

## ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВИДОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ ЛАКТОБАЦИЛЛ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА У ЖИТЕЛЕЙ ТЮМЕНИ

Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии

*Цель.* Изучить видовой состав бактерий рода *Lactobacillus*, населяющих дистальный отдел толстого кишечника пациентов различных возрастных групп у жителей города Тюмень. *Материалы и методы.* Проанализировано содержание бактерий рода *Lactobacillus* в фекалиях 1545 жителей г. Тюмень в возрасте от 1 месяца до 76 лет, обратившихся с жалобами на дисфункцию кишечника. Выросшие колонии лактобацилл идентифицированы методом масс-спектрометрии. *Результаты.* Исследование видовой состава лактобацилл показало их широкое разнообразие в зависимости от возраста. Статистически значимые различия по содержанию в толстом кишечнике лактобацилл в различных возрастных группах пациентов выявлены по видам *L.rhamnosus* и *L.fermentum*. *Заключение.* Сведения о видовой характеристике лактобактерий, населяющих толстый кишечник пациентов с учетом возрастных особенностей, повысят эффективность проведения коррекции микробиоты толстого кишечника и профилактики воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта.

Журн. микробиол., 2019, № 3, С. 10—15

Ключевые слова: толстый кишечник, виды бактерий, род *Lactobacillus*, возраст

L.V.Kataeva, A.A.Vakarina, O.N.Kolotova, O.V.Posoyuznykh, V.V.Tashlanova, N.F. Karpukhina,  
L.A.Bychkova

## AGE FEATURES OF SPECIES DIVERSITY LACTOBACILL OF LARGE INTESTINE IN RESIDENTS OF TYUMEN

Tyumen Research Institute of Regional Infectious Pathology, Russia

*Aim.* To study the species composition of bacteria of the genus *Lactobacillus*, inhabiting the distal large intestine of patients of different age groups, residents of the city of Tyumen. *Materials and methods.* The content of bacteria of the genus *Lactobacillus* in feces of 1545 residents of Tyumen aged 1 month to 76 years who complained of intestinal dysfunction was analyzed. Grown colonies of lactobacilli identified by mass spectrometry. *Results.* The study of the species composition of lactobacilli showed their wide diversity depending on age. Statistically significant differences in the content of lactobacilli in the large intestine in different age groups of patients were identified by the species *L. rhamnosus* and *L. fermentum*. *Conclusion.* Information on the species characterization of lactobacilli that inhabit the large intestine of patients, taking into account age-related features, will increase the effectiveness of the correction of the microbiota of the large intestine and the prevention of inflammatory diseases of the gastrointestinal tract.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2019, No. 3, P. 10—15

Key words: large intestine, species of bacteria, genus *Lactobacillus*, age

## ВВЕДЕНИЕ

Среди всего многообразия микробиоты толстого кишечника наиболее важными ее представителями являются бактерии родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* ввиду их потенциального значения для поддержания гомеостаза системы человек — окружающая среда, сохранения здоровья населения, профилактики и лечения многих заболеваний различной этиологии [1,2,5].

В настоящее время изучено около 100 видов бактерий рода *Lactobacillus* семейства *Lactobacillaceae*, циркулирующих на растениях и в организме млекопитающих.

Интерес исследователей к бактериям рода *Lactobacillus* связан с их важными и разнообразными функциями: от участия в обменных процессах до способности ингибировать различные патогенные и условно патогенные микроорганизмы [6,9,12,13]. Известно также, что в толстом кишечнике здоровых взрослых людей наиболее часто встречаются 14 видов лактобацилл, среди них преобладают *L.brevis* (28%), *L.plantarum* (19%), *L.acidophilus* (12%), *L.casei* (9,5%) [2], кроме того, встречаются такие виды как *L.bulgaricus*, *L.salivarius*, *L.rhamnosus*, *L.reuteri* [11].

