

ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА ПОД ВЛИЯНИЕМ ДЕСТАБИЛИЗИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ БЛАСТОЦИСТНОЙ ИНВАЗИИ

В статье приводятся результаты исследования микробиоценоза кишечника при хронической экземе (120 обследованных). Полученные данные свидетельствуют о значительных дисбиотических сдвигах в микрорейзае кишечника и высокой степени инвазированности *Blastocystis hominis* (73,3%). Также были выявлены некоторые различия в обнаружении бластоцист в зависимости от возраста больных и продолжительности заболевания.

Введение

Организм человека представляет собой открытую экологическую нишу для множества разнообразных микроорганизмов, в норме заселяющие его биотопы. [5].

Микробы, колонизирующие поверхностный эпителий слизистых оболочек соответствующих экологических ниш, стали использовать организм человека как новую среду обитания, сформировав симбиотические ассоциации [1,2,4]. Учитывая определенное постоянство нормоценоза и его высокую чувствительность к изменениям внешней и внутренней среды нормальную микрофлору можно рассматривать как индикатор здоровья человека [6].

Известно, что на аутофлору кишечника влияет множество дестабилизирующих факторов эндогенной и экзогенной природы - инфекционные и соматические болезни, возраст, нарастание стрессовых воздействий, возраст, экстремальные условия, нарушение режима питания, медикаментозная терапия, широкое и часто бесконтрольное применение антибактериальных препаратов и др. [3]. Одним из таких дестабилизирующих факторов кишечного микробиоценоза может служить паразитарная инвазия, т.к. деструктивные изменения слизистой оболочки тонкого и толстого отделов кишечника под влиянием длительного паразитирования простейших и гельминтов приводят к нарушению процессов пищеварения и всасывания [8,10]. Однако роль бластоцистной инвазии в нарушении микрорейза и экологического баланса кишечника изучена недостаточно.

В связи с этим, целью настоящего исследования явилось выявление нарушений микробиоценоза кишечника под влиянием дестабилизирующего действия бластоцистной инвазии.

Материалы и методы

Было проведено обследование 120 больных экземой в возрасте от 14 до 90 лет, находящихся на стационарном лечении в областном кожно-венерологическом диспансере г.Ульяновска, с диагнозами: микробная экзема - 74 человека (61,7%) и истинная экзема - 46 человек (38,3%). Контрольную группу составили 75 практически здоровых лиц, репрезентативных по полу и возрасту.

Количественный и качественный анализ микрорейза кишечника проводили согласно приказа Минздрава России от 09.06.2003 №231 «Об утверждении отраслевого стандарта «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» (ОСТ 91500.11.0004-2003). Показатели концентрации микроорганизмов представлены в lg числа КОЕ бактерий на 1 г исследуемого материала. Для обработки данных использовался пакет прикладных программ для Microsoft Excel 2000.

Различные виды, входящие в структуру бактериальных экологических систем, по-разному взаимодействуют друг с другом и имеют присущие каждому из них типы популяционных колебаний. Для определения доли участия разных видов в структуре микробиоценоза использовали показатель постоянства на основе частоты встречаемости [7]. Определение показателя постоянства осуществляли по следующей формуле: $C=(p/P)*100\%$, где p – количество выборок, содержащих данный вид микроорганизма, P – общее число выборок. При этом доминирующими считали виды, встречающиеся более чем в 50% случаев, добавочными – от 25 до 50%, случайными – менее 25%.

Исследования по выделению и первичной идентификации изолятов *B. hominis* из биологического материала осуществляли на

базе бактериологической лаборатории городской клинической больницы №1 г. Ульяновска. Культивирование простейших *B.hominis* проводили с использованием сред Suresh CEM [11].

Результаты

Проведенные исследования выявили значительные изменения в составе нормофлоры кишечника под влиянием бластоцистной инвазии.

Наиболее выраженные изменения зафиксированы со стороны анаэробной флоры. Из представителей облигатно-анаэробной флоры кишечника обследованных больных отмечалось снижение бифидобактерий до значения $9,54 \pm 0,15$ КОЕ/г (в контроле - $10,78 \pm 0,08$ КОЕ/г; $p < 0,001$) и лактобактерий до значения $7,87 \pm 0,11$ КОЕ/г (в контроле - $8,86 \pm 0,09$ КОЕ/г; $p < 0,001$).

Показатель уровня содержания кишечной палочки с нормальной ферментативной активностью составил $7,96 \pm 0,12$ КОЕ/г ($8,89 \pm 0,06$ КОЕ/г в контроле; $p < 0,001$), лактозонегативной кишечной палочки - $2,61 \pm 0,34$ КОЕ/г ($0,28 \pm 0,14$ КОЕ/г в контроле; $p < 0,001$). Наряду с этим, характерным микроорганизмом для микропейзажа кишечника обследованных являлась кишечная палочка с гемолитическими свойствами в концентрации $2,32 \pm 0,35$ КОЕ/г (в контрольной группе не обнаружена).

Уровень содержания других представителей семейства *Enterobacteriaceae* и *Micrococcaceae*, таких как клебсиеллы, золотистый и эпидермальный стафилококки, составил $\lg 2,37 \pm 0,32$ КОЕ/г ($0,21 \pm 0,12$ КОЕ/г; $p < 0,001$), $\lg 1,47 \pm 0,24$ КОЕ/г (в контроле не обнаружен) и $\lg 1,86 \pm 0,28$ КОЕ/г ($0,91 \pm 0,27$ КОЕ/г в контроле; $p < 0,01$) соответственно. Помимо этого, в значительных количествах высевались и другие представители условно-патогенной флоры. Энтерококки были выявлены у 100% больных. Количественное содержание данных микроорганизмов составило $\lg 7,88 \pm 0,12$ КОЕ/г ($6,80 \pm 0,07$ КОЕ/г в контроле; $p < 0,001$).

Дрожжеподобные грибы р.*Candida* в норме обнаруживаются у здоровых детей и взрослых в незначительных количествах.

Однако при бластоцистной инвазии они были выявлены в 35% случаев со средним значением $\lg 2,26 \pm 0,29$ КОЕ/г ($\lg 0,43 \pm 0,17$ в контроле; $p < 0,001$).

Клостридии, роль которых велика в развитии эндогенной инфекции при снижении резистентности макроорганизма, обнаруживались в повышенном содержании - $3,13 \pm 0,23$ КОЕ/г ($0,80 \pm 0,23$ КОЕ/г в контроле, $p < 0,001$).

Анализ полученных данных позволил считать, что доминирующими в микропейзаже кишечника лиц с хронической экземой являются бифидобактерии, лактобактерии, типичные кишечные палочки, энтерококки и клостридии ($C=100,0$; $C=100,0$; $C=98,3$; $C=100,0$; $C=65,0\%$ соответственно) (табл. 1).

Значения данного индекса для представителей микрофлоры кишечника контрольной группы представлены в таблице 2.

В составе микрофлоры кишечника больных экземой, как и в контрольной группе, доминирующими остаются бифидобактерии, лактобактерии, типичные кишечные палочки, энтерококки, также добавляются условно-патогенные клостридии, в контрольной группе входящие в состав случайных микроорганизмов ($C=14,7\%$). Изменения иерархии отмечаются и в структуре дополнительных видов. Значительно возрастает показатель постоянства эпидермального стафилококка - с 13,3% до 28,3%, лактозонегативной кишечной палочки - с 5,3% до 34,2%, клебсиелл - с 4,0% до 33,3%, грибов р. *Candida* с 8,0% до 35,0%. Появляются добавочные и случайные виды - гемолитические кишечные палочки ($C=26,7\%$) и золотистый стафилококк ($C=24,2\%$), не встречающиеся в микробиоценозе контрольной группы.

Таким образом, ценотип кишечника больных экземой формируют бифидобактерии, лактобактерии, кишечные палочки с нормальной ферментативной активностью, энтерококки, а также клостридии. Появление в микробиоценозе больных резидентных видов клостридий в ассоциации с представителями облигатной флоры свидетельствует о развитии дисбиоза кишечника.

Таблица 1. Показатель постоянства микроорганизмов кишечника больных экземой

№ п/п	Микроорганизмы	Показатель постоянства, %
Доминирующие виды		
1	Бифидобактерии	100,0
2	Лактобактерии	100,0
3	Энтерококки	100
4	Кишечные палочки с нормальной ферментативной активностью	98,3
5	Клостридии	65,0
Добавочные виды		
1	Дрожжеподобные грибы р. <i>Candida</i>	35,0
2	Лактозонегативные кишечные палочки	34,2
3	Клебсиеллы	33,3
4	Стафилококк эпидермальный	28,3
5	Гемолитические кишечные палочки	26,7
Случайные (транзиторные виды)		
1	Стафилококк золотистый	24,2

Таблица 2. Структура кишечного микробиоценоза контрольной группы

№ п/п	Микроорганизмы	Показатель постоянства, %
Доминирующие виды		
1	Бифидобактерии	100,0
2	Лактобактерии	100,0
3	Энтерококки	100,0
4	Кишечные палочки с нормальной ферментативной активностью	100,0
Случайные (транзиторные виды)		
1	Клостридии	14,7
2	Стафилококк эпидермальный	13,3
3	Дрожжеподобные грибы р. <i>Candida</i>	8,0
4	Лактозонегативные кишечные палочки	5,3
5	Клебсиеллы	4,0

Проведенные исследования по выявлению простейших *Blastocystis hominis* показали, что из 120 обследованных больных экземой у 88 (73,3%) человек были обнаружены бластоцисты. Вместе с тем, лица контрольной группы инвазированы *B. hominis* лишь в 5% случаев (4 человека).

Следует отметить, что частота встречаемости бластоцист в зависимости от пола обследованных больных экземой незначительно различалась. Среди обследованных мужчин *Blastocystis hominis* обнаруживались несколько чаще – 59 человек (75,6%), чем среди женщин – 29 человек (69,0%).

В зависимости от формы заболевания проведенные исследования показали следующие результаты (табл. 3).

Таким образом, инвазированность бластоцистами при различных формах экземы была неодинаковой. Наибольшее количество простейших отмечалось в фекалиях больных с истинной экземой – 87,0%. Значительно меньше их было у больных с микробной экземой – 64,9%.

Кроме того, анализ частоты выявляемости простейших в зависимости от возрастной структуры также показал значительные различия (рис. 1). В 1-й возрастной группе (10-20 лет) частота встречаемости бластоцист была самой низкой и составила 50,0%. Во 2-й (21-30 лет) и 3-й (31-40 лет) группах частота встречаемости *B. hominis* была больше и составила 69,2% и 64,3% соответственно. Наиболее часто бластоцисты обнаружи-

Таблица 3. Показатели инфицированности обследованных больных бластоцистами в зависимости от формы заболевания

№	Форма заболевания	Количество обследованных		Количество инфицированных	
		Абс.	%	Абс.	%
1	Истинная экзема	46	38,3	40	87,0
2	Микробная экзема	74	61,7	48	64,9
3	Контрольная группа	75	100,0	4	5,3

вались в 4-й возрастной группе (более 40 лет) – в 79,0% случаев.

Значительные изменения были обнаружены при анализе степени инвазированности бластоцистами в группах с различной продолжительностью заболевания.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что частота встречаемости у больных с продолжительностью заболевания до 1 года составила 67,2%, у больных со стажем от 1 до 5 лет частота встречаемости данных микроорганизмов была реже (70,0% случаев). Наиболее часто – в 87,5% случаев – *Blastocystis hominis* обнаруживали в фекалиях больных со стажем заболевания более 5 лет.

В ходе проведенных исследований были выявлены две основные морфологические формы *B. hominis*: вакуолярная и гранулярная.

Бластоцисты вакуолярной формы в препаратах из фекалий больных обнаруживались в 43,2%, на гранулярную приходилось 19,3%. Одновременное выявление вакуолярных и гранулярных форм составило 37,5% среди обследованных больных.

