

НАМ ПИШУТ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Кузнецова К.Ю.¹, Сергиев В.П.², Кузнецова М.А.³, Асланова М.М.¹, Загайнова А.В.¹, Федец З.Е.¹, Ковальчук М.В.²

Дисбиотические изменения кишечника при воздействии экзогенных биологических детерминантов

¹ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью», 119121, Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), 119991, Москва, Россия;

³ФГБНУ «Национальный научно-исследовательский институт общественного здоровья имени Н.А. Семашко», 105064, Москва, Россия

Введение. В группе социально значимых массовых заболеваний населения большую долю занимают инвазии патогенных одноклеточных простейших. Изменения инфраструктуры кишечной микрофлоры при субклинических или бессимптомных формах инвазивных заболеваний изучены недостаточно.

Целью исследования явилось изучение инфраструктуры микробиоты при бессимптомных инвазиях патогенными простейшими у лиц из рандомизированных групп населения.

Материал и методы. Применялись бактериологические и паразитологические методы исследований. Для сравнительного анализа количественного и видового изменений симбиотической микрофлоры были образованы 2 группы: «Есть» и «Нет» по каждому виду патогенных простейших, бактериологические показатели были ранжированы по количественному содержанию (%) — КОЕ «0–10³», КОЕ «10³–10^{max}», КОЕ «10^{max}».

Результаты. Антагонистическая активность одноклеточных простейших в отношении симбиотической бактериальной микрофлоры кишечника у обследованных групп населения имеет разную степень выраженности в зависимости от вида инвазии. Паразитарные патогены угнетают до 40% количественного и 50% видового состава кишечной микрофлоры и являются агрессивным биогенным фактором деструкции нормобиоты кишечника.

Ограничения исследования. Исследования не имели методических и административных ограничений.

Заключение. Впервые на значительном статистическом материале подтверждено, что бессимптомное паразитозительство является сильным биогенным детерминантом развития деструктивных изменений целостной структуры симбиотической микрофлоры и формирования субклинической формы дисбиоза у «практически здорового контингента» населения. Установлено, что бессимптомное носительство *Blastocysts spp.* оказывает более выраженное антагонистическое воздействие на бактериальный состав кишечной микробиоты, чем присутствие *L. intestinalis*. Блостоцисты, в отличие от лямблий, более агрессивно формируют дисбиоз кишечника, что указывает на больший патогенный потенциал *Blastocysts spp.* при формировании интестинальной патологии у человека. Разработанные графические профили бактериальной микробиоты при протозойных инвазиях лямблиями и блостоцистами могут быть рекомендованы для внесения в клинические протоколы оказания медицинской помощи населению.

Ключевые слова: бессимптомное паразитозительство; протозойные инвазии; кишечная микробиота; дисбактериальные изменения; графические профили дисбактериальных нарушений при субклинических инвазиях патогенными одноклеточными простейшими

Соблюдение этических стандартов. Исследования одобрены решением локальной этической комиссии на использование анонимизированных, деидентифицированных, не поддающихся повторной идентификации образцов (протокол ФГБУ «ЦСП» ФМБА России № 3 от 2013 г.).

Для цитирования: Кузнецова К.Ю., Сергиев В.П., Кузнецова М.А., Асланова М.М., Загайнова А.В., Федец З.Е., Ковальчук М.В. Дисбиотические изменения кишечника при воздействии экзогенных биологических детерминантов. *Здравоохранение Российской Федерации.* 2023; 67(2): 172–181. <https://doi.org/10.47470/0044-197X-2023-67-2-172-181> <https://elibrary.ru/xdudok>

Для корреспонденции: Кузнецова Камала Юнис кызы, вед. науч. сотр. лаб. микробиологии и паразитологии ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, Москва. E-mail: kama.123@yandex.ru

Участие авторов: Кузнецова К.Ю. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание текста; Сергиев В.П. — концепция и дизайн исследования, редактирование; Кузнецова М.А. — сбор и систематизация материала, статистическая обработка; Асланова М.М. — сбор и обработка материала по паразитологии; Загайнова А.В. — сбор и обработка материала по бактериологии; Федец З.Е. — сбор и обработка материала по бактериологии; Ковальчук М.В. — статистическая обработка. Все соавторы — утверждение окончательного варианта рукописи, ответственность за целостность всех частей рукописи.

Финансирование. Исследование проведено в рамках НИР по теме «Разработка технологий криоконсервации и архивирования биообразцов микробиологических ресурсов человека (шифр «Криобанк»)».

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Поступила 19.05.2021

Принята в печать 27.07.2021

Опубликована 28.04.2023

LETTERS TO EDITOR

Kamalia Yu. Kuznetsova¹, Vladimir P. Sergiev², Maria A. Kuznetsova³, Maria M. Aslanova¹,
Angelika V. Zagaynova¹, Zlata E. Fedets¹, Maria V. Kovalchuk²

Dysbiotic changes in the intestines under the influence of exogenous biological determinants

¹Centre for Strategic Planning of FMBA of Russia, Moscow, 119121, Russian Federation;

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, 119991, Russian Federation;

³N.A. Semashko National Research Institute of Public Health, Moscow, 105064, Russian Federation

Introduction. Data were obtained on the difference in the quantitative and specific composition of intestinal microbiota bacteria in practically healthy individuals with subclinical invasions by pathogenic intestinal protozoa *Lambliia intestinalis*, *Blastocystis hominis*. Changes in bacterial composition were shown to have characterological features and species-specific «targets» of intestinal microbiota destruction.

Material and methods. Bacteriological and parasitological research methods were used. For a comparative analysis of quantitative and specific changes in the symbiotic microflora, there were formed two groups: “Yes” and “No” for each type of pathogenic protozoa, bacteriological indicators were ranked by quantitative content — CFU “0–10³”, CFU “10³–10^{max}”, CFU “10^{max}”. Statistical differences in research results were determined by the Chi-square calculation method.

Results. Antagonistic activity of unicellular protozoa in relation to the symbiotic bacterial intestinal microflora in the examined population groups has a different degree of severity depending on the type of invasion. Parasitic pathogens were shown to inhibit up to 40% of the quantitative and 50% of the species composition of the intestinal microflora and are an aggressive biogenic factor in the destruction of biota. There are no limitations of the study.

Limitations. The studies had no methodological or administrative restrictions.

Conclusion. For the first time, significant statistical material has confirmed that asymptomatic parasitosis is a strong biogenic determinant of the development of destructive changes in the integral structure of the symbiotic microflora and the formation of a subclinical form of dysbiosis in an “almost healthy contingent” of the population. The asymptomatic carriage of *Blastocystis spp.* was found to have a more pronounced antagonistic effect on the bacterial composition of the intestinal microbiota than the presence of *L. intestinalis*, *Blastocystis spp.*, form intestinal dysbiosis more aggressively, which indicates a greater pathogenic potential of *B. hominis* in the formation of intestinal pathology in humans.

Keywords: asymptomatic parasitic carriage; protozoal invasions; dysbacterial changes; intestinal microbiota; graphic profiles of dysbacterial disorders in subclinical invasions by pathogenic unicellular protozoa

Compliance with ethical standards. The studies were approved by the decision of the local ethical commission to use anonymized, de-identified, non-re-identifiable samples (protocol of the Federal State Budgetary Institution “CSP” of the FMBA of Russia No. 3 of 2013).

For citation: Kuznetsova K. Yu., Sergiev V.P., Kuznetsova M.A., Aslanova M.M., Zagaynova A.V., Fedets Z.E., Kovalchuk M.V. Dysbiotic changes in the intestines under the influence of exogenous biological determinants. *Zdravookhranenie Rossiiskoi Federatsii (Health Care of the Russian Federation, Russian journal)*. 2023; 67(2): 172–181. <https://doi.org/10.47470/0044-197X-2023-67-2-172-181> <https://elibrary.ru/xdudok> (in Russian)

For correspondence: Kamalia Yu. Kuznetsova, leading researcher of the Laboratory of microbiology and parasitology of the Centre for Strategic Planning of FMBA of Russia, Moscow, 119121, Russian Federation. E-mail: kama.123@yandex.ru

Information about the authors:

Kuznetsova K. Yu., <https://orcid.org/0000-0003-2176-7852>

Sergiev V.P., <https://orcid.org/0000-0002-1163-8419>

Kuznetsova M.A., <https://orcid.org/0000-0001-8243-5902>

Aslanova M.M., <https://orcid.org/0000-0002-5282-3856>

Zagaynova A.V., <https://orcid.org/0000-0003-4772-9686>

Fedets Z.E., <https://orcid.org/0000-0002-2396-9231>

Kovalchuk M.V., <https://orcid.org/0000-0002-9325-6480>

Contribution of the authors: Kuznetsova K. Yu. — concept and design of the study, writing the text; Sergiev V.P. — research concept and design, editing; Kuznetsova M.A. — collection and processing of material, statistical processing; Aslanova M.M. — collection and processing of material, writing text; Zagaynova A.V. — collection and processing of material; Fedets Z.E. — collection and processing of material; Kovalchuk M.V. — statistical processing. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

Acknowledgment. The research was carried out within the framework of the research work “Development of technologies for cryopreservation and archiving of biological samples of human microecological resources (code “Cryobank”)”.

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

Received: May 19, 2021
Accepted: July 27, 2021
Published: April 28, 2023

Введение

Микроэкологический ресурс кишечной микробиоты имеет большой диапазон специфических инфраструктурных и индивидуальных различий, формирующих специфические медико-биологические особенности макроорганизма. «Не существует уникальной микробиоты кишечника с оптимальным составом, так как она различна у каждого индивидуума» [1]. Изучение микробиоты как экосистемы с генетическими признаками, сформировавшимся в определённое время на определённой географической территории, является междисциплинарным научным звеном в развитии экологической медицины, связующим в единый процесс гигиену, экологию и медицину. Существование микроорганизмов в микробиоценозах позволяет им адаптироваться к различным экологическим условиям окружающей среды, будь то водоём, почва или организм человека [2]. Медико-биологическое значение качественной и количественной характеристик микробиоты человека в становлении статуса его здоровья или болезненности, по новым представлениям мирового научного сообщества, первостепенно. В таком контексте современные представления о тесной взаимосвязи инфраструктурного состава микробиоты с качеством здоровья человека подтверждают формирование ответных по отношению к внешним факторам адаптивных механизмов макроорганизма и его устойчивости к изменённой среде. Данные последних лет свидетельствуют о том, что кишечная микробиота, являясь системным процессором метаболизма, обеспечивает механизмы сообщающихся связей окружающей и внутренней среды макроорганизма, определяет качество здоровья и его зависимость от интенсивности и частоты воздействующих факторов риска. При этом как постоянно функционирующая и здоровьесберегающая система микробиота модулирует обратимость дисбиотических изменений микробиоценоза при разном характере негативного воздействия, что актуализирует исследования пограничного состояния микробиоты при бессимптомных или начальных этапах дисбиотических изменений кишечника. Анализ направленности межмикробных взаимоотношений ассоциативных микросимбионтов позволяет прояснить патогенез широкого спектра заболеваний, правильно оценить происхождение аномалий в структуре микросимбионтов, приводящих к изменению их типичных качеств или проявлению новых биологических свойств [3, 4].

Деструктивное воздействие на кишечную флору патогенных возбудителей составляет основу патогенетических механизмов развития инфекционной и неинфекционной патологии, и с этой позиции важно проведение коррекции дисбиоза до наступления клинических проявлений с учётом этиологической причины, вызвавшей нарушение микробного состава [5]. С этой точки зрения, нельзя игнорировать влияние паразитарной составляющей на формирование кишечной микробиоты как многокомпонентного и длительного фактора её деструкции. Характеризующиеся широким спектром антигенного состава и длительной бессимптомной персистенцией массовые инвазионные болезни в детском возрасте являются неизученным, но теоретически понятным фактором риска качественных изменений микроэкологических ресурсов с формированием в разной степени выраженности клинических и субклинических проявлений метаболического синдрома [6].

Патогенные микроорганизмы в протозойно-бактериальных сообществах проявляют разную антагонистиче-

скую или синергетическую активность в зависимости от вирулентности штаммов и видовой принадлежности микроорганизмов [6]. Изучение экологической характеристики микрофлоры гастроэнтерологических больных при инвазии простейшими показало, что в данной группе происходят компенсированные качественные и количественные сдвиги кишечного микробиоценоза, при этом доминирующими видами паразитов явились простейшие *Lambliа intestinalis* и *Blastocystis spp.* [7, 8]. Взаимосвязь значительных дисбиотических сдвигов микропейзажа кишечника в сторону снижения группы облигатно-анаэробных бактерий также была связана с высокой (до 73,3%) инвазией простейшими *Blastocystis spp.* [5]. Результаты исследований микрофлоры кишечника порослят 2–6-месячного возраста при моноинвазии *Ascaris suum* выявили колонизацию кишечника транзиторными микроорганизмами на фоне снижения содержания представителей облигатной микрофлоры [9], а выраженность изменений состава микробиоты кишечника определялась уровнем показателей вирулентности простейших при балантидиозе и увеличением количества условно-патогенных микроорганизмов [10].

Исследования в области раскрытия механизмов межмикробных взаимодействий, определяющих формирование и поддержание ассоциативных симбиозов организма хозяина в норме и при патологических состояниях, позволяют выявить условия формирования патогенных вариантов микросимбионтов. Бактерии, находясь в клетке простейших, избегают массовой гибели, а их хозяева, простейшие, поддерживают их численность и вирулентность [11]. Взаимоотношения между микросимбионтами при формировании микросимбиоценоза базируются на различных каналах связи, включая клеточные взаимодействия [12, 13], генетический обмен [14] и выработку сигнальных метаболитов [15–17].

Таким образом, влияние патогенных одноклеточных простейших на состояние микробиоты представляет важный аспект исследований, учитывая, что в группе социально значимых массовых заболеваний населения статистическая распространённость этих инвазий достаточно высока. Значительно менее исследованной областью являются изменения инфраструктуры кишечной микрофлоры при субклинических или бессимптомных формах инвазивных заболеваний.

Целью исследования явилось изучение инфраструктуры микробиоты при бессимптомных инвазиях патогенными простейшими у обследованных лиц, сформированных из рандомизированных групп населения.

Материал и методы

Изучено 308 образцов кишечной микробиоты, полученной от «практически» здоровых взрослых людей. Микробиологический состав кишечной микробиоты был определён культуральными методами, протозойный состав — методами паразитологического анализа клинического материала*. При статистической обработке из анализа были исключены пробы кала с содержанием грибов, микст-инвазий и инвазий комменсальными простейшими. Для сравнительного анализа бактериальный

* Лабораторная диагностика гельминтозов и протозоозов. Методические указания МУК 4.2.3145–13 (утв. ВРИО руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А.Ю. Поповой 26.11.2013).