Проведенные ранее исследования свидетельствуют о том, что более чем у половины пациентов различных возрастов с жалобами на дисфункции кишечника, как при воспалительных заболеваниях, так и при паразитарных инвазиях отмечается дефицит лактобацилл в содержимом толстого кишечника [3,4]. Коррекция дисбиотических нарушений желудочно-кишечного тракта требует применения пробиотических препаратов. На современном этапе для этих целей аптечная сеть предлагает большое количество пробиотических препаратов, как монокомпонентных, так и поликомпонентных, относящихся к одному или нескольким родам. К сожалению, положительный эффект пробиотиков даже при длительном применении носит транзиторный характер и заканчивается при отмене препарата. По мнению исследователей, одной из главных причин неэффективности применения пробиотиков может быть чужеродность микроорганизмов для человека [5]. На наш взгляд, результативность приема пробиотических препаратов может быть низкой, в частности, вследствие того, что виды лактобацилл, входящие в состав применяемого пробиотика, не соответствуют аутофлоре конкретного пациента. В связи с этим исследования возрастных и региональных особенностей видовой структуры лактобацилл, обнаруживаемых в дистальных отделах толстого кишечника, остаются актуальными.

Цель исследования — изучение видового состава бактерий рода *Lactobacillus*, населяющих дистальный отдел толстого кишечника пациентов различных возрастных групп, жителей города Тюмень.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализировано содержание бактерий рода *Lactobacillus* в дистальных отделах толстого кишечника (при исследовании кала на дисбактериоз) 1545 пациентов в возрасте от 1 месяца до 76 лет, обратившихся с жалобами на дисфункцию кишечника. Видовой состав лактобацилл исследовали в следующих возрастных группах пациентов: 0-3 года; 4-14 лет; 17-54 года и 55-78 лет (пациенты 15 — 16 лет за период наблюдения не обращались с указанными жалобами).

Исследования кала на дисбактериоз кишечника проводились согласно ОСТУ 91500.11.0004-2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника». Лактобациллы выделяли на плотной питательной среде — лактобакагаре. В соответствии с инструкцией по применению питательной среды для выделения и культивирования лактобацилл отбирали гладкие, круглые, белые, полупрозрачные или сероватые колонии диаметром не менее 1 мм. Все колонии микроорганизмов идентифицированы методом масс-спектрометрии. Принцип идентификации основан на спектральном анализе молекулярных масс белков. При изучении видового состава штаммов анализировали лактобациллы только с высоким уровнем видовой идентификации (показатель score более 2).

Статистическую обработку материала осуществляли в программе «Excel» с вычислением показателей: средней арифметической, ошибки и достоверности различий полученных результатов с использованием критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ результатов исследования кала на дисбактериоз выявил дефицит ( $\leq 10^5$  КОЕ/г фекалий) бактерий рода *Lactobacillus* в дистальном отделе толстого кишечника у 65,9 % пациентов. Таким образом, видовой состав лактобацилл изучен у 527 пациентов различных возрастных групп.

По результатам нашего исследования в фекалиях всех обследованных пациентов идентифицировано 19 видов лактобацилл. При этом, в возрастных группах 0—3 и 17—54 лет количество видов лактобацилл составило 14 и 15 соответственно, в то время как в группе пациентов 4—14 лет и старше 55 лет было определено только 6 и 7 видов соответственно. Таким образом, у детей старше 3 лет и пациентов старше 55 лет видовое разнообразие лактобацилл менее выражено. Важно подчеркнуть, что у 15 пациентов ( $2,85 \pm 4,2$  %) обнаруживались два вида лактобацилл и у одного пациента — три вида. Структура видового состава лактобацилл, выделенных из кала пациентов различных возрастных групп и в целом, представлена в табл. Как видно из табл., в дистальных отделах кишечника преобладают такие виды лактобацилл как *L.rhamnosus*, *L.plantarum*, *L.fermentum*. Эти виды можно отнести к аллохтонным, то есть постоянно присутствующим в содержимом кишечника. Реже встречаются лактобациллы видов *L.paracasei*, *L.salivarius* и *L.gasseri*. Виды лактобацилл, обнаруженные у единичных пациентов (менее 3%), скорее всего, принадлежат к аутохтонным, то есть имеют транзитный характер.

При анализе видового состава лактобацилл содержимого толстого кишечника в различных возрастных группах выявлены некоторые особенности. Во всех возрастных группах пациентов в содержимом кишечника среди лактобацилл превалирует вид *L.rhamnosus*, так, в возрастной группе до 3 лет бактерии этого вида обнаруживаются у половины пациентов. С увеличением возраста происходит снижение частоты обнаружения *L.rhamnosus* в дистальных отделах толстого кишечника (рис.). При сравнении показателей частоты обнаружения лактобацилл этого вида у пациентов первых трех возрастных групп (0-3 года, 4-14 лет, 17-54) с группой пациентов 55 — 76 лет, определены статистически достоверные различия,  $p \leq 0,01$ .

