

УДК 612.36-008.87:612.017.2

Дриндак В.Б.

ДИНАМІКА ЗМІН ЯКІСНОГО ТА КІЛЬКІСНОГО СКЛАДУ МІКРОБІОЦЕНОЗУ ПОРОЖНИНИ ТОВСТОЇ КИШКИ ПРАКТИЧНО ЗДОРОВИХ ЛЮДЕЙ БУКОВИНИ У ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД СЕЗОНУ РОКУ

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

Резюме. В роботі представлена динаміка змін якісного та кількісного складу мікробіоценозу порожнини товстої кишки практично здорових людей Буковини у залежності від сезону року. Показана стабільність якісного складу мікрофлори порожнини товстої кишки практично здорових людей, який представлений автохтонними облигатними анаеробними (*Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Peptostreptococcus*) та аеробними бактеріями (*Escherichia*). Кількісний склад автохтонної облигатної анаеробної та факультативно анаеробної мікрофлори змінюється у залежності від пори року. Змінам піддається додаткова та залишкова мікрофлора.

Ключові слова: нормальна мікрофлора, товста кишка, сезони року.

Вступ. За даними ВООЗ у світі щорічно реєструється від 68,4 млн. до 275 млн. діарейних захворювань [7]. Однією з причин поширення кишкової інфекції є зростання спектру мікроорганізмів, що викликають розвиток інфекційних процесів. Крім того, існує ще цілий ряд чинників, які сприяють підвищенню вірулентності умовно патогенної мікрофлори. Провідне місце серед цих чинників посідає порушення якісного та кількісного складу мікробіоти шлунково-кишкового тракту – формування кишкового дисбактеріозу [6].

Кишечні інфекції завжди формуються на фоні порушеного видового складу, особливо, популяційного рівня автохтонних облигатних та факультативних анаеробних мікроорганізмів цього біотопу [1]. Деяко менше значення мають порушення якісного та кількісного складу факультативних аеробних та анаеробних представників мікробіоти [2]. Діагностика таких порушень базується на знаннях якісного складу та популяційного рівня мікробіоти порожнини товстої кишки у практично здорових людей. Тому, знання якісного та кількісного складу мікробіоти порожнини товстої кишки у практично здорових людей у певні сезони року є необхідним для визначення ступеня порушення мікробіоти будь якого сезону року [4].

Мета дослідження. Мета дослідження заключається у встановленні якісного та кількісного складу мікробіоти порожнини товстої кишки практично здорових людей Буковинського краю у залежності від сезону року.

Матеріали та методи. Обстеження проводилось у 181 практично здорової людини, серед яких 146 жінок і 35 чоловіків віком від 17 до 30 років, які вважали себе здоровими та не хворіли протягом останніх 6-ти місяців і показники кишкової мікрофлори підтвердили стан здоров'я [3]. Відбирали вміст порожнини товстої кишки для дослідження із середньої порції і доставляли негайно у лабораторію для бактеріологічного дослідження. Термін від взяття матеріалу до його дослідження був не більше 2-х годин, тільки в тих випадках враховували результати дослідження. На стерильному вошаному папері (0,1 гр.) вміст порожнини товстої кишки (середню порцію) у стерильних умовах зважували і додавали до нього 9,9 мл стерильного фізіологічного розчину натрію хлориду, одержуючи розведення 1:10 (10^{-1}). Із цієї суміші готували ряд послідовних десятикратних розведень з 10^{-2} до 10^{-11} у стерильному ізотонічному розчині натрію хлориду. Стерильною мікропіпеткою із кожного розведення відбирали 0,1 мл зависі мікробів і проводили посіви на сектори оптимальних для кожно-

го виду мікроба поживних середовищ. Факультативно анаеробні та аеробні мікроорганізми інкубували у термостаті (37°C) протягом 24–48 годин, облигатні анаеробні бактерії вирощували у стаціонарному анаеростаті "CO₂ – incubator T-125" фірми ASSAB (Швеція) протягом 5–7 діб, інколи до 14 діб. Після цього підраховували однотипні колонії, з яких одержували чисті культури облигатних і факультативних анаеробних та аеробних мікроорганізмів. Проводили ідентифікацію чистих культур за морфологічними, тинкторіальними, культуральними та біохімічними властивостями (Хоулд Дж., Крич Н., Снит Н. и др., 1997).

Враховуючи те, що число бактерій та дріжджоподібних грибів роду *Candida* на одиницю маси (грам) сягає мільйонів та мільярдів, для зручності викладу матеріалу та статистичного опрацювання використовували десяткові логарифми кількісного показника (lg КУО/г) [5].

