М.М. Асланова¹, А.В. Загайнова¹, К.Ю. Кузнецова^{1,2}, В.М. Ракова^{1,2}, Н.В. Сметанина¹
M.M. Aslanova¹, A.V. Zagaynova¹, K.Y. Kuznetsova^{1,2}, V.MRakova^{1,2}, N.V. Smetanina¹

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА ПО ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ У НАСЕЛЕНИЯ, ОТНОСЯЩЕГОСЯ К РАЗНЫМ ГРУППАМ ЗДОРОВЬЯ

STUDY OF THE COMPOSITION OF THE INTESTINAL MICROBIOTA BY PARASITOLOGICAL INDICATORS IN THE POPULATION BELONGING TO DIFFERENT HEALTH GROUPS

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Минздрава РФ, Москва

²Сеченовский университет Минздрава РФ, Москва

¹FGBU "Center for strategic planning and management of medical and biological health risks" of the Ministry of health of the Russian Federation, Moscow

²Sechenovski University of Ministry of health of the Russian Federation, Moscow

Аспекты влияния паразитозов на изменения кишечной микробиоты в научной литературе практически не освещены. Появляются всё новые предпосылки к изучению взаимодействия микрофлоры кишечника, кишечных паразитозов, иммунного ответа и воспалительных процессов человеческого организма. Целью работы явилось изучение спектра кишечных паразитозов в микробиоте людей, принадлежащих к разным клиническим группам.

В результате проведенных исследований мы установили, что наиболее инвазированными цистами паразитов оказались 34% людей из группы «условно-здоровые» (отсутствовали клинические проявления заболеваний, в том числе паразитарного генеза), у 28% - в группе с диагнозом «воспалительные заболевания кишечника» (в том числе, свищи, геморрой, язвенный колит, болезнь Крона) и всего лишь у 5% обследуемой группы людей с установленным диагнозом «хронического заболевания сердечно-сосудистой системы», причем у последних *Lamblia intestinalis* и *Blastocystis* spp. выделялись только в 3-х случаях из 58. Чаще всего в клиническом материале встречались цисты патогенных простейших *Lamblia intestinalis* и *Blastocystis* spp., которые выделялись у всех групп участников исследования. У людей из группы «условно-здорового» контингента людей были выделены условно-патогенные простейшие *Endolimax nana*, которые были так же обнаружены у группы людей с диагнозом «воспалительные заболевания кишечника» (в том числе, свищи, геморрой, язвенный колит, болезнь Крона). Условно-патогенные простейшие *Entamoeba coli* и яйца нематод *Enterobius vermicularis* были обнаружены только у участников обследования из группы «условно-здоровые».

Ключевые слова: кишечная микробиота, функции организма, резидентная микрофлора, индигенная микрофлора, паразитарные простейшие.

Aspects of the effect of parasitoses on changes in the intestinal microbiota in the scientific literature are poorly covered. New prerequisites appear to study the interaction of intestinal microflora, intestinal parasitoses, the immune response and the inflammatory processes of the human body. The aim of the work was to study the spectrum of intestinal parasitosis in the microbiota of people belonging to different clinical groups.

As a result of our studies, we found that 34% of people in the “conditionally healthy” group (the clinical manifestations of diseases, including parasitic origin, were absent), the most diagnosed with parasitic diseases, 28% in the group diagnosed with inflammatory bowel disease including fistula, hemorrhoids, ulcerative colitis, Crohn’s disease) and only 5% of the examined group of people with an established diagnosis of «chronic cardiovascular disease», and the latter *Lamblia intestinalis* and *Blastocystis* spp. stood out only in 3 cases out of 58.

Most often in clinical material cysts of pathogenic protozoa *Lamblia intestinalis* and *Blastocystis* spp., which were identified from all groups of study participants. Conditionally pathogenic protozoa *Endolimax nana*, which were also found in a group of people diagnosed with inflammatory bowel disease (including fistulas, hemorrhoids, ulcerative colitis, Crohn’s disease), were isolated from people from the “conditionally healthy” contingent of people. Conditionally pathogenic protozoa *Entamoeba coli* and nematode *Enterobius vermicularis* eggs were found only in survey participants from the “conditionally healthy” group.

