

УДК 613.693

Синдром нарушения колонизационной резистентности человека в искусственной среде обитания и его профилактика

В. К. Ильин, Н. В. Кирюхина*

Государственный научный центр РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, 123007, Москва, Хорошевское ш., 76А

*E-mail: kiryukhina_nataliya@hotmail.com

Поступила в редакцию 07.08.2013

После доработки 12.03.2014

РЕФЕРАТ Пребывание человека в среде с измененными параметрами сопровождается снижением колонизационной резистентности кишечника и покровных тканей, что приводит к дисбиотическим изменениям. Для коррекции дисбактериозов различной этиологии и локализации применяют пробиотики – препараты микрофлоры защитных групп. Однако эффективность пробиотика во многом зависит от адгезивной способности пробиотического штамма и отсутствия конкурентных отношений с индигенной микрофлорой, которые можно обеспечить путем индивидуального подбора препарата. Для оптимизации результатов профилактики и лечения предложено в качестве пробиотиков использовать аутомикрофлору человека. Применение индивидуализированного подхода к выбору препарата позволит повысить эффективность терапии, а также понизить риск развития неблагоприятных эффектов у каждого отдельного человека.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА аутоштаммы, аутопробиотики, дисбактериоз, измененные условия обитания, нарушение колонизационной резистентности.

ВВЕДЕНИЕ

При освоении человеком космоса, океана и земных недр создаются биоизолированные искусственные антропоэкосистемы с модифицированными параметрами среды обитания [1]. В этих условиях филогенетически сложившееся взаимоотношение коактантов экологической системы человек–микроорганизмы претерпевает существенные изменения. У человека оно принимает форму синдрома нарушения колонизационной резистентности. Поэтому не вызывает сомнения необходимость изучения состояния естественных барьеров колонизации, формируемых у человека, на пути инфекционного агента для выработки стратегии экологического подхода к проблемам профилактики инфекций у человека, находящегося в экстремальных условиях обитания.

van der Waaij дает следующее определение термина «колонизационная резистентность»: это «резистентность, с которой сталкиваются потенциально патогенные микроорганизмы при попытке колонизировать “места обитания” на слизистой оболочке одного из трех трактов, имеющих открытое сообщение с внешним миром: дыхательного, мочеполового и пищеварительного» [2]. Характеризуя инфекционную резистентность человека, van der Waaij называет

два основных ее барьера: барьер, сформированный комменсальной микрофлорой, и барьер, который образуется за счет факторов клеточного и гуморального иммунитета. В качестве естественного барьера В.М. Бондаренко указывает также эпителий слизистой оболочки, от физиологического состояния которого в значительной степени зависит возможность его пенетрации клетками возбудителя [3]. Исследования Noble позволяют причислить к барьерам колонизации и кожные покровы [4].

Необходимо подробнее остановиться на первом и основном барьере колонизации – барьере, сформированном микробными ассоциациями, состоящими из комменсалов человеческого организма. Система взаимоотношений как в самих этих ассоциациях, так и между ее коактантами и хозяином достаточно сложна. При заражении возбудитель попадает в организм в виде популяций генетически гетерогенных особей вместе с продуктами питания, водой, частицами капельного и пылевого аэрозолей и др. Формирование первичного инфекционного очага происходит путем вытеснения нормальной микрофлоры и захвата возбудителем нового ареала обитания. Адгезия, колонизация и последующее размножение возбудителя, синтезирующего токсические субстанции, обу-

словливают развитие в организме патоморфологических изменений, которые в случае представителей группы условно-патогенных микробов характеризуются отсутствием специфичности и мозаичностью поражения различных органов и тканей. При нарушении общей резистентности организма, снижении уровня защитной микрофлоры, увеличивается популяция условно-патогенных микроорганизмов, которые могут транслоцироваться в другие биотопы [5]. По аналогичному пути развивается эндогенная инфекция, этиологическим агентом которой является аутохтонная микрофлора.

Согласно современным представлениям, естественную микрофлору любых биотопов подразделяют по происхождению на постоянную (резидентную) и случайную (транзиторную). Если резидентная микрофлора включает в себя представителей, специфичных для данного биотопа, то транзиторная состоит из занесенных извне микроорганизмов. Резидентная микрофлора биотопа относительно стабильна, но физиологическая роль микроорганизмов, ее составляющих, далеко не равнозначна. Поэтому в резидентной микрофлоре различают облигатную и факультативную.

Облигатная микрофлора – главная составляющая любого микробиоценоза, она противодействует заселению биотопа случайными микроорганизмами, участвует в процессах ферментации, иммуностимуляции. Например, к облигатной микрофлоре толстого кишечника относят бифидобактерии, лактобациллы, типичные кишечные палочки, пептострептококки, зубактерии, большинство видов бактероидов и энтерококков [6]. Естественная микрофлора пищеварительного тракта выполняет важные физиологические функции: обеспечение колонизационной резистентности слизистой; стимуляция процесса формирования иммунной системы новорожденных и поддержание иммунного тонуса у взрослых при помощи мурамилпептида из клеточных стенок бактерий и других адьювантно-активных макромолекул; участие в обменных процессах (продукция ферментов, участвующих в метаболизме белков, липидов, нуклеиновых и желчных кислот), поддержание водно-солевого баланса, синтез витаминов группы В, К и D; регуляция газовой среды кишечника, участие в биохимических процессах пищеварения (ферментация пищевых субстратов, регуляция моторно-эвакуаторной функции кишечника); инактивация экзогенных и эндогенных токсических продуктов при помощи механизмов биотрансформации и биодеградации.

Присутствие в кишечнике достаточного количества прикрепленных к его стенке резидентных микроорганизмов предотвращает размножение патогенных

агентов, их инвазию в энтероциты и прохождение через кишечную стенку путем создания в своем биотопе рН-среды, неблагоприятной для посторонней микрофлоры, а также путем выработки бактериоцинов (антибиотических субстанций) и лишения конкурирующих микроорганизмов питательных веществ и мест адгезии. Полезная метаболическая активность включает продукцию витамина К, биотина, ниацина, пиридоксина и фолиевой кислоты; гидролиз желчных солей и холестерина, регуляцию его уровня; участие в рециркуляции гормонов. Дефицит полезной микрофлоры в кишечном микробиоценозе приводит к нарушению рециркуляции эстрогенов, секретирующихся в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) с желчью, и развитию соответствующих патологических состояний в женской половой сфере. Нормально функционирующая резидентная микрофлора контролирует продукцию токсинов в кишечнике, предупреждая их избыточную выработку и попадание в кровоток. В результате метаболизма резидентной микрофлоры, обладающей детоксицирующими и протеолитическими свойствами, в кишечнике происходит протеолиз эндотоксинов, аллергенов и антигенов. Это касается также всасывания в кишечнике частично переваренных белков, в том числе способствующих развитию пищевой непереносимости и сопутствующих ей кожных заболеваний. Естественно, при нарушении микробиоценоза эти субстанции попадают в кровь.

Заслуживает внимание детоксицирующая и защитная роль индигенной микрофлоры в предотвращении негативного влияния радиации, химических загрязнителей пищи, канцерогенных факторов, токсичных эндогенных субстратов, непривычной и экзотической пищи, загрязненной воды за счет стимулирования иммунного ответа и повышения неспецифической иммунорезистентности – потенцирования продукции интерферона, интерлейкинов, увеличения фагоцитарной способности макрофагов.

Необходимо подробнее остановиться на основных группах протективной микрофлоры, на основе которой в настоящее время создаются популярные пробиотические средства.

Бифидобактерии – основная группа бактерий кишечника, она составляет 25% всей микробной популяции в кишечнике взрослых и 95% у новорожденных. Бифидобактерии продуцируют уксусную и молочную кислоты. Развивающаяся как следствие этой кислая реакция среды создает антибактериальный эффект. Бифидобактерии способны выделять продукты метаболизма, которые непосредственно ингибируют развитие грамположительных и грамотрицательных условно-патогенных микроорганизмов. Бифидобактерии превращают потенциально токсичный аммиак (или амины) в ион аммония NH_4^+ ,

неспособный проникать через слизистую в кровоток. Более того, эти бактерии не образуют алифатических аминов, сероводорода и нитритов. Бифидобактерии продуцируют витамины, в основном группы В, а также пищеварительные ферменты, такие, как казеинфосфатаза и лизоцим. Бифидобактерии восстанавливают нормальную кишечную микрофлору после антибиотикотерапии [6].

Энтерококки, ранее относимые к стрептококкам группы D, – многочисленная группа бактерий рода *Enterococcus*, включающая виды *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. raffinosus*, *E. irae*, *E. malodoratus* и *E. mundtii*. В клиническом материале от человека встречаются *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. gilvus* и *E. pallens*. У новорожденных энтерококки выявляются уже с первых дней жизни, и у детей первого года, находящихся на грудном вскармливании, их уровень колеблется от 10^6 до 10^7 КОЕ/г. У детей с искусственным вскармливанием уровень энтерококков может достигать 10^8 – 10^9 КОЕ/г. Популяционный уровень энтерококков в кишечнике здорового человека остается стабильным, достигая 10^7 – 10^8 КОЕ/г фекалий. Энтерококки находятся практически в каждом отделе кишечника. К основным свойствам энтерококков относятся: участие в синтезе витаминов и метаболизме сахаров (лактозы); иммуностимуляция – поддержка уровня цитокинов широкого спектра; высокая антагонистическая активность против стафилококков, листерий, кишечных палочек благодаря выработке бактериоцинов; противовоспалительные свойства; высокий уровень устойчивости к факторам внешней среды (температуре, рН). В норме количество энтерококков в кишечнике не должно превышать общее количество кишечных палочек [6].

Значительную долю популяции протективных групп микроорганизмов в большинстве биотопов человека формируют лактобациллы. Лактобациллы – грамположительные палочки, факультативные анаэробы. Лактобациллы различаются по потребности в питательных веществах и факторах роста. Лактобациллы обладают протеолитической активностью, обусловленной действием вырабатываемых протеаз, пептидаз; при помощи липолитической активности расщепляют жир молока и некоторые триглицериды; а с помощью экзонуклеазной активности синтезируют ДНК-азу и(или) РНК-азу, образуют псевдокаталазу; продуцируют ферменты, сбрасывающие гексозы, дисахариды и полисахариды. Антагонистическое действие лактобацилл обусловлено высокой кислотообразующей активностью, выработкой антибиотических веществ (например, ацидофилин – *Lactobacillus acidophilus*, лактолин – *L.*

plantarum, бревин – *L. brevis*), пероксида водорода, лизоцима [6].

Механизмы колонизационной резистентности организма можно разделить на прямые и непрямые. К прямым относятся продукция бактериями ингибиторов, нарушающих метаболизм патогенных и условно-патогенных бактерий, конкурентные взаимоотношения с патогенными бактериями за питательные субстраты, за места адгезии, прямую деградацию токсинов, антиэндотоксическое действие, препятствование транслокации микроорганизмов в другие участки организма. К непрямым эффектам относятся активация иммунной системы, стимуляция системы мононуклеаров, интерферогенная функция, ингибирование конъюгации желчных кислот и др. Естественно, что множественность механизмов, обеспечивающих колонизационную резистентность, предполагает и многообразие вариантов, комбинаций в конкретных ситуациях, определяющих состояние колонизационной резистентности, которая, скорее всего, зависит от количества и качества микрофлоры и условий ее обитания.

Перечисленные выше функции, благотворно влияющие на здоровье человека, являются стабильными, если поддерживается качественное и количественное постоянство микрофлоры. Естественно также, что не все положительные функции микрофлоры представлены во всех биотопах или проявляются в одинаковой степени. Они определяются анатомо-физиологическими и биохимическими особенностями биотопов, т.е. желудочно-кишечного, урогенитального трактов, кожи, дыхательных путей и т.д.

НАРУШЕНИЕ КОЛОНИЗАЦИОННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ

В экстремальных условиях нарушаются барьерные функции организма, связанные с нормальным функционированием кожи, кишечника и слизистых оболочек, непосредственно контактирующих с окружающей средой [7]. Показано, что при стрессовых воздействиях (психоэмоциональных и физических) наблюдаются активация эндогенной микрофлоры в кишечном резервуаре, проникновение бактерий в кровяное русло с последующим выведением через мочевые пути [8]. Если воздействующие факторы, прямо или опосредованно влияющие на фиксацию, выживание и функционирование нормальной микрофлоры, по своей интенсивности превышают компенсаторные механизмы экосистемы макроорганизм–микрофлора, то они будут индуцировать микроэкологические нарушения, характер проявления, степень выраженности и длительность которых зависят от дозы и продолжительности воз-



Рис. 1. Схема развития синдрома колонизационной резистентности в условиях космического полета

действия. Способность противостоять повреждающим воздействиям зависит от многих условий, характеризующих состояние организма. Результаты обследования космонавтов, водолазов, спортсменов выявили признаки развития вторичного иммунодефицита и нарушения регуляторных механизмов. Реакция каждого индивида зависела от его генетического и иммунологического потенциала, а также от состояния микробиоценоза [9, 10].

В настоящее время синдром нарушения колонизационной резистентности рассматривается как патологическое состояние, которое выявляется у людей экстремальных профессий – космонавтов, водолазов, подводников, кессонщиков и др. Дисбактериоз – одно из важнейших проявлений синдрома нарушения колонизационной резистентности, характеризуется исчезновением или снижением количества некоторых облигатных представителей нормальной микрофлоры, увеличением частоты выявления концентрации представителей факультативной микрофлоры и возможности появления необычных для данного биотопа видов бактерий.

Весь комплекс факторов, воздействующих на организм человека и животных в космических полетах или длительных погружениях методом сатурации, достаточно необычен, к нему нет каких-либо эволюционно выработанных адаптационных приспособлений [11]. Кроме того, имеются данные о причастности

нервно-функционального напряжения, гипокинезии, повышенных физических нагрузок, длительного пребывания в условиях изоляции с измененными параметрами газовой среды и микроклимата к формированию дисбактериоза [12]. В этих же исследованиях показано, что при нервно-эмоциональном напряжении имеет место снижение количества бифидобактерий и лактобацилл, в отдельных случаях до их полной эрадикации. Изменения в аэробной микрофлоре в сторону повышения содержания отдельных ее представителей происходят и под влиянием повышенных физических нагрузок. Выраженные изменения в микрофлоре возникают и у людей при пребывании в гермокамере с измененными параметрами газовой среды и микроклимата. Это общие изменения микрофлоры кишечника, возникающие при пребывании человека в экстремальных ситуациях, а пусковым механизмом развития дисбактериоза является снижение количества бифидобактерий и лактобацилл. Степень выраженности дисбиотической перестройки микрофлоры в значительной степени определяется исходным состоянием микробиологического статуса.

Характер изменений при стрессе обсуждается в обзоре Н.Н. Лизько [13]. Стрессовые ситуации создают условия для изменения адгезивных свойств бактерий и клеточной адгезивности макроорганизма. Например, физико-химическое состояние кишечного



Рис. 2. Схема развития синдрома колонизационной резистентности в условиях наземных гермопомещений

муцина может быть нарушено желчными кислотами, протеолитическими ферментами и изменениями pH. Резкую редукцию мукозной составляющей (муцина) и снижение кислых мукополисахаридов на поверхности мукозного слоя и покрывающих его клеток считают показателем стрессовой реакции. Имеются прямые доказательства существования некоторой предрасположенности к изменению адгезии во время стресс-индуцированных сдвигов в процессах пищеварения. Выявлены значительные изменения иммунореактивности в ответ на стресс-активацию гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы. Снижение иммунологической резистентности может влиять на топографическое распределение некоторых микробных популяций в ЖКТ. Следствие этого – эндогенная контаминация и метаболические последствия усиленного бактериального роста в тонком кишечнике.

Таким образом, синдром нарушения колонизационной резистентности развивается практически во всех случаях использования человеком искусственно измененной среды обитания. При этом развитие этого синдрома определяется как специфическими факторами, т.е. факторами измененной среды обитания (радиация, микрогравитация, гипокинезия для космических полетов; сочетанное воздействие измененной газовой среды и повышенного давления для сатурационных длительных погружений и др.),

так и неспецифическими, главным образом, стресс-индуцированными факторами и факторами замкнутого объема. Они воздействуют практически на все барьеры колонизации.

Так, в условиях космического полета (рис. 1) комплекс специфических (микрогравитация, гипокинезия, радиационный фон, колонизация бактериально-грибковыми ассоциациями элементов среды обитания) и неспецифических (стресс, факторы замкнутого объема) факторов оказывает влияние на состояние всех трех барьеров колонизации. Усиленный микробный обмен, экзогенная контаминация, стресс-индуцированный дисбактериоз и усиление потенциала патогенности в системе человек-микроорганизмы ведут к ослаблению первого барьера, формируемого протективной микрофлорой. Второй барьер (эпителий покровных тканей и слизистых оболочек) также теряет протективные функции из-за ряда патофизиологических процессов (перераспределение жидкостей, нарушение кальциевого обмена, усиление десквамации эпителия, нарушение физиологической функции кишечника). Третий барьер, представленный факторами клеточного и гуморального иммунитета, также нарушается, что выражается в изменении фагоцитоза, бактерицидной активности сыворотки, понижении активности киллерных клеток и снижении продукции интерлейкинов, активации остеокластактивиру-

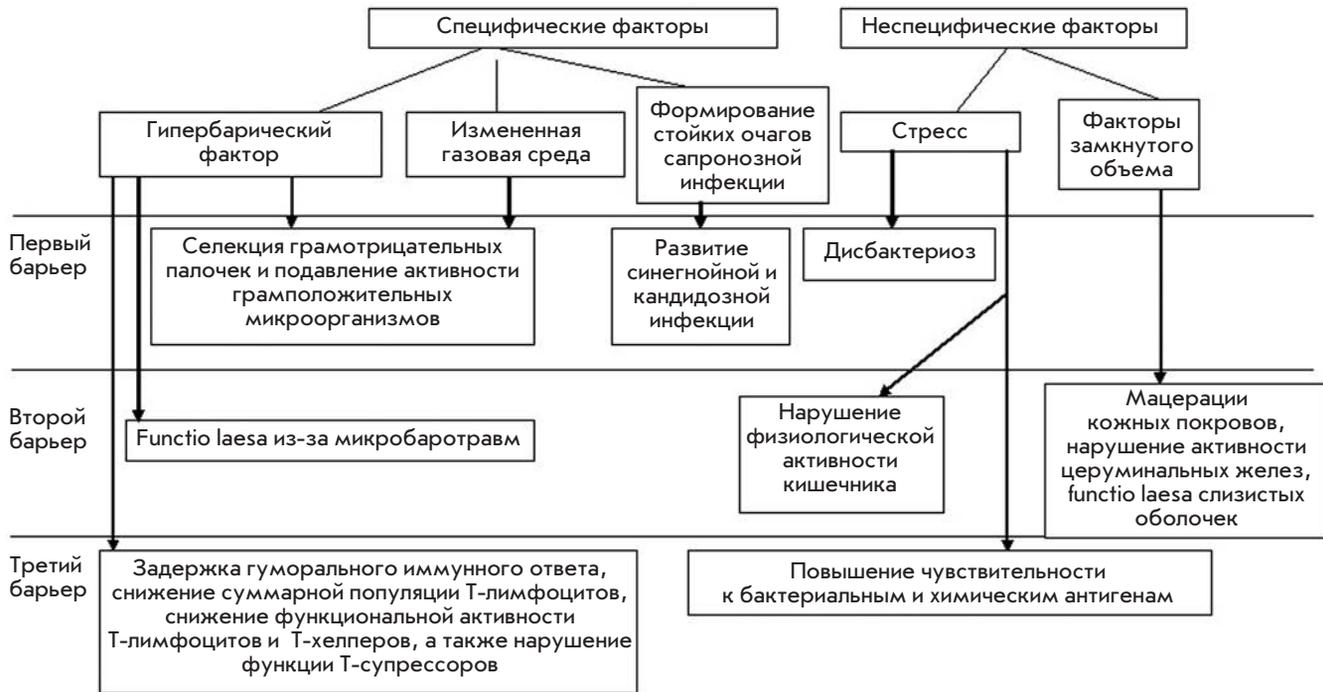


Рис. 3. Схема развития синдрома колонизационной резистентности в условиях гипербарии

ющего фактора и развитию токсико-аллергических состояний.

В условиях эксплуатации обитаемых наземных гермопомещений (рис. 2) специфические факторы среды (увеличение концентрации продуктов метаболизма, дезадаптация, ограничение гигиенических процедур) и стресс способствуют усилению микробного и как результат плазмидного обмена, что приводит уже в первые дни изоляции к спонтанному формированию штаммов по типу госпитальных, увеличению массивности микробных очагов, замене менее вирулентных штаммов на более вирулентные в пределах одного вида, системным дисбактериозом и др. Физиологический статус покровных тканей также нарушается. Нарушается и иммунитет, что выражается в снижении функциональной активности Т-лимфоцитов и цитотоксической активности естественных киллерных Т-клеток; уменьшении продукции интерлейкина 2; повышении уровня иммуноглобулинов класса А, М, G; ослаблении фагоцитоза и бактерицидной активности сыворотки крови; повышении чувствительности к бактериальным и химическим антигенам.

Наиболее выраженным и опасным является формирование синдрома нарушения колонизационной резистентности в условиях длительных погружений методом сатурации (рис. 3), при котором комплекс специфических факторов (сочетанное влияние ги-

пербарической среды и измененного газового состава) оказывает мощное активизирующее воздействие на условно-патогенную микрофлору и ингибирующее – на протективную микрофлору. Как следствие, проявления синдрома нарушения колонизационной резистентности развиваются линейно, в зависимости от длительности срока изопрессии и величины давления, и на фоне интенсивной колонизации среды обитания инфекционными агентами сапронозного типа, главным образом синегнойной палочкой. Барьерные функции покровных тканей также нарушены из-за микробаротравм, мацерации эпителия, пониженной активности церуминальных желез в наружных слуховых проходах, которые становятся *locus minoris resistentiae* для инфекций. Весьма часто инфекции в условиях длительных погружений манифестируют в виде наружных отитов, что приводит к преждевременной декомпрессии заболевших по медицинским показаниям (табл. 1) [7].

МЕТОДЫ ПРОФИЛАКТИКИ СИНДРОМА НАРУШЕНИЯ КОЛОНИЗАЦИОННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ

С целью предотвращения развития и лечения дисбактериозов различной этиологии широко используют различные коммерческие пробиотические препараты, основанные на коллекционных штаммах микроорганизмов. Тем не менее известно, что внедряемые в организм пробиотики способны вызывать

Таблица 1. Развитие синдрома нарушения колонизационной резистентности в сатурационном длительном погружении, проявляющееся изменениями процентного соотношения протективной и условно-патогенной микрофлоры покровных тканей и кишечника

Этап	Сутки исследований	Группа микроорганизмов, %		
		протективные грамположительные	условно-патогенные грамотрицательные	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Фон	0	90.3	4.8	0
Изопрессия	1–3	67.3	11.5	9.6
	5–8	62.5	32.8	25.0
	11–13	39.6	31.0	20.6
Декомпрессия	18–22	25.0	31.0	25.8
	24–28	38.7	40.3	29.0
Выход	30–34	68.5	28.5	22.8

дисбаланс в аутофлоре хозяина вследствие антагонизма индигенных и промышленных штаммов [14]. Некоторые исследования показывают, что пробиотики, основанные на промышленных штаммах, отторгаются вследствие биологической несовместимости [15]. Возрастает количество сообщений о негативных эффектах терапии пробиотическими препаратами, содержащими промышленные штаммы. Большая часть публикаций содержит информацию об инфекционных осложнениях, связанных с употреблением коммерческих пробиотиков. Как правило, подобные негативные эффекты развиваются у ослабленных, возрастных, иммунокомпрометированных пациентов. Данный факт следует всегда учитывать при использовании средств пробиотической коррекции.

Развернутая информация об осложнениях пробиотикотерапии как бактериальной, так и грибковой этиологии, представлена в обзоре [16] и частично отражена в табл. 2.

Помимо соответствия стандартам генетической безопасности и устойчивости к антибактериальным агентам, эффективность пробиотика определяется и его адгезивной активностью, отсутствием конкурентных отношений с индигенной микрофлорой, а также антагонистическими свойствами в отношении условно-патогенных микроорганизмов, что может быть в определенной степени обеспечено путем индивидуального подбора пробиотического препарата [26]. Очевидно, что наиболее высокая степень индивидуализации биопрепарата достигается при использовании аутоштаммов микроорганизмов, выделенных из микробиоценозов конкретного человека.

Б.А. Шендеров утверждает, что еще в период внутриутробного развития в организме ребенка формируется иммунологическая толерантность к нормальной микрофлоре матери [27]. Известно, что различие

в адгезивной способности промышленных и аутологичных штаммов к клеткам эпителия зависит от соответствия рецепторов данного конкретного штамма рецепторам клеток [28–30]. Например, установлено, что вагинальные лактобациллы лучше прикрепляются к клеткам вагинального эпителия по сравнению со штаммами, выделенными из других источников [28, 29].

Изучением защитной роли аутобактерий при стрессовых состояниях занимался Б.А. Бердичевский [8]. Экспериментально показана активация аутомикрофлоры при хирургическом стрессе, которая проявляется в транслокации аутобактерий в экстраинтестинальные биотопы с последующей элиминацией через мочевыводящие пути.

Ряд авторов предлагает использовать в качестве препаратов полноценные микробиоценозы человека [31–33]. Для бесконечно долгой сохранности микрофлоры рекомендуется хранение биоматериала в криобанках с последующим использованием для конструирования аутопробиотиков и продуктов функционального питания [31, 32]. В патенте «Способ получения банка аутохтонных штаммов микроорганизмов для восстановления кишечного микробиоценоза человека» описывается методика создания препарата аутологичных кишечных микроорганизмов [33]. Способ включает отбор проб фекалий одного и того же организма в период его клинически здорового состояния начиная с 7–15 дня после рождения и в течение всей жизни периодически не чаще 1 раза в год. Из проб выделяют и идентифицируют аутоштаммы нормальной кишечной микрофлоры. Биомассу каждого вида бактерий отдельно нарабатывают на селективных питательных средах до титра не менее 10^3 – 10^9 кл/мл. Полученные биомассы объединяют и добавляют стабилизирующий

Таблица 2. Случаи бактериального и грибкового сепсиса, хронологически связанные с применением пробиотиков*

Форма сепсиса	Возраст больного, лет	Факторы риска	Пробиотик	Метод идентификации	Ссылка
Абсцесс печени	74	Сахарный диабет	LGG**	API 50 CH***, PFGE	[17]
Эндокардит	67	Митральная недостаточность, экстракция зубов	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> , 3 × 10 ⁹ КОЕ в день	API 50 CH, масс-спектрометрия	[18]
Бактериемия	11 мес.	Недоношенность, гастростомия, синдром короткого кишечника, ЦВЦ, парентеральное питание, ротавирусная диарея	LGG, 1/4 капсулы в день	Секвенирование рРНК	[19]
Эндокардит	4 мес.	Операция на сердце, антибиотик-ассоциированная диарея	LGG, 10 ¹⁰ КОЕ в день	ДНК-дактилоскопия	[20]
Бактериемия	47	Не указано	<i>Bacillus subtilis</i> , 8 × 10 ⁹ спор в день	Чувствительность к антибиотикам	[21]
Бактериемия	73	Хронический лимфолейкоз	<i>B. subtilis</i> , 8 × 10 ⁹ спор в день	Секвенирование 16S рРНК	[22]
Фунгемия	3 мес.	ЦВЦ, диарея, парентеральное питание	<i>Saccharomyces boulardii</i> , 100 мг в день****	PFGE митохондриальной ДНК	[23]
Фунгемия	51	Хронический лимфолейкоз	<i>S. boulardii</i> , 1 г в день	PFGE	[24]
Фунгемия	42	Трансплантация почки и поджелудочной железы, иммуносупрессия, диарея, ассоциированная с <i>Clostridium difficile</i>	<i>S. boulardii</i> , 1 г в день	PFGE	[25]

Примечание. ЦВЦ – центральный венозный катетер, рРНК – рибосомная РНК, PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis) – гель-электрофорез в пульсирующем поле, LGG – *Lactobacillus rhamnosus* GG, КОЕ – колониобразующая единица.

*Цитируется по [16].

**Если доза препарата не указана, то в оригинальной публикации точная дозировка препарата отсутствует.

***Набор для идентификации *Lactobacillus* spp., BioMerieux.

****250 мг *S. boulardii* = 5.425 × 10¹³ живых клеток.

состав. Смесь разделяют на образцы. Каждый образец консервируют и хранят в течение жизни человека с периодическим контролем биотитра. В возрасте до 1 года в качестве нормальной кишечной микрофлоры выделяют преимущественно бифидобактерии *Bifidobacterium bifidum*, *B. brevis*, *B. infantis* и лактобактерии *Lactobacillus acidophilus*, *L. fermenti*. В возрасте старше 1 года в качестве нормальной кишечной микрофлоры выделяют преимущественно бифидобактерии вида *B. longum*, *B. adolescentis*, лактобактерии *L. acidophilus*, *L. fermenti*, *L. plantarum*, штаммы *Escherichia coli* и молочнокислые стрептококки преимущественно *Streptococcus faecium*, *Str. faecalis*, *Str. avium*, *Str. salivarius* и *Str. bovis*. В процессе хранения после контроля биотитра дополнительно объединяют в равных соотношениях часть образцов аутоштаммов бактерий, выделенных из нормальной кишечной микрофлоры человека в разные периоды его жизни. Введение в кишечник человека образцов банка аутоштаммов микроорганизмов позволяет одновременно воздействовать на различные звенья нарушенного

бактериоценоза кишечника за счет использования более полного спектра нормальной микрофлоры кишечника [33].

Методика получения аутопробиотической закваски на основе энтерококков описана в патенте «Способ получения аутопробиотика на основе *Enterococcus faecium*, представителя индигенной микрофлоры кишечника хозяина» [34]. Новизна предлагаемого способа приготовления молочнокислой закваски заключается в том, что продукт получают из собственного (аутопробиотического) штамма *E. faecium* – обитателя желудочно-кишечного тракта данного пациента. Способ отличается тем, что после отбора характерных по морфологии колоний и непосредственно перед получением продукта проводят полимеразную цепную реакцию (ПЦР) с определением вида энтерококка и генетических детерминант патогенности, что предлагается впервые. Данный способ обеспечивает абсолютную безопасность готового продукта для человека. Способ отличается высокой скоростью получения готовой закваски (4–6 сут с момента взя-

тия материала). Для выделения индигенных энтерококков из фекалий для создания аутопробиотических молочнокислых заквасок необходимо осуществить следующий алгоритм действий: высеять бактерии из фекалий пациента на селективные среды, идентифицировать родовую принадлежность штамма, провести ПЦР для определения вида энтерококка и возможного содержания факторов патогенности, отобрать клоны, удовлетворяющие требованиям генетической безопасности и физиологической функциональности, депонировать индивидуальные штаммы энтерококков в криохранилище, получить молочнокислую закваску [34].

В 2006 году Ван Ликуй детально рассмотрел метод лечения бактериальных вагинозов с использованием аутохтонных микроорганизмов [35]. Применение коммерческого препарата лактобактерин в виде вагинальных суппозиториях вызывало улучшение в составе вагинальной микрофлоры, но не приводило к полному восстановлению молочнокислой флоры, вследствие низкой приживляемости лактобактерий кишечного происхождения во влагалище. Было предложено корректировать нарушения микробиоценоза с помощью аутоштаммов лактобактерий, выделенных из влагалища пациенток. Местный препарат аутоштаммов лактобактерий в виде суппозиториях применяли после проведения курса антибактериальной терапии, что обеспечивало успешную приживляемость пробиотика и существенно снижало риск рецидива бактериального вагиноза. Аналогичный метод успешно использовали для восстановления нарушенного микробиоценоза влагалища беременных женщин после антибиотикотерапии пиелонефрита [36].

Показано [37], что коммерческий бактериальный препарат «Ацилакт» быстро элиминируется из влагалищной среды. Проведено рандомизированное двойное слепое исследование применения коммерческих и аутологичных лактобацилл, которое продолжалось в течение 12 мес. Для исследования были выбраны 165 женщин с бактериальным вагинозом. Контрольные осмотры проходили 132 пациентки: 70 из группы применявших собственные лактобациллы (группа I) и 62 – из группы применявших пробиотик «Ацилакт» (группа II). Терапевтическую эффективность оцени-

вали с применением критериев клинического улучшения, восстановления микробиоценоза влагалища и исчезновения объективных симптомов, сопровождающих эту инфекцию. Профилактическую эффективность определяли по числу повторных инфекций в течение всего периода наблюдения. Динамика восстановления биоценоза влагалища до нормоценоза различалась статистически значимо в зависимости от способа восстановления. При использовании культуры собственных лактобактерий уже через 3 мес. у большинства женщин (82,2%) формировался нормоценоз, максимальные значения (88,7%) наблюдались к 6 мес. после лечения, к концу исследования прирост составил всего 1,5%. При использовании препарата «Ацилакт» нормоценоз восстанавливался к 3 мес. у 61,7% пациенток, к 6 мес. – у 71,4% и к 12 мес. – у 78%. Темп и объем восстановления в группе II статистически значимо отличался от значений в I группе ($p \leq 0.05$). Результаты проведенных исследований показали, что лактобациллы обладают генетической гетерогенностью, обуславливающей определенную специфичность по отношению к хозяину [37].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение индигенных штаммов микроорганизмов защитных групп с целью коррекции дисбиозов изучено рядом авторов [31–43]. Крайне актуальным представляется использование аутоштаммов для профилактики и лечения дисбактериозов у лиц экстремальных профессий – космонавтов, летчиков, водолазов, спортсменов, спасателей. Отсутствие проблем развития инфекционных осложнений, биологической несовместимости и приживляемости позволяет предположить возможность применения аутопробиотиков в лечении новорожденных, пожилых людей и пациентов с иммуносупрессией. В настоящее время концепция создания криобанков микробиоценозов человека и аутопробиотиков может рассматриваться как отдельная часть персонализированной медицины. Применение индивидуализированного подхода к выбору препаратов позволит повысить эффективность профилактики и лечения, а также понизить риск неблагоприятных эффектов у каждого отдельного человека. ●

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Григорьев А.И., Газенко О.Г. // Вестн. РАН. 1980. № 2. С. 71–75.
2. van der Waaij D. // *Nahrung*. 1987. V. 31. № 5–6. P. 507–517.
3. Бондаренко В.М., Жалко-Титаренко В.П. // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1991. № 8. С. 23–27.
4. Noble W.C. // *Curr. Probl. Dermatol*. 1989. V. 18. P. 37–41.
5. Berg R.D. // *Jikken Dobutsu*. 1985. V. 34. № 1. P. 1–16.
6. Борисов Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология. М.: МИА, 2002. 736 с.
7. Ильин В.К., Воложин А.И., Виха Г.В. Колонизационная резистентность организма в измененных условиях обитания. М.: Наука, 2005. 280 с.
8. Бердичевский Б.А. Аутобактерии, стресс и человек (антология одного наблюдения). М.: Мед. книга, 2001. 207 с.
9. Григорьев А.И., Тоневский А.Г. // Молекуляр. медицина. 2008. № 3. С. 29–40.

10. Лизько Н.Н. // Тез. докл. 6 Всерос. съезда микробиологов, эпидемиологов и паразитологов. Нижний Новгород. М., 1991. Т. 2. С. 107.
11. Григорьев А.И. // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2007. Т. 93. № 5. С. 473–484.
12. Лизько Н.Н. // Вестн. РАМН. 1996. № 8. С. 31–34.
13. Лизько Н.Н. // Антибиотики и мед. биотехнология. 1987. Т. 32. № 3. С. 184–186.
14. Глушанова Н.А., Шендеров Б.А. // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2005. № 2. С. 56–61.
15. Boirivant M., Strober W. // Curr. Opin. Gastroenterol. 2007. V. 23. № 6. P. 679–692.
16. Boyle R.J., Robins-Browne R.M., Tang M.L.K. // Am. J. Clin. Nutr. 2006. V. