УДК:616.33/.34-008.87

НАРУШЕНИЯ МИКРОБИОТЫ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ

Червинец Ю.В., Беляева Е.А., Червинец В.М., Самоукина А.М., Михайлова Е.С., Пятова А.И., Червинец А.В.

ГБОУ ВПО «Тверская государственная медицинская академия Минздрава России», Тверь, email: julia_chervinec@mail.ru

Определен качественный и количественный состав микробиоты кишечника здоровых людей в возрасте от 18 до 21 года. Частота встречаемости лактобацилл составила 79%, энтерококков – 61%, бифидобактерий – 55%, бактероидов – 42%; в 11–35% случаях встречались бациллы, актиномицеты, пептострептококки, кандиды, энтеробактерии, в 1–5% – стафилококки, лептотрихии, клостридии, превотеллы, листерии. Количество микроорганизмов варьировало от 6,43 lg КОЕ/г до 7,94 lg КОЕ/г, в меньшем количестве высевались стафилококки и кандиды. Показано, что у 75% клинически здоровых студентов без клинических симптомов обнаружен дисбиоз 1–3 степени, характеризующийся ассоциациями 4–5 родов условно-патогенных микроорганизмов.

Ключевые слова: микробиота, дисбиоз, условно-патогенные микроорганизмы, ассоциации микроорганизмов

DYSFUNCTION OF MICROBIOTA OF A GASTROINTESTINAL TRACT IN HEALTHY PEOPLE

Chervinets Y.V., Belyaeva E.A., Chervinets V.M., Samoukina A.M., Mikhaylova E.S., Pyatova A.I., Chervinets A.V.

Tver State Medical Academy, Tver, email: julia_chervinec@mail.ru

It was defined the qualitative and quantitative composition of an intestine microbiota in healthy people of 18–21 years old. The frequency of occurrence of Lactobacillus was 79%, Enterococcus – 61%, Bifidobacterium – 55%, Bacteroides – 42%; Bacillus, Actinomyces, Peptostreptococcus, Candida, Enterobacteria were identified in 11–35% of cases; Staphylococcus, Leptotrichia, Clostridium , Prevotella, Listeria – in 1–5%. The number of microorganisms varied from 6,43 lg CFU/g to 7,94 lg CFU/g, Staphylococcus and Candida spp. were determined in smaller quantity. It was shown that dysbiosis of 1-3 degrees, characterized by associations of 4–5 genus of opportunistic microorganisms, was observed in 75% of healthy students without clinical symptoms.

Keywords: microbiota, dysbiosis, opportunistic microorganisms, associations of microorganisms

Пищеварительный тракт представляет собой открытую экосистему, посредством которой осуществляется контакт макроорганизма с внешней средой и присутствующими в ней микроорганизмами. Микрофлора желудочно–кишечного тракта (ЖКТ) находится в постоянном динамическом равновесии с разнообразными факторами внешней среды, собственного организма и естественной резистентности [1, 6]. Количественные соотношения между микробными популяциями характеризуются определенной стабильностью. Микрофлора кишечника является важнейшим звеном в системе защиты организма и сохранения гомеостаза, а также представляет собой высокочувствительную индикаторную систему, которая реагирует количественными и качественными сдвигами на нарушения этого равновесия [4, 5].

Дисбактериоз характеризуется снижением содержания резидентной (главной) кишечной флоры, нередко сочетающимся с увеличением числа условно-патогенных бактерий, в норме встречающихся в незначительных количествах. В условиях нарушенного микробного равновесия ослабляются антигенные свойства нормальной микрофлоры, а условно-патогенная флора приобретает новую качественную характеристику [2, 8].

В современных условиях, на фоне ухудшения экологической обстановки, вопросы формирования, сохранения и восстановления нормального микробиоценоза кишечника приобретают особую актуальность

Цель исследования – выявить наличие качественных и количественных нарушений микробиоты желудочно-кишечного тракта здоровых людей.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования служили фекалии 156 здоровых студентов-добровольцев медицинской академии в возрасте от 18 до 21 года (120 девушек и 36 юношей). На момент обследования никаких жалоб на нарушение функций пищеварительного тракта люди не предъявляли.