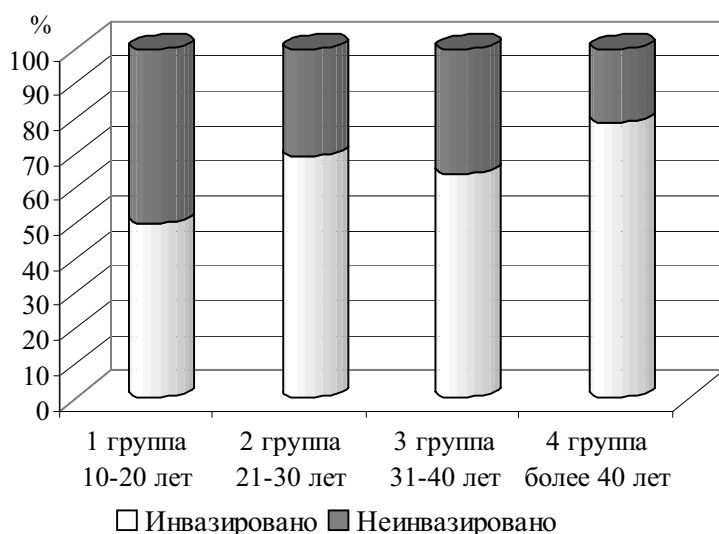


Рисунок 1. Инвазированность бластоцистами в возрастных группах

Размеры бластоцист варьировали в широких пределах, что позволило выделить следующие группы простейших: первая группа – размер простейших менее 6 мкм (22,7%); вторая группа – размер бластоцист от 6 до 15 мкм (71,6%); третья группа – размер более 15 мкм (5,7%). Полученные результаты свидетельствуют о том, что среди клинических изолятов *Blastocystis hominis* преобладали клетки размером от 6 до 15 мкм.

Характерной морфологической особенностью вакуолярной формы бластоцист являлось наличие центрального тела (ЦТ), занимающего большую часть клетки. Полученные результаты показали, что на долю бластоцист с центральным телом, занимающим от 70-90% объема клетки, приходилось 68,0% от общего количества бластоцист вакуолярной формы в клиническом материале. Нами установлено, что 27,8% составили простейшие, где ЦТ занимало около 90% объема клетки простейшего и 4,2% простейшие, ЦТ которых занимало менее 70% объема клетки.

Цитоплазма располагалась очень тонким слоем по периферии клетки. В цитоплазме располагались ядра, количество которых колебалось от 1 до 15 и более. Обычно их количество в препаратах из фекалий варьировало от 1 до 6 с преобладанием клеток, содержащих 1-4 ядра (78,9%).

Обсуждение

Несмотря на то, что в течение последних лет получены данные о значительной роли паразитарных инвазий кишечника (гельминтоз, лямблиоз) в патогенезе хронических заболеваний,

являющихся запускающим механизмом для иммунопатологических изменений и поддерживающих его хроническое течение [9], роль *Blastocystis hominis* (или бластоцистной инвазии) в нарушении микроэкологического баланса кишечника изучена недостаточно.

Проведенные исследования микробиоценоза кишечника больных экземой выявили значительные дисбиотические сдвиги микрорейзажа кишечника, характеризующиеся значительным снижением содержания облигатной микрофлоры (бифидобактерии, лактобактерии, типичные эшерихии) на фоне повышенного количества представителей факультативной и транзитной микробиоты, таких как клебсиеллы, клостридии, дрожжеподобные грибы р.*Candida*. Наряду с этим, характерными микроорганизмами для микрорейзажа кишечника обследованных являлись кишечная палочка с гемолитическими свойствами и золотистый стафилококк, отсутствующие в контрольной группе.

Микроэкологический баланс кишечника определяется горизонтальной и вертикальной иерархиями микроорганизмов. Одним из признаков, определяющих пространственную структуру сообщества, является показатель постоянства. Данный показатель позволяет установить типологию доминант биоценоза. Его определение позволило выявить иерархические изменения нормоценоза кишечника на фоне бластоцистной инвазии, которая явилась дестабилизирующим фактором аутомикрофлоры.

