

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

О.В.Бухарин, Е.В.Иванова, Н.Б.Перунова, И.Н.Чайникова, С.В.Андрющенко

МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ БИФИДОФЛОРЫ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ МИКРОЭКОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ БИОТОПА ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза, Оренбург

Цель. Изучить спектр и уровень короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) в супернатанте бифидобактерий при различных микроэкологических состояниях биотопа толстого кишечника человека. *Материалы и методы.* Исследовали метаболиты 88 штаммов бифидобактерий, изолированных от пациентов при обследовании на дисбиоз кишечника. Определение концентраций КЦЖК проводили методом разделения подкисленного супернатанта пробы на хроматографе GC-2010 Plus, Shimadzu (Япония). *Результаты.* Одноосновные карбоновые кислоты обнаружены в метаболитах 50 — 100% исследуемых культур бифидобактерий, где спектр и уровень карбоновых кислот в супернатантах варьировали в зависимости от микроэкологического состояния источника выделения. При глубоких нарушениях микросимбиоза в метаболитах *Bifidobacterium* spp. была снижена суммарная концентрация КЦЖК, структурный индекс, уровень уксусной и пропионовой кислот. Выявлены штаммоспецифические отличия в метаболическом профиле бифидофлоры в составе индивидуальных консорциумов. Полученные данные свидетельствуют о варьировании функциональной (метаболической) активности доминантных штаммов при различных микроэкологических состояниях кишечника человека. *Заключение.* Уникальность метаболома каждого отдельного штамма бифидобактерий за счет их штаммоспецифичности определяет их функциональную активность, а метаболический профиль бифидофлоры может служить важнейшим критерием отбора эффективных пробиотических препаратов для лечения и профилактики дисбиозов кишечника.

Журн. микробиол., 2017, № 1, С. 3—11

Ключевые слова: бифидобактерии, короткоцепочечные жирные кислоты, метаболический профиль, штаммоспецифичность, дисбиоз

O.V.Bukharin, E.V.Ivanova, N.B.Perunova, I.N.Chainikova, S.V.Andryuschenko

METABOLIC PROFILE OF BIFIDOFLORA UNDER DIFFERENT MICROECOLOGICAL CONDITIONS OF THE COLON BIOTOPE IN HUMAN

Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg, Russia

Aim. To study the spectrum and level of short-chained fatty acids (SCFA) in supernatant of bifidobacteria under different microecological conditions of the colon biotope in human. *Materials and methods.* Metabolites of 88 bifidobacteria strains isolated from patients when examined for dysbiosis of the colon were investigated. Definition of concentration of SCFA was performed on acidified supernatant samples by a separation method on chromatograph GC-2010 Plus, Shimadzu (Japan). *Results.* Monobasic acids were found in metabolites of 50 — 100% study cultures of bifidobacteria where the spectrum and level of carboxylic acids in supernatants varied depending on microecological condition of the origin of the discharge. In severe damages of microsymbiocenosis in metabolites of *Bifidobacterium* spp., summarized concentrations of SCFA, structural index, levels of acetic and propionic acids were decreased. Strain-specific differences in a metabolic profile of bifidoflora in a composition of individual consortia were determined. Data obtained indicate the variation of functional (metabolic) activity of dominant strains in different

microecological conditions of the human colon. *Conclusion.* Uniqueness of metabolome of every other strain due to their strain specificity determines their functional activity, but a metabolic profile of bifidoflora can serve as the most important criterion for the selection of effective probiotic drugs for treatment and prevention of dysbiosis in the colon.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2017, No. 1, P. 3—11

Key words: bifidobacteria, short-chained fatty acids, metabolic profile, strain specificity, dysbiosis

