

УДК 616.345-008.87:612.017.2]-019

© Дриндак В.Б., 2010.

ПОМІСЯЧНІ ЗМІНИ МІКРОБІОТИ ВМІСТУ ПОРОЖНИНИ ТОВСТОЇ КИШКИ БІЛИХ ЩУРІВ У ВЕСНЯНИЙ ПЕРІОД

Дриндак В.Б.

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці.

Ключові слова: нормальна мікрофлора, товста кишка, біологічні ритми.

Вступ. Зміна мікробіоти порожнини товстої кишки становить значний інтерес для дослідження [4, 5]. Біоритми являються важливими показниками нормального функціонування живої системи. Багаточисельні дослідження різних систем органів дійшли до висновку, що зміна мікробіоти відіграє важливу роль у морфогенезі та функціях різних систем макроорганізму, внаслідок змін періодів та сезонів року [1].

В залежності від сезону, зміна мікробіоти призводить до формування дисбактеріозу, в той чи інший період року, любого біотопу, в той час важливими з яких являється мікробіота порожнини та приєпітеліальної біологічної плівки товстої кишки [8]. Тому, досліджуючи зміну мікробіоти в певні періоди, можна встановити динаміку коливання бактерій та прийняти певні заходи для запобігання ускладнень організму [9].

Мета дослідження. Встановити сезонну динаміку біологічних ритмів мікробіоти вмісту порожнини товстої кишки білих щурів у весняний період.

Матеріали та методи дослідження. Якісні та кількісні показники мікрофлори вмісту порожнини товстої кишки встановлювали на основі бактеріологічного та мікологічного дослідження [2]. При цьому розраховували індекс постійності, частоту зустрічання, коефіцієнт кількісного домінування та значущості кожного виду (родини) мікроба в мікробіоценозі порожнини товстої кишки [3, 6].

При вивченні мікрофлори порожнини товстої кишки у стерильних умовах забирали кусочок (2-3 см) товстої кишки, із нього видавлювали (вичавлювали) вміст, поміщали його на стерильний вошаний папір та зважували. У стерильну

пробірку вносили вміст і добавляли десятикратний об'єм (розведення 1:10) стерильного фізіологічного розчину натрію хлориду. На стерильному фізіологічному розчині натрію хлориду від 10^{-2} до 10^{-11} із цього гомогенату готували, за стерильних умов ряд десятикратних серійних розведень. Із кожної пробірки робили висів 0,1 мл на тверде оптимальне поживне середовище. Кількість анаеробних бактерій, що вирости, підраховували через 5-7 діб, інколи до 14 діб. Культивування проводили при оптимальній температурі у стаціонарному анаеростаті «CO₂ – incubator T - 125» фірми ASSAB (Швеція), аеробні та факультативно анаеробні мікроорганізми вирощували у термостаті і враховували посіви через 1-2 доби [7, 10].

Ентеробактерії вирощували на середовищі Ендо, Левіна та Плоскирева; стафілококи – жовтково-сольовому МПА, дріжджоподібні гриби роду *Candida* – на середовищі Сабуро. Бактероїди, пептокок, пептострептококи, клостридії, лактобактерії та інші облигатні анаероби вирощували за методом Ленцнера А.А., Микельсаара М.Е. (1987 р.), біфідобактерії – за методом Гончарової Г.И., з використанням модифікованого поживного середовища Блаурока із додаванням азиду натрію (100 мг/л середовища). Ідентифікацію виділених мікроорганізмів проводили за морфологічними, тинкторіальними, культуральними та біохімічними властивостями (Определитель бактерий Берджи, 1997 г).

Одержані цифрові результати з вивченням видового складу та популяційного рівня мікробіоти вмісту порожнини товстої кишки піддавалися статистичному аналізу за допомогою стандартного пакету прикладних програм для медико-

біологічних досліджень на персональному комп'ютері із застосуванням програми Microsoft Office для Windows XP.

Обговорення результатів дослідження. Стан мікробіоти вивчали кожного весняного місяця (березня, квітня, тра-

вня) у 30 безпородних білих щурів. Результати вивчення видового складу мікробіоти порожнини товстої кишки інтактних білих щурів у весняні місяці наведені у таблиці 1.