Key words: *intestinal microbiota, body functions, resident microflora, indigenous microflora, parasitic protozoa.*

Введение

Одной из важнейших задач клинической медицины является изучение микрoэкологических ресурсов человека, изменение или нарушение которого сопутствует развитию подавляющего большинства заболеваний [1, 3]. Состав микробиоты индивидуален для каждого человека. Особое значение в последнее время придается мультивидовому сочетанию микрoорганизмов и паразитарных агентов [2, 5, 7]. Нарушение дисбаланса кишечной микрoфлоры имеет различный фон клинических симптомов и могут быть вызваны разными патофизиологическими процессами организма. Кроме того, многие болезни являются мультифакториальными, поэтому возникает необходимость разработки дифференцированного подхода к установлению дисбиотических нарушений с целью их дальнейшей коррекции [4, 6, 8].

В естественной среде обитания микрoорганизмы и паразиты существуют в виде симбиозов, одним из примеров которых являются устойчивые природные симбиозы микрoорганизмов микробиоты кишечника человека, микробиоценозов почвы, водоемов и других объектов окружающей среды [4, 8, 9, 16].

Из триллионов микробов, живущих в кишечнике, ученые нашли примерно 5000 видов микрoорганизмов, из которых более 50 родов и более 500 видов бактерий, в основном анаэробных, играющих ключевую роль в поддержании здоровья человека [10, 11]. Согласно молекулярно-филогенетическим исследованиям, проведенным за последние годы, в человеческом кишеч-

нике находятся от 15 до 36 тысяч видов бактерий [3, 14].

Тем не менее, дискуссии об допустимых уровнях микрoорганизмов и паразитологических агентов, присутствие которых в кишечнике человека не нарушает нормального функционирования организма человека, не утихают до сих пор [5, 13].

Необходимо подчеркнуть, что основной количественный и качественный состав, соотношение различных видов микрoорганизмов в толстой кишке здорового человека остаются, как правило, стабильными в отличие от паразитологических агентов [3, 15].

Возможны лишь преходящие (обратимые) сдвиги при неправильном питании, резком изменении привычного пищевого рациона, неблагоприятной экологической обстановке в среде обитания, стрессе, а также в зависимости от возраста, времени года, пола, климатогеографических и социальных условий проживания [7, 12].

Из вышеперечисленного следует, что одной из основополагающих и практически не изученных проблем в настоящее время являются кишечные паразитозы, которые вступают во взаимодействие со здоровой микробиотой человека, изменяя баланс кишечной микрoфлоры в сторону условно-патогенных микрoорганизмов. В свою очередь условно-патогенная микрoфлора способствует созданию благоприятных условий для выживания паразитарных патогенов [2, 5, 7].

Однако в настоящее время диагностику паразитарных заболеваний осуществляют согласно СП 3.2.3110-13 «Профи-

лактика энтеробиоза» только на наличие гельминтов из группы нематод (черви рода *Enterobius* spp.) и яйца гельминтов, остальные клинически значимые паразитологические агенты не учитываются. При этом точность исследования составляет менее 50%, так как вероятность обнаружения яиц гельминтов и червей рода *Enterobius* spp. очень мала в связи с неравномерно отобраным в контейнер клиническим материалом [5, 6].

Аспекты влияния паразитозов на изменения кишечной микробиоты в научной литературе как в России, так и за рубежом, практически не освещены, но с каждым годом интерес медико-научного сообщества к этой проблеме возрастает, появляются всё новые и новые предпосылки к изучению взаимодействия микрофлоры кишечника, кишечных паразитозов, иммунного ответа и воспалительных процессов человеческого организма [1, 3, 7].

Целью исследования явилось изучение спектра кишечных паразитозов в микробиоте людей, принадлежащим к разным клиническим группам по здоровью с применением современных, высокоэффективных клинико-паразитологических методов.

Материалы и методы

Для проведения исследований кишечной микробиоты был использован комплекс паразитологических методов идентификации паразитологических агентов в соответствии с МУК 4.2.3145-13 «Лабораторная диагностика гельминтозов и протозоозов».

Были исследованы макроскопически и микроскопическими методами исследования образцы клинического материала (кала) в количестве 108 из группы «условно-здоровые», 58 образцов из группы с хронической сердечной недостаточностью, 113 образцов с воспалительным заболеванием кишечника.

