ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ ПРИ ДИСБАКТЕРИОЗЕ КИШЕЧНИКА

А. В. Куяров, Л. А. Сайгушева, Е. Ф. Дудко, А. А. Куяров

Целью настоящей работы явилось изучение и оптимизация экологической оценки бактериальных сообществ кишечника при заболеваниях, протекающих с дисбактериозом кишечника. Приведена экологическая оценка бактериальных сообществ кишечника при дисбактериозе. Выявлена закономерность в увеличении экологического расстояния между образуемыми сообществами, в которых изменение плотности *E. coli* указывает на начальные признаки несходства. Это может определять последовательность в тактике проведения коррекции нарушений микрофлоры кишечника.

Ключевые слова: кишечник, дисбактериоз, экологическая оценка

ВВЕДЕНИЕ

Представления о нормальном количественном и качественном составе микрофлоры желудочно-кишечного тракта претерпели в последнее время значительные изменения [1]. Заметно возрос интерес исследователей к оценке микрoэкологических систем при заболеваниях желудочно-кишечного тракта и эффективности его лечения. Включение пробиотиков в комплексное лечение рекомендовано при эрадикации у полиморбидных пациентов с сопутствующей патологией гепатобилиарной системы, а также с патологией толстого кишечника, протекающей с дисбактериозом кишечника [2].

Использование методов описательной экологии оказались неспособными ответить на важнейшие вопросы, касающиеся структуры экологических систем, функционирования, устойчивости, адаптации и эволюции. Поэтому все чаще встречаются публикации, посвященные количественному подходу к решению проблем экологии бактериальных сообществ [3].

В результате распространения количественных методов в микробиологических исследованиях появилась возможность оценивать плотность бактериальных популяций и их стабильность. Тем не менее, экологическая характеристика микрофлоры желудочно-кишечного тракта ограничивается, как правило, уровнем отдельно взятой популяции из сообщества и не затрагивает изучение конкретных бактериальных сообществ в общем биоценозе.

Широкий спектр микробных популяций, многообразие симбиотических отношений, а также адаптив-

ные изменения биологических свойств микроорганизмов, в частности, появление признаков агрессивности условно-патогенных микроорганизмов – все это определило необходимость разработки методических приемов для описания дисбиотических нарушений на основе принципов общей экологии.

Цель работы – оптимизация экологической оценки бактериальных сообществ кишечника при заболеваниях, протекающих с дисбактериозом кишечника.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследованиях использованы результаты 614 бактериологических анализов микрофлоры кишечника на дисбактериоз, проведенных на базе лаборатории «Фундаментальные проблемы здоровьесбережения коренных народов и пришлого населения Севера» Сургутского государственного университета (зав. лабораторией д. м. н., профессор А. В. Куяров) и лаборатории клинической микробиологии БУ ХМАО – Югры «Сургутская городская клиническая поликлиника № 1» (зав. лабораторией Е. Ф. Дудко) у лиц, направленных в баклабораторию на обследование с клиническими проявлениями заболеваний желудочно-кишечного тракта.

Идентификация микроорганизмов проводилась методом времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI TOF MS) с помощью анализатора микроорганизмов BioMerieux VITEK MS MALD1-TOF. Экстракция белков осуществлялась на одноразовом слайде с использованием готового матрикса для VITEK MS.

ECOLOGICAL ASSESSMENT OF BACTERIAL COMMUNITIES IN INTESTINE DYSBACTERIOSIS CASES

A. V. Kuyarov, L. A. Saigusheva, E. F. Dudko, A. A. Kuyarov

The study objective is the investigation and optimization of intestinal bacterial community assessment in patients suffering from disorders accompanied by intestinal dysbiosis. An ecological assessment of bacterial communities in intestinal dysbiosis is given. A law of increasing the ecological gap between two communities has been identified: the *E. coli* density variation indicates the first signs of disparity. It may govern the sequence of intestinal microflora disorder therapy.

Keywords: bowel, dysbiosis, environmental assessment.

Интерпретация результатов проводилась с использованием базы данных VITEK MS, состоящей из клинически значимых видов и расширенного классификатора спектров.

Изучение видового состава кишечной микрофлоры проведено с использованием дифференциально-диагностических питательных сред и критериев оценки степени дисбиотических нарушений кишечника в соответствии с ОСТ МЗ РФ «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» (2003) [4]. Для сравнения бактериологических сообществ в кишечнике применялись показатели коэффициента общности (КО) и процентного сходства (ПС), описанные Р. Уиттеркером [5] в общей экологии.

КО учитывает флористическое сходство по наличию или отсутствию видов в исследуемых сообществах и определялся по формуле:

$$КО = 2 S_{ab} / (S_a + S_b),$$

где S_a – число видов в описании А;

S_b – число видов в описании В;

S_{ab} – число видов в обоих описаниях.