ВВЕДЕНИЕ

Древняя связь микробиоты и макропартнера является следствием эволюции, приведшей к формированию сложных взаимоотношений и созданию мутуалистического симбиоза с представителями нормофлоры, в частности, с бифидобактериями. Функции бифидофлоры разнообразны, но основной является поддержание гомеостаза (здоровья) хозяина, а в более узком, специфическом понимании — микроэкологического статуса занимаемого биотопа [2]. Реализация мутуалистических взаимоотношений бифидобактерий с хозяином происходит за счет ферментации доминантами сложных углеводов в желудочно-кишечном тракте с образованием биологически активных метаболитов — короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), формирующих химическую среду в просвете кишечника и являющихся ключевыми для метаболизма человека [13, 14]. Для КЦЖК характерны плеiotропные эффекты, проявляющиеся в зависимости от их концентрации: в условиях обычного уровня продукции бифидофлорой они могут служить в качестве источника углерода для облигатной микробиоты, а при высоких концентрациях в среде способны проявлять токсическое действие на окружающие микроорганизмы. В частности, конечные продукты брожения (лактат и ацетат) бифидобактерий являются доступными субстратами для представителей Firmicutes, синтезирующих бутират в толстом кишечнике взрослого человека [5]. Молочная кислота бифидобактерий используется пропионобактериями с образованием пропионовой и уксусной кислот, обладающих антимикробным действием, а *вейллонеллы* используют ее для продукции метаболитов, необходимых для жизнедеятельности анаэробов [2]. В межмикробных взаимодействиях участвует ацетат и капроновая кислота в качестве метаболической сигнальной молекулы, регулирующей экспрессию генов, ответственных за координацию процессов биопленкообразования у *бацилл* и дрожжевых грибов [7, 11]. Вместе с тем, ацетат и пропионат проявляют токсическое действие в отношении ряда патогенов (*сальмонеллы*, *энтерогеморрагическая кишечная палочка*, *листерии*, *клостридии*) за счет диффузии КЦЖК внутрь клеток, подавляя их рост вследствие появления множественных дефектов в клеточных процессах бактерий. Кроме того, ацетат способен опосредованно повышать колонизационную резистентность кишечника, усиливая метаболизм энтероцитов и секрецию антимикробных пептидов [10, 13].

Метаболиты бифидобактерий, имея малую молекулярную массу, способны диффундировать в подслизистые лимфоидные структуры и периферический кровоток, оказывая антиканцерогенный, противовоспалительный, иммуномодулирующий и гипохолестеринемический эффекты [6, 12]. Показан стимулирующий эффект КЦЖК комменсальных бактерий в отношении пролиферации и дифференцировки периферических и кишечных популяций T-reg клеток, обеспечивающих формирование толерантности в кишечном биотопе посредством активации гистонов и транскрипционного фактора Foxp3 [9].

Вместе с тем, в литературе отсутствуют данные о характеристиках спектра и уровне короткоцепочечных жирных кислот в супернатанте бифидобактерий при различных микроэкологических состояниях биотопа толстого кишечника человека, позволяющие оценить метаболическую активность доминантов в зависимости от микроокружения, что и явилось целью работы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили метаболиты бифидобактерий, изолированные от 52 пациентов при обследовании на дисбиоз толстого кишечника. Выделение микроорганизмов проводили общепринятыми методами [15], идентификацию бифидобактерий осуществляли масс-спектрометрическим методом с использованием MALDI-TOF масс-спектрометра «Microflex» («Bruker Daltonics», Германия). От обследуемых выделено 88 штаммов бифидобактерий: *Bifidobacterium longum* — 32 штамма, *Bifidobacterium longum* spp. *infantis* — 2 культуры, *Bifidobacterium longum* spp. *suis* — 2 штамма, *Bifidobacterium bifidum* — 30 культур, *Bifidobacterium pseudolongum* — 1 штамм, *Bifidobacterium breve* — 2 изолята, *Bifidobacterium adolescentis* — 7 штаммов, *Bifidobacterium animalis* — 1 изолят, *Bifidobacterium pseudocatenulatum* — 4 штамма и *Bifidobacterium catenulatum* — 7 культур.