*L. plantarum* стабильно определяются у 20% пациентов во всех возрастных группах. Статистически значимые различия отмечены по частоте обнаружения у пациентов *L.fermentum* в возрастных группах 4—14 и 55—76 лет. У пациентов старше 55 лет бактерии этого вида обнаруживаются чаще,  $p \leq 0,05$ .

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о видовом разнообразии лактобацилл, населяющих толстый кишечник людей. Наличие различных видов лактобацилл, циркулирующих в толстом кишечнике, зависит от многих факторов: микрoэкологические нарушения при клинической патологии различного происхождения [Million M. et al., 2013], в том числе паразитарные инвазии [4,8], а также возраста [3] и характера питания. При преимущественном употреблении молочных продуктов доминируют такие виды как *L.delbrueckii*, *L.acidophilus*. Питание, состоящее из овощных блюд, предполагает содержание в кишечнике *L.plantarum*. Можно предположить, что на состав микробиоты человека оказывают влияние и региональные особенности [11]. Существенное значение в развитии дисфункции кишечника, связанного с дефицитом лактобацилл, имеет антибиотикотерапия (антибиотик-ассоциированные диареи); в соответствии с принятыми международными рекомендациями, всем больным, получающим антибиотики, должны назначаться антибиотикорезистентные пробиотики [7,10].

Анализ пробиотиков, в состав которых входят лактобациллы, показал, что отечественные лекарственные препараты содержат преимущественно *L. acidophilus* —

Структура видов бактерий рода *Lactobacillus*, выделенных из фекалий пациентов различных возрастных групп

Виды лактобацилл	Всего		0 — 3 лет		4 — 14 лет		17 — 54 лет		55 — 76 лет	
	кол-во чел.	% ± m	кол-во чел.	% ± m	кол-во чел.	% ± m	кол-во чел.	% ± m	кол-во чел.	% ± m
<i>L.rhannosus</i>	237	44,97±2,17	139	50,55±3,01*	20	46,51±7,61*	70	40,00±3,70*	8	23,53±7,27*
<i>L.plantarum</i>	106	20,11±1,75	58	21,09±2,46	8	18,61±5,93	33	18,86±2,96	7	20,59±6,93
<i>L.fermentum</i>	69	13,09±1,47	40	14,55±2,13	3	6,98±3,88*	18	10,29±2,30	8	23,53±7,27*
<i>L.paracasei</i>	34	6,45±1,07	12	4,36±1,23	5	11,63±4,89	13	7,43±1,98	4	11,76±5,53
<i>L.salivarius</i>	34	6,45±1,07	8	2,91±1,01	0	0	22	12,57±2,51	4	11,76±5,53
<i>L.gasseri</i>	23	4,36±0,89	11	4,00±1,18	4	9,30±4,43	6	3,43±1,38	2	5,88±4,04
<i>L.acidophilus</i>	6	1,14±0,46	2	0,73±0,51	1	2,33±2,30	3	1,71±0,96	0	0
<i>L.brevis</i>	5	0,95±0,42	0	0	0	0	5	2,86±1,26	0	0
<i>L.oris</i>	4	0,76±0,38	2	0,73±0,26	0	0	2	1,14±0,80	0	0
<i>L.delbrueckii</i>	3	0,57±0,33	0	0	0	0	2	1,14±0,80	1	2,94±2,9
<i>L.mucosae</i>	3	0,57±0,33	0	0	0	0	3	1,71±0,98	0	0
<i>L.vaginalis</i>	2	0,38±0,27	1	0,36±0,36	0	0	1	0,57±0,57	0	0
<i>L.reuteri</i>	2	0,38±0,27	1	0,36±0,36	0	0	1	0,57±0,57	0	0
<i>L.crispatus</i>	2	0,38±0,27	0	0	0	0	2	1,14±0,80	0	0
<i>L.agilis</i>	1	0,19±0,19	1	0,36±0,36	0	0	0	0	0	0
<i>L.johnsonii</i>	1	0,19±0,19	1	0,36±0,36	0	0	0	0	0	0
<i>L.sakei</i>	1	0,19±0,19	0	0	0	0	1	0,57±0,57	0	0
<i>L.antri</i>	1	0,19±0,19	1	0,36±0,36	0	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus spp.</i>	2	0,38±0,27	2	0,73±0,51	0	0	0	0	0	0
Всего пациентов	527		275		43		175		34	

Примечание. \* Статистически значимые различия.