Процентное сходство выражает количественное участие видов в сообществе, согласно формуле:

$$ПС = Emin(p_a \text{ или } p_b),$$

где p_a – выраженная в десятых долях значимость данного вида в описании А;

p_b – выраженная в десятых долях значимость того же вида в описании В.

Путем вычитания упомянутых коэффициентов из единицы можно получить меру несходства или расстояния. Эти меры показывают экологическое рассто-

яние, т. е. степень несходства видового состава сравниваемых сообществ и отражают их положение вдоль градиентов условий среды или других факторов [5].

Определяемые виды микроорганизмов характеризовали по 4 уровням их количества в биологической нише [6]. В качестве критериев количества микроорганизмов служили следующие показатели:

- число колонеобразующих элементов (КОЕ/г) меньше $lg 3$ – уровень индикаторного количества;
- КОЕ lg от 3 до 6 – значительное количество;
- КОЕ $lg 7$ и более – доминирующая флора;
- при количестве КОЕ больше $lg 10$ – как уровень высокодоминирующей флоры.

Результаты исследования разделены на следующие группы: 1-я группа – показатели эубиоза, 2-я группа – количество кишечной палочки с типичной *E. coli* (КПТ); бифидобактерии (БФБ).

Далее группы распределялись по сочетанию бактериальных сообществ кишечника, в том числе с кишечной палочкой с лактозонегативными *E. coli* (КПЛН) и с кокковыми формами микроорганизмов (КФМ).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведено экологическое сравнение наиболее часто встречающихся вариантов сообществ при нарушении эубиоза на уровне монокультур, двух и трех ассоциативных отклонений, результаты которого представлены в табл. 1–3.

Показатели процентного сходства сообществ при нарушении эубиоза на уровне монокультур приведены в табл. 1.

Таблица 1

Показатели значимости (p) и процентного сходства (ПС) сообществ при нарушении эубиоза на уровне монокультур

Наименование	Эубиоз, n = 87*		↑ КПТ, n = 145		↓ КПТ, n = 85		↓ БФБ, n = 56	
	$lg, x \pm m$	$p, \%$	$lg, x \pm m$	$p, \%$	$lg, x \pm m$	$p, \%$	$lg, x \pm m$	$p, \%$
КПТ	7,7 ± 0,2	7,5	8,3 ± 0,2	32,4	5,8 ± 0,2	0,1	7,7 ± 0,2	89,4
БФБ	9,0 ± 0,2	92,5	9,0 ± 0,2	67,6	9,0 ± 0,2	99,9	7,0 ± 0,2	10,6
ПС с эубиозом	-	-	-	75,1	-	92,6	-	48,1

Примечание: * – показатели эубиоза; КПТ – количество типичных *E. coli*; БФБ – бифидобактерии; ↑ – повышение; ↓ – понижение (далее по тексту и в таблицах).

Из табл. 1 следует, что наиболее выраженное сходство сообществ с эубиозом отмечено при снижении количества типичных *E. coli* (ПС = 92,6 %). Показатель плотности этих микроорганизмов переместился из группы доминирующей флоры в группу значительной плотности.

При варианте повышения количества *E. coli* в меньшей степени поддерживалось сходство количественного участия популяций в образующихся биоценозах (ПС = 75,1 %). Вариант со снижением бифидобактерий имел самый низкий показатель ПС (48,1 %) и в большей мере отражал другую сторону описания сообществ – меру несходства или экологического расстояния. В последнем случае несходство новообразуемых бактериологических сообществ составляло 0,52 или,

другими словами, экологическое расстояние увеличилось до указанной величины.

Сравнение описаний бактериальных сообществ при нарушении эубиоза на уровне 2-компонентных ассоциаций представлено в табл. 2, из которой следует, что процентное сходство наиболее часто встречающихся 2-компонентных ассоциативных отклонений было еще ниже по сравнению с моновидовыми и составляло от 8,9 % при одновременном уменьшении количества типичных *E. coli* и бифидобактерий до 48,2 % при уменьшении количества кокковых форм микроорганизмов и бифидобактерий.

Необходимо отметить значительные несходства тех сообществ, которые образовывались в результате изменения плотности высокодоминирующей флоры.

Как отмечалось выше, среди отклонений на уровне монокультур (табл. 1) самые низкие показатели процентного сходства сообществ были обусловлены снижением плотности именно бифидобактерий (48,1 %). В условиях 2-компонентных ассоциативных отклонений снижение плотности бифидобактерий также приводило к низким показателям сходства сообществ, особенно в сочетании с измененным содержанием типичных *E. coli* (8,9 % в сочетании с ↓КПТ и 9,6 % в сочетании с ↑ОККП).

Появление в бактериальном сообществе несвойственных для данной биотопки микроорганизмов

в 2-компонентных ассоциативных отклонениях сопровождалось уменьшением коэффициента общности до 0,8. Это указывало на несходство новообразованного бактериологического сообщества с эубиозом по причине изменения видового состава и увеличением экологического расстояния до 0,2 при поддержании ПС с эубиозом на уровне 42,4 % – 48,2 %.

Показатели коэффициента общности и процентного сходства при вариантах нарушения эубиоза на уровне 3-компонентных ассоциаций, представлены в табл. 3. Приведенные результаты указывают на широкое разнообразие возникающих бактериальных со-

Таблица 2

Показатели значимости (p), коэффициента общности (КО) и процентного сходства (ПС) при нарушении эубиоза на уровне 2-компонентных ассоциаций

Наименование	↑КПТ + ↑КПЛН, n = 31		↓КПТ + ↓БФБ, n = 27		↑КПТ + ↓БФБ, n = 21		↑КФМ + ↓БФБ, n = 13	
	lg, x ± m	p, %	lg, x ± m	p, %	lg, x ± m	p, %	lg, x ± m	p, %
КПТ	8,8 ± 0,2	31,0	6,5 ± 0,2	98,8	8,3 ± 0,2	97,9	7,7 ± 0,2	59,3
КПЛН	7,4 ± 0,2	3,9	-	-	-	-	-	-
КФМ	-	-	-	-	-	-	7,3 ± 0,2	33,4
БФБ	9,0 ± 0,2	65,1	5,0 ± 0,2	1,2	7,0 ± 0,2	2,1	7,0 ± 0,2	7,3
ПС с								
эубиозом	-	42,4	-	8,9	-	9,6	-	48,2
КО	-	0,8	-	1,0	-	1,0	-	0,8

Примечание: КПТ – количество типичных *E. coli*; КПЛН – лактозонегативные *E. coli*; КФМ – кокковые формы микроорганизмов; БФБ – бифидобактерии.

Таблица 3

Показатели коэффициента общности (КО) и процентного сходства (ПС) при вариантах нарушении эубиоза на уровне 3-компонентных ассоциаций

Наименование	↑ОККП + ↑ЛНКП + ↑ГКП, n = 15		↓ОККП + ↑ЛНКП + ↓БФБ, n = 14		↓ОККП + ↑КФБ + ↓БФБ, n = 14		↑КФМ + ↓БФБ + ↑ДрК, n = 6	
	lg, x ± m	p, %	lg, x ± m	p, %	lg, x ± m	p, %	lg, x ± m	p, %
КПТ	8,2 ± 0,3	22,9	5,7 ± 0,2	66,7	5,6 ± 0,2	43,5	7,7 ± 0,3	63,0
КПЛН	7,4 ± 0,2	1,1	5,2 ± 0,2	25,4	-	-	-	-
КПГ	7,4 ± 0,2	0,8	-	-	-	-	-	-
КФМ	-	-	-	-	5,0 ± 0,2	0,5	7,3 ± 0,2	35,5
БФБ	9,0 ± 0,3	76,2	5,0 ± 0,2	7,9	7,0 ± 0,2	56,0	5,0 ± 0,2	0,7
ДрК	-	-	-	-	-	-	5,1 ± 0,2	0,8
ПС с эубиозом	-	85,6	-	40,8	-	64,0	-	43,5
КО	-	0,67	-	0,80	-	0,80	-	0,67

Примечание: КПТ – количество типичных *E. coli*; КПЛН – лактозонегативные *E. coli*; КПГ – гемолитические *E. coli*; КФМ – кокковые формы микроорганизмов; БФБ – бифидобактерии; ДрК – количества грибов рода *Candida*.

обществ по их несходству с эубиозом. Из этих вариантов преобладали сообщества с одновременным изменением видового состава (КО составлял 0,67–0,80) при диапазоне плотности популяций от 40,8 % – до 85,6 %.

Так, при повышении количества типичных *E. coli* с одновременным появлением лактозонегативных и гемолитических вариантов *E. coli* образуется сообщество, имеющее относительно высокое сходство с эубиозом (если оценивать только по процентному сходству, ПС составлял 85,6 %) и низкий показатель сходства по коэффициенту общности (КО составлял 0,67). Следовательно, образованное сообщество приняло положение вдоль градиента разнообразия на большом экологическом расстоянии от эубиоза.

Полученные результаты экологического анализа бактериальных сообществ при формировании дисбактериоза в кишечнике согласуются с принципом индивидуальности видов, сформулированных Л. Раменским и Г. Глизоном [6]. Сущность этого принципа заключается в том, что каждый вид распределен по-своему, в соответствии со своими генетическими, физиологическими и связанными с жизненным циклом характеристиками, и по-своему относится как к физическим факторам среды, так и к другим видам. Поэтому авторы заключают, что в природе нельзя найти и двух видов, которые имели бы сходное распределение.