Для определения концентраций короткоцепочечных жирных кислот в культуральной жидкости микроорганизмов применяли метод разделения подкисленного супернатанта (экзометаболитов) пробы на хроматографе [1,4] в три этапа: пробоподготовка, хроматографирование, обработка результатов. Для получения проб предварительно были подготовлены бульонные 48-часовые культуры бифидобактерий. Пробы центрифугировали (13000×g в течение 15 мин) и к 500 мкл супернатанта добавляли 50 мкл H₂SO₄ (PanReac AppliChem, Германия). Экстракция летучих жирных кислот из образцов осуществлялась 750 мкл изобутилового спирта (Sigma-Aldrich, США), процесс повторяли дважды. В работе использовали газожидкостный хроматограф GC-2010 Plus, Shimadzu (Япония), оборудованный пламенно-ионизационным детектором с капиллярной колонкой HP-FFAP (Agilent Technologies, США), диаметром 0,32 мм, длиной 50,0 метра. Параметры хроматографирования: температура испарителя 240°C, температурная программа для капиллярной колонки составляла: 0 мин — 70°C; 10 мин — 160°C; 5 мин — 180°C и 25 мин — 240°C, температура детектора — 260°C. В качестве газа-носителя использован гелий (Air Liquide), скорость газа-носителя 21 см/сек, давление в колонке 74 кПа. Для определения количества компонентов в пробе использовали метод абсолютной градуировки с предварительным построением градуировочного графика ряда концентраций чистых веществ жирных кислот (Sigma-Aldrich, США). Расчет концентраций по площадям пиков осуществляли с помощью компьютерной программы GCsolution (Shimadzu, Япония).

Исходя из весовых концентраций, рассчитывали общий уровень низкомолекулярных монокарбоновых кислот, уровни и доли в общем пуле (спектры уксусной (C₂), пропионовой (C₃), масляной (C₄), изо-масляной (iC₄), валириановой (C₅), капроновой (C₆), изо-капроновой (iC₆) кислот, а также значение суммы протеолитических (изоформ) кислот и структурного индекса (СИ), соотношение уровня уксусной кислоты к общему уровню кислот [3]. Статистическую обработку полученных данных проводили средствами пакета Statistica 10 (StatSoft, USA) с оценкой различий между средними величинами по t-критерию Стьюдента. Проверка нормального распределения переменных проводилась методом Шапиро-Уилка. Статистические результаты

выражали в виде медианы (Me), нижних (Q25) и верхних (Q75) квартилей. Уровни статистической значимости различий определяли с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Различия считались статистически достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Важной характеристикой микробиоценоза является метаболическая активность микроорганизмов и, в первую очередь, бифидофлоры — доминантного звена микросимбиоза в поддержании здоровья хозяина. Из всего спектра химических соединений, образующихся в результате сбраживания субстрата, мы выбрали для характеристики низкомолекулярные монокарбоновые кислоты. Проведенные исследования позволили установить, что спектр и уровень ряда карбоновых кислот в супернатантах бифидофлоры варьировали в зависимости от микрoэкологического состояния биотопа толстого кишечника человека. Способность производить одноосновные карбоновые кислоты определялась в метаболитах 50 — 100% исследуемых культур бифидобактерий. Сравнительный анализ спектра карбоновых кислот в супернатанте бифидобактерий при эубиозе и дисбиозе толстого кишечника человека показал снижение частоты встречаемости всех исследуемых карбоновых кислот при 2 — 3 степени дисбиоза, за исключением уксусной кислоты — основного конечного продукта ферментации углеводов бифидобактериями и масляной кислоты — энергетического субстрата для энтероцитов хозяина.