За загальновідомими методами математично-статистичного аналізу з використанням критерію *t* при нормальному розподілі величин, що аналізуються одержані цифрові результати опрацювали. Вірогідною різницею між порівняльними величинами вважали при $P \leq 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. У попередніх роботах показано, що до головної мікробіоти порожнини товстої кишки у практично здорових людей Буковини відносяться бактерії родів *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, а також аеробні бактерії роду *Escherichia*. Додаткова мікробіота представлена пептококом, окремими ентеробактеріями (протейми, клебсієлами), ентерококами, стафілококами та дріжджоподібними грибами роду *Candida*. Такі взаємовідносини у мікробіоті піддаються змінам за рахунок формування імунодефіцитного стану або захворювання, негативного впливу харчів, факторів зовнішнього середовища (клімату, погоди тощо), інфекційних та неінфекційних захворювань та ін., що засвідчує про можливість змін якісного та кількісного складу мікробіоти у залежності від пори року. Результати вивчення якісного складу мікробіоти порожнини товстої кишки у практично здорових людей у залежності від пори року наведені у таблиці 1.

Одержані та наведені результати у табл. 1, направлені на встановлення якісного складу мікробіоти порожнини товстої кишки,

засвідчують про стабільність виділення представників головної мікрофлори кишечника (бактерій роду *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, та *Escherichia*) у кожному сезоні року. Відмічаються зміни виявлення у порожнині товстої кишки умовно патогенних ентеробактерій (бактерій роду *Proteus* і *Klebsiella*) та стафілококів. Ці бактерії виявляються у порожнині товстої кишки у практично здорових людей у літній період. З нашої точки зору, це пов'язано з тим, що в літньому періоді знижується відносна кількість В-лімфоцитів, а також, що є більш важливим, знижується концентрація у крові імуноглобулінів основних класів (IgM, IgG, IgA), а також секреторного імуноглобуліну А (sIg A), який є головним регулятором мікробіоти, що персистує на слизовій оболонці будь-якого біотопу. Результати вивчення кількісного складу мікробіоти порожнини товстої кишки у практично здорових людей у залежності від сезону (пори) року наведені у таблиці 2.

Одержані та наведені у табл. 2 результати мікробіологічного дослідження вмісту порожнини товстої кишки практично здорових людей (сезонні річні показники), показують, що за популяційним рівнем, коефіцієнтом кількісного домінування та коефіцієнтом значущості до домінуючих мікробів цього біотопу відносяться автохтонні облигатні анаеробні біфідобактерії, лактобактерії, бактероїди, пептострептококи та факультативно анаеробні кишкові палички. Ці організми входять до представників головної мікробіоти біотопу. Умовно патогенні пептокок, ентеробактерії (протеї, клебсієли), стафілокок та дріжджоподібні гриби роду *Candida* за цими показниками відносяться до допоміжної та залишкової мікрофлори порожнини товстої кишки практично здорових людей.

У зимовий період настають зміни тільки серед допоміжної та залишкової мікрофлори. Основні показники (популяційний рівень, коефіцієнт кількісного домінування та коефіцієнт значущості) головної мікробіоти у цей період не змінюються. Зміни стосуються додаткової супутньої мікрофлори. Статистично достовірно змінюється зимою кількість умовно патогенного протею та пептокока. При цьому елімінують із порожнини товстої кишки інші (клебсієли) ентеробактерії. У цей період за основними показниками мікробіота порожнини товстої кишки являється найбільш бла-

ТАБЛИЦЯ 1

ЯКІСНИЙ СКЛАД МІКРОБІОТИ ПОРОЖНИНИ ТОВСТОЇ
КИШКИ ПРАКТИЧНО ЗДОРОВИХ ЛЮДЕЙ У ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД СЕЗОНУ РОКУ

