 70% of the surveyed recorded a decrease in the concentration of the main component of indigenous flora – bifidobacteria. The composition of the additional microflora in 25.8% of the reduced proteolytic properties of coli, 48.1% – representatives of the transient gram-negative conditionally pathogenic microflora. The excess of the number of atypical *Escherichia*, UPM, against the background of a decrease in bifidobacteria and normal *Escherichia coli* in the adult population corresponds to the decompensated stage of intestinal microbiota disorders, has a range of clinical symptoms and requires correction with probiotic drugs.

Key words: men, women, eubiosis, intestinal dysbiosis, normal microflora, UPM

Введение

Появление в последние несколько лет и растущая доступность технологий секвенирования (NGS) позволили продвинуться в понимании состава и функциональной активности микробного сообщества кишечника. Если в 2007 году было опубликовано около 100 работ по микробиоте кишечника, то в 2016 и 2017 годах поиск по ключевым словам «кишечник» и «микробиота» («gut», «microbiota») по базам данных PubMed и Scopus выдает более 6000 работ, опубликованных на сегодняшний день [11]. Проект «Микробиом человека» и другие исследования показали, что тысячи различных видов могут населять кишечник человека, при этом микробиота кишечника характеризуется некоторыми основными сходствами. Примерно 60% из видов кишечных бактерий относятся к филам Bacteroidetes и Firmicutes (среди них бифидобактерии, лактобактерии, бактероиды, клостридии, эшерихии, являются наиболее часто встречающимися родами у взрослых) [12].

Однако до сих пор остается спорным вопрос причинно-следственной связи между микробиотой кишечника и общими патологическими состояниями. Обсуждается, является ли изменение микробного состава (дисбиоз) первичным, или микробное сообщество меняется после начала заболева-

ния [15]. По данным отечественных исследователей, наличие дисбиоза кишечника у больных с кишечными расстройствами является установленным фактом. Считается доказанным, что кишечные микроорганизмы могут стимулировать или замедлять моторику кишечника благодаря продукции мукоактивных субстанций (брадикинина, простагландинов, морфиноподобных субстанций), изменению метаболизма желчных кислот. При этом в зависимости от состава микрофлоры в содержимом толстой кишки может меняться соотношение первичных и вторичных желчных кислот с накоплением тех из них, которые стимулируют перистальтику или замедляют ее [7,8].

Таким образом, с учетом многочисленных метаболических функций микрофлоры нарушение микрорасположения равновесия можно считать одним из наиболее вероятных пусковых факторов различных заболеваний ЖКТ [1,10].

В связи с вышеизложенным, целью нашего исследования было охарактеризовать состав кишечного микробиоценоза у взрослого населения с функциональной диспепсией (ФД).

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили копрограммы от 572 пациентов в возрасте от 22 до 74 лет, обратившихся в клинику ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ с 2013 по 2017 год с ФД (код МКБ-10: К 30), а именно: жалобами на периодические боли в животе без четкой связи с приемом пищи, тошноту, эпизоды рвоты, неустойчивый стул, и направленных на обследование врачом-гастроэнтерологом. Пациенты не имели в анамнезе инфекционных заболеваний желудочно-кишечного тракта и не получали антибактериальные препараты в течение 3 месяцев, предшествовавших обследованию.

Бактериологическое исследование фекалий и оценку количественного и качественного состава кишечной микрофлоры толстой кишки проводили в соответствии с Отраслевым Стандартом «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» и согласно рекомендациям Бондаренко В.М. [3,6].

Для выделения и идентификации микроорганизмов использовали селективные питательные среды производства ФГУН Государственный научный центр прикладной микробиологии, НИЦФ, Оболensk, Россия; HiMedia, India, коммерческие идентификационные тест-системы производства «PLIVA-Lachema Diagnostika», Чехия; HiMedia, Индия.

Всего изучено 1359 культур микроорганизмов, из которых 347 относились к грамотрицательной флоре сем. *Enterobacteriaceae* (кишечной палочке с различной биохимической активностью и УПМ), 335 – к кокковой флоре (энтерококкам и золотистому стафилококку), 122 – к клостридиям, 55 культур было отнесено к грибам рода Кандида.

Для выявления долевого участия разных видов микроорганизмов в структуре биоценоза использовали коэффициент постоянства вида (С) по формуле: $C = r \times 100 / P$, где r – число наблюдений, содержащих изучаемый вид, P – общее число наблюдений. При $C \geq 50$ % микроорганизмы считали постоянными; при $25 \% \leq C < 50$ % – добавочными; при $C < 25$ % – случайными [5].

Исследование проводилось с соблюдением этических принципов, предъявляемых Хельсинкской Декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, 2013) и выполнено с информированного согласия пациентов. Статистическая обработка данных произведена при помощи лицензионных прикладных программ «MS Excel 2007 for Windows 7» (правообладатель лицензии – ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ).

Результаты и обсуждение

Сравнение средних значений содержания индигенных (бифидобактерий, нормальной кишечной палочки) и условно-патогенных бактерий с показателями нормы, указанными в Отраслевом стандарте [6] показало, что у 92,9 % взрослого населения выявлялись отклонения в составе микроорганизмов кишечной микробиоты относительно общепризнанных нормативов.