Комплексная оценка содержания изученных КЦЖК, соотношения и суммарной концентрации кислот позволила составить метаболический паспорт бифидобактерий, отражающий динамику функциональной (метаболической) активности доминантов при различных микрoэкологических состояниях кишечника человека (табл.). Выявлено отсутствие существенных различий в значениях метаболических показателей культур бифидобактерий, изолированных при эубиозе и дисбиозе 1 — 2 степени, что свидетельствует о сохранении ферментирующей активности доминантов в условиях умеренных микрoэкологических нарушений в микросимбиозе толстого кишечника. Достоверное снижение суммарной концентрации КЦЖК, уровня уксусной, пропионовой кислоты в метаболитах бифидобактерий наблюдалось только у штаммов, изолированных от лиц при 3 степени дисбиоза. Уровни масляной и изомаляной кислот в метаболитах дисбиотических культур по сравнению с эубиотическими не изменялись, а их доли в общем спектре метаболитов увеличивались при глубоких нарушениях в кишечном микросимбиозе. Вероятно, это можно рассматривать как одну из составляющих локальных протективных механизмов сохранения кишечного гомеостаза организма при тяжелых нарушениях в микросимбиозе кишечника, учитывая существенную роль масляной кислоты в обеспечении колонизационной резистентности и ее антиканцерогенный эффект [6, 10, 12].

Концентрация разветвленных (протеолитических) кислот, таких как изомаляная и изокапроновая кислоты, в супернатантах бифидобактерий значительно уступала содержанию их неразветвленных гомологов, что свидетельствует о предпочтительном использовании бифидобактериями углеводов, присутствующих в питательной среде, в качестве основного энергетического субстрата.

Важным параметром метаболической активности микроорганизмов является структурный индекс или доля уксусной кислоты, производимой молочнокислыми бактериями, так как снижение доли уксусной кислоты приво-

дит к замедлению метаболизма субстрата и к усилению способности бактерий к синтезу органических кислот с более длинной цепью. Анализ указанных характеристик позволил установить особенности метаболической активности бифидофлоры при дисбиозе 3 степени, характеризующиеся существенным снижением уксуснопродуцирующей активности бифидобактерий на фоне увеличения количества и доли капроновой кислоты, а также повышение долей органических кислот с более длинной цепью: изомасляной, масляной, валериановой и изокапроновой кислот (табл.).

Метаболический паспорт культур бифидобактерий в зависимости от микрoэкологического состояния источника выделения

Показатель	Обозначение	Эубиоз, Ме [Q ₂₅ -Q ₇₅] n=27	1 степень дисбиоза, Ме [Q ₂₅ -Q ₇₅] n=28	2 степень дисбиоза, Ме [Q ₂₅ -Q ₇₅] n=17	3 степень дисбиоза, Ме [Q ₂₅ -Q ₇₅] n=16
Общий уровень КЦЖК, ммоль/л	OU	19 [7,4–28]	20 [7,3–36]	6,8 [6,2; 13]	3,9* [3,3; 5,5]
Уксусная кислота	C2	18,8 [7,4–28]	20,5 [7,3–36]	6,7 [5,9–13]	4,6* [3,5–5,8]
Пропионовая кислота	C3	0,23 [0,1–0,38]	0,3 [0,11–0,43]	0,11 [0,05–0,28]	0,07* [0,06–0,07]
Изомасляная кислота	iC4	0,07 [0,03–0,1]	0,06 [0,04–0,1]	0,06 [0,05–0,14]	0,05 [0,04–0,08]
Масляная кислота	C4	0,06 [0,05–0,09]	0,05 [0,04–0,08]	0,05 [0,04–0,08]	0,04 [0,05–0,06]
Валериановая кислота	C5	0,03 [0,02–0,04]	0,02 [0,01–0,04]	0,02 [0,01–0,04]	0,02 [0,02–0,03]
Капроновая кислота	C6	0,03 [0,01–0,04]	0,04 [0,02–0,25]	0,13* [0,08–0,15]	0,13* [0,06–0,18]
Изокапроновая кислота	iC6	0,05 [0,02–0,11]	0,05 [0,04–0,11]	0,03 [0,02–0,04]	0,07 [0,06–0,08]
Протеолитические ЛЖК	iC4+iC6	0,1 [0,04–0,15]	0,1 [0,06–0,19]	0,09 [0,03–0,18]	0,1 [0,06–0,13]
Структурный индекс, %	СИ	0,98 [0,96–0,99]	0,97 [0,96–0,98]	0,96 [0,93–0,98]	0,9* [0,88–0,94]
Доля уксусной кислоты	pC2	98 [96–99]	97 [96–98]	96 [93–98]	90* [88–94]
Доля пропионовой кислоты	pC3	1,4 [0,77–1,9]	1,3 [0,87–1,8]	1,2 [0,7–2,7]	1,8 [1,3–2,3]
Доля изомасляной кислоты	piC4	0,36 [0,18–0,7]	0,35 [0,19–0,55]	1,3 [0,6–5,3]	1,8* [1,1–2,3]
Доля масляной кислоты	pC4	0,5 [0,24–0,9]	0,32 [0,15–0,7]	0,7 [0,6–0,8]	1,2* [1,0–1,3]
Доля валериановой кислоты	pC5	0,22 [0,1–0,34]	0,16 [0,1–0,3]	0,19 [0,1–0,4]	0,4* [0,37–0,4]
Доля капроновой кислоты	pC6	0,11 [0,1–0,2]	0,19 [0,1–0,4]	1,0* [0,7–2,0]	2,8* [1,5–3,8]
Доля изокапроновой кислоты	piC6	0,23 [0,1–1,1]	0,33 [0,3–0,8]	0,2 [0,1–0,7]	1,7* [1,4–2,0]