Сезони року	Статистичний показник	Біфідобактерії	Лактобактерії	Бактероїди	Пептострептококи	Пептокок	Кишкова паличка	Протеї	Клебсієли	Ентерококи	Стафілококи	* Candida
Середньорічні показники (контрль)	n	181	181	181	156	37	181	120	3	5	29	52
	І.П.	100,0	100,0	100,0	86,2	20,4	100,0	66,3	0,7	2,8	16,0	28,7
	Ч.З.	0,16	0,16	0,16	0,14	0,03	0,16	0,11	<0,01	0,01	0,03	0,05
Зима (n=50)	n	50	50	50	43	4	50	30	0	0	2	16
	І.П.	100,0	100,0	100,0	86,0	8,0	100,0	60,0	-	-	4,0	32,0
	Ч.З.	0,17	0,17	0,17	0,15	0,01	0,17	0,10	-	-	0,01	0,05
	P	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	-	-	>0,05
Весна (n=56)	n	56	56	56	50	8	56	33	0	0	2	8
	І.П.	100,0	100,0	100,0	89,3	14,3	100,0	58,9	-	-	3,6	14,3
	Ч.З.	0,17	0,17	0,17	0,15	0,02	0,17	0,10	-	-	0,01	0,02
	P	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	-	-	>0,05
Літо (n=28)	P ₁	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	-	-	>0,05	>0,05
	n	28	28	28	24	11	28	24	3	0	15	13
	І.П.	100,0	100,0	100,0	85,7	39,3	100,0	85,7	10,7	-	53,6	46,4
	Ч.З.	0,14	0,14	0,14	0,12	0,05	0,14	0,12	0,01	-	0,07	0,06
	P	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	-	<0,05	>0,05
	P ₁	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	-	-	<0,05	>0,05
Осінь (n=47)	P ₂	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	-	-	<0,05	>0,05
	n	47	47	47	39	14	47	33	0	5	10	15
	І.П.	100,0	100,0	100,0	83,0	29,8	100,0	70,2	-	10,6	21,3	31,9
	Ч.З.	0,15	0,15	0,15	0,13	0,05	0,15	0,11	-	0,02	0,03	0,05
	P	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	-	>0,05	>0,05
	P ₁	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	-	-	>0,05
Осінь (n=47)	P ₂	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	-	-	>0,05	>0,05
	P ₃	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	-	-	>0,05	>0,05
	P ₃	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	-	-	>0,05	>0,05

Примітки:

n – кількість практично здорових людей, у який виявлений мікроб

І.П. – фндекс постійності (%)

Ч.З. – частота зустрічання мікроба

P – порівняння з контролем

P₁ – порівняння з показником у зимовий період

P₂ – порівняння з показником у весняний період

P₃ – порівняння з показником у літньому періоді

* Candida – дріжджоподібні гриби роду Candida

гоприемною у порівнянні з іншими порами року (рис. 1).

Весняний період характеризується незмінною кількістю мікробіоти, що відноситься до головної мікрофлори порожнини товстої кишки, окрім зменшення популяційного рівня пептострептокока. Разом з тим, зростає кількість умовно-патогенних ен-

теробактерій (протеїв), хоча незначно зменшується кількість кишкової палички. Спостерігається тенденція до збільшення на 6,4% кількості стафілококів та пептокока на 2,8%. Таким чином, у весняний період спостерігається незначне погіршення кількісного складу мікробіоти порожнини товстої кишки практично здорових людей.

ТАБЛИЦЯ 2

КІЛЬКІСНИЙ СКЛАД (lg КУО/г) МІКРОБІОТИ ПОРОЖНИНИ ТОВСТОЇ КИШКИ ПРАКТИЧНО
ЗДОРОВИХ ЛЮДЕЙ У ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД СЕЗОНУ РОКУ

Сезони року	Статистичні показники	Біфідо-бактерії	Лакто-бактерії	Бактероїди	Пепто-стрептококи	Пептокок	Кишкова паличка	Протеї	Клебсісли	Ентерококи	Стафіло-коки	Candida *
Середньорічні показники (контроль)	M	8,87	7,38	9,12	8,41	8,23	9,13	3,51	0,99	8,89	5,02	4,73
	±m	0,13	0,11	0,10	0,13	0,10	0,10	0,09	0,16	0,05	0,15	0,16
	ККД	121,5	101,1	124,9	99,3	23,0	125,1	32,1	1,6	3,4	11,0	6,9
	КЗ	0,19	0,16	0,20	0,16	0,03	0,20	0,05	0,01	0,01	0,02	0,03
Зима (n=181)	M	8,83	7,46	9,31	8,55	7,84	9,33	3,08	0	0	5,10	4,87
	±m	0,37	0,23	0,07	0,10	0,03	0,04	0,18	-	-	0,50	0,16
	ККД	123,5	104,3	130,2	102,8	8,8	130,5	11,1	-	-	28,5	14,8
	КЗ	0,21	0,18	0,22	0,18	0,01	0,22	0,04	-	-	0,01	0,01
Весна (n=56)	P	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	<0,05	-	-	>0,05	>0,05
	M	8,69	7,36	9,08	8,20	8,46	9,06	3,60	0	0	5,34	4,67
	±m	0,32	0,20	0,08	0,10	0,36	0,08	0,18	-	-	0,26	0,32
	ККД	121,4	102,8	126,8	102,3	16,9	126,5	29,6	-	-	2,7	9,3
Літо (n=28)	КЗ	0,21	0,18	0,22	0,17	0,02	0,22	0,05	-	-	0,01	0,01
	P	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	-	-	>0,05	<0,05
	P ₁	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05	-	-	>0,05	>0,05
	M	8,57	7,40	9,18	8,62	8,20	9,31	3,75	6,99	0	5,11	4,95
Осінь (n=47)	±m	0,43	0,24	0,14	0,09	0,27	0,11	0,28	0,16	-	0,14	0,17
	ККД	118,9	102,6	127,3	102,5	44,7	129,1	44,6	9,7	-	38,0	31,9
	КЗ	0,17	0,14	0,18	0,14	0,06	0,18	0,06	0,01	-	0,05	0,04
	P	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	-	>0,05	<0,05
Осінь (n=47)	P ₁	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	-	-	>0,05	>0,05
	M	9,21	7,26	8,94	8,73	8,16	8,90	3,42	0	8,89	4,83	4,50
	±m	0,32	0,31	0,16	0,16	0,18	0,15	0,21	-	0,05	0,37	0,22
	ККД	126,5	99,7	122,8	99,5	35,2	122,3	33,0	-	12,9	14,1	19,7
Осінь (n=47)	КЗ	0,19	0,15	0,18	0,16	0,06	0,18	0,05	-	0,02	0,02	0,03
	P	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	-	>0,05	>0,05	<0,05
	P ₁	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	-	-	>0,05	>0,05
	P ₂	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	-	-	>0,05	>0,05
Осінь (n=47)	P ₃	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	-	-	>0,05	>0,05
	P ₃	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	-	-	>0,05	>0,05