Таблиця 1. Зміни якісного складу мікробіоти порожнини товстої кишки інтактних білих щурів у залежності від місяця весняного сезону

| Мікроорганізми | Сезонні (весняні) показники (n=15) | | | Березень (n=5) | | | Квітень (n=5) | | | Травень (n=5) | | |
|--|---------------------------------------|--------|------|--------------------|--------|------|--------------------|--------|------|--------------------|--------|------|
| | Виділено штамів | ІП (%) | ЧЗ | Виділено штамів | ІП (%) | ЧЗ | Виділено штамів | ІП (%) | ЧЗ | Виділено штамів | ІП (%) | ЧЗ |
| Анаеробні бактерії | | | | | | | | | | | | |
| Біфідобактерії | 15 | 100,0 | 0,13 | 5 | 100,0 | 0,13 | 5 | 100,0 | 0,12 | 5 | 100,0 | 0,12 |
| Лактобактерії | 15 | 100,0 | 0,13 | 5 | 100,0 | 0,13 | 5 | 100,0 | 0,12 | 5 | 100,0 | 0,12 |
| Еубактерії | 6 | 40,0 | 0,05 | 0 | - | - | 3 | 60,0 | 0,07 | 3 | 60,0 | 0,07 |
| Фузобактерії | 7 | 46,7 | 0,06 | 3 | 60,0 | 0,08 | 1 | 20,0 | 0,02 | 3 | 60,0 | 0,07 |
| Бактероїди | 15 | 100,0 | 0,13 | 5 | 100,0 | 0,13 | 5 | 100,0 | 0,12 | 5 | 100,0 | 0,12 |
| Пептокок | 2 | 13,3 | 0,02 | 0 | - | - | 1 | 20,0 | 0,02 | 1 | 20,0 | 0,02 |
| Пептострептококи | 4 | 26,6 | 0,04 | 4 | 80,0 | 0,11 | 0 | - | - | 0 | - | - |
| Клостридії | 2 | 13,3 | 0,02 | 1 | 20,0 | 0,03 | 1 | 20,0 | 0,02 | 0 | - | - |
| Аеробні та факультативно анаеробні бактерії | | | | | | | | | | | | |
| Кишкова паличка | 15 | 100,0 | 0,13 | 5 | 100,0 | 0,13 | 5 | 100,0 | 0,12 | 5 | 100,0 | 0,12 |
| <i>E. coli</i> Нly + | 2 | 13,3 | 0,02 | 0 | - | - | 2 | 40,0 | 0,05 | 0 | - | - |
| Протеї | 7 | 46,7 | 0,06 | 2 | 40,0 | 0,05 | 4 | 80,0 | 0,10 | 1 | 20,0 | 0,02 |
| Гафнії | 1 | 6,7 | 0,01 | 0 | - | - | 1 | 20,0 | 0,02 | 0 | - | - |
| Стафілококи | 9 | 60,0 | 0,08 | 3 | 60,0 | 0,08 | 2 | 40,0 | 0,05 | 4 | 80,0 | 0,10 |
| Аеробні стрептобацили | 12 | 80,0 | 0,10 | 3 | 60,0 | 0,08 | 4 | 80,0 | 0,10 | 5 | 100,0 | 0,12 |
| Дріжджоподібні гриби роду <i>Candida</i> | 3 | 20,0 | 0,03 | 0 | - | - | 1 | 20,0 | 0,02 | 2 | 40,0 | 0,05 |

Примітки: ІП. – індекс постійності; ККД – коефіцієнт кількісного домінування; ЧЗ – частота зустрічання.

За індексом постійності, частотою зустрічання в цілому у весняні місяці константними бактеріями являються автохтонні облигатні анаеробні біфідобактерії, лактобактерії, бактероїди та факультативно анаеробні – кишкова паличка, аеробні грампозитивні стрептобацили та стафілококи. Часто зустрічаються у цей період анаеробні еубактерії, ентеробактерії, пептострептококи; факультативно анаеробні – ентеробактерії (протеї). Інші мікроорганізми (пептокок, клостридії, ентеротоксичні ешерихії, гафнії та дріжджоподібні гриби роду *Candida*) зустрічаються рідко та випадково.

У березні константними бактеріями також являються біфідобактерії, лактобактерії, бактероїди, кишкова паличка, аеробні стрептобацили та стафілококи.

Стають константними фузобактерії, пептострептококи. У цьому місяці елімінують із порожнини товстої кишки еубактерії і пептокок; факультативно анаеробні ентеробактерії (ентеротоксигенні ешерихії та гафнії) та дріжджоподібні гриби роду *Candida*. Часто зустрічаються протеї, рідко – клостридії. За індексом постійності та частотою зустрічання квітень місяць характеризується константними автохтонними анаеробними біфідобакте-

ріями, лактобактеріями, еубактеріями, бактероїдами, окремими ентеробактеріями (кишковою паличкою, протеями) та аеробними грампозитивними стрептобацилами. У травні місяці встановлені зміни, які характеризуються тим, що константними залишаються автохтонні облигатні анаеробні біфідобактерії та еубактерії, які у березні не виділені у тварин, а також факультативні анаеробні кишкові палички, стрептобацили та стафілококи. Таким чином, видовий склад мікробіоти порожнини товстої кишки інтактних білих щурів має тенденцію до змін у залежності від місяця. Ці зміни стосуються тільки видів анаеробних (еубактерій, фузобактерій,

пептокока, пептострептококів та клостридій), а також факультативних ентеробактерій (ентеротоксигенних ешерихій, протеїв та гафній), стафілококів та дріжджоподібних грибів роду *Candida*. Стабільно залишаються константними у кожному весняному місяці автохтонні облигатні біфідобактерії, лактобактерії, бактероїди, кишкова паличка та транзиторні аеробні грампозитивні стрептобацили.

Результати досліджень популяційного рівня мікробіоти порожнини товстої кишки експериментальних тварин кожного весняного місяця наведені у таблиці 2.1 та 2.2.

Таблиця 2.1. Зміни кількісного складу мікробіоти порожнини товстої кишки інтактних білих щурів у залежності від місяця весняного сезону

| Мікроорганізми | Весняні показники (n = 15) | | | Березень (n = 5) | | |
|--|-------------------------------|-------|------|------------------|-------|------|
| | П.Р. lg КУО/г | ККД | КЗ | П.Р. lg КУО/г | ККД | КЗ |
| Анаеробні бактерії | | | | | | |
| Біфідобактерії | 9,16±0,09 | 119,3 | 0,16 | 9,19±0,08 | 121,4 | 0,16 |
| Лактобактерії | 8,59±0,10 | 11,8 | 0,15 | 8,58±0,10 | 113,3 | 0,15 |
| Еубактерії | 8,74±0,08 | 44,3 | 0,06 | 0 | - | - |
| Фузобактерії | 8,29±0,21 | 50,4 | 0,06 | 8,56±0,28 | 67,8 | 0,09 |
| Бактероїди | 9,18±0,08 | 119,5 | 0,16 | 9,54±0,10 | 126,0 | 0,16 |
| Пептокок | 8,75±0,18 | 15,2 | 0,02 | 0 | - | - |
| Пептостреп-тококи | 7,98±0,17 | 16,2 | 0,02 | 7,96±0,29 | 84,1 | 0,12 |
| Клостридії | 8,60±0,10 | 14,9 | 0,02 | 8,60 | 22,7 | 0,03 |
| Аеробні та факультативно анаеробні бактерії | | | | | | |
| Кишкова паличка | 8,79±0,15 | 102,7 | 0,13 | 6,98±0,3 | 92,2 | 0,12 |
| <i>E. coli</i> Нly + | 8,78±0,04 | 15,20 | 0,02 | 0 | - | - |
| Протеї | 3,33±0,21 | 20,2 | 0,03 | 3,39±0,39 | 17,9 | 0,02 |
| Гафнії | 8,30 | 7,2 | 0,01 | 0 | - | - |
| Стафілококи | 3,50±0,31 | 27,3 | 0,04 | 3,20±0,20 | 25,4 | 0,03 |
| Аеробні стрептобацили | 9,89±0,11 | 103,0 | 0,13 | 8,77±0,22 | 80,5 | 0,09 |
| Дріжджоподібні гриби роду <i>Candida</i> | 3,65±0,30 | 9,5 | 0,01 | 0 | - | - |

Примітки: П.Р. - популяційний рівень; ККД - коефіцієнт кількісного домінування; КЗ - коефіцієнт значущості.

Таблиця 2.2. Зміни кількісного складу мікробіоти порожнини товстої кишки інтактних білих щурів у залежності від місяця весняного сезону.

| Мікроорганізми | Квітень (n = 5) | | | Травень (n = 5) | | |
|---------------------------|------------------|-------|------|------------------|-------|------|
| | П.Р. lg КУО/г | ККД | КЗ | П.Р. lg КУО/г | ККД | КЗ |
| Анаеробні бактерії | | | | | | |
| Біфідобактерії | 9,03±0,10 | 115,9 | 0,14 | 9,76±0,08 | 131,4 | 0,16 |

| | | | | | | |
|---|------------|-------|------|------------|-------|------|
| Лактобактерії | 8,72±0,12 | 11,9 | 0,13 | 8,49±0,08 | 114,1 | 0,14 |
| Еубактерії | 8,72±0,06 | 67,2 | 0,08 | 8,76±0,09 | 70,7 | 0,08 |
| Фузобактерії | 8,30 | 21,3 | 0,02 | 8,03±0,43 | 64,8 | 0,08 |
| Бактероїди | 9,54±0,03 | 122,5 | 0,15 | 8,48±0,12 | 114,1 | 0,14 |
| Пептокок | 8,60 | 22,1 | 0,02 | 8,40±0,20 | 45,2 | 0,06 |
| Пептостреп-тококи | 0 | - | - | 8,90 | 24,0 | 0,02 |
| Клостридії | 7,60 | 19,5 | 0,02 | 0 | - | - |
| Аеробні та факультативно анаеробні бактерії | | | | | | |
| Кишкова паличка | 8,60±0,15 | 110,4 | 0,13 | 8,11±0,18 | 109,2 | 0,13 |
| <i>E. coli</i> Нly + | 8,78±0,04 | 45,1 | 0,06 | 0 | - | - |
| Протеї | 3,60±0,21 | 37,0 | 0,05 | 3,00 | 8,1 | 0,01 |
| Гафнії | 8,30 | 21,3 | 0,02 | 0 | - | - |
| Стафілококи | 3,80±0,30 | 19,5 | 0,02 | 3,50±0,23 | 37,7 | 0,05 |
| Аеробні стрептобацили | 10,43±0,05 | 107,1 | 0,13 | 10,47±0,07 | 140,9 | 0,17 |
| Дріжджоподібні гриби роду <i>Candida</i> | 4,00 | 10,3 | 0,01 | 3,30±0,30 | 17,8 | 0,02 |

Популяційний рівень автохтонних облигатних константних бактерій протягом весняного періоду практично не змінюється. За коефіцієнтом кількісного домінування та коефіцієнтом значущості з урахуванням популяційного рівня домінантними бактеріями в угрупованні мікробіоти порожнини товстої кишки весною являються біфідобактерії, бактероїди, лактобактерії, аеробні грампозитивні стрептобацили та кишкова паличка.

У березні місяці домінантними бактеріями у мікробіоті порожнини товстої кишки білих щурів були бактероїди, біфідобактерії, лактобактерії та кишкова паличка.

У квітні місяці домінантними бактеріями залишаються, з незначними змінами, бактероїди, біфідобактерії, лактобактерії, кишкова паличка та аеробні стрептобацили. Мікробіота порожнини товстої кишки представлена у травні місяці домінантними аеробними грампозитивними стрептобацилами, біфідобактеріями, лактобактеріями, кишковою паличкою та бактероїдами. Біфідобактерії виявляються у високому популяційному рівні у травні, а сама низька кількість цих бактерій виявляється у квітні, популяційний рівень лактобактерій самий високий у квітні, самий низький – у травні. Виходячи із наведених вище даних біфідовмісні пробіотики рекомендується призначати з профілактичною метою дисбактеріозу у квітні, а лактобактерин – у травні місяці.

Висновки. 1) У весняний сезон року за індексом постійності, популяційним рівнем, коефіцієнтом кількісного домінування та коефіцієнтом значущості константними та домінуючими у вмісті порожнини товстої кишки білих щурів являються автохтонні облигатні анаеробні біфідобактерії, лактобактерії та бактероїди; аеробні та факультативно анаеробні – кишкова паличка та транзиторні стрептобацили. **2)** У березні місяці настає елімінація з порожнини товстої кишки експериментальних тварин еубактерій, пептокока, патогенних (ентеротоксигенних) ешерихій та умовно патогенних (гафній), ентеробактерій і дріжджоподібних грибів роду *Candida* та формується тенденція до зростання кількості та ролі у мікробіоценозі біфідобактерій, лактобактерій бактероїдів, транзиторних аеробних стрептобацил. **3)** Мікробіота порожнини товстої кишки у квітні характеризується тенденцією до зниження кількості біфідобактерій, бактероїдів, транзиторних аеробних стрептобацил та кишкових паличок; елімінацією пептострептококів та контамінацією порожнини товстої кишки еубактеріями, патогенними (ентеротоксичними) ешерихіями та умовно патогенними (гафніями, протеями) ентеробактеріями і дріжджоподібними грибами роду *Candida*. **4)** За провідними аналітичними показниками мікробіота у травні місяці характеризується суттєвим зростанням ролі аеробних транзиторних стрептобацил (поступають із