Примечание. * p<0,05 относительно штаммов бифидобактерий, выделенных при эубиозе.

Анализируя метаболическую активность бифидофлоры — доминантных микросимбионтов толстого кишечника человека, следует учитывать существование различных видов бифидобактерий в биотопе отдельного индивидуума [2]. Оценка метаболической активности у различных видов бифидобактерий в условиях одного конкретного микросимбиоценоза также позволила установить ряд особенностей как в спектре, так и уровне карбоновых кислот. Так, из микросимбиоценоза обследуемой Ш., 41 год, представленного консорциумом из трех видов бифидобактерий (*B. longum*, *B. bifidum* и *B. catenulatum*), спектр и уровень КЦЖК среди культур различался. В метаболитах штамма *B. longum*, преобладающего в исследуемом консорциуме бифидобактерий с показателем микробной обсемененности (ПМО) 1×10^9 КОЕ/г, детектировались все анализируемые карбоновые кислоты в количестве С2 — 22 ммоль/л, С3 — 0,54 ммоль/л, iС4 и С4 — по 0,1 ммоль/л, С5 и С6 — по 0,03 ммоль/л, iС6 — 0,12 ммоль/л. Культуры *B. bifidum* (ПМО 3×10^8 КОЕ/г) также продуцировали все карбоновые кислоты, однако концентрация уксусной кислоты (С2) составляла только 17 ммоль/л, количество пропионовой (С3) и масляной (С4) кислот не отличалось от предыдущего штамма, а содержание изомаляной, валериановой, капроновой и изокапроновой кислот было на порядок выше (iС4 — 0,8 ммоль/л, С5 — 0,16 ммоль/л, С6 и iС6 по 0,3 ммоль/л) ($p \leq 0,05$). Метаболический профиль культуры *B. catenulatum*, которая имела самый низкий ПМО (3×10^7 КОЕ/г), был представлен 5 жирными кислотами из 7 изученных, а уровень кислот в метаболитах был значительно ниже (С2 — 7 ммоль/л, С3 — 0,07 ммоль/л, iС4 — 0,03 ммоль/л, С4 — 0,05 ммоль/л, С5 — 0,01 ммоль/л) ($p \leq 0,05$). Данные закономерности в консорциумах бифидофлоры, выделяемых из одного микросимбиоценоза толстого кишечника обследуемых, отмечались в $75 \pm 0,2\%$ случаев. В остальных случаях из микросимбиоценозов выделяли штаммы бифидобактерий, среди которых не выявлялся доминирующий вид, причем данные микросимбиоценозы характеризовались различным по степени выраженности дисбиозом.