В работе применяли различные современные макроскопические и микроскопические методы исследований:

Макроскопические методы позволяли нам выявлять в клиническом материале (кале) целых половозрелых гельмин-

тов или их фрагменты невооруженным глазом или с помощью ручной лупы. На поверхности кала после дефекации можно видеть активно ползающих остриц; иногда выделяются с калом аскариды; у больных дифиллоботриозом могут выделяться обрывки стробилы лентеца (в виде «лапши»), а у инвазированных тениидами (свиной или бычий цепень) с калом часто отходят членики гельминтов.

Микроскопические методы включали в себя комплекс из нескольких высокоэффективных методов: эфир-формалиновой седиментации (осаждения), позволяющий обнаружить яйца и личинки гельминтов, цисты патогенных простейших, для определения ооцист *Cryptosporidium parvum* применяли запатентованный метод иммуномагнитной сепарации (патент RU2638811C1) и метод окрашивания по Цилю-Нильсену.

Результаты и обсуждение

Для проведения полноценного научного исследования клинический материал отбирался в пластиковые клинические контейнеры в количестве 279 образцов, так же пациентам было предложено заполнить добровольное согласие на участие в научных исследованиях и, предоставлен контейнер для сбора биологического материала.

В результате проведенного исследования 108 проб клинического материала от «условно-здорового» контингента людей (отсутствовали клинические проявления заболеваний, в том числе паразитарного генеза) показал, что паразитарный состав микробиоты этой группы представлен 4 видами цист простейших и одним видом гельминтов (яйца), которые распределились в следующей последовательности: цисты патогенных простейших встречались в 63% из которых были идентифицированы, в 39 % *Lamblia intestinalis*, 24 % *Blastocystis* spp., 23 % - цисты условно-патогенных простейших *Endolimax nana*, 14 % - *Entamoeba coli*, в 1 случае были выявлены яйца гельминтов *Enterobius vermicularis* (тип круглые черви - нематоды) (рис.1). При проведении исследований вегетативных форм простейших,

Рисунок 1. Результаты анализа проб полученных от обследуемой группы «условно-здоровых» людей.

ооцист криптоспоридий обнаружено не было.

Так, среди «условно здоровых» лиц паразитонительство цистами *Lamblia intestinalis* и *Blastocystis* spp. выражено не равномерно, цисты *Lamblia intestinalis* преобладают над другими патогенами (39% относительно цист *Blastocystis* spp. -24 %). В одном случае были, обнаружены яйца нематод *Enterobius vermicularis* несмотря на то, что заболевание протекает с выраженной клинической симптома-

тикой, такой как, например, зуд в заднем проходе, перианальный дерматоз, трещин в заднем проходе, беспокойный сон и др., жалоб от обследуемого не поступало.

Паразитарная разновидность непатогенных видов кишечных простейших – комменсалов *Endolimax nana*, *Entamoeba coli*, также значительно выражена в данной группе анализируемых нами образцов.

В результате проведенного исследования 58 проб клинического материала от

Рисунок 2. Результаты анализа проб полученных от обследуемой группы людей с установленным диагнозом «хронического заболевания сердечно-сосудистой системы».

обследуемой группы людей с установленным диагнозом «хронического заболевания сердечно-сосудистой системы» показал, что паразитарный состав микробиоты этой группы представлен 2 видами цист простейших, которые распределились в следующей последовательности: цисты патогенных простейших встречались в 5% из которых были идентифицированы в 67 % *Lamblia intestinalis*, 33 % *Blastocystis* spp., цисты условно-патогенных простейших *Endolimax nana*, *Entamoeba coli*, вегетативных форм простейших, ооцист криптоспоридий обнаружено не было ни в одной пробе (рис. 2).

В результате проведенного исследования 113 проб клинического материала

от обследуемой группы людей с установленным диагнозом «воспалительные заболевания кишечника» (в том числе, свищи, геморрой, язвенный колит, болезнь Крона) показал, что паразитарный состав микробиоты этой группы представлен 3 видами цист простейших, которые распределились в следующей последовательности: цисты патогенных простейших встречались в 28% из которых были идентифицированы в 49 % *Lamblia intestinalis*, 38 % *Blastocystis* spp., 13% - *Endolimax nana*, цисты условно-патогенных простейших *Entamoeba coli*, вегетативных форм простейших, ооцист криптоспоридий не было обнаружено ни в одной пробе (рис.3).