Исследования проводились с разрешения Этического комитета Тверской государственной медицинской академии. У всех лиц получено информированное согласие на сбор материала. Проводилось анкетирование, включающее в себя данные об отсутствии хронических заболеваний ЖКТ, наличии аппендикса, переносимости лактозы.

Изучение видового и количественного состава просветной микрофлоры проводили с использованием классических бактериологических методов на базе бактериологической лаборатории Тверской государственной медицинской академии. Степень дисбиотических нарушений микробиоты толстого кишечника определяли согласно Отраслевому стандарту «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» [7]. Для комплексного изучения аэробной и анаэробной микрофлоры посевы производили на отечественные, и на импортные питательные среды, включающие: желточно-солевой агар (г. Оболенск), МакКонки агар (BBL®), Колумбиа агар (BBL®, «Himedia»), Эритрит агар (ФГУП НПО «Микроген», Москва), Sabouraud Dextrose Agar (BBL®), MRS Agar (BBL®), Schaedler Agar (BBL®) с кровью, Muller-Hinton II агар (BBL®). Посевы культивировали в аэробных, микроаэрофильных и анаэробных условиях с использованием микроанаэростатов (BBL) и газогенераторных пакетов Gas Pack Plus (BBL) в течение 24–72 часов при температуре 37°С. Выделенные микроорганизмы идентифицировали по морфологическим, тинкториальным, культуральным и биохимическим свойствам с использованием API-систем «bio Mereux» (Франция). Количество бактерий определяли путём подсчёта колониеобразующих единиц на 1 г фекалий (lg КОЕ/г). Для статистической обработки полученных данных использовали стандартный пакет программ Excel. Вычисляли средние значения, стандартное отклонение, стандартную ошибку.

Результаты исследования и их обсуждение

При бактериологическом исследовании кала определили частоту встречаемости микроорганизмов и провели статистическую обработку полученных результатов (M ± m). Выявлено, что в 79 % случаев высевались лактобациллы, в 61 % – энтерококки, в 55 % – бифидобактерии, в 42 % – бактероиды, в 35 % – бациллы, в 26 % – актиномицеты и пептострептококки, в 17 % – кандиды, в 11 % – энтеробактерии, в 5 % – стафилококки, лептотрихии и клостридии, в 3 % – превотеллы и в 1 % – листерии (рис. 1).

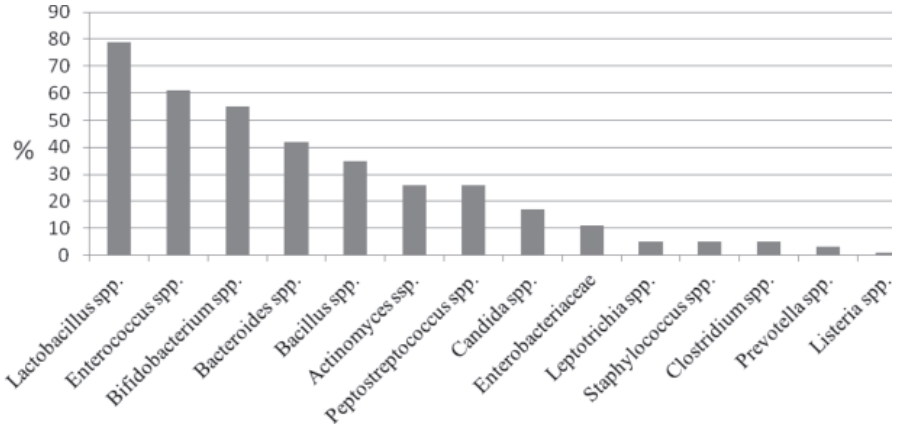

Рис. 1. Спектр и частота встречаемости микроорганизмов ЖКТ здоровых людей, % (n = 156)