Нам пишут

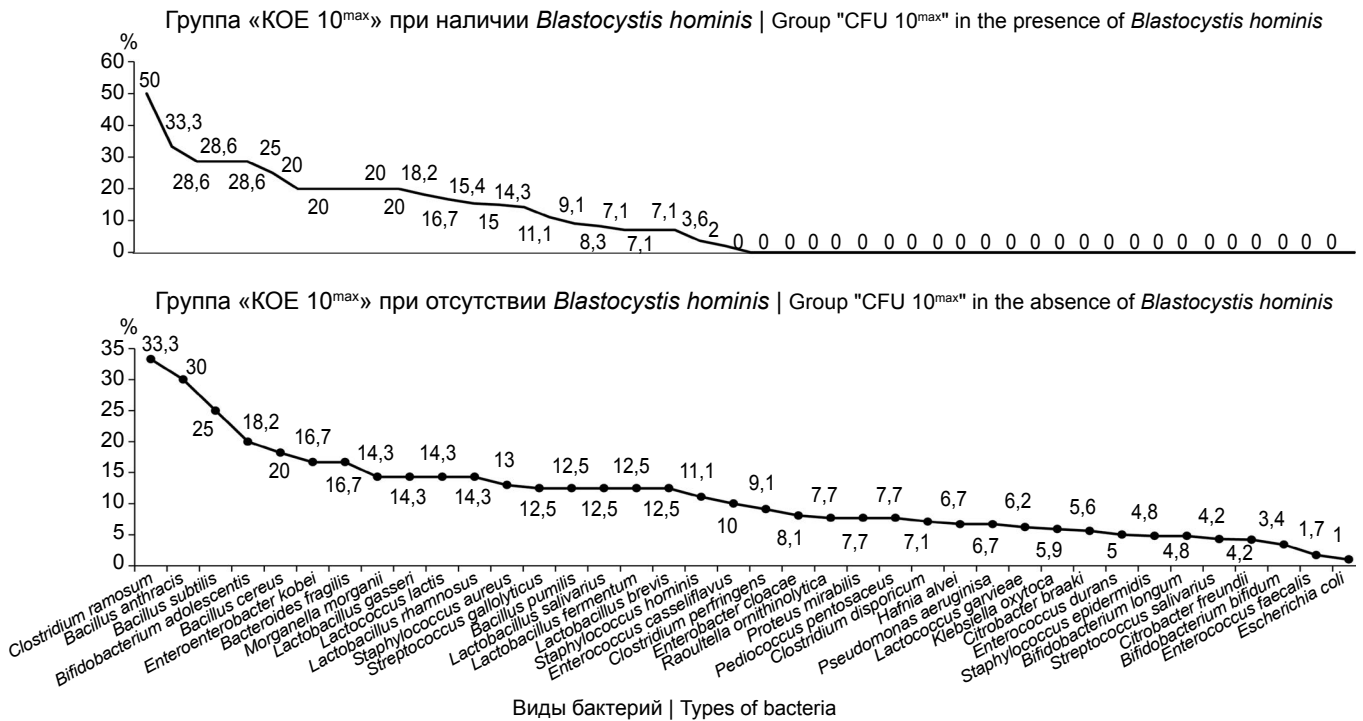


Рис. 1. Сравнительная характеристика инфраструктурных изменений бактериальной микробиоты в группе «КОЕ 10^{max}» по показателям «Есть»–«Нет» *Blastocystis spp.*

Fig. 1. Comparative characteristics of infrastructural changes in bacterial microbiota in the group “CFU 10^{max}” in terms of “Yes”–“Not” *Blastocystis spp.*

состав микробиоты был ранжирован по значениям титров на 3 группы: «КОЕ 0–10³», «КОЕ 10³–10^{max}», «КОЕ 10^{max}». В отношении каждой группы были определены изменения количественного и видового состава бактерий по показателям «Есть»–«Нет» факторов воздействия — *Blastocystis spp.*, *L. intestinalis*, сравнение проводилось методом расчёта χ^2 . Для оценки полноты и степени однородности показателей, а также для выделения наиболее часто встречаемых признаков бинарных и номинальных показателей применена описательная/качественная статистика всех исследуемых показателей для всей выборки без разбивки по группам. Для бинарных и номинальных показателей проводился частотный анализ с оценкой доли структур у каждого значения, а также проверка гипотезы об однородности встречаемости признаков с помощью критерия χ^2 Пирсона.

Результаты

Сравнительный анализ проведён по 52 видам бактерий, 2 видам *Protozoa*. Общее состояние кишечной микробиоты обследованных групп лиц характеризовалось значительными изменениями бактериального состава.

Бластоцисты. Анализ изменения инфраструктуры бактериальной микрофлоры по показателям «Есть»–«Нет» патогенных простейших показал значительные различия видового и количественного состава в группах, ранжированных по титрам бактерий. Так, для инфраструктурных изменений бактерий в группе «КОЕ 10^{max}» при наличии *Blastocystis spp.* характерно снижение на 44,4% видового разнообразия бактерий кишечной микробиоты: прекращение размножения 20 видов и количественное снижение более 25 видов, или 51% видов бактерий от всех определённых видов в образцах, в 2 раза ниже показателей в группе «Нет» *Blastocystis spp.* (рис. 1).

В аналитической группе «КОЕ 10³–10^{max}» структурные изменения бактериальной микробиоты характеризовались снижением количественного роста 27 видов бактерий (55,1%), и ростом 22 вида (44,9%) видов бактерий в группе сравнения, не содержащей *Blastocystis spp.* (рис. 2).

В группе бактерий «КОЕ 0–10³» структурная перестройка видового и количественного состава бактериальной микробиоты по сравнению с группой «Нет» *Blastocystis spp.* сопровождается дополнительным подавлением роста 15 видов бактерий и полным отсутствием представительства 7 видов: *Citrobacter braaki*, *Enterococcus casseliflavus*, *Streptococcus lutetiensis*, *Bacillus pumilus*, *Lactococcus garvieae*, *Bacteroides fragilis*, *Pediococcus acidilactici* (рис. 3).

На этом фоне отмечается рост *Lactobacillus fermentum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus avium* и около 31 вида сапрофитных бактерий, в их числе бактерии *Bacillus altitudinis*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus brevis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Hafnia alvei*, *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus avium*, *Streptococcus parasanguinis*, *Clostridium disporicum*, *Bifidobacterium adolescentis*.

Лямблии. Сравнительный анализ изменения инфраструктуры бактериальной микрофлоры по показателям «Есть»–«Нет» *L. intestinalis* показал выраженные в разной степени количественные и видовые изменения симпатической бактериальной микрофлоры. Так, результаты анализа групп, ранжированных по титрам кишечных бактерий, позволяют оценить вызванные *L. intestinalis* деструктивные изменения.

В группе «КОЕ 10^{max}» отмечено снижение видового состава бактерий на 30,6% — прекращение роста 15 видов

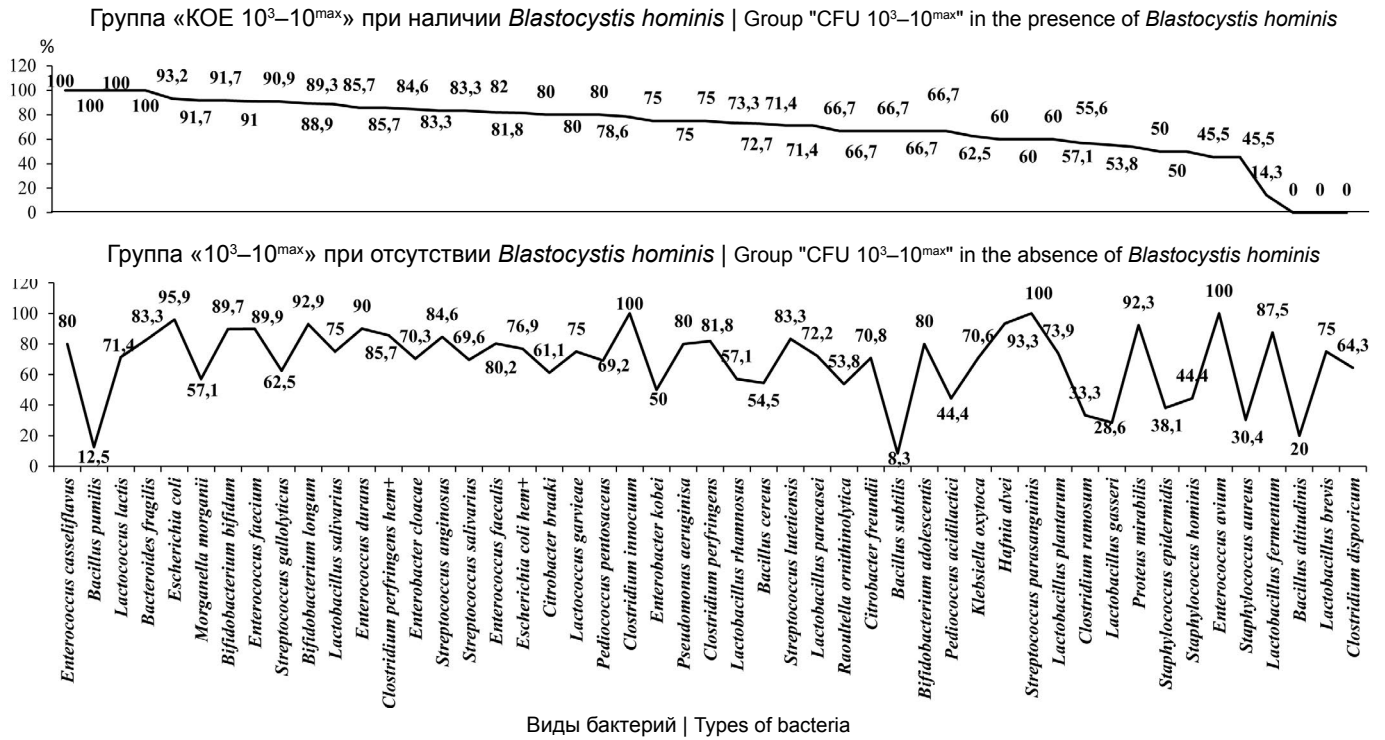


Рис. 2. Сравнительная характеристика инфраструктурных изменений бактериальной микробиоты в группе «КОЕ 10³–10^{max}» по показателям «Есть»–«Нет» *Blastocystis spp.*