Рисунок 3. Результаты анализа проб полученных от обследуемой группы людей с установленным диагнозом «воспалительные заболевания кишечника» (в том числе, свищи, геморрой, язвенный колит, болезнь Крона).

Результаты и обсуждение

Анализируя полученные данные можно отметить, что наиболее выражена инвазия цистами патогенных простейших наблюдалась у 34% людей из группы «условно-здоровые» (отсутствовали клинические проявления заболеваний, в том числе паразитарного генеза), у 28% - в группе с установленным диагнозом «воспалительные заболевания кишечника» (в том числе, свищи, геморрой, язвенный колит,

болезнь Крона) и всего лишь у 5% обследуемой группы людей с установленным диагнозом «хронического заболевания сердечно-сосудистой системы», причем у последних *Lamblia intestinalis* и *Blastocystis* spp. выделялись только в 3-х случаях из 58. Наиболее встречаемыми в клиническом материале были цист патогенных простейших *Lamblia intestinalis* и *Blastocystis* spp., которые выделялись у всех групп участ-

ников исследования. У людей из группы «условно-здорового» контингента людей были выделены условно-патогенные простейшие *Endolimax nana*, которые были так же идентифицированы у группы людей с установленным диагнозом «воспалительные заболевания кишечника» (в том числе, свищи, геморрой, язвенный колит, болезнь Крона). Условно-патогенные простейшие *Entamoeba coli* и яйца нематод *Enterobius vermicularis* были обнаружены только у участников обследования из группы «условно здоровые».

Заключение

Изучение интестинального микромира представляет собой важный научный и практический интерес. Имеющиеся данные предполагают, что состав микробиоты кишечника у каждого человека индивидуален, что может стать ключом к разгадке причины различий, наблюдающихся в метаболических процессах, происходящих у людей со сходными физиологическими данными. Более широкое внедрение в клиническую практику современных, новых методов исследования, обладающих высокой чувствительностью и специфичностью, а также отвечающих требованиям концепции точной медицины, может позволить большой массив данных для изучения и решения, насущных научно-клинических проблем.

В результате проведенных научных исследований наибольший интерес представляет проведение комплексного анализа клинического материала, в котором должны учитываться выделенные микроорганизмы и кишечные паразитозы, а также установлены связи данных анкетирования, проведенного среди обследованных участников и наличия паразитарной инвазии с целью установления биологических маркеров возникновения различных патологических состояний или незначительных отклонений у различных

групп населения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бондаренко В.М., Боев Б.В., Лыкова Е.А. Воробьев А.А. Дисбактериозы желудочно-кишечного тракта. Рос. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 1999; 1: 66–70 [Bondarenko V.M., Boev B.V., Lykova E.A., Vorobyov A.A. Dysbacterioses of the gastrointestinal tract. Grew up Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. 1999; 1: 66–70 - in Russian].
2. Копанев Ю.А., Соколов А.Л. Дисбактериоз кишечника: микробиологические, иммунологические и клинические аспекты микроэкологических нарушений у детей. М.: МНИИ педиатрии и детской хирургии. 2002. [Kopanev Yu.A., Sokolov A.L. Intestinal dysbiosis: microbiological, immunological and clinical aspects of microecological disorders in children. M.: MNII Pediatrics and Pediatric Surgery. 2002 - in Russian].
3. Карпунина Т.И., Горовиц Э.С., Чиненкова А.Н., Перевалов А.Я. Повышение эффективности терапевтического действия пробиотиков. Ж. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1998; 2: 104–107 [Karpunina T.I., Horovits E.S., Chinenkova A.N., Perevalov A.Ya. Improving the effectiveness of the therapeutic action of probiotics. J. of microbiology, epidemiology and immunology. 1998; 2: 104–107- in Russian].
4. Коршунов В.М., Ефимов Б.А., Пикина А.П. Характеристика биологических препаратов и пищевых добавок для функционального питания и коррекции микрофлоры кишечника. Микробиология. 2000; 3: 86–91 [Korshunov V.M., Efimov B.A., Pikina A.P. Characterization of biological preparations and food additives for functional nutrition and correction of intestinal microflora. Microbiology. 2000; 3: 86–91 - in Russian].
5. Костоломова Г.А. Клинико-иммунологический анализ дисбиотических состояний у детей. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Тюмень, 2001 [Kostolomova G.A. Clinical and immunological analysis of dysbiotic conditions in children. Author. diss. ... Cand. med. sciences.

Тюмен, 2001.]

6. Самсыгина Г.А., Савельева Г.М., Коноплянников А.Г. и др. Характеристика иммунного ответа плода в перинатальном периоде жизни в норме и патологии. Материалы конгресса «Современные технологии в педиатрии и детской хирургии». М., 2002 [Samsygina G.A., Savelyeva G.M., Konoplyannikov A.G. at all. Characteristics of the immune response of the fetus in the perinatal period of life in health and disease. Proceedings of the congress «Modern technologies in pediatrics and pediatric surgery.» М., 2002 - - in Russian].

7. Григорьев П.Я., Коровина В.И., Жуховицкий В.Г., Яковенко Э.П. Изменение родового состава кишечной микрофлоры и степени обсемененности кишечника: бактериологическая характеристика, клиническое значение, вопросы терапии. Практикующий врач. 1999; 16 (3): 14–19 [Rigoriev P.Ya., Korovina V.I., Zhukhovitsky V.G., Yakovenko E.P. Changes in the generic composition of the intestinal microflora and the degree of intestinal contamination: bacteriological characteristic, clinical significance, therapy issues. Practicing doctor. 1999; 16 (3): 14–19 - in Russian].

8. Полуэктова Е.А. О.С.Ляшенко, О.С. Шифрин, А.А.Шептулин, В.Т.Ивашкин. Современные методы изучения микрофлоры желудочно-кишечного тракта человека // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2014. Т.24. №2. С. 85–91 [Poluektova E.A., Lyashenko O.S., Shifrin O.S., Sheptulin A.A., Ivashkin V.T. Modern methods of studying of human gastro-intestinal microflora / Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. 2014. V.24. №2. P.85–91 - - in Russian].

9. Булатова Е., Богданова Н., Лобанова Е. Кишечная микробиота: современные представления // Педиатрия. 2009. Т.87. №3. С.104–110 [Bulatova E., Bogdanova N., Lobanova E. Intestinal microbiota: modern concepts // Pediatrics. 2009. T.87. Number 3. P.104–110 - in Russian].

10. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Том 1. Микрофлора человека и животных и ее функции. М.: ГРАНТЪ, 1998 [Shenderov

B.A. Medical microbial ecology and functional nutrition. Volume 1. Microflora of humans and animals and its functions. М.: GRANT, 1998 - - in Russian].

11. Железная Л.А. Структура и функция гликопротеинов слизи (муцинов). Рос. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 1998; VII I(1): 30–37 [Zheleznyaya L.A. The structure and function of mucus glycoproteins (mucins). Grew up Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. 1998; VII I (1): 30–37- in Russian].

12. Бельмер С.В. Метаболические эффекты пребиотиков: взгляд педиатра. Вopr. детской диетологии. 2005; 3 (2): 33–35 [Belmer S.V. The metabolic effects of prebiotics: a pediatrician's point of view. Vopr. child nutrition. 2005; 3 (2): 33–35 - in Russian].

13. Ткаченко Е.И., Суворов А.Н. Дисбактериоз кишечника. Рук-во по диагностике и лечению. СПб: ООО «Издательство «СпецЛит», 2007 [Tkachenko E.I., Suvorov A.N. Intestinal dysbiosis. Manual on the diagnosis and treatment. SPb: ООО SpetsLit Publishing House, 2007 - in Russian].

14. Хавкин А.И. Микробиоценоз кишечника и иммунитет. РМЖ. Детская гастроэнтерология и нутрициология. 2003; 11 (3): 122–125 [Khavkin A.I. Intestinal microbiocenosis and immunity. Breast cancer Pediatric gastroenterology and nutriciology. 2003; 11 (3): 122–125 - in Russian].

15. Hawrelak J.A., Myers S.P. The causes of intestinal dysbiosis: a review // Altern. Med. Rev. 2004. Vol. 9. №2. P.180–197.

16. Frank D.N., Amand A. L. St., Feldman R.A., Boedeker E.C., Harpaz N., Pace N.R. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. National Academy of Sciences. 2007.Vol. 104. №34.P.13780–13785.

Поступила 23.04.19