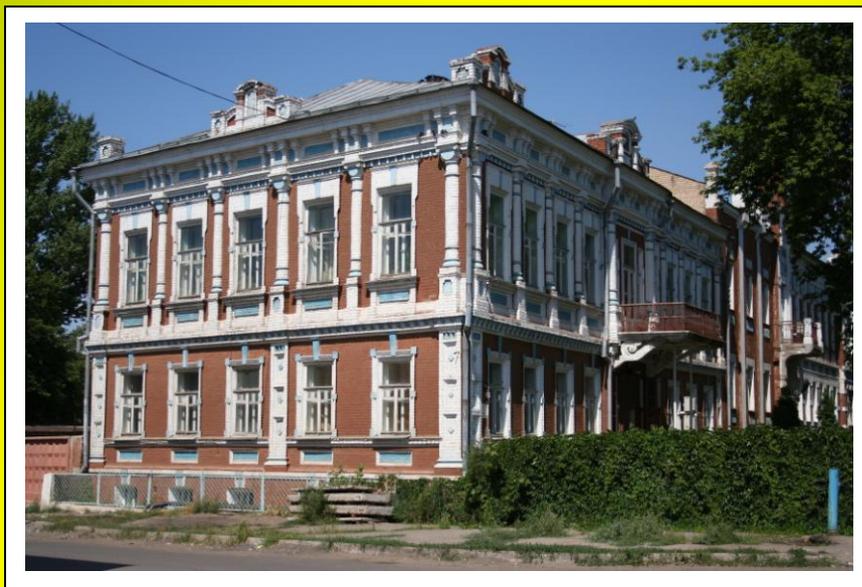


ISSN 2304-9081

**Учредители:**  
Уральское отделение РАН  
Оренбургский научный центр УрО РАН

**Бюллетень**  
**Оренбургского научного центра**  
**УрО РАН**  
(электронный журнал)



**2013 \* № 3**

On-line версия журнала на сайте  
<http://www.elmag.uran.ru>

© Коллектив авторов, 2013

УДК 579.61

*А.В. Савастеева*<sup>1,2</sup>, *Е.В. Иванова*<sup>1,2</sup>, *Н.Б. Перунова*<sup>1</sup>, *Т.А. Бондаренко*<sup>1</sup>,  
*И.Н. Чайникова*<sup>2</sup>

## **ВИДОВАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ФАКТОРЫ ПЕРСИСТЕНЦИИ ОБЛИГАТНО-АНАЭРОБНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ ЧЕЛОВЕКА**

<sup>1</sup> Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

<sup>2</sup> Оренбургская государственная медицинская академия, Оренбург, Россия

*Цель исследования.* Определить видовой состав и персистентные свойства (AIgA, ALfA, ALA, AЦA) облигатно-анаэробных микроорганизмов кишечника человека.

*Материалы и методы.* Материалом для исследования послужили штаммы облигатно-анаэробных микроорганизмов и штаммы условно-патогенных бактерий, изолированные из испражнений 80 пациентов в возрасте от 18 до 60 лет с I - III степенью дисбиоза. Выделено 254 штамма облигатно-анаэробных микроорганизмов родов *Eubacterium*, *Prevotella*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Propionibacterium*. Выделение и идентификацию микроорганизмов осуществляли общепринятыми методами, факторы персистенции микроорганизмов определяли по методикам О.В. Бухарина (1999, 2005, 2011) фотометрическим способом (ALA) и с помощью ИФА (ALfA, AIgA, AЦA). Измерения оптической плотности производили на фотометре ELx808 (BioTek, США). Полученные данные обработаны непараметрическим методом с применением критерия Манна-Уитни.

*Результаты.* При эубиозе кишечника в видовой структуре микросимбиоза преобладали облигатно-анаэробные микроорганизмы, среди которых доминировали бифидобактерии видов *B. longum*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. adolescentis*. При дисбиозе кишечника человека в структуре микросимбиоза отмечалось снижение доли облигатно-анаэробных и микроаэрофильных бактерий, а также уменьшение их численности в сравнении с эубиозом. Установлены различия в экспрессии и пенетрантности персистентных свойств облигатно-анаэробных микросимбионтов в зависимости от их видовой принадлежности.

*Заключение.* Полученные данные расширяют представления о видовом составе и биофиле облигатно-анаэробных бактерий кишечной микробиоты при ассоциативном симбиозе человека.

*Ключевые слова:* облигатно-анаэробные микроорганизмы, антилактоферриновая, антиммуноглобулиновая, антилизозимная активность, цитокины, дисбиоз.

*A.V. Savasteeva*<sup>1,2</sup>, *E.V. Ivanova*<sup>1,2</sup>, *N.B. Perunova*<sup>1</sup>, *T.A. Bondarenko*<sup>1</sup>,  
*I.N. Chainikova*<sup>2</sup>

## **SPECIFIC CHARACTERISTICS AND FACTORS OF PERSISTENCE OBLIGATE ANAEROBES OF HUMAN GUT**

<sup>1</sup> Institute of cellular and intracellular symbiosis UrB RAS, Orenburg, Russia

<sup>2</sup> Orenburg State Medical Academy, Orenburg, Russia

*Aim.* To the species composition and properties of the persistent (AIgA, AlfA, ALA ACA) of obligate anaerobic microorganisms of human gut.

*Materials and Methods.* The material for the study were strains of obligate anaerobic bacteria strains and opportunistic bacteria isolated from the feces of 80 patients aged 18 to 60 years

with I - III degree of dysbiosis . Allocated 254 strain of obligate anaerobic microorganisms of the genus *Eubacterium*, *Prevotella*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Propionibacterium*. Isolation and identification of microorganisms was carried out by conventional. Factors of persistence of microorganisms studied photometrically (ALA ) and by ELISA (AlfA, AIgA). Measuring the optical density produced a photometer ELx808 (BioTek, USA). The obtained data were treated non-parametric method using the Mann -Whitney test.

*Results.* When eubiosis intestinal species composition dominated microsymbiocenosis obligate anaerobes, including *Bifidobacterium* species dominated by *B. longum*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. adolescentis*. When the human intestinal dysbiosis in the structure microsymbiocenosis noted decline in the proportion of obligate anaerobic and microaerophilic bacteria, as well as a decrease in their numbers compared to eubiosis . In analyzing the data set of biological properties of microorganisms and the differences in expression and penetrance persistent microsymbionts pathogenic properties depending on their species .

*Conclusion.* These data are needed to understand of the species composition and bioprofile obligate anaerobic bacteria of the intestinal microbiota in associative symbiosis of man.

*Key words:* obligate anaerobes, antilactoferrine activity, antimmunoglobuline activity, antilysozyme activity, cytokines, dysbiosis.

## **Введение**

Облигатно-анаэробные микроорганизмы составляют доминантную группу микробиоты кишечника человека [4]. Они принимают участие в деградации токсинов, ферментов защиты и агрессии, продукции витаминов, биологически-активных соединений, формировании иммунного гомеостаза, участвуют в метаболических, ферментативных процессах и др. Характер изменений в составе микробиоты и соотношении различных групп в микробных экосистемах человека может служить индикатором инфекционных болезней и патологии.

Длительное сосуществование с организмом человека возможно при наличии определенных биологических свойств микроорганизмов, с одной стороны, и дефектностью защиты хозяина - с другой. В этом случае можно говорить о персистентных характеристиках, направленных на деградацию механизмов резистентности хозяина [3].

При формировании дисбиоза кишечника человека происходит изменение видового состава и биологических свойств облигатно-анаэробных бактерий, в том числе их факторов персистенции [4,7].

В настоящее время имеются единичные данные по видовой перестройке облигатно-анаэробного звена микросимбиоза кишечника человека при дисбиозе и взаимодействии спорообразующих и неспорообразующих анаэробов с такими важными факторами защиты как иммуноглобулины и лактоферрин, а также регуляторными молекулами врожденного иммунитета

– цитокинами.

В связи с этим целью данной работы явились оценка встречаемости облигатно-анаэробных микроорганизмов при различной степени дисбиоза кишечника человека и изучение персистентных свойств (AІgA, AЛфA, AЛA) облигатно-анаэробных бактерий, а также их взаимодействий с цитокинами организма человека.

### **Материалы и методы**

Материалом для исследования послужили штаммы облигатно-анаэробных, в том числе условно-патогенных, бактерий, изолированные из испражнений 80 пациентов в возрасте от 18 до 60 лет с I-III степенью дисбиоза. Выделено 254 штамма микроорганизмов родов *Eubacterium*, *Prevotella*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Propionibacterium*.

Исследование микробиоценоза кишечника осуществлялось в соответствии с «Методическими рекомендациями по применению бактериальных биологических препаратов в практике лечения больных кишечными инфекциями. Диагностика и лечение дисбактериоза кишечника» (М., 1986) [4]. Выделение и идентификация анаэробных микроорганизмов проводилась в соответствии с руководством «Wadsworth-KTL anaerobic bacteriology manual» (2002) [10]. Облигатно-анаэробные микроорганизмы культивировали на питательной среде Schaedler-агар (BBL, США) с добавлением 5% бараньих эритроцитов при 37<sup>0</sup>С в течение 2-7 суток. Анаэробные условия создавали в анаэробном термостате (Binder, Германия).

Идентификация выделенных штаммов микроорганизмов проводилась общепринятыми методами на основании морфологических, тинкториальных и культуральных свойств по М.О. Биргеру с соавт. (1982) [5]. Биохимический профиль микроорганизмов оценивали с помощью коммерческих тест-систем: «ENTEROtest 24», «STAPHYtest 16», «ANAEROtest-23» (LACHEMA, Чехия) и «API20CAUX» (bioMerieux, Франция).