Fig. 2. Comparative characteristics of infrastructural changes in bacterial microbiota in the group “CFU 10³–10^{max}” according to the indicators “Yes”–“Not” *Blastocystis spp.*

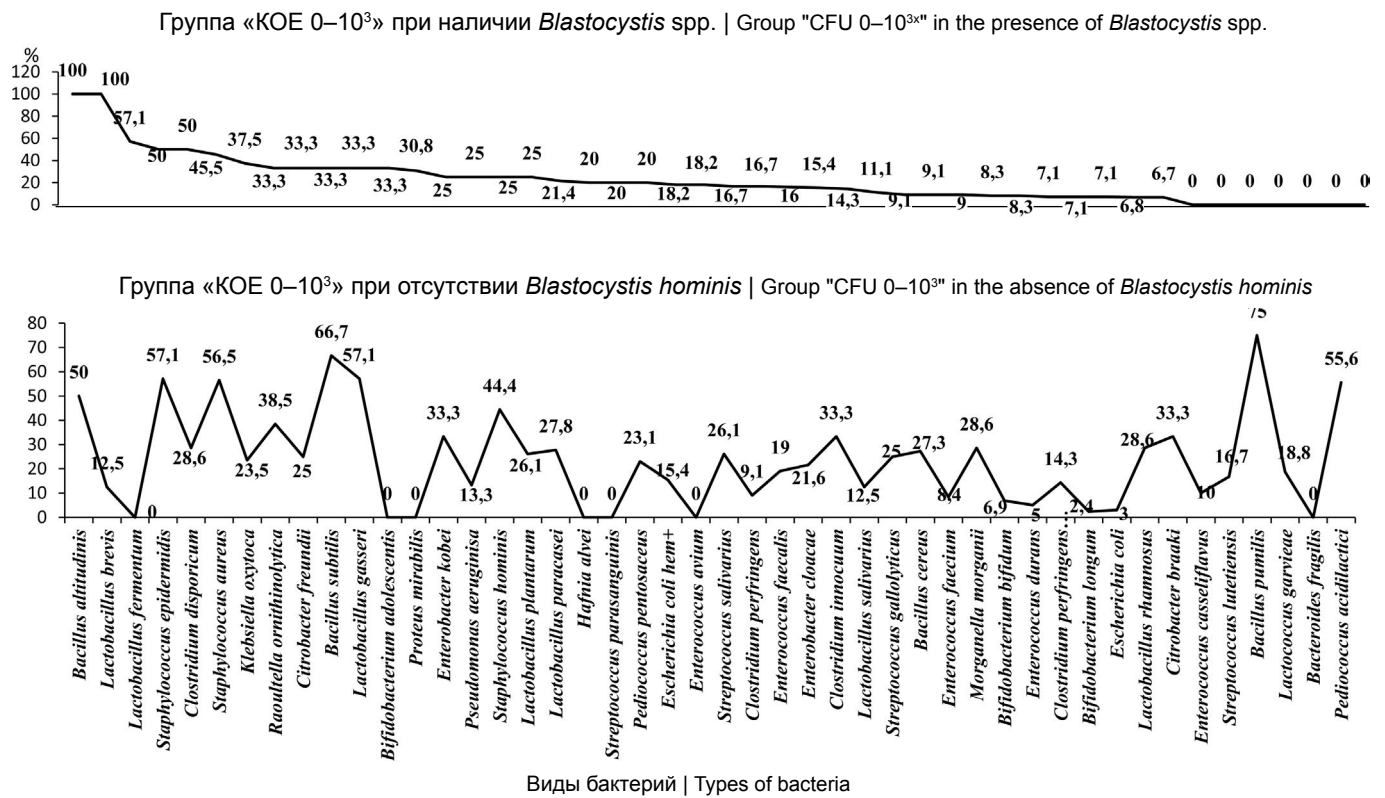


Рис. 3. Сравнительная характеристика инфраструктурных изменений бактериальной микробиоты в группе «КОЕ 0–10³» по показателям «Есть»–«Нет» *Blastocystis spp.*

Fig. 3. Comparative characteristics of infrastructural changes in the bacterial microbiota in the group “CFU 0–10³” according to the indicators “Yes”–“Not” *Blastocystis spp.*

Нам пишут

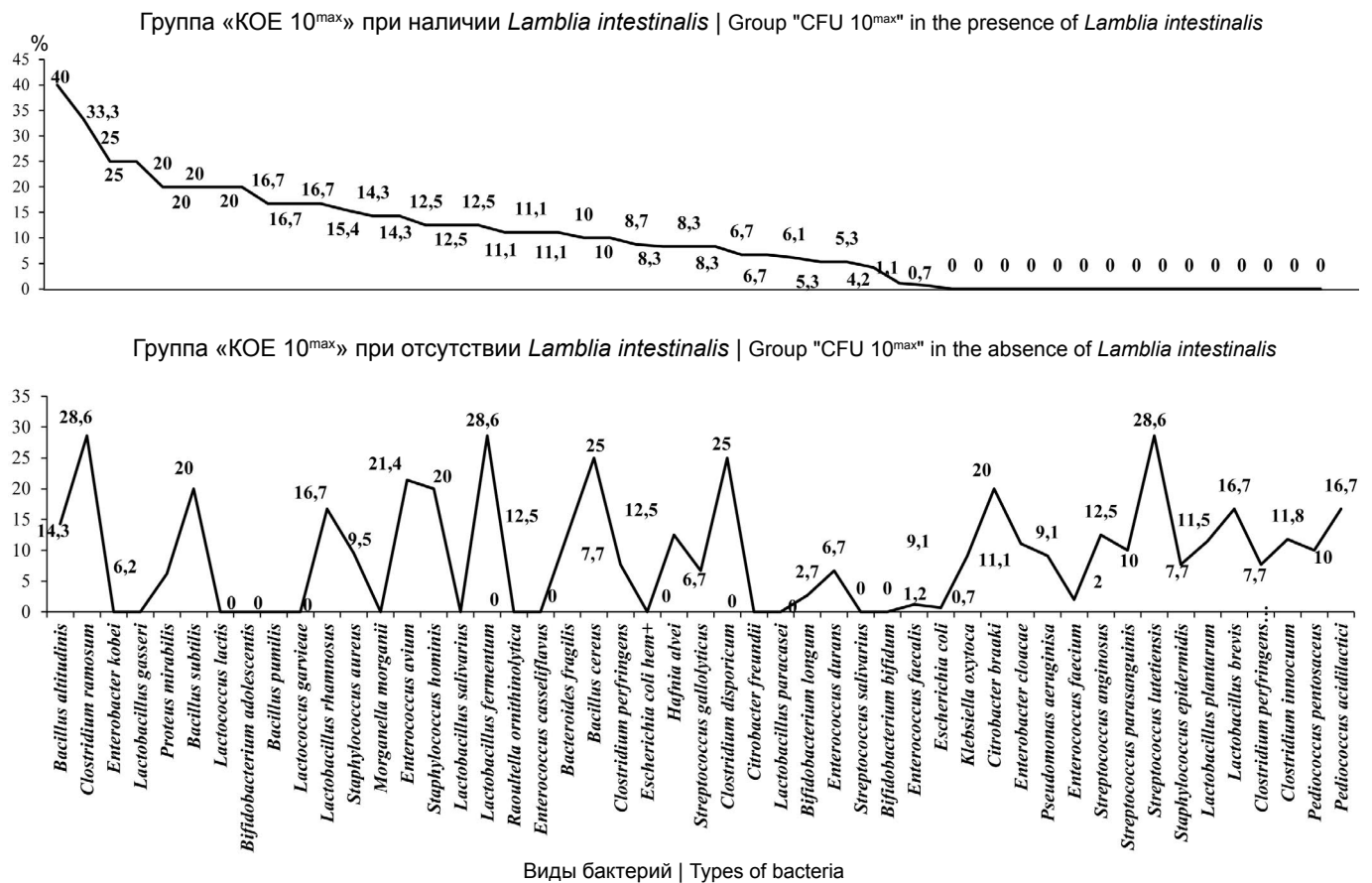


Рис. 4. Сравнительная характеристика инфраструктурных изменений бактериальной микробиоты в группе «КОЕ 10^{max}» по показателям «Есть»–«Нет» *L. intestinalis*.