Лактобациллы высевались в среднем количестве 7,25 ± 0,07 lg КОЕ/г, энтерококки – 7,17 ± 0,07 lg КОЕ/г, бифидобактерии – 7,72 ± 0,05 lg КОЕ/г, бактероиды – 7,25 ± 0,06 lg КОЕ/г, бациллы – 7,86 ± 0,08 lg КОЕ/г, актиномицеты – 7,74 ± 0,04 lg КОЕ/г, пептострептококки – 7,15 ± 0,07 lg КОЕ/г, кандиды – 6,43 ± 0,07 lg КОЕ/г, энтеробактерии – 7,58 ± 0,06 lg КОЕ/г, стафилококки – 6,43 ± 0,06 lg КОЕ/г, лептотрихии – 7,33 ± 0,04 lg КОЕ/г, клостридии – 7,04 ± 0,07 lg КОЕ/г, превотеллы – 7,35 ± 0,03 lg КОЕ/г, листерии – 7,94 lg КОЕ/г (рис. 2).

Нормальный биоценоз кишечника выявлен у 25 % здоровых людей, в 52 % случаев выявлена I степень дисбиотических изменений, в 15 % – II степень и в 8 % случаев выявлен дисбактериоз III степени (рис. 3).

При нормобиоценозе (в отсутствии дисбактериоза) в ассоциации входило от 2 до 6 родов микроорганизмов, чаще всего встречались представители нормальной микрофлоры родов Lactobacillus, Bifidobacterium, Enterococcus, реже Bacteroides и Peptostreptococcus, и иногда условно-патогенные микроорганизмы (УПМ) родов Actinomyces и Bacillus.

При 1 степени дисбактериоза микроорганизмы встречались от 2 до 8 ассоциаций родов, и были представлены такими родами, как Lactobacillus, Bifidobacterium, Enterococcus, Bacteroides и Actinomyces, реже Bacillus, Candida и Peptostreptococcus.

Дисбактериоз 2 степени характеризовался ассоциациями от 3 до 7 родов микроорганизмов, преимущественно представителями нормофлоры (Lactobacillus и Bifidobacterium), так и УПМ (Bacillus, Candida), реже встречались – Enterococcus, Bacteroides, Actinomyces, Peptostreptococcus и Clostridium.

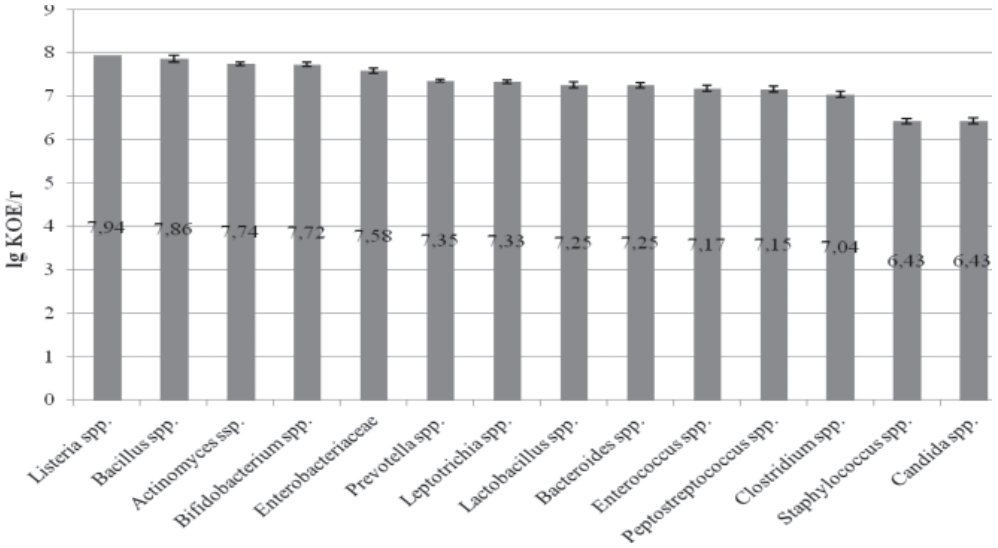

Рис. 2. Количество микроорганизмов, выделенных из ЖКТ здоровых людей, lg КОЕ/г (n = 156)