Наглядно этот принцип проявился при описании нарушений эубиоза в кишечнике, начиная с уровня монокультур, где не было двух новообразованных сообществ, которые имели бы сходное распределение.

В результатах исследования нашел подтверждение и принцип Л. Раменского и Г. Глисона о существовании континуума сообществ [6]. Согласно этому принципу большинство сообществ непрерывно переходят одно в другое, и это случается гораздо чаще, чем образование определенных, ясно разграниченных друг от друга сообществ. Если градиенты внешней среды дискретны или нарушены интенсивным воздействием, то возникает и дискретность сообществ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Микробиоценоз и здоровье человека : моногр. / под ред. В. А. Алешкина. М. : Династия. 2015. 576 с.
2. Лазебник Л. Б., Рустамов М. Н. Применение пробиотиков в комплексном лечении больных дуоденальной язвой, ассоциированной с НР // Классическая и прикладная гастроэнтерология : тез. докл. XII съезда науч. о-ва гастроэнтерологов России. Москва, 1–2 марта 2012 г. С. 19–20.
3. Мавзютов А. Р., Бондаренко В. М., Жеребцова Н. Ю., Валишин Д. А. Факторы патогенности оппортунистических энтеробактерий и их роль в развитии диареи // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2007. № 1. С. 89–96.
4. Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника. Отраслевой стандарт 91500.11.0004–2003. М., 2003.
5. Уиттекер Р. Сообщества и экосистемы. Пер. с англ. М. : Прогресс, 1980. 327 с.
6. Куяров А. А., Сайгушева Л. А. Системный анализ передачи информации в системе «неспецифические факторы защиты – воспаление – иммунные реакции» // Информатика и системы управления. 2009. № 4 (22). С. 31–33.

Так, изменение плотности *E. coli* обусловлено, вероятно, нарушениями в среде обитания и может рассматриваться как адаптивный процесс и начальный признак несходства бактериальных сообществ. Выделение ее лактозонегативных и гемолитических вариантов свидетельствует об увеличенном экологическом расстоянии и отражает, вероятно, дискретность градиентов внешней среды или влияние интенсивного воздействия (например, применение антибиотиков). Варианты нарушения эубиоза, связанные со снижением плотности бифидобактерий, являются характерными примерами наибольшего экологического расстояния между сообществами микроорганизмов вдоль градиента условий среды.

Полученная характеристика экологического расстояния образованных сообществ позволила определить последовательность в тактике применения терапевтических средств при коррекции микробной экологии. Исходной точкой контроля для оценки состояния биоценоза и его коррекции могут быть представители аэробной флоры и, в частности, *E. coli* и микроорганизмы, имеющие подобное количество в биологической нише как лактобациллы, представители которых наиболее часто используются в качестве пробиотических штаммов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты исследований позволили обосновать применение количественных показателей экологической оценки бактериологических сообществ при формировании дисбактериоза в кишечнике, что значительно повышает информативность результатов бактериологического исследования. Выявлена закономерность в увеличении экологического расстояния между образуемыми сообществами, в которых изменение плотности *E. coli* указывает на начальные признаки несходства, что может определить последовательность в тактике проведения коррекции микробной экологии кишечника.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Куяров Александр Васильевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией «Фундаментальные проблемы здоровьесбережения коренных народов и пришлого населения Севера», Сургутский государственный университет; e-mail: kujarov@mail.ru.

Сайгушева Лидия Александровна – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры физиологии Медицинского института, Сургутский государственный университет; e-mail: microsala@mail.ru.

Дудко Елена Федоровна – аспирант СурГУ, заведующая лабораторией клинической микробиологии «Сургутская городская клиническая поликлиника № 1»; e-mail: dudko_ef@admsurgut.ru.

Куяров Артем Александрович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории «Фундаментальные проблемы здоровьесбережения коренных народов и пришлого населения Севера», Сургутский государственный университет; e-mail: kuyarov82@mail.ru.

ABOUT AUTHORS

Kuyarov Alexander Vasilievich – Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Head, North Ingenious People and Migrants Public Health Laboratory, Surgut State University; e-mail: kujarov@mail.ru.

Saigusheva Lidiya Alexandrovna – PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Physiology, Surgut State University; e-mail: microsala@mail.ru.

Dudko Elena Fyodorovna – Doctorate Student, Surgut State University, Head, Clinical Microbiology Laboratory, Surgut City Polyclinic No. 1; e-mail: dudko_ef@admsurgut.ru.

Kuyarov Artyom Alexandrovich – PhD (Biology), Senior Researcher, North Ingenious People and Migrants Public Health Laboratory, Surgut State University; e-mail: kuyarov82@mail.ru.