Микробный спектр фекалий обследованных характеризовался доминирующим положением анаэробных микроорганизмов (бифидобактерий и лактобацилл). Эшерихии регистрировались также у всех взрослых, являясь наиболее значимым видом из числа аэробных микроорганизмов (Табл. 1).

Таблица 1.

Частота обнаружения и численность микроорганизмов в 1 г. фекалий
(572 чел.)

Наименование микроорганизма	Коэффициент постоянства (С) %	M±m Ig КОЕ/г
Анаэробные микроорганизмы		
Бифидобактерии	100	7,05±1,3
Лактобациллы	100	8,78±0,71
Аэробные микроорганизмы		
<i>Escherichia coli</i> типичные	98,1	6,81±1,26
<i>E. coli</i> атипичные, в т.ч. лактозонегативные и гемолитические	25,8	6,9±0,55
Энтерококки	55,1	6,73±0,58
УПМ сем. <i>Enterobacteriaceae</i>	48,1	5,62±0,94
Клостридии	21,3	3,59±1,5
Грибы рода Кандида	9,6	4,43±0,50
Золотистый стафилококк	3,5	4,5±0,76

Микроэкологический дисбаланс характеризовался дефицитом доминанты кишечного микробиоценоза – бифидобактерий (в 71,6% случаев), среднее содержание которых в кишечном биоценозе составляло 7,05±1,3 Ig КОЕ/г, что ниже показателей физиологической нормы [6]. Среднее же содержание лактобацилл составляло 8,78±0,71 Ig КОЕ/г, и этот показатель был достаточно высоким по сравнению с тем же стандартом. Дефицит типичной кишечной палочки регистрировался у 17,1% обследованных взрослых пациентов.

Среди эшерихий, определяемых как типичные, но имеющих фенотипы с биохимическими отклонениями, т.е. с аномальными свойствами, преобладали формы со сниженной ферментативной активностью (*E. coli* dis) у 16,9 %. *E. coli* с гемолитической активностью (*E. coli* hem+) выявлялась у 8,9% обследованных. Условно-патогенная микрофлора (суммарно) с высокой популяционной плотностью определялись у 61,1 % обследованных.

Анализ показателя постоянства показал, что наиболее часто встречающимися и постоянными участниками (С≥50%) в кишечном микробиоценозе взрослого населения были бифидобактерии (С=100%), лактобациллы (С=100%), эшерихии с нормальной ферментативной активностью (С=98,0%), энтерококки (С=55,1 %). Добавочными видами (25 % ≤ С ≤ 50 %) эшерихии с атипичными свойствами (суммарно С=25,8%), УПМ семейства *Enterobacteriaceae* (С=48,1 %); случайными видами (С ≥ 25%) клостридии (С=21,3%), грибы рода Кандида (9,6%) и золотистый стафилококк (3,5%). По рейтингу встречаемости УПМ из семейства *Enterobacteriaceae* на первом месте были виды *Klebsiella spp.* – у 31,2%; *Enterobacter spp.* – у 8,4%; *Citrobacter spp.* – у 6,1%; *Proteus spp.* – у 2,4% обследованных.

Таким образом, анализ микроэкологических показателей у взрослого населения показал, что при ФД происходят качественные и количественные изменения в составе кишечного микробиоценоза. У более 70% обследованных регистрировалось снижение концентрации основного компонента индигенной флоры – бифидобактерий. В состав добавочной микрофлоры (у 48,1%) входили представители транзитной грамотрицательной УПМ, что является одним из основных показателей нарушения микробиоценоза кишечника, нуждающимся в коррекции. Также у 25,8% пациентов высевались непатогенные, но обладающие сниженными протеолитическими свойствами *E. coli*, переходя из разряда случайных видов (при норме) в добавочные. Превышение количества атипичных эшерихий на фоне снижения бифидобактерий у взрослого населения с ФД также свидетельствует о глубоких нарушениях кишечного микробиоценоза [2, 13].

Особенно интересно преобладание в общей структуре сем. *Enterobacteriaceae* бактерий рода *Klebsiella*, относящихся к капсульным бактериям, обладающим рядом различных факторов патогенности и способностью формировать биопленку. Как известно, наличие капсульного полисахарида (К-антигена), противодействует активации системы комплемента, затрудняет фагоцитоз макрофагами и препятствует проникновению лечебных препаратов в клетку, что значительно затрудняет селективную деконтаминацию клебсиелл [4, 14].

По мнению Я. С. Циммермана (2013), такие нарушения соответствуют декомпенсированной стадии нарушений микробиоты кишечника, отличающуюся существенным уменьшением (до 10⁵–10⁶/г фекалий) бифидо- и лактобактерий, выраженными качественными изменениями кишечной палочки, значительным ростом условно-патогенных и патогенных микроорганизмов с проявлением их вирулентных свойств; метаболическими нарушениями (уменьшением содержания фенольных соединений, повышением уровня фенилпропионовой кислоты и др.) в содержимом толстой кишки. При стадии декомпенсации появляется целый спектр клинических симптомов (метеоризм, запор, диарея, абдо-

минальный болевой синдром, пищевая аллергия, признаки эндотоксемии, протекающие с повреждением печени и др.), в результате чего толстокишечный дисбиоз трансформируется из лабораторного (микробиологического) синдрома в клинко-микробиологический [9].

Заключение

Таким образом, изучен пейзаж кишечной микробиоты у взрослого населения с функциональной диспепсией. Установлено снижение уровня бифидофлоры у более чем 70,0% обследованных. У 25,8% больных обнаружены *E.coli* со сниженной ферментативной активностью, у 48,1% - условно-патогенные бактерии.

Регистрируемые при ФД дисбиотические изменения диктуют необходимость коррекции микробиотических нарушений для поддержания популяционного уровня нормальной микрофлоры с помощью препаратов, содержащих пробиотические микроорганизмы в высокой концентрации, обладающими ярко выраженными антагонистическими свойствами против условно-патогенных микроорганизмов [2].

Литература

1. Ардатская М.В., Бельмер С.В., Добрица В.П. и др. Дисбиоз (дисбактериоз) кишечника: современное состояние проблемы, комплексная диагностика и лечебная коррекция // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2015. – № 5. – С. 13-50.
2. Бисенова Н.М., Ергалиева А.С. Анализ микробиоценоза кишечника взрослых пациентов // J Clin Med Kaz. – 2015. – №3(37). – С. 47-51.
3. Бондаренко В.М., Мацулевич Т.В. Дисбактериоз кишечника как клинко-лабораторный синдром: современное состояние проблемы. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2007. –С. 8 – 35.
4. Григорова Е.В., Немченко У.М., Ракова Е.Б. и др. Капсулообразование как фактор селекции фагорезистентных штаммов *Klebsiella spp.* у детей с функциональными нарушениями органов пищеварения // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2016. – № 12 (136). – С. 9-12.
5. Немченко У.М., Савелькаева М.В., Ракова Е.Б. и др. Микробиологическая характеристика кишечного биоценоза у детей с функциональными нарушениями желудочно-кишечного тракта // Клиническая лабораторная диагностика. – 2016. – Т. 61, № 6. – С. 368-371.
6. Отраслевой Стандарт «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника». ОСТ 91500.11.0004-2003. Приказ МЗ РФ № 231 от 09.06.2003:70.
7. Сворцов В.В., Пащенко И.М., Меднова Д.А. Актуальные вопросы диагностики и лечения дисбиоза кишечника // Медицинский совет. – 2015. – №11. – С. 46-48.
8. Урсова Н.И. Дисбактериозы кишечника у детей: рук-во для практикующих врачей. – М.: «Компания БОРГЕС», 2006. 239 с.
9. Циммерман Я.С. Эубиоз и дисбиоз желудочно-кишечного тракта: мифы и реалии // Клиническая медицина. – 2013. – № 1. – С. 4-11.
10. Чихачёва Е.А., Селивёрстов П.В., Тетерина Л.А., Добрица В.П. и др. Микробиоценоз кишечника при хронических заболеваниях печени: диагностика и лечение // Врач. – 2011. – №. 7. – С. 18-21.
11. Costantini L, Molinari R, Farinon B., et al. Impact of Omega-3 Fatty Acids on the Gut Microbiota // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2017 – № 18 (12). – P. 2645. doi:10.3390/ijms18122645
12. Human Microbiome Project Consortium Structure, function and diversity of the healthy human microbiome // *Nature*. – 2012. – № 486. – P. 207-214.
13. Ivanova E.I., Rychkova L.V., Nemchenko U.M., Bukharova E.V., Savelkaeva M.V., Dzhiyev Y.P. The structure of the intestinal microbiota of the intestine and the frequency of detection of pathogenicity genes (*stx1*, *stx2*, *bfp*) in *Escherichia coli* with normal enzymatic activity isolated from children during the first year of life. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. – 2017. – Т. 32, № 1. – С. 42-48.
14. Pan YJ, Lin TL, Chen CT., et al. Genetic analysis of capsular polysaccharide synthesis gene clusters in 79 capsular types of *Klebsiella spp.* // *Scientific Reports*. – 2015. – № 5. – Article number: 15573;
15. Power S.E., O'Toole P.W., Stanton C., et al. Intestinal microbiota, diet and health // *Br. J. Nutr.* – 2014. – № 111. – P. 387-402. doi: 10.1017/S0007114513002560
16. Yi-Jiun Pan, Tzu-Lung Lin, Yen-Hua Chen, et al. Capsular Types of *Klebsiella pneumoniae* Revisited by wzc Sequencing // *PLOS ONE* //www.plosone.-2013. – №8 (13). – P.1-13.

Сведения об авторах:

Ответственный автор: Немченко Ульяна Михайловна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории микробиома и микробиологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; 664003 г. Иркутск, ул. Тумирызева, 16; e-mail: umnemch@mail.ru.