Выраженный дисбаланс микробной экосистемы кишечника проявлялся в группе больных и высокой степенью инвазированности условно-патогенным простейшим - *Blastocystis hominis* (73,3%). Значительных различий в обнаружении бластоцист среди мужчин и женщин обнаружено не было. Однако выявлены некоторые различия в зависимости от возраста больных и продолжительности заболевания. Наблюдается увеличение инвазированности этими возбудителя-

ми у больных старше 40 лет. В препаратах из фекалий были обнаружены две основные морфологические формы простейших *Blastocystis hominis*: вакуолярная и гранулярная. Характерной морфологической особенностью вакуолярной формы бластоцист являлось наличие центрального тела (ЦТ), занимающего большую часть клетки.

Выводы:

1. У больных хронической экземой обнаружена высокая степень инвазированности условно-патогенным простейшим *Blastocystis hominis* (73,3%), наиболее выраженная при истинной экземе – 87,0% (при микробной форме экземы – 64,9%). Частота встречаемости простейших увеличивалась в старших возрастных группах (старше 40 лет) и находилась в прямой зависимости от продолжительности данного заболевания.

2. Обнаружены две основные морфологические формы простейших *Blastocystis hominis*: вакуолярная и гранулярная. Характерной структурной особенностью вакуолярной формы бластоцист являлось наличие центрального тела (ЦТ), занимающего большую часть клетки.

3. Высокая частота обнаружения бластоцист сопровождалась значительными дисбиотическими сдвигами микрорейзажа кишечника, характеризующимися снижением содержания облигатной микрофлоры (бифидобактерии, лактобактерии, типичные эшерихии) на фоне повышенного количества представителей факультативной и транзитной микробиоты, таких как клебсиеллы, клостридии, дрожжеподобные грибы р.*Candida*, а также появлением патогенных кишечной палочки и золотистого стафилококка, отсутствующих в контрольной группе.

4. Изменения ценопита характеризовались появлением в группе доминирующих видов условно-патогенных микроорганизмов и переходом случайных видов в состав добавочных (25 <С<50%).

Список использованной литературы:

1. Барановский А.Ю., Кондрашина Э.А. Дисбактериоз и дисбиоз кишечника. – Санкт-Петербург: «Питер», 2000. – 209 с.
2. Бондаренко В.М. Факторы патогенности бактерий и их роль в развитии инфекционного процесса // ЖМЭИ. – 1999. – №5. – С. 34–39.
3. Кочеров В.И., Перегудов С.И., Ханевич М.Д. Синдром избыточной колонизации тонкой кишки // Антибиотики и химиотерапия. – 1992. – Т.37, №3. – С.39–44.

4. Лобзин Ю.В., Макарова В.Г. Дисбактериоз кишечника (клиника, диагностика, лечение). Рук-во для врачей. – С-Пб.: «Фолиант», 2003. – 253 с.
5. Несвижский Ю.В., Воробьев А.А., Белоносов С.С. Анализ простых межмикробных взаимоотношений в микробиоценозе толстой кишки человека // Вестн. РАМН. – 2002. – №3. – С. 23–26.
6. Савченко С.П. Подавление адгезивных свойств мукозной микрофлоры при язвенной болезни // Антибиотики. – 1999. – Т.29. - №2. – С. 127–129.
7. Сытник С.И. Экологический подход к оценке кожной микрофлоры // Антибиотики и химиотерапия. – 1989. – Т.34, №6. – С.466-472.
8. Торопова Н.П., Сафронова Н.А., Гордеева Л.М. Паразитарная флора кишечника у детей, страдающих атопическим дерматитом. Аспекты диагностики и патогенеза // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 1998. – №2. – С. 27–32.
9. Espinoza L.R., van Solingen R. Insights into the pathogenesis of psoriasis and psoriatic arthritis // Am. J. Med. Sci. – 1998. – V. 316. – P. 271–276.
10. Hendel L., Hendel J. Intestinal function and methotrexate absorption in psoriatic patients // Clin. Exp. Dermatol. – 1982. – V. 7. – P. 491–498.
11. Suresh K., Ng G.C., Ho L.C., Yap H. Differentiation of the various stages of *Blastocystis hominis* by acridine orange staining // Int. J. Parasitol. – 1994. – V. 24. – P. 605–606.

Статья рекомендована к публикации 16.03.07