ацилакт, аципол, биобактан сухой, линекс. В биологически активных добавках, таких как витанар, гиалакт, бифиформ комплекс, витафлор, пробиотическим микроорганизмом также является *L. acidophilus*. В силу того, что они продуцируют микроцины с широким спектром антагонистической активности, их применение для подавления условно патогенных бактерий очень эффективно [2]. Но учитывая то, что в дистальных отделах кишечника содержание ацидофилов составляет всего  $1,14 \pm 0,46$  %, для восстановления дефицита лактобацилл назначение пробиотиков, содержащих *L. acidophilus*, не очень результативно.

Для разработки комбинированных препаратов, состоящих из нескольких микроорганизмов, преимущественно встречающихся в содержимом кишечника, важно изучение не только их антагонистической активности в межштаммовых взаимоотношениях, но и определение видов лактобацилл, населяющих толстый кишечник с учетом возраста пациентов. Проведенные ранее исследования [6] свидетельствуют о том, что некоторые изученные штаммы *L. plantarum*, *L. delbrueckii* и *L. rhamnosus*, обладающие высокой антагонистической активностью, подавляют по 7 и 8 штаммов аналогичных видов. Высокий уровень антагонизма этих бактерий по отношению к представителям этого же рода и вида ограничивает их применение при реализации принципа совместного культивирования.

Таким образом, исследование видового состава лактобацилл, населяющих дистальный отдел толстого кишечника, показало их значительное разнообразие. Причем у детей старше 3 лет и пациентов старше 55 лет видовое разнообразие лактобацилл менее выражено. Статистически значимые различия по содержанию в толстом кишечнике лактобацилл в различных возрастных группах пациентов выявлены по видам *L. rhamnosus* и *L. fermentum*. Восстановление дефицита лактобацилл при дисбиозе кишечника необходимо осуществлять пробиотическими микроорганизмами с учетом сведений об их видовом составе в дистальных отделах кишечника конкретного пациента. Это, возможно, окажется более эффективным для восстановления дефицита лактобацилл и получения стойкого результата после отмены препаратов пробиотиков. Сведения о видовой характеристике лактобацилл, выделенных из толстого кишечника пациентов различных возрастных групп, дадут возможность более качественного проведения коррекции микробиоты толстого кишечника, что будет способствовать профилактике заболеваний желудочно-кишечного тракта воспалительного характера.

С нашей точки зрения, в качестве критерия при первичном скрининге перспективных штаммов для производства пробиотиков можно использовать спектр видов бактерий рода *Lactobacillus*, населяющих дистальный отдел толстого кишечника.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева И.В. Современные доказательные данные эффективности применения *Lactobacillus rhamnosus* GG и *Bifidobacterium lactis* Bb-12 в педиатрической практике. Вопросы современной педиатрии. 2011, 1(10):50-57.
2. Глушанова Н.А. Биологические свойства лактобацилл. Бюллетень сибирской медицины. 2003, 46:50-55.
3. Катаева Л.В., Степанова К.Б., Степанова Т.Ф., Нижегородцева Н.Ф., Ташланова В.В. Возрастные особенности дисбиоза толстой кишки. Журн. микробиол. 2010, 1:76-80.
4. Катаева Л.В., Степанова К.Б., Степанова Т.Ф., Ташланова В.В., Швед Е.И., Нижегородцева Н.Ф., Бычкова Л.А. Возрастные особенности дисбиоза толстого кишечника при лямблиозной инвазии. Мед. паразитол. 2011, 1:7-10.
5. Нилова Л. Ю., Бойцов А.Г., Оришак Е.А. К вопросу о применении пробиотиков для коррекции дисбиоза толстого кишечника. Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. Мечникова И.И. 2008, 3(28):154-157.