Таким образом, в каждом анализируемом консорциуме бифидобактерий в условиях конкретного микросимбиоценоза человека выявлялся доминирующий вид с высокими значениями ПМО и метаболической активностью в сравнении с остальными представителями бифидофлоры в кишечнике человека. Также следует отметить, что уровень и доля уксусной и пропионовой кислот положительно коррелировали с показателем микробной обсемененности доминанта ($r=0,6 - 0,75$).

Установленные отличия в метаболическом профиле бифидобактерий в составе консорциума могли быть связаны с видоспецифическими особенностями культур. Однако проведенный анализ спектра и уровня карбоновых кислот у представителей одного вида бифидофлоры выявил отличия на уровне штамма, что дало основание исключить влияние видоспецифичности. Среди представителей вида *B. bifidum* встречались штаммы, в составе супернатанта которых обнаруживались все 7 карбоновых кислот (в $32 \pm 1,7\%$ случаев), у $60 \pm 1,3\%$ штаммов в метаболитах присутствовали 5 — 6 короткоцепочечных карбоновых кислот и у $8 \pm 1,9\%$ культур — только 4 кислоты. При изучении хроматографических спектров штаммов, относящихся к виду *B. bifidum*, оказалось, что разнообразие спектра и уровень карбоновых кислот в супернатантах указанных культур зависели от индивидуальных особенностей штамма и не были связаны с видовой принадлежностью *Bifidobacterium* spp. Штаммоспецифические отличия в метаболическом профиле от-

мечались и у представителей других видов — *B. longum*, *B. adolescentis* и *B. catenulatum*.

Таким образом, наши материалы показали, что отличия в метаболическом профиле бифидофлоры в составе индивидуальных консорциумов связаны не с видоспецифическими особенностями культур, его составляющих, а с метаболической активностью отдельных штаммов бифидобактерий в составе консорциума.

ОБСУЖДЕНИЕ

Принимая во внимание, что составление метаболического профиля (паспорта) человека рассматривается как основа новой стратегии в медицине [3], мы представили систему интегральной оценки кишечного микробиоценоза с целью расширения возможностей диагностики и прогноза развития заболеваний, связанных с их функциональным состоянием. Однако для изучения механизмов формирования и функционирования микросимбиоценозов человека необходимы сведения по характеристике метаболической активности ключевых представителей микробиоты, что позволит оценить их вклад в поддержание здоровья хозяина. Наши исследования позволили в рамках новых технологических решений составить метаболический паспорт бифидофлоры и комплексно оценить ферментативную активность клинических штаммов при различных микрoэкологических состояниях толстого кишечника человека.

На основе анализа комплексной оценки функциональной активности бифидобактерий показано значение метаболической активности бифидофлоры в формировании химической среды в толстом кишечнике, играющей важную роль в поддержании энергетического гомеостаза человека, синтезе кишечных гормонов и контроле локального воспаления через регуляцию цитокинового баланса [8, 9, 13]. Установленная в работе способность доминантов сохранять метаболическую активность при дисбиозе 1 — 2 степени на уровне метаболического статуса зубиотических штаммов — свидетельство функционирования важнейшего метаболического механизма поддержания стабильности микросимбиоценоза в условиях умеренных микрoэкологических нарушений в биотопе.

При глубоких нарушениях микросимбиоценоза кишечного биотопа установленные изменения в метаболизме КЦЖК бифидобактерий нельзя расценивать однозначно. С одной стороны, снижение способности бифидофлоры образовывать уксусную кислоту в условиях выраженных микрoэкологических нарушений в биотопе объясняет полученные ранее данные о снижении биопленкообразования и антагонистической активности бифидобактерий при дисбиозе толстого кишечника. Являясь доминантным звеном кишечного микросимбиоценоза, бифидобактерии за счет продукции ацетата способствуют закислению среды в просвете толстого кишечника человека, увеличивая свои адгезивные свойства и антагонистическую активность в отношении патогенных и условно патогенных микроорганизмов [2].