харчами), біфідобактерій, лактобактерій, бактероїдів та кишкових паличок; елімінацією із порожнини товстої кишки патогенних (ентеротоксигенних) ешерихій та умовно патогенних (гафній, протеїв) ентеробактерій, кластридій та пептострептококів. 5) Суттєве зниження кількості автохтонних облигатних біфідобактерій, лактобактерій, зростання кількості бактероїдів, кишкових паличок у квітні місяці, а також контамінація порожнини товстої кишки у цей період патогенними та умов-

но патогенними ентеробактеріями і дріжджоподібними грибами роду *Candida* потребує застосування конкретних пробіотичних препаратів у цей період з метою запобігання дисбактеріозу та розвитку кишкових інфекцій.

Перспективи подальших досліджень. Одержані результати є підставою для вивчення змін мікробіоти у залежності від місяця в літньому сезоні.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Комаров Ф.И., Рапопорт С.И. Хронобиология и хрономедицина; (второе издание). – М.:Триада – X, 200. – 488 с.
2. Міхсєв А.О., Магалаєс В.М., Щербініна А.В. Лабораторні щурі.//Навчально-методичний посібник. – 2002. – С.31.
3. Парашук Ю.С., Шкарбут Ю.Е. Основные принципы организации биомедицинских исследований с использованием лабораторных животных. / Парашук Ю.С., Шкарбут Ю.Е.// Экспериментальная і клінічна медицина. – 2002. - №2. - С. 36 – 39.
4. Пішак В.П., Булик Р.Є., Вєпрюк Ю.М. Зміни циркадіадних ритмів функцій нирок за різної функціональної активності шишкоподібної залози // Клінічна та експериментальна патологія. – 2004. - Т. 3, №1. - С. 60-65
5. Cassone U.M. //J. Biol. Rhythms. - 1992. -Vol. 7.- N 1.- P. 27-40
6. Chertok V.M, Lariushkina A.V, Kotsiuba A.E, Biological rhythms of tissue basophils of the dura mater of rats under the effects of noise-vibration //Biull Eksp Biol Med.- 1991 Apr; 111(4).-P. 410-413.
7. Klein D.C., Moore R.Y., Reppert S.M. Suprachiasmatic nucleus: the mind's clock. New York: Oxford University Press, 1991.
8. Ebert D., Ebmeier K.P., Rechlin T., Kaschka W.P. "Biological Rhythms and Behavior", *Advances in Biological Psychiatry*. ISSN 0378-7354
9. Hastings, Michael Circadian rhythms and clock genes// Hastings, Michael/ Clinical review. *BMJ* 1998; 317:1704-1707 19 December.
10. Van Laar W. The concept of "Biological clock" // *Acta Biotheoretica*.-1970.-№19-P. 95-139.

Дрындак В. Б. Месячные изменения микробиоты содержимого полости толстой кишки белых крыс в весенний период // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2010. – Т. 5, № 3д. – С. 34-38.

В работе представлено изменение микробиоты полости толстой кишки здоровых белых крыс у весенний период. На основе бактериологического и микологического исследования установлены качественные и количественные показатели микрофлоры содержимого полости толстой кишки. В марте и мае наступает незначительное изменение бактерий в микробиоте полости толстой кишки, в то время как существенные изменения бактерий происходят в апреле месяце, что требует применения конкретных пробиотических препаратов в этот период, во избежание дисбактериоза и развития кишечных инфекций.

Ключевые слова: нормальная микрофлора, толстая кишка, биологические ритмы.

Dryndak V.B. Monthly changes the microbiota of the large intestinal cavity content of albino rats during the spring period // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2010. – Т. 5, № 3 додаток. – С. 34-38.

The paper present a change of the microbiota of the large intestinal cavity of albino rats during the spring period. The qualitative and quantitative indices of the microflora of the contents in the cavity of the large intestine have been established on the basis of a bacteriological and mycological research. An insignificant change of bacteria in the microbiota contents of the large intestinal cavity takes place in March and May, while essential changes of bacteria occur in April, requiring the use of specific probiotic medications during this period for the purpose of preventing dysbacteriosis and the development of intestinal infections.

Keywords: normal microflora, large intestine, biological rhythms.