6. Суржик А.В. Влияние пробиотической культуры *Lactobacillus rhamnosus* GG на иммунный ответ организма. Вопросы современной педиатрии. 2009, 2(8):54-58.
7. Урсова Н.И. Антибиотик-ассоциированная диарея: выбор пробиотика с позиций медицины, основанной на доказательствах. Трудный пациент. 2013, 2-3(11):22-28.
8. Geeta Shukla, Ramandeep Kaur Sidhu. *Lactobacillus casei* as a probiotic in malnourished *Giardia lamblia*-infected mice: a biochemical and histopathological study. Canadian J. Microbiol. 2011;57(2):127-135.
9. Huanlong Qin, Zhongwei Zhang, Xiaomin Hang et al. *L. plantarum* prevents Enteroinvasive *Escherichia coli*-induced tight junction proteins changes in intestinal epithelial cells. BMC Microbiology. 2009, 9:63-69.
10. Johnson-Henry K.C., Donato K. A., Shen-Tu G. et al. *Lactobacillus rhamnosus* Strain GG Prevents Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7-Induced Changes in Epithelial Barrier Function. Infect. Immun. 2008, 76(4):1340-1348.
11. Mitsuoka T. Establishment of Intestinal Bacteriology. Bioscience of Microbiot, Food and Health. 2014, 33(3):99-116.
12. Vizoso Pinto M.G., Rodriguez Gómez M., Seifert S. et al. *Lactobacilli* stimulate the innate immune response and modulate the TLR expression of HT29 intestinal epithelial cells in vitro. Int. J. Food. Microbiol. 2009 Jul 31, 133(1-2): 86-93.
13. Yujun Jiang, Xuena Lü, Chaoxin Man et al. *Lactobacillus acidophilus* Induces Cytokine and Chemokine Production via NF- $\kappa$ B and p38 Mitogen-Activated Protein Kinase Signaling Pathways in Intestinal Epithelial Cells. Clin. Vaccine Immunol. 2012, 19(4):603-608.

*Поступила 08.12.18*

Контактная информация: Катаева Любовь Владимировна, к.м.н.,  
625026, Тюмень, ул. Республики, 147, р.т. (9097)40-50-74

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

*В.М.Бержеиц<sup>1</sup>, А.А.Бабахин<sup>2</sup>, Н.С.Петрова<sup>1</sup>, А.В.Васильева<sup>1</sup>, С.В.Хлгатын<sup>1</sup>, О.Ю.Емельянова<sup>1</sup>*

## **НОВЫЕ ФОРМЫ КЛЕЩЕВЫХ АЛЛЕРГОИДОВ**

<sup>1</sup>НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, <sup>2</sup>ГНЦ Институт иммунологии, Москва

*Цель.* Разработка технологии приготовления полимерного аллергоида, полученного путем модификации формальдегидом экстракта *Dermatophagoides farinae* и мономерного аллергоида, полученного методом сукцинирования *Dermatophagoides pteronyssinus*, и изучение их физико-химических и иммунологических свойств. *Материалы и методы.* В обработанных формальдегидом препаратах определяли содержание белка, изоэлектрические точки белковых компонентов с помощью метода изоэлектрофокусирования (ИЭФ), эстеразную активность препаратов. Антигенные свойства клещевого аллергоида изучали методами иммунодиффузии и иммуноэлектрофореза. Для характеристики специфической активности клещевого аллергоида применяли микроточечный ИФА. Аллергоид, полученный методом сукцинирования, также был изучен по физико-химическим показателям. *Результаты.* Установлено, что в результате формализации происходит выраженное снижение аллергенной активности аллергоида. Также показано, что сукцинирование приводит к существенному снижению аллергенности мономерного аллергоида за счет блокады В-клеточных эпитопов и сохранению иммуногенности за счет Т-клеточных эпитопов. *Заключение.* Благодаря доказанному снижению аллергенности и повышению иммуногенности мономерные и полимерные аллергоиды могут быть рекомендованы для проведения аллергенспецифической иммунотерапии (АСИТ).

Журн. микробиол., 2019, № 3, С. 15—21

Ключевые слова: аллергенный экстракт, клещи домашней пыли, аллергенспецифическая иммунотерапия, формализация, сукцинирование, аллергоид, аллергенность, иммуногенность