Примітки:

M – показник популяційного рівня (в lg КУО/г)

±m – відносний показник популяційного рівня

ККД – коефіцієнт кількісного домінування

КЗ – коефіцієнт значущості

P – порівняння з контролем

P₁ – порівняння з даними біфідобактерійного типуP₂ – порівняння з даними лактобактерійного типуP₃ – порівняння з даними бактероїдного типу

* Candida – дріжджоподібні гриби роду Candida

У літній період спостерігається подальше погіршення кількісного складу порожнини товстої кишки практично здорових людей за рахунок зменшення автохтонних облигатних

анаеробних бактерій роду *Bifidobacterium* на 3,5%, зростання умовно-патогенних бактерій роду *Proteus* на 6,2%, *Escherichia* на 2%, *Staphylococcus* на 1,8%, дріжджоподібних

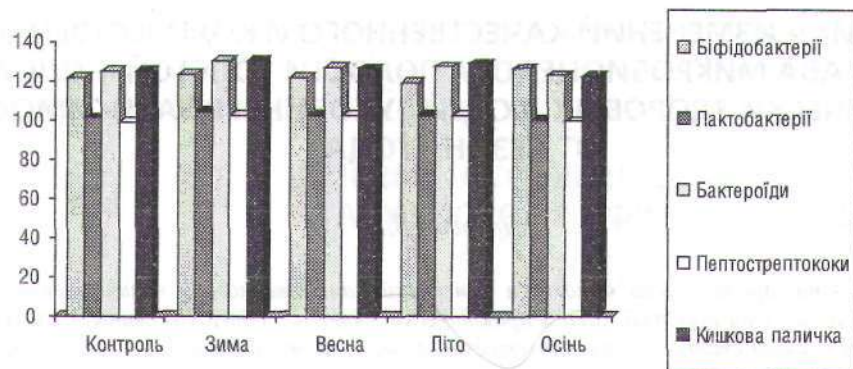


Рис.1. Коефіцієнт кількісного домінування представників головної мікробіоти порожнини товстої кишки у залежності від пори року: (зима, весна, літо, осінь)

грибів роду *Candida* на 4,9%. Особливо небезпечна контамінація кишечника умовно-патогенними ентеробактеріями (бактеріями роду *Klebsiella*), які досягають високого популяційного рівня.

Таким чином, починаючи з осіннього періоду настає погіршення кількісних показників, коефіцієнтів кількісного домінування резидентної мікрофлори порожнини товстої кишки практично здорових людей.

Осінью настає покращення кількісних показників та аналітичних коефіцієнтів як облигатної, так і факультативної мікрофлори. При цьому зростає кількість найбільш фізіологічно корисних автохтонних облигатних анаеробних біфідобактерій на 3,8–7,5% у залежності від пори року, pojawiaються в окремих людей автохтонні факультативні корисні бактерії роду *Enterococcus*. На цьому фоні формується тенденція до зменшення кількості факультативних та умовно патогенних стафілококів на 3,9%, пептокока – на 3,7%, бактерій роду *Proteus* на 3,2%, елімінація умовно патогенних бактерій (клебсіел). Покращення стану практично здорових людей продовжується у зимовий період, де, як згадувалось вище, якісний та кількісний склад мікробіоти є найкращим.