С другой стороны, сохранение способности этих же культур образовывать масляную кислоту и ее формы характеризует достаточно высокие протективные и регуляторные свойства указанных доминантов, поскольку недостаточное количество масляной кислоты приводит к снижению колонизационной резистентности биотопа, всасываемости метаболитов энтероцитами и многим другим негативным эффектам, включая увеличение риска развития

онкопатологии, воспалительных, аутоиммунных заболеваний кишечника [6].

Существование микробных консорциумов в пределах одного рода в кишечном микросимбиозе, представители которого отличаются друг от друга способностью ферментировать субстрат, позволяет доминантам в конкретном микросимбиозе эффективно реализовывать свой метаболический потенциал, оказывая в полной мере мутуалистическое воздействие на организм хозяина. Современные методы исследования и описания генома и метаболома микроорганизмов свидетельствуют о том, что один и тот же вид микроорганизмов варьируется по составу генов и метаболическому профилю, благодаря чему за счет объединения в популяции одного вида и экономии ресурсов микробной клетки реализуется единая адаптивная стратегия в разных условиях среды. Аналогичный принцип был применен нами ранее для бифидобактерий, у которых проведение белкового профилирования позволило выявить наряду с общностью штаммов и различия между ними внутри вида [2]. Установленные нами различия в спектре короткоцепочечных карбоновых кислот экзометаболитов *Bifidobacterium* spp. являются индивидуальным молекулярным маркером штаммов бифидобактерий («фингерпринтом» штамма). Вероятно, это может быть связано с особенностями микросимбиоза дистального отдела толстого кишечника человека при ассоциативном симбиозе в условиях как прямого (контактного) взаимодействия, так и через микробные сигнальные метаболиты и систему кворум-сенсинга.

Таким образом, полученные материалы свидетельствуют о различиях метаболического профиля микроорганизмов рода *Bifidobacterium*, отражающих уникальность метаболома отдельных штаммов (штаммспецифичность) и определяют их функциональную активность, а метаболический профиль бифидофлоры может служить важнейшим критерием отбора эффективных пробиотических препаратов для лечения и профилактики дисбиозов кишечника человека.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Оренбургской области в рамках научного проекта №16-44-560553 «р. а» и фундаментальных научных исследований УрО РАН в рамках научных проектов № 15-5-4-7 «Роль бифидофлоры в формировании гомеостаза человека» и № 15-3-4-36 «Механизмы микробной регуляции ассоциативного симбиоза при инфекции».

ЛИТЕРАТУРА

1. Алешкин В.А., Ардатская М.Д., Бабин В.Н. и др. Способ разделения смеси жирных кислот, фракций C2 — C7 методом газожидкостной хроматографии. Патент РФ № 2145511. Бюл. № 11, 2000.
2. Бухарин О.В., Перунова Н.Б., Иванова Е.В. Бифидофлора при ассоциативном симбиозе человека. Екатеринбург, УрО РАН, 2014.
3. Затевалов А. М. Интегральная оценка состояния микробиоценозов биотопов желудочно-кишечного тракта и методы коррекции их нарушений. Автореф. дис. д-ра биол. наук. М., 2016.
4. Методические указания по контролю химических факторов. Определение массовых концентраций летучих жирных кислот (уксусная, пропионовая, изомасляная, масляная, валериановая, изокапроновая, капроновая) в биосредах (кровь) газохроматографическим методом. МУ № 4.1.2773-10. М., Роспотребнадзор, 2010.
5. Belenguer A., Duncan S.H., Calder A.G. et al. Two routes of metabolic cross-feeding between *Bifidobacterium* adolescentis and butyrate-producing anaerobes from the human gut. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006, 72 (5): 3593-3599.
6. Besten G., van Eunen K., Groen A. et al. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J. Lipid Res.* 2013, 54 (9): 2325-2340.