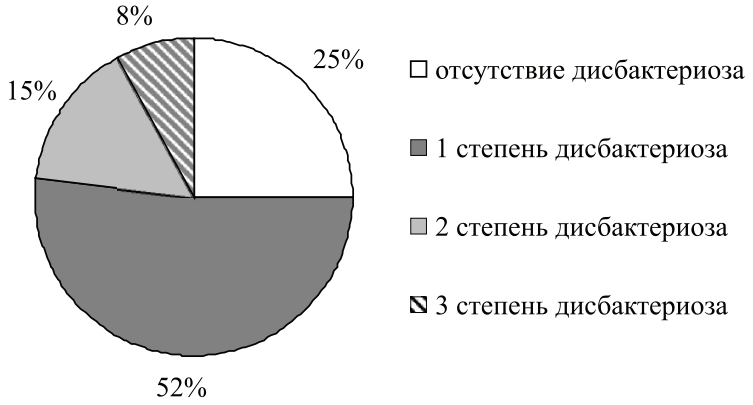

Рис. 3. Степени дисбактериоза у здоровых людей, % (n = 156)

При 3 степени дисбиотических нарушений в ассоциации входило 3–4 рода микроорганизмов, чаще всего представители условно-патогенных родов: Bacillus, Actinomyces и Candida, а также нормальной микрофлоры – Bacteroides, Enterococcus, Peptostreptococcus. Микроорганизмы родов Lactobacillus и Bifidobacterium при 3 степени дисбактериоза обнаружены не были (таблица).

В данной работе определен качественный и количественный состав микробиоты кишечника здоровых людей в возрасте от 18 до 21 года. Показано, что нарушения микроэкологии выявляются у 75 % людей. Данные литературы свидетельствуют о превалировании родов Lactobacillus, Bifidobacterium, Enterococcus, Bacteroides среди микрофлоры здоровых людей [1]. Нами были не только подтверждены данные литературы, но и внесены дополнения, которые показали, что частота встречаемости лактобацилл составила 79 %, энтерококков – 61 %, бифидобактерий – 55 %, бактероидов – 42 %; в 11–35 % случаях встречались бациллы, актиномицеты, пептострептококки, кандиды, энтеробактерии, в 1–5 % – стафилококки, лептотрихии, клостридии, превотеллы, листерии. Количество микроорганизмов варьировало от 6,43 lg КОЕ/г до 7,94 lg КОЕ/г, что не соответствует последним данным экспериментальных исследований [1, 3]. Содержание лактобацилл находилось в пределах нормы (7,25 ± 0,07 lg КОЕ/г) практически у всех студентов (92 %), а содержание бифидобактерий – ниже нормы у 59 % испытуемых (7,72 ± 0,05 lg КОЕ/г). Полученные данные статистически значимы, т.к. стандартная ошибка составляет менее 5 %.

Только у 25 % испытуемых выявлен нормобиоценоз кишечника, что соответствует данным литературы [3]. У большинства добровольцев (52 %) определена 1 степень микробиоценозных изменений, причем количество ассоциаций микроорганизмов в среднем составило 3 рода представителей в основном нормофлоры и УПМ

(Lactobacillus, Bifidobacterium, Enterococcus, Bacteroides, Actinomyces, реже Bacillus, Candida и Peptostreptococcus). С увеличением степени дисбактериоза количество ассоциаций микроогранизмов уменьшается, но в состав микробиоты начинают входить условно-патогенные микроорганизмы (Bacillus, Candida, Clostridium), вытесняя представителей нормофлоры (Lactobacillus и Bifidobacterium).

Ассоциации родов микроорганизмов у лиц с разной степенью дисбактериоза

Степень дисбактериоза	Ассоциации родов микроорганизмов
Нормобиоценоз	Lactobacillus + Bifidobacterium Lactobacillus + Actinomyces + Bifidobacterium Lactobacillus + Bacillus + Bacteroides + Enterococcus + Bifidobacterium Lactobacillus + Bacillus + Enterococcus + Peptostreptococcus + Bifidobacterium Lactobacillus + Actinomyces + Enterococcus + Bifidobacterium Lactobacillus + Peptostreptococcus + Bifidobacterium Lactobacillus + Bacteroides + Enterococcus + Peptostreptococcus + Bifidobacterium
1	Lactobacillus + Bacillus + Bacteroides + Enterococcu Lactobacillus + Enterococcus + Bifidobacterium Lactobacillus + Actinomyces Lactobacillus + Actinomyces + Enterococcus Lactobacillus + Bacillus + Bacteroides Lactobacillus + Enterococcus + Peptostreptococcus Lactobacillus + Enterococcus Lactobacillus + Candida + Enterococcus + Bifidobacterium Lactobacillus + Bacteroides + Actinomyces Lactobacillus + Bacteroides + Enterococcus Bifidobacterium + Enterococcus Bifidobacterium + Actinomyces
2	Lactobacillus + Bacteroides + Candida + Enterococcus Lactobacillus + Bacillus + Bacteroides + Actinomyces + Enterobacteriaceae Lactobacillus + Staphylococcus + Bacillus + Actinomyces + Enterococcus Bacillus + Actinomyces + Enterobacteriaceae + Peptostreptococcus + Clostridium + Bifidobacterium
3	Bacillus + Bacteroides + Candida + Enterococcus Bacillus + Bacteroides + Enterococcus + Clostridium

Выводы

В пищеварительном тракте здоровых людей выявлено наличие качественных и количественных нарушений микробиоты кишечника. У 75% клинически здоровых студентов обнаружен дисбиоз 1–3 степени, характеризующийся ассоциациями 4–5 родов условно-патогенных микроорганизмов. Таким образом, при отсутствии клинических симптомов у студентов добровольцев выявлен дисбактериоз кишечника, требующего коррекции препаратами-пробиотиками или пребиотиками.

Список литературы

1. Бондаренко В.М., Мацулевич Т.В. Дисбактериоз кишечника как клинико-лабораторный синдром: современное состояние проблемы. – М.: Издательская группа «ГЭОТАР–Медиа», 2007. – С. 8–35.

2. Дисбактериоз кишечника: современные аспекты изучения проблемы, принципы диагностики и лечения / В.М. Червинец [и др.]. – Тверь, 2004. – 124 с.

3. Диц Е.В., Соколов П.Н. Микробиологические аспекты дисбактериоза кишечника у детей первого года жизни и взрослых // Актуальные проблемы инфекционной патологии: материалы российской научно-практической конференции, посвященной 85-летию кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии Сибирского государственного медицинского университета (Томск, ноябрь 2009). – Томск, 2009. – С. 45–47.

4. Леванова, Л.А. Микроэкология кишечника жителей Западной Сибири. Коррекция дисбиотических состояний: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2003. – 48 с.

5. Малов В.А., Гюлазян Н. М. Микробиоценоз желудочно-кишечного тракта: современное состояние проблемы // Лечащий врач. – 2007. – № 6. – С. 10–14.

6. Конев Ю.В. Нарушение микробиоценоза кишечника и его лечение // Справочник поликлинического врача. – 2007. – № 7. – С. 34–38.

7. Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника: Отраслевой Стандарт (ОСТ 91500.11.0004-2003, утверждён Приказом Министерства здравоохранения РФ № 231 от 09.06.2003).

8. Gut microflora. Digestive physiology and pathology / J.-C. Rambaud [et al.]. – London: John Libbey, 2006. – 247 p.