Таким чином, результати проведених досліджень, направлених на вивчення якісного та кількісного складу мікробіоти порожни-

ни товстої кишки практично здорових людей, показують стабільність якісного складу автохтонних облигатних анаеробних бактерій родів *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Peptostreptococcus* та факультативно анаеробних бактерій роду *Escherichia*. Змінам піддається додаткова (супутня) та залишкова мікрофлора. Кількісний склад, як автохтонної облигатної анаеробної, факультативно анаеробної мікрофлори, так і супутньої та залишкової мікрофлори змінюється у залежності від пори року.

Висновки.

1. Якісний склад автохтонних облигатних анаеробних бактерій родів *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Peptostreptococcus*, та аеробних бактерій роду *Escherichia*, які відносяться до головної мікробіоти порожнини товстої кишки – стабільний, і не змінюється протягом року. Видовий склад супутньої мікрофлори залежить від пори року.
2. Кількісний склад головної та супутньої мікробіоти порожнини товстої кишки практично здорових людей змінюється у залежності від пори року.

Перспективи подальших досліджень. Одержані результати є підставою для вивчення змін мікробіоти у залежності від місяця у наступні сезони: зима, весна, літо та осінь.

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА МИКРОБИОЦЕНОЗА ПОЛОСТИ ТОЛСТОЙ КИШКИ ПРАКТИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ БУКОВИНЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СЕЗОНА ГОДА

Дриндак В.Б.

Резюме. В работе представлена динамика изменений качественного и количественного состава микробиоценоза полости толстой кишки практически здоровых людей Буковины в зависимости от сезона года. Показана стабильность качественного состава микрофлоры полости толстой кишки практически здоровых людей, который представлен автохтонными облигатными анаэробными (*Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Peptostreptococcus*) и аэробными бактериями (*Escherichia*). Количественный состав автохтонной облигатной анаэробной и факультативно анаэробной микрофлоры меняется в зависимости от времени года. Изменениям подвергается дополнительная и остаточная микрофлора.

THE DYNAMICS OF CHANGES OF THE QUALITATIVE AND QUANTITATIVE COMPOSITION OF THE MICROBIOTSENOZ OF THE LARGE INTESTINAL CAVITY IN APPARENTLY HEALTHY PERSONS OF BUCOVYNA, DEPENDING ON THE SEASON OF THE YEAR

Dryndak V.B.

Abstract. The paper presents the dynamics of changes of the qualitative and quantitative composition of the microbiota in the large intestinal cavity of apparently healthy person of Bucovina, depending on the season of the year. The authors demonstrate the stability of the qualitative composition of the microflora of the large intestinal cavity of apparently healthy person which is represented by autochthonous obligate anaerobic (*Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Peptostreptococcus*) and aerobic bacteria (*Escherichia*). The quantitative composition of the autochthonous obligate anaerobic and facultative anaerobic microflora changes, depending on the season of the year. Supplementary and residual microflora are subject to changes.

Key words: normal microflora, large intestine, seasons.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ардатская М.Д. Дисбактериоз кишечника: современные аспекты изучения проблемы, принципы диагностики и лечения/М.Д.Ардатская, А.В.Дубин, О.М.Минушкин//Тер.архив. - 2001. - №2. - С.67-72.
2. Белоусов Ю.В. Дисбиоз кишечника: современные аспекты пробиотической терапии /Ю.В.Белоусов//Мистецтво лікування. - 2003. - С.40-42.
3. Бондаренко В.М, Грачова Н.М., Мацулевич Т.В. Дисбактериозы кишечника у взрослых. - М.:Медицина. - 2001. - 217 с.
4. Воробьев А.А. Микробиология на рубеже XXI века / А.А. Воробьев, А.А.Гинцбург, В.М.Бондаренко//Врач. - 2000.- №8. С. 3-7.
5. Ebert, D., K.P. Ebmeier, T. Rechlin, and W.P. Kaschka, "Biological Rhythms and Behavior", *Advances in Biological Psychiatry*. ISSN 0378-7354
6. Nijsten M.W., Willemsen S.E. The significance of lunar phases and biorhythms in trauma patients// Nijsten M.W., Willemsen S.E. /Ned Tijdschr Geneesk. 1991 21 December; 135(51):2421-4. [Dutch].
7. Hastings, Michael Circadian rhythms and clock genes// Hastings, Michael/ Clinical review. *BMJ* 1998; 317:1704-1707 19 December.