7. Chen Y., Gozzi K., Yan F. et al. Acetic acid acts as a volatile signal to stimulate bacterial biofilm formation. *MBio*. 2015, 6 (3): e00392-15.
8. Fetissov S.O. Role of the gut microbiota in host appetite control: bacterial growth to animal feeding behaviour. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2016, 12. doi: .1038/nrendo.
9. Furusawa Y., Obata Y., Fukuda S. et al. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature*. 2013, 504 (7480): 446-450.
10. Kau A.L., Ahern P.P., Griffin N.W. Human nutrition, the gut microbiome, and immune system. *Nature*. 2011, 474 (7351): 327-336.
11. Murzyn A., Krasowska A., Stefanowicz P. et al. Capric acid secreted by *S. boulardii* inhibits *C. albicans* filamentous growth, adhesion and biofilm formation. *PLoS One*. 2010, 5 (8): e12050.
12. Russell D.A., Ross R.P., Fitzgerald G.F. et al. Metabolic activities and probiotic potential of bifidobacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 2011, 149 (1): 88-105.
13. Sun Y., O'Riordan M.X.D. Regulation of bacterial pathogenesis by intestinal short-chain fatty acids. *Adv. Appl. Microbiol.* 2013, 85: 93-118.
14. Verbeke K.A., Boobis A.R., Chiodini A. et al. Towards microbial fermentation metabolites as markers for health benefits of prebiotics. *Nutr. Res. Rev.* 2015, 28 (1): 42-66.
15. Jousimies-Somer H., Summanen P., Citron D. et al. *Wadsworth-KTL anaerobic bacteriology manual*. Washington., 2002.

Поступила 21.09.16

Контактная информация: Бухарин Олег Валерьевич, д.м.н., проф.,
460000, Оренбург, ул. Пионерская, 11 р.т. (3532)77-54-17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

Т.В.Яковлева¹, Н.И.Брико², А.Н.Герасимов², Т.С. Салтыкова², А.А.Поздняков²

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭПИДЕМИЧЕСКИХ СЕЗОНОВ ГРИППА 2015 — 2016 И 2009 — 2010 ГГ.

¹Министерство здравоохранения Российской Федерации, ²Первый московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова, Москва

Цель. Проанализировать эпидемиологические и клинические особенности гриппа эпидемических сезонов 2009 — 2010 и 2015 — 2016 гг. *Материалы и методы.* Формы федерального государственного статистического наблюдения №№ 1, 2, 5, 6; информация с официального сайта НИИ гриппа Минздрава РФ; материалы различных конференций и конгрессов по проблеме гриппа; информационно-аналитические справки Министерства здравоохранения РФ. *Результаты.* Эпидемические подъемы заболеваемости в эпидемические сезоны 2009 — 2010 гг. и 2015 — 2016 гг. начинались в разное время и имели различную продолжительность. В структуре заболевших гриппом в эпидсезон 2009 — 2010 гг. преобладали дети до 14 лет, в сезон 2015 — 2016 гг. основная масса заболевших была представлена лицами 45 — 59 лет. Число летальных исходов с лабораторно подтвержденным диагнозом «грипп» в 2009 — 2010 гг. составило 687 случаев, а в 2015 — 2016 гг. — 663 случая. Практически все умершие от гриппа были не привиты против этой инфекции. Из общего числа умерших от гриппа заболевания сердечно-сосудистой системы отмечены у 484 человек. У большинства умерших отмечалось позднее обращение за медицинской помощью. *Заключение.* Эпидемический сезон по гриппу 2015 — 2016 гг. отличается от сезона 2009-2010 гг. динамикой развития заболеваемости и меньшим количеством тяжелых форм заболевания и летальных исходов. Это может быть связано с увеличением коллективного иммунитета к пандемическому штамму A(H1N1)pdm09 как за счет проэпидемичивания в прошлые годы, так и в связи с увеличением охвата вакцинацией против гриппа.

Журн. микробиол., 2017, № 1, С. 11—19

Ключевые слова: грипп, заболеваемость, летальность, вакцинация