Антилактоферриновую (AЛфA) и антииммуноглобулиновую активности (AІgA) бактерий и их взаимодействие с цитокинами (ИЛ-10, ИФН-γ, ФНО-α) – антицитокиновую активность (AЦA) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа на фотометре ИФА-ОЭП (Россия) при длине волны 450 нм с использованием наборов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия) [3]. Результаты AЛфA, AІgA и AЦA выражали в % инактивированного вещества в опытной пробе по сравнению с контролем. Для изуче-

ния антилизоцимной активности (АЛА) бактерий использовали фотометрический метод О.В. Бухарина с соавт. (1999) [3].

Данные, полученные в результате исследования, были подвергнуты статистической обработке параметрическими и непараметрическими методами в компьютерной оболочке Windows с помощью процессора электронных таблиц Microsoft Office Excel 2003 и программы «Биостат» [6].

### **Результаты**

Анализ данных, полученных в результате исследования видового состава кишечных микросимбиотозов обследуемых пациентов, показал, что микросимбиотоз при эубиозе представлен ассоциациями микроорганизмов в количестве 4-6 видов (в среднем  $5,0 \pm 0,3$ ), тогда как при дисбиозе кишечника видовой состав был более разнообразен и состоял из 5-8 видов микросимбиотозов (в среднем  $7,0 \pm 0,3$ ).

Установлено, что доля облигатно-анаэробных и факультативно-анаэробных и микроаэрофильных микроорганизмов в общем количестве изолированных микросимбиотозов, имела различия при эубиозе и дисбиозе кишечника. У исследуемой группы пациентов с эубиозом кишечника в структуре микросимбиотоза доминировали облигатно-анаэробные бактерии, доля которых составляла  $51,6 \pm 2,8\%$  от общего числа микроорганизмов, тогда как доля микроаэрофильных бактерий составляла  $16,7 \pm 2,1\%$ , а представителей факультативно-анаэробной микрофлоры -  $31,7 \pm 2,7\%$ .

В группе пациентов с дисбиозом дистального отдела толстого кишечника доля облигатно-анаэробных и микроаэрофильных бактерий среди общей численности изолированных микроорганизмов снижалась, в сравнении с эубиозом, и составляла  $43,2 \pm 1,6\%$  и  $4,9 \pm 0,7\%$  соответственно. Напротив, при дисбиозе, отмечено увеличение доли факультативно-анаэробных микроорганизмов в структуре микросимбиотоза, которая достигала  $51,9 \pm 1,6\%$  среди общего количества изолированных штаммов.

В видовой структуре облигатно-анаэробных микроорганизмов при эубиозе, доминировали виды *Bifidobacterium spp.* (*B. longum*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. adolescentis*), доля которых составляла  $38,7 \pm 3,9\%$ . Показатель микробной обсеменённости бифидобактерий находился в пределах возрастных норм и составлял  $\lg 10,2 \pm 0,5$  КОЕ/г. Наиболее часто при эубиозе кишечника обнаруживались бифидобактерии, относящиеся к видам *B. longum* (в  $40,9 \pm 6\%$  случаев) и *B. bifidum* (в  $31,8 \pm 5,7\%$  случаев), тогда как *B. adolescentis*

(в  $18,2 \pm 4,7\%$  случаев) и *B. breve* (в  $9,1 \pm 3,5\%$  случаев) встречались реже.

Меньшая доля среди всех изолятов облигатно-анаэробных бактерий, в сравнении с бифидобактериями, приходилась на микроорганизмы родов *Bacteroides* ( $16,1 \pm 3\%$ ), *Eubacterium* ( $12,9 \pm 2,8\%$ ) и *Propionibacterium* ( $12,9 \pm 2,8\%$ ). Показатель микробной обсеменённости данных видов микроорганизмов также находился в пределах возрастных норм и составлял для бактероидов  $lg 7,8 \pm 0,8$  КОЕ/г, для эубактерий  $lg 8 \pm 0,4$  КОЕ/г, а для пропионибактерий  $lg 8,8 \pm 0,5$  КОЕ/г.

Среди общего числа изолятов реже выявлялись такие представители облигатно-анаэробных микроорганизмов, как бактерии родов *Prevotella* (в  $9,7 \pm 3,6\%$ ), *Clostridium* (в  $6,5 \pm 3,0\%$ ) и *Peptostreptococcus* (в  $3,2 \pm 2,2\%$ ). Средние значения показателя микробной обсеменённости для превотелл составили  $lg 8,3 \pm 0,7$  КОЕ/г, для клостридий -  $lg 9 \pm 1$  КОЕ/г и для пептострептококков -  $lg 7 \pm 1$  КОЕ/г.

При дисбиозе биотопа дистального отдела толстого кишечника человека отмечалось снижение доли бифидобактерий среди общего количества облигатно-анаэробных микросимбионтов с  $38,7 \pm 3,9\%$  до  $21,9 \pm 2,1\%$  ( $p < 0,01$ ). При этом показатель микробной обсеменённости *Bifidobacterium spp.* снижался на  $38,2 \pm 3,4\%$  от первоначальных значений (с  $lg 10,2 \pm 0,5$  КОЕ/г до  $lg 6,3 \pm 0,2$  КОЕ/г).

При дисбиозе кишечника видовой состав представителей рода *Bifidobacterium* был более разнообразен, чем при эубиозе. У обследуемых лиц состав бифидофлоры был представлен видами: *B. adolescentis*, *B. animalis*, *B. dentium*, *B. pseudolongum*, *B. longum* и *B. bifidum*. Среди изолированных штаммов бифидобактерий наблюдалось доминирование вида *B. adolescentis*, который был выявлен в  $44,3 \pm 5,2\%$  случаев. Другие представители бифидофлоры, такие как *B. longum* и *B. bifidum* регистрировались в  $14,8 \pm 3,8\%$  случаев, *B. animalis* и *B. dentium* – в  $10 \pm 3,2\%$  и *B. pseudolongum* – в  $6,1 \pm 2,5\%$  случаев.

Кроме того при дисбиозе отмечено снижение доли пропионебактерий с  $12,9 \pm 2,8\%$  до  $2,7 \pm 0,8\%$  в видовой структуре облигатно-анаэробных бактерий, а также клостридий – с  $6,5 \pm 3,0\%$  до  $2,7 \pm 0,8\%$ . Численность *Propionibacterium spp.* незначительно уменьшилась с  $lg 8,8 \pm 0,5$  КОЕ/г до  $lg 7,8 \pm 0,3$  КОЕ/г. Снижение ПМО выявлено у *Prevotella spp.* (с  $lg 8,3 \pm 0,7$  КОЕ/г до  $lg 7 \pm 0,5$  КОЕ/г). Напротив, увеличение показателя микробной обсеменё-

ности при дисбиозе, в сравнении с эубиозом, отмечено у *Bacteroides spp.* (с  $lg\ 7,8 \pm 0,8$  КОЕ/г до  $lg\ 8,9 \pm 0,3$  КОЕ/г), *Clostridium spp.* (от  $lg\ 4,7 \pm 1$  КОЕ/г до  $lg\ 7 \pm 0,5$  КОЕ/г) и *Peptostreptococcus spp.* (с  $lg\ 7,8 \pm 0,4$  КОЕ/г до  $lg\ 7,5 \pm 0,6$  КОЕ/г).

Отмечено снижение доли лактобацилл в структуре микросимбиоценоза с  $16,7 \pm 2,2$  % до  $4,9 \pm 0,7$  % и уменьшение показателя их микробной обсемененности с  $lg\ 6,6 \pm 0,2$  КОЕ/г до  $lg\ 4,8 \pm 0,2$  КОЕ/г. Видовой состав лактобацилл при эубиозе кишечника человека был представлен *L. acidophilus* и *L. plantarum*, *L. brevis*, тогда как при дисбиозе - *L. brevis*, *L. plantarum* и *L. casei*.

У исследуемых видов облигатно-анаэробных грамотрицательных и грампозитивных бактерий был изучен комплекс персистентных свойств: антилактоферриновая, антилизосимная, антииммуноглобулиновая и антицитокининовая активности.

При анализе полученных данных установлены различия в экспрессии и пенетрантности персистентных и патогенных свойств микросимбионтов в зависимости от их видовой принадлежности. Так, распространённость антилактоферриновой активности у грампозитивных и грамотрицательных анаэробных микроорганизмов не отличалась и регистрировалась у 30–80% штаммов. При этом среди *Bifidobacterium spp.* способность инактивировать лактоферрин встречалась у 43-77 % культур, *Propionibacterium spp.* – у 60-80% изолятов, *Clostridium spp.* – у 70-80% культур, *Bacteroides spp.* – у 80-100% штаммов, *Eubacterium spp.* – у 30% культур.

При определении экспрессии АЛФА установлено, что наибольшее среднее значение признака среди облигатно-анаэробных микроорганизмов было характерно для бифидобактерий ( $25,1 \pm 2,2\%$ ) и уровень свойства варьировал от 20,7 до 35,2%, у клостридий - от 11,8 до 30,7% ( $15,3 \pm 3,1\%$ ) и у пропионибактерий – от 11,8% до 25,4 % ( $18,1 \pm 2,3$  %). Выраженность АЛФА эубактерий и бактероидов была несколько ниже и составила от 15,8 до 18% ( $16,3 \pm 2,4\%$ ) и от 13 до 15,8% ( $14,6 \pm 2,2$  %) соответственно (рис. 1).

При анализе способности облигатно-анаэробных бактерий инактивировать иммуноглобулин А было установлено, что данный признак широко распространён и регистрировался у 60-100% штаммов. При этом антииммуноглобулиновая активность чаще (80-100%) случаев встречалась среди культур родов *Bifidobacterium* и *Propionibacterium*. У представителей родов *Clostridium* и *Bacteroides* данная активность регистрировалась в 60-80% случаев.

Культуры *Eubacterium spp.* проявляли АИГА в 60 % случаев.

Изучение экспрессии антииммуноглобулиновой активности выявило различия среди видов анаэробных микроорганизмов и широкое изменение свойства от  $19,0 \pm 2,1\%$  у бактероидов до  $36,5 \pm 4,2\%$  у эубактерий. Для культур *Bifidobacterium spp.* уровень АИГА составил  $20-40\%$  ( $27,8 \pm 3,2\%$ ), для штаммов *Bifidobacterium spp.* уровень АИГА составил  $20-40\%$  ( $27,8 \pm 3,2\%$ ), для штаммов *Clostridium spp.* -  $26,7-33\%$  ( $29,2 \pm 2,8\%$ ), для *Propionibacterium spp.*  $20 - 27,3\%$  ( $23,3 \pm 1,2\%$ ), у *Bacteroides spp.* -  $18-20\%$  ( $19,2 \pm 1,1\%$ ) (рис. 1).

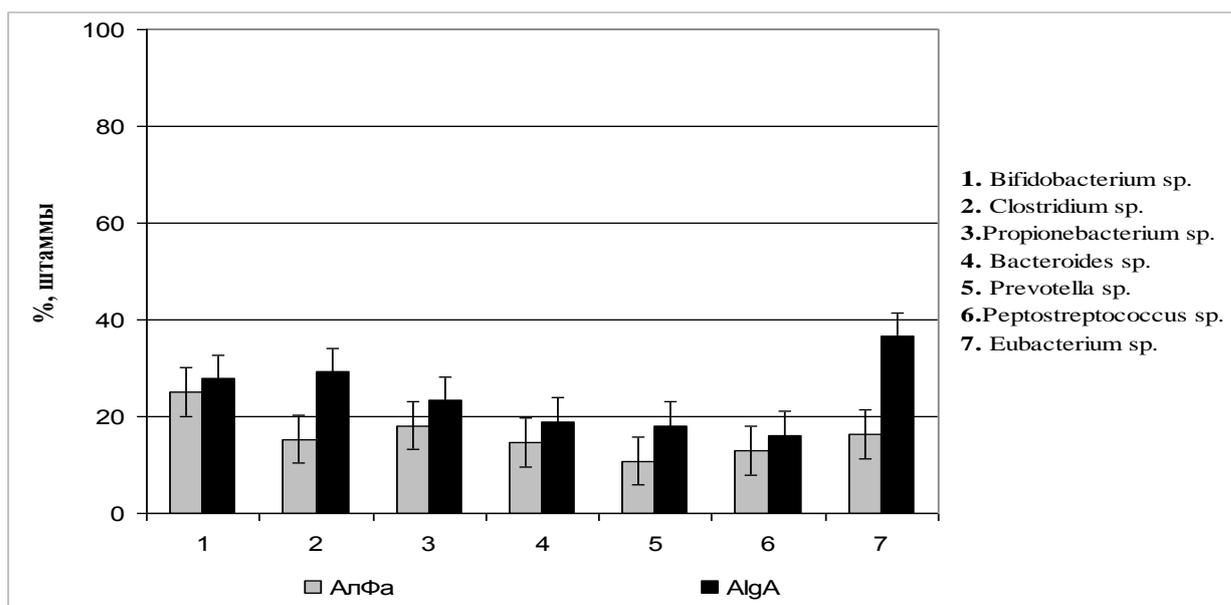


Рис. 1. Выраженность антилактоферриновой и антииммуноглобулиновой активностей облигатно-анаэробных бактерий кишечной микробиоты.

При сравнительной характеристике распространённости и выраженности факторов персистенции у грампозитивных и грамотрицательных анаэробных микроорганизмов было установлено, что антилизосимный признак встречался значительно чаще у грамположительных анаэробных бактерий, чем у грамотрицательных.

При этом АЛА у различных видов бифидобактерий встречалась в 67-100% случаев, у клостридий – в 80-100%, у эубактерий – в 83-100%. Среди выделенных пропионибактерий и пептострептококков способность к инактивации лизоцима была зарегистрирована в среднем у 60% изолятов. В то же время среди выделенных грамотрицательных микроорганизмов антилизосимный признак регистрировался значительно реже: у бактероидов и превотелл АЛА встречалась лишь у 20-60 % изолятов.

При изучении уровня экспрессии способности к инактивации лизоцима

у выделенных анаэробных штаммов было установлено, что большая часть изолятов обладали средними и высокими значениями АЛА (рис. 2): среди бифидобактерий диапазон АЛА колебался от 0,13 до 1,4 мкг/мл\*OD у *B. longum*; от 0,96 до 1,01 мкг/мл\*OD у *B. breve*; от 0,52 до 0,54 мкг/мл\*OD у *B. adolescentis* от 0,52 до 0,54 мкг/мл\*OD, при этом средние значения антилизозимного признака бифидобактерий составили  $0,67 \pm 0,05$  мкг/мл\*OD.

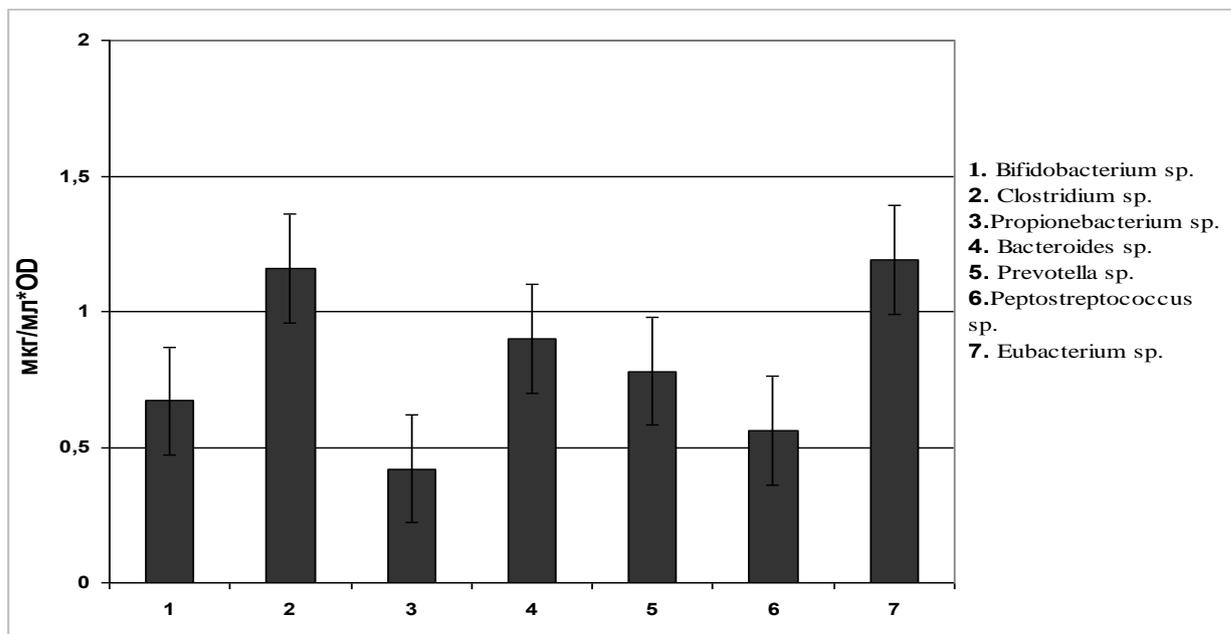


Рис. 2. Выраженность антилизозимной активности у облигатно-анаэробных бактерий кишечной микробиоты.

Максимальные значения уровня АЛА были зарегистрированы у эубактерий, а его среднее значение составило  $1,19 \pm 0,05$  мкг/мл\*OD. У представителей рода *Clostridium* способность к инаktivации лизоцима варьировала от 0,99 до 1,45 мкг/мл\*OD ( $1,16 \pm 0,04$  мкг/мл\*OD). Минимальные значения антилизозимной активности по сравнению с другими видами грамположительных микроорганизмов, составившие  $0,42 \pm 0,11$  мкг/мл\*OD, были выявлены у пропионибактерий, диапазон признака колебался от 0,26 мкг/мл\*OD до 0,63 мкг/мл\*OD.

Среди грамотрицательных анаэробных бактерий фекальной микрофлоры – бактероидов – уровень экспрессии антилизозимного признака колебался от  $0,46 \pm 0,02$  до  $0,88 \pm 0,07$  мкг/мл\*OD ( $0,72 \pm 0,05$  мкг/мл\*OD).

При сравнительной характеристике распространённости и выраженности антицитокиновой активности было установлено, что данную активность проявляли значительно чаще *Bifidobacterium spp.* и *Propionibacterium spp.* Дру-

гие представители инактивировали цитокины реже.

Распространённость способности микроорганизмов снижать концентрацию ФНО- $\alpha$  регистрировалась у 30-80 % штаммов облигатных-анаэробов. При этом у *Bifidobacterium spp.* способность инактивировать данный цитокин встречалась у 50-68% культур, у *Propionibacterium spp.* – у 60-80% изолятов, у *Clostridium spp.* – у 65-79% культур, у *Bacteroides spp.* – у 80-100 % штаммов.

При определении экспрессии АЦА в отношении ФНО- $\alpha$  установлено, что наибольшее среднее значение признака среди облигатно-анаэробных микроорганизмов характерно для клостридий (85 $\pm$ 2,2%) и уровень свойства варьировал от 65 до 92%, у пропионебактерий - от 58 до 96% (76 $\pm$ 3,1%) и у бактероидов – от 32 до 93 % (70 $\pm$ 2,3 %). Выраженность ФНО- $\alpha$  бифидобактерий была несколько ниже и составила от 46 до 69 %, в среднем - 55 $\pm$ 1,4% (рис. 3).

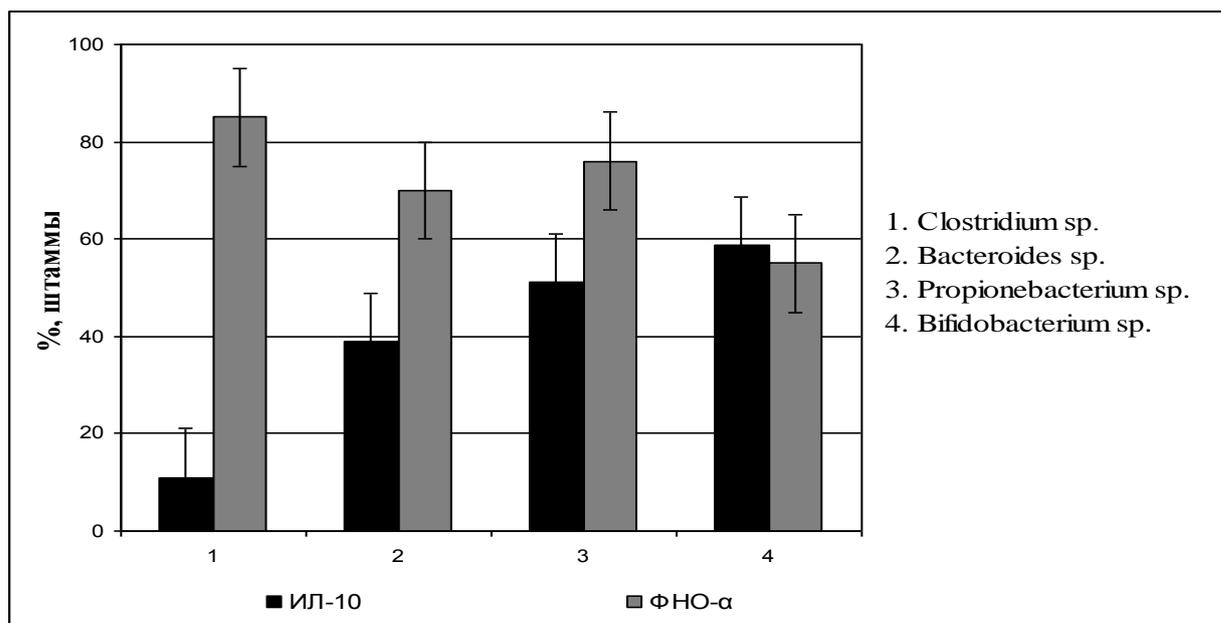


Рис. 3. Выраженность антицитокиновой активности облигатно-анаэробных микроорганизмов кишечной микробиоты.

Распространённость антицитокиновой активности в отношении ИЛ-10 у облигатно-анаэробных микроорганизмов регистрировалась у 75% штаммов. При этом у *Propionibacterium spp.* способность инактивировать ИЛ-10 встречалась у 50-78% культур, у *Bifidobacterium spp.* – у 60-80% изолятов, у *Bacteroides spp.* – у 65-79% культур, у *Clostridium spp.* – у 40-50% штаммов.

При определении экспрессии данного признака установлено, что наибольшее среднее значение среди облигатно-анаэробных микроорганизмов

было характерно для пропионебактерий ( $51 \pm 1,2\%$ ) и уровень свойства варьировал от 40,5 до 58,3 %, у бифидобактерий - от 49,5 до 70,4% ( $58,6 \pm 2,4\%$ ) и у бактероидов – от 28 до 44,1% ( $39 \pm 1,3\%$ ). Выраженность антицитокиновой активности, в отношении ИЛ-10, у клостридий была ниже и составила от 10,2 до 18% (в среднем –  $11 \pm 2,4\%$ ).

### **Заключение**

Таким образом, микросимбиоз, как биологическую систему, можно охарактеризовать определенной структурой (по видовому составу), имеющей отличие при эубиозе и дисбиозе биотопа дистального отдела толстого кишечника человека. Так, при эубиозе кишечника в видовой структуре микросимбиоза преобладали облигатно-анаэробные микроорганизмы, среди которых доминировали бифидобактерии видов *B. longum*, *B. bifidum*, *B. breve*. При дисбиозе кишечника человека в структуре микросимбиоза отмечалось снижение доли облигатно-анаэробных и микроаэрофильных бактерий, а также уменьшение их численности в сравнении с эубиозом.

Полученные данные соотносятся с имеющимися в литературе сведениями относительно видового и количественного состава микроорганизмов при эубиозе и дисбиозе биотопа дистального отдела толстого кишечника человека [1, 2, 5, 8, 9].

Высокая распространённость и выраженность факторов персистенции у облигатно-анаэробных бактерий фекальной микрофлоры, вероятно, связаны с постоянным взаимодействием бактерий и данных белков. Учитывая, что лизоцим, лактоферрин подавляют рост и размножение микроорганизмов, наличие факторов персистенции бактерий может, по-видимому, определять состав и стабильность микросимбиоза кишечника человека. Выявление антицитокиновой активности у представителей облигатно-анаэробного звена микросимбиоза толстого кишечника человека расширяет наши представления о регулирующем влиянии микробиоты на цитокиновый статус организма человека. Различия в спектре цитокинов, концентрация которых изменялась под влиянием бифидобактерий – доминантов кишечного микросимбиоза (высокие уровни АЦА в отношении как провоспалительного цитокина ФНО- $\alpha$ , так и противовоспалительного цитокина ИЛ-10) и ассоциантов (высокая экспрессия АЦА в отношении провоспалительного цитокина ФНО- $\alpha$ ), могут быть связаны с различного вида функциональными и структурными особенностями бактериальных протеаз, обуславливая адаптацию

микросимбионтов в организме хозяина и участвуя в формировании иммунологической толерантности к индигенной микрофлоре посредством изменения концентрации цитокинов в микроокружении клеток.

*(Работа выполнена по программе Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» в рамках проекта № 12-П-4-1015, программе Президиума РАН «Механизмы интеграции молекулярных систем при реализации физиологических функций в рамках проекта № 12-П-4-1045 и в рамках инновационного проекта молодых учёных УрО РАН № 13-4-ИП-205 «Поиск бактерий - продуцентов ингибиторов провоспалительных цитокинов».)*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Амерханова А.М. Научно-производственная разработка новых препаратов-синбиотиков и клинико-лабораторная оценка их эффективности: Дисс. ... д-ра биол. наук. М., 2009. 260 с.
2. Барановский А.Ю., Кондрашина Э.А. Дисбактериоз кишечника. СПб.: Питер, 2008. 240 с.
3. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий. М.: Медицина; 1999. 365 с.
4. Бухарин О.В. Экология микроорганизмов человека. Екатеринбург: УрО РАН, 2006. 476 с.
5. Бондаренко В.М., Боев Б.В., Лыкова ЕА., Воробьев АА. Дисбактериозы желудочно-кишечного тракта. Рос. журн. гастроэнтер., гепатол., колопроктол. 1998. 21: 66-70.
6. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999. 459 с.
7. Пинегин Б.Г., Мальцев В.Н., Коршунов В.М. Дисбактериозы кишечника. М.: Медицина, 1984. 142 с.
4. Приказ Минздрава России от 09.06.2003г. №231 Отраслевой стандарт «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» (ОСТ 91500.11.0004-2003).
5. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М. О. Биргера. 3-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 1982. 464 с.
6. Шендеров Б.А. Роль анаэробных неспорообразующих бактерий в поддержании здоровья человека. Вестник РАМН. 1996. 1: 8-11.
7. Collado M.C., Meriluoto J., Salminen S. Adhesion and aggregation properties of probiotic and pathogen strains. Eur Food Res Technol. 2008. 226: 1065–1073.
8. Reuter G. The Lactobacillus and Bifidobacterium Microflora of the Human Intestine: Composition and Succession. Curr. Issues Intest. Microbiol., 2001. Vol. 2 (2): 43-53.
9. Wadsworth-KTL anaerobic bacteriology manual. Washington. 2002.

*Поступила 22.10.2013*

*(Контактная информация:*

**Савастеева Анастасия Владимировна** – аспирант Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, 460052, г. Оренбург, ул. Салмышская 10, кв. 55; 8(922)-896-41-49;

**Иванова Елена Валерьевна** – к.м.н., ведущий научный сотрудник Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН 460052, г. Оренбург, ул. Джангильдина 15, кв. 126; 8961-929-18-72;

**Перунова Наталья Борисовна** – д.м.н., заведующий лабораторией Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН; адрес: 460000, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11, тел. 8(3532)775908; e-mail: perunovanb@gmail.com)