Fig. 4. Comparative characteristics of infrastructural changes in bacterial microbiota in the group “CFU 10^{max}” according to the indicators “Yes”–“Not” *L. intestinalis*.

бактерий: *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter braaki*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus lutetiensis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Clostridium perfringens hem+*, *Clostridium innocuum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Pediococcus acidilactici*; рост 14 видов: *Enterobacter kobei*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bacillus pumilis*, *Lactococcus garvieae*, *Morganella morganii*, что, с нашей точки зрения, интерпретируется как сильный фактор подавления кокковых и условно-патогенных бактерий (рис. 4).

При этом активация группы преимущественно молочнокислых бактерий может означать проявление межвидовой доминанты, направленной на снижение антагонизма патогенных лямблий.

В группе «КОЕ 10³–10^{max}» изменения видового состава не наблюдались, отмечалось количественное снижение около 20 видов и увеличение 28 видов бактерий. В данной группе снижение количественного состава бактерий происходит «сдержанно», также не наблюдается полного прекращения роста бактерий, что может означать, что для лямблиозной инвазии более характерно ослабление антагонистического воздействия (рис. 5).

В группе «КОЕ 0–10³» выявлено снижение видового состава бактерий на 18,7%, количественное снижение 9 видов: *Hafnia alvei*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus*

casseliflavus, *Enterococcus avium*, *Streptococcus parasanguinis*, *Lactobacillus salivarius*, *Clostridium innocuum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bacteroides fragilis*; активация роста 11 видов бактерий: *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Lactobacillus brevis*, *Pediococcus pentosaceus*, *Klebsiella oxytoca*, *Streptococcus gallolyticus*, *Lactobacillus paracasei*, *Clostridium sporadicum*, *Clostridium ramosum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Pseudomonas aeruginosa* (рис. 6).

Полученные данные, по нашему мнению, означают, что при бессимптомной лямблиозной инвазии протекающие процессы инфраструктурных изменений бактериального состава микробиоты имеют симультанный характер, когда процессы угнетения роста усиливают адаптивный рост других видов бактерий (таблица).

При этом фактор риска деструкции бактериальной микробиоты при наличии *Blastocystis spp.* (1,26) и *Lamblia intestinalis* (1,01) присутствует со статистически значимыми различиями, более 1.

Показано, что в группе с титрами «КОЕ 0–10³» из 50 видов бактерий, содержащих *Blastocystis spp.*, угнетены 15 (30%), при наличии *L. intestinalis* — 27 (54%) видов бактерий, «КОЕ 10³–10^{max}» — 46 (92%) и 34 (68%), «КОЕ 10^{max}» — 24 (48%) и 33 (66%) соответственно. Статистические различия указывают на разный уровень угнетения бактерий, а также на характер параллельно протекающих в интестинальной микробиоте, по всей вероятности,

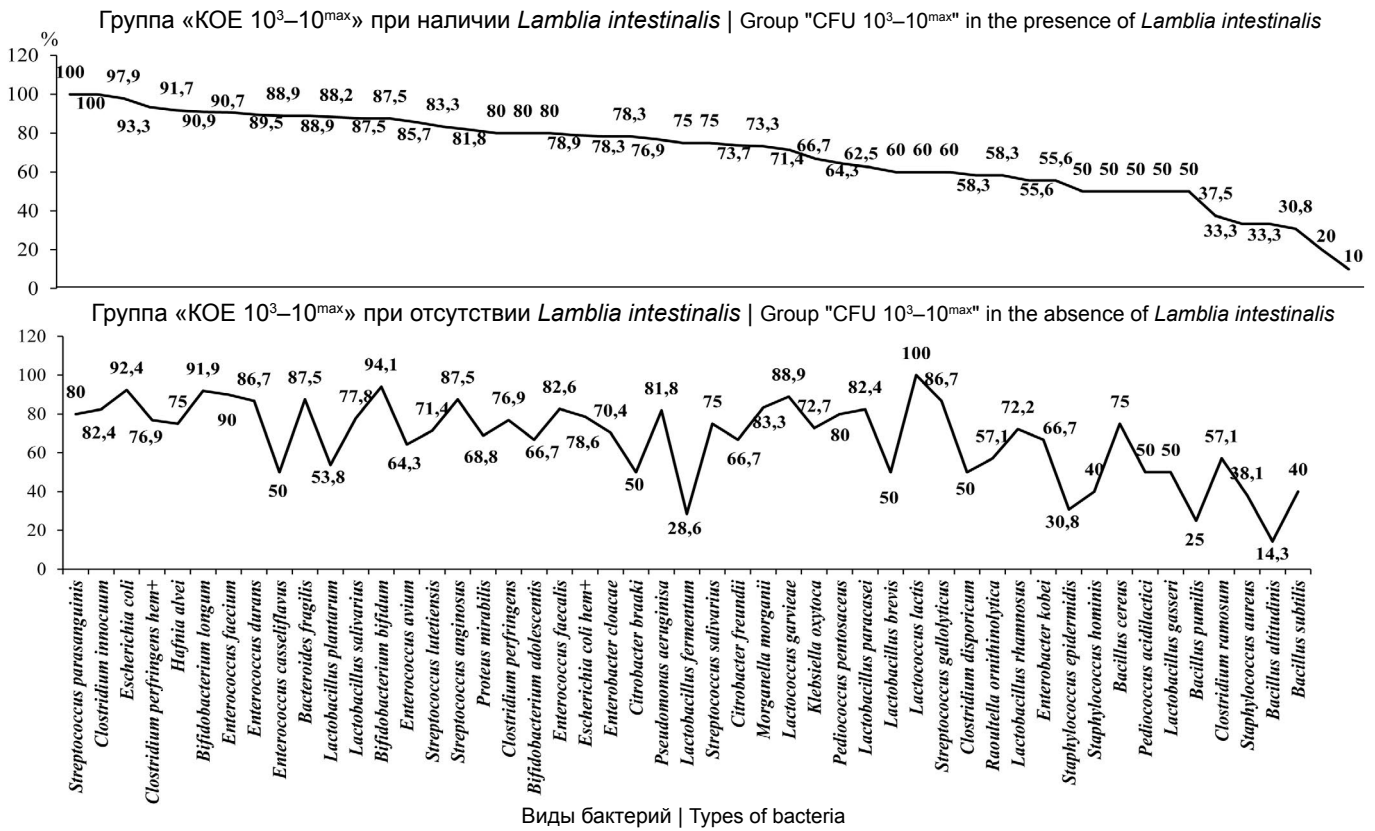


Рис. 5. Сравнительная характеристика инфраструктурных изменений бактериальной микробиоты в группе «КОЕ 10³–10⁴» по показателям «Есть»–«Нет» *L. intestinalis*.

Fig. 5. Comparative characteristics of infrastructural changes in bacterial microbiota in the group “CFU 10³–10⁴” according to the indicators “Yes”–“Not” *L. intestinalis*.

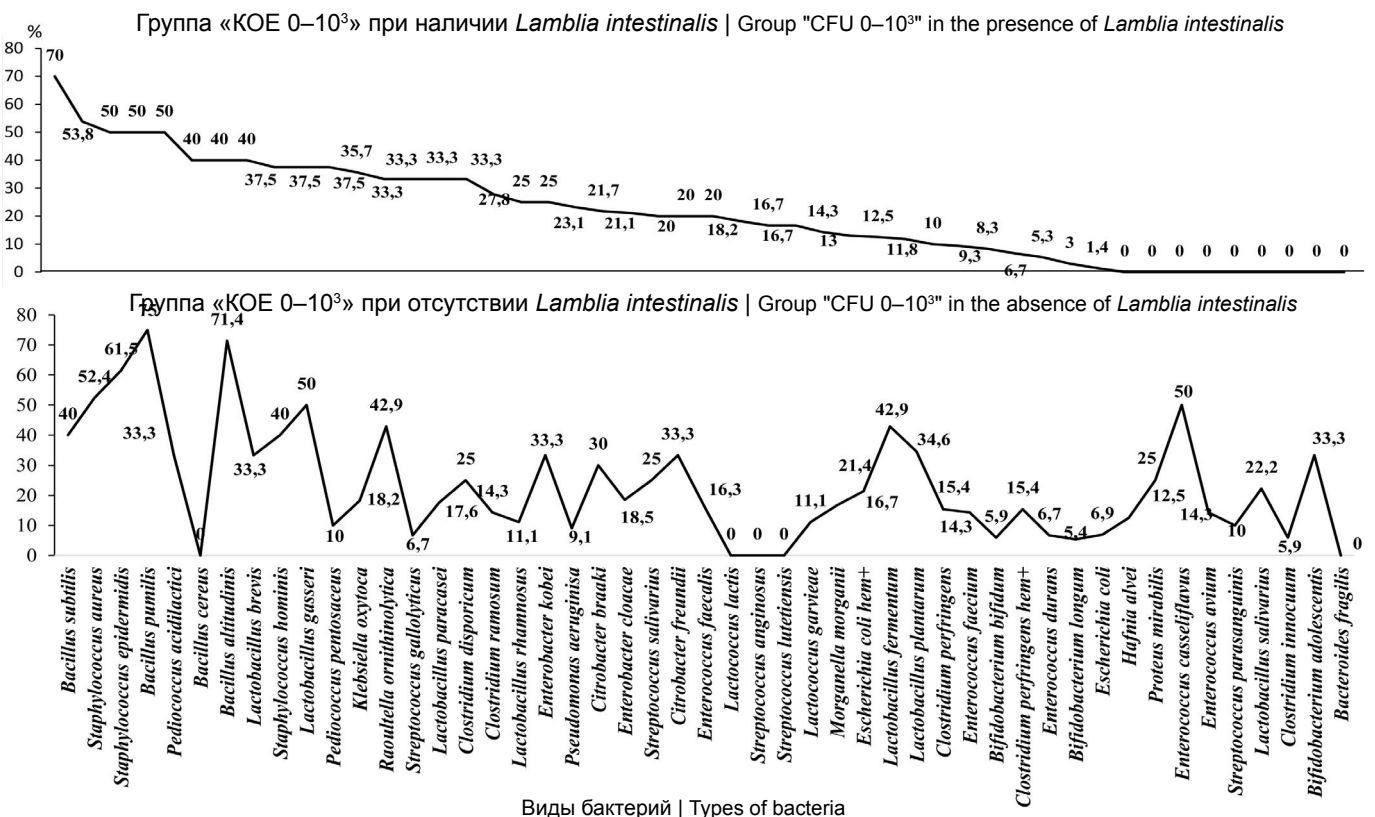


Рис. 6. Сравнительная характеристика инфраструктурных изменений бактериальной микробиоты в группе «КОЕ 0–10³» по показателям «Есть»–«Нет» *L. intestinalis*.

Fig. 6. Comparative characteristics of infrastructural changes of bacterial microbiota in the group “CFU 0–10³” according to the indicators “Yes”–“Not” *L. intestinalis*.

Нам пишут

Факторы риска деструкции бактериальной микробиоты при наличии *Blastocystis* spp. и *Lamblia intestinalis*
 Risk factors for the destruction of bacterial microbiota in the presence of *Blastocystis* spp. and *Lamblia intestinalis*

Категория Category	Фактор Factor	Точка отсечения Cut-off	Фактор Factor		Всего Нет/Есть Total Nil/Yes	95% ДИ 95% CI		Уровень <i>p</i> <i>p</i> -level (<i>df</i> = 1)
			Нет Nil	Есть Yes		изменение риска change in risk	относительный риск relative risk	
Protozoa	<i>Blastocystis</i> spp. Есть – Нет Yes – Not	Есть Yes	70 (55,6%)	35 (70%)	126/50	14,4 (–0,9; 29,8)%	1,26 (0,99; 1,60)	0,07
Protozoa	<i>Lamblia intestinalis</i> Есть – Нет Yes – Not	Есть Yes	51 (59,3%)	54 (60%)	86/90	0,7 (–13,8; 15,2)%	1,01 (0,79; 1,29)	0,9

компенсаторных процессов, направленных на стабилизацию бактериального состава и поддержание физиологического гомеостаза. При этом в количественном выражении инвазии *Blastocystis* spp. проявляют значительный антагонизм по сравнению с инвазией *L. intestinalis* в группах «КОЕ 0–10³» и «КОЕ 10³–10^{max}».

Сравнительный анализ количественных изменений инфраструктуры бактериальной микробиоты показал, что разные виды одноклеточных простейших имеют разную степень деструктивного воздействия и различные целевые «мишени».

В этих группах качественные изменения в основном касаются протеолитической группы бактерий («КОЕ 0–10³» — 58 (20%); «КОЕ 10^{max}» — 38,8 (28,6%) при инвазии *Blastocystis* spp. и *L. intestinalis* соответственно).

У обследованных лиц с инвазиями *Blastocystis* spp. можно предположить клинические признаки нарушения функции переваривания и барьерной функции кишечной микрофлоры, а у лиц с преимущественным заражением *L. intestinalis* — снижение защитных свойств и соответствующие изменения иммуно-ответственных механизмов регуляции.

Анализ результатов клинических исследований по определению бактериального и паразитарного состава интестинальной микробиоты у здоровых контингентов позволил составить графические профили бактериальной микробиоты при разных видах протозойной инвазии. Графический профиль дисбактериоза в группе с титрами «КОЕ 10^{max}» «Есть *Blastocystis* spp. и *L. intestinalis*» представлен на рис. 7.

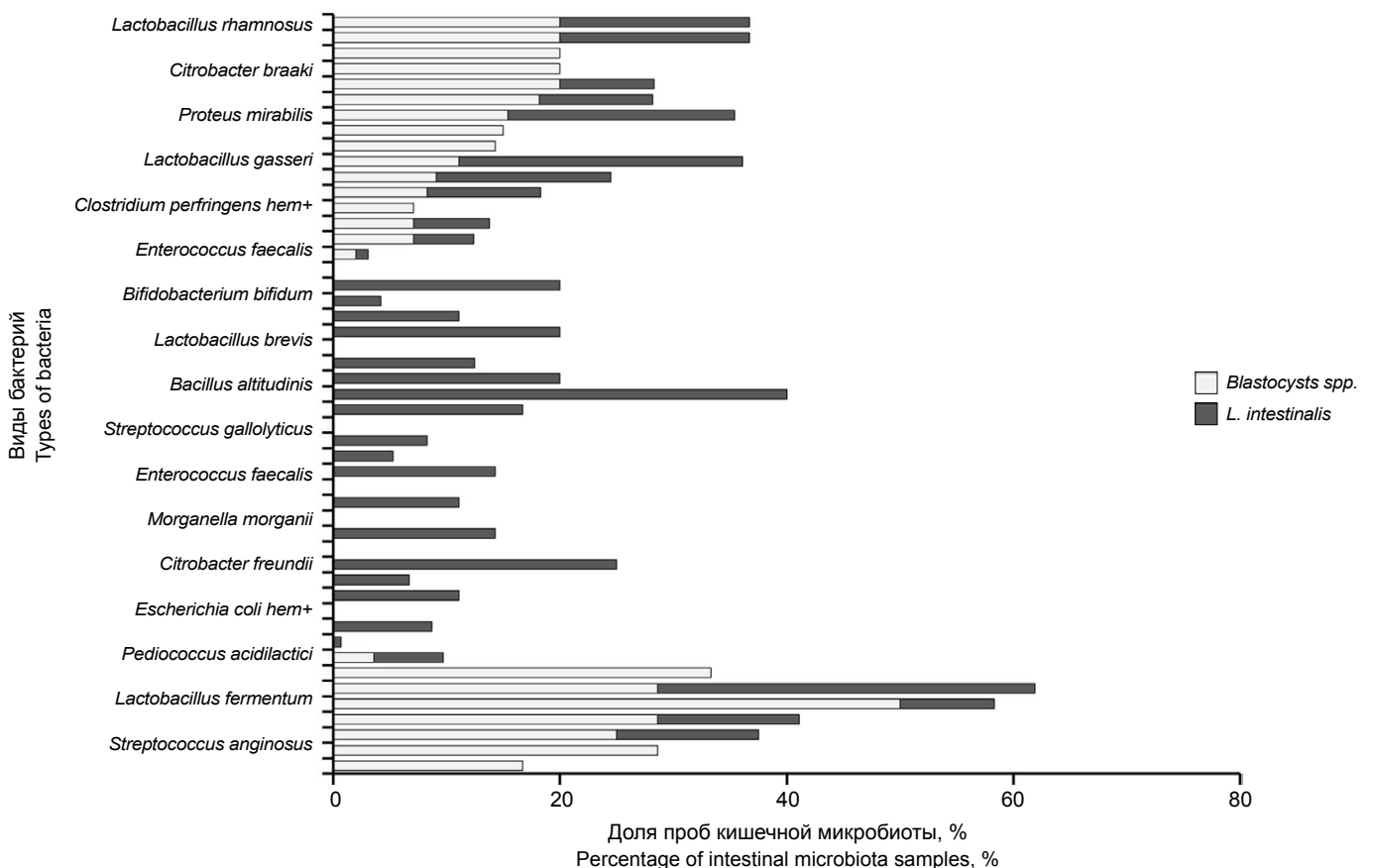


Рис. 7. Графические профили бактериального состава кишечной микробиоты при бессимптомном носительстве патогенных простейших *Blastocystis* spp. и *L. intestinalis* в ранжированных группах «КОЕ 10^{max} "Есть"» (%).

Fig. 7. Graphical profiles of the bacterial composition of the intestinal microbiota with asymptomatic carrier of pathogenic protozoa *Blastocystis* spp. and *L. intestinalis* in ranked groups К «CFU 10^{max} "Yes"» (%).

Как видно из рисунка, дисбактериальные сдвиги симбиотической микрофлоры кишечника имеют выраженные отличия и сопровождаются разными типами бактериальной деструкции в анализируемых группах. Так, *Blastocystis spp.* преимущественно угнетают группу бифидо-, *L. intestinalis* – лактобактерий.

Обсуждение

Согласно концепции «микроэкологическая токсикология» [18] впервые описано влияние различных химических, физических и биологических факторов на нарушения симбиотического микробиоценоза человека, являющиеся одними из первичных механизмов, запускающих патогенез большинства соматических и метаболических заболеваний человека. В основе взаимодействия компонентных составов кишечной микрофлоры лежат сложные метаболические процессы, обеспечивающие её стабильность и, соответственно, функцию нормальной жизнедеятельности макроорганизма. В работах О.В. Бухарина показано, что бактериальный состав микробиоты подвергается разного рода деструктивным изменениям на протяжении всех этапов жизненного цикла развития, определяя качество здоровья человека [4]. Достаточно детально изучен бактериальный статус кишечника при клинически выраженном течении инфекционного процесса, в том числе вызванного паразитарными патогенами [2].

В представленном материале в разной степени выражена антагонистическая активность патогенных простейших в малых дозах в отношении симбиотической бактериальной микрофлоры кишечника, а также их синергетическая связь с появлением и количественным увеличением условно-патогенных видов.

Учитывая, что наиболее наглядные изменения количественного и качественного состава симбиотической микрофлоры получены в сравниваемых группах «КОЕ 0–10³» и «КОЕ 10^{max}», приводим статистический анализ в категории наличие *L. intestinalis*, *Blastocystis spp.* В группах КОЕ «10^{max}» наблюдается более 50% *Klebsiella oxytoca*, *Raoultella ornithinolytica*, *Hafnia alvei*, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*.

Среди показателей категории «*Escherichia*» чаще всего встречается показатель «*Escherichia coli hem+*» (73%), реже всего — показатель «*Escherichia coli*» (64,6%).

Среди показателей категории «*Enterococcus*» чаще всего встречается показатель «*Enterococcus avium* 10³ и более» (85,7%), реже всего — показатель «*Enterococcus faecalis*» (18,8%); среди показателей «*Citrobacter freundii*» чаще всего встречается «*Citrobacter braaki*» (69,6%), реже всего — показатель «*Citrobacter freundii*» (63,6%); в группе «*Enterobacter*» частота встречаемости «*Enterobacter kobei*» (60%) выше показателя «*Enterobacter cloacae*» (56%), чаще всего среди показателей встречаются «*Pseudomonas aeruginosa*» (78,9%), «*Streptococcus lutetiensis*» (92,3%), реже — «*Pediococcus acidilactici*» (41,7%) и «*Pediococcus pentosaceus*» (66,7%).

Проверено равенство распределений в группах, а также выявлены статистически значимые различия между группами (по критерию χ^2 Пирсона) сравнения «Есть» и «Нет» *L. intestinalis* с числом наблюдений 158 (51,3%) и 150 (48,7%) соответственно. Наиболее однородные распределения между двумя группами наблюдаются у следующих показателей: «*Streptococcus parasanguinis*», «*Streptococcus gallolyticus*» и «*Streptococcus salivarius*» ($p > 0,3711$); «*Bacillus cereus*», «*Bacillus subtilis*» и «*Bacillus altitudinis*»

($p > 0,2211$); «*Lactococcus garvieae*», «*Lactobacillus fermentum*» и «*Lactobacillus brevis*» ($p > 0,4225$); «*Clostridium innocuum*», «*Clostridium disporicum*» и «*Clostridium perfringens hem+*» ($p > 0,5122$).

Показатели «*Enterococcus faecalis*», «*Enterococcus faecium*», «*Enterococcus durans*», «*Klebsiella*», «*Raoultella*», «*Hafnia alvei*», «*Pediococcus*», «*Citrobacter freundii*», «*Enterobacter*», «*Proteus*», «*Morganella morganii*», «*Pseudomonas*», «*Bacillus*», «*Lactobacillus*», «*Clostridium*», «*Bifidobacterium*», «*Bacteroides*» статистически значительно различаются между двумя сравниваемыми группами ($p \leq 0,05$), что позволяет оценить, с одной стороны, потенциал паразита индуцировать патогенную активность факультативных/условно-патогенных видов *Clostridium*, *Enterococcus*, *Citrobacter*, *Hafnia* и др., с другой стороны — уточнить целевую метку угнетения паразита (*L. intestinalis*), которой являются бифидобактерии.

В разделе статистического анализа сравнения показателей по группам «Есть» и «Нет» *Blastocystis spp.* с числом наблюдений 211 (68,5%) и 97 (31,5%) соответственно показано: наиболее однородные распределения (по критерию χ^2 Пирсона) между двумя группами наблюдаются у следующих показателей: «*Streptococcus salivarius*», «*Streptococcus gallolyticus*» и «*Streptococcus parasanguinis*» ($p > 0,4032$); «*Bacillus subtilis*», «*Bacillus ramosus*», «*Clostridium perfringens*» и «*Clostridium disporicum*» ($p > 0,4902$). В категориях «*Escherichia*», «*Enterococcus*», «*Klebsiella*», «*Raoultella*», «*Hafnia alvei*», «*Citrobacter freundii*», «*Enterobacter*», «*Morganella morganii*», «*Pseudomonas*» все показатели статистически значительно не различаются между двумя сравниваемыми группами ($p > 0,5926$).

Значимое различие в группе «Нет» по отношению к группе «Есть» обнаружено для показателей «*Proteus mirabilis*» (на 30,8%; $p = 0,0297$); «*Lactobacillus paracasei*» (на 43,6%; $p = 0,0141$); «*Lactobacillus brevis*» (на 87,5%; $p = 0,0072$); «*Pediococcus acidilactici*» (на 77,8%; $p = 0,0180$), что свидетельствует об избирательной ингибиции паразитами *Blastocystis spp.* лактобактерий в симбиотической микрофлоре.

Полученные данные близки к результатам экспериментальных исследований Ю.Ю. Красноперовой и соавт. [6], показавших, что в протозойно-бактериальных сообществах кишечной микробиоты при инвазиях бластоцистами происходит подавление роста облигатных бактерий, в частности *Lactobacillus acidophilus*, *Escherichia coli*, и активация роста лактозонегативных бактерий, в частности *Escherichia coli hem+*.

Исследования не имели методических и административных ограничений.

Заключение

Впервые на значительном статистическом материале подтверждено, что бессимптомное паразитоносительство является сильным биогенным детерминантом развития деструктивных изменений нормобиоты кишечника и формирования субклинической формы дисбиоза у «практически здорового контингента» населения. Установлено, что бессимптомное носительство *Blastocystis spp.* оказывает более выраженное антагонистическое воздействие на бактериальный состав кишечной микробиоты, чем присутствие *L. intestinalis*. Бластоцисты, в отличие от лямблий, более агрессивно формируют дисбиоз кишечника, что указыва-

Нам пишут

ет на большой патогенный потенциал *Blastocysts spp.* при формировании интестинальной патологии у человека.

Разработанные графические профили бактериальной микробиоты при протозойных инвазиях лямблиями и бластоцистами могут быть рекомендованы для внесения в клинические протоколы оказания медицинской помощи населению.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1, 12–16 см. References)

- Еноктаева О.В., Николенко М.В. Симбиотические взаимоотношения доминантных и ассоциативных микроорганизмов и макроорганизма. *Тюменский медицинский журнал*. 2018; 20(4): 11–2.
- Бухарин О.В. Симбиотические взаимоотношения микроорганизмов при инфекции. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2013; 90(1): 93–7.
- Бухарин О.В., Усвятцов Б.Я., Хлопко Ю.А. Медико-экологические аспекты микросимиоза человека. *Экология человека*. 2010; (8): 28–31.
- Сабельникова Е.А. Клинические аспекты дисбактериоза кишечника. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2011; (3): 111–6.
- Красноперова Ю.Ю., Мехманова С.Ш. Результаты изучения взаимодействия *Lactobacillus acidophilus* простейшими *Blastocystis hominis*. *Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина*. 2014; 12(3): 72–3.
- Ильина Н.А., Касаткина Н.М. Паразитоценоз кишечника гастроэнтерологических больных. *Современные наукоемкие технологии*. 2008; (1): 34–7.
- Ильина Н.А., Касаткина Н.М. Микроэкология кишечника при протозойных инвазиях. *Вестник Оренбургского государственного университета*. 2011; (12): 285–7.
- Вилкова Е.А., Ильина Н.А., Касаткина Н.М. Влияние аскаридозной инвазии на микрофлору кишечника поросят. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2016; (9–3): 110–2. <https://doi.org/10.18454/IRJ.2016.51.140>
- Карпеева Е.А., Ильина Н.А. Изменение состава микробиоценоза кишечника свиней в зависимости от степени вирулентности балантидий. *Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства*. 2015; 1(8): 427–9.
- Несвижский Ю.В., Воробьев А.А., Белоносов С.С. Анализ простых межмикробных взаимоотношений в микробиоценозе толстой кишки человека. *Вестник Российской Академии медицинских наук*. 1997; (3): 23–6.
- Шендеров Б.А., Кузнецова К.Ю., Сергиев В.П. Внеклеточные везикулы (экзосомы) и паразитарные болезни: типовые технологии изоляции и исследования. Часть 1. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2020; 9(4): 110–5. <https://doi.org/10.33029/2305-3496-2020-9-4-110-115>
- Шендеров Б.А. *Медицинская микробная экология и функциональное питание. Том 1. Микрофлора человека и животных и её функции*. М.: Грант; 1998.
- Rinninella E., Raoul P., Cintoni M., Franceschi F., Miggianno G.A.D., Gasbarrini A., et al. What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. *Microorganisms*. 2019; 7(1): 14. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7010014>
- Еноктаева О.В., Николенко М.В. Симбиотическое взаимодействие доминантного и ассоциативного микроорганизма и микроорганизма. *Тюменский медицинский журнал*. 2018; 20(4): 11–2. (in Russian)
- Бухарин О.В. Симбиотические взаимодействия микроорганизмов при инфекции. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2013; 90(1): 93–7. (in Russian)
- Бухарин О.В., Усвятцов Б.Я., Хлопко Ю.А. Медико-экологические аспекты человеческого микросимбиоза. *Экология человека*. 2010; (8): 28–31. (in Russian)
- Сабельникова Е.А. Клинические аспекты кишечной дисбиоза. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2011; (3): 111–6. (in Russian)
- Красноперова Ю.Ю., Мехманова С.Ш. Результаты изучения взаимодействия *Lactobacillus acidophilus* с бактериями *Blastocystis hominis*. *Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина*. 2014; 12(3): 72–3. (in Russian)
- Ильина Н.А., Касаткина Н.М. Интестинальный паразитоценоз у гастроэнтерологических больных. *Современные наукоемкие технологии*. 2008; (1): 34–7. (in Russian)
- Ильина Н.А., Касаткина Н.М. Интестинальный микробиоценоз при протозойных инвазиях. *Вестник Оренбургского государственного университета*. 2011; (12): 285–7. (in Russian)
- Вилкова Е.А., Ильина Н.А., Касаткина Н.М. Влияние аскаридозной инвазии на микробиоту кишечника поросят. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2016; (9–3): 110–2. <https://doi.org/10.18454/IRJ.2016.51.140> (in Russian)
- Карпеева Е.А., Ильина Н.А. Изменения в составе микробиоценоза кишечника поросят в зависимости от степени вирулентности балантидий. *Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства (Ставрополь)*. 2015; 1(8): 427–9. (in Russian)
- Несвижский Ю.В., Воробьев А.А., Белоносов С.С. Анализ простых межмикробных взаимоотношений в микробиоценозе толстой кишки человека. *Вестник Российской Академии медицинских наук*. 1997; (3): 23–6. (in Russian)
- Kolenbrander P.E., Andersen R.N., Blehert D.S., Eglund P.G., Foster J.S., Palmer R.J.Jr. Communication among oral bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2002; 66(3): 486–505. <https://doi.org/10.1128/MMBR.66.3.486-505.2002>
- Palmer R.J. Jr, Kazmerzak K., Hansen M.C., Kolenbrander P.E. Mutualism versus independence: strategies of mixed-species oral biofilms in vitro using saliva as the sole nutrient source. *Infect. Immun.* 2001; 69(9): 5794–804. <https://doi.org/10.1128/IAI.69.9.5794-5804.2001>
- Li J., Wang L., Hashimoto Y., Tsao C.Y., Wood T.K., Valdes J.J., et al. A stochastic model of *Escherichia coli* AI-2 quorum signal circuit reveals alternative synthesis pathways. *Mol. Syst. Biol.* 2006; 2: 67. <https://doi.org/10.1038/msb4100107>
- Fong K.P., Chung W.O., Lamont R.J., Demuth D.R. Intra- and interspecies regulation of gene expression by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* LuxS. *Infect. Immun.* 2001; 69(12): 7625–34. <https://doi.org/10.1128/IAI.69.12.7625-7634.2001>
- Burgess N.A., Kirke D.F., Williams P., Winzer K., Hardie K.R., Meyers N.L., et al. LuxS-dependent quorum sensing in *Porphyromonas gingivalis* modulates protease and haemagglutinin activities but is not essential for virulence. *Microbiology (Reading)*. 2002; 148(Pt. 3): 763–72. <https://doi.org/10.1099/00221287-148-3-763>
- Shenderov B.A., Kuznetsova K.Yu., Sergiev V.P. Extracellular vesicles (exosomes) and parasitic infections: typical isolation and research technologies. Part 1. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2020; 9(4): 110–5. <https://doi.org/10.33029/2305-3496-2020-9-4-110-115>
- Shenderov B.A. *Medical Microbial Ecology and Functional Nutrition. Volume 1. Human and Animal Microflora and Its Functions [Медицинская микробная экология и функциональное питание. Том 1. Микрофлора человека и животных и её функции]*. Moscow: Grant; 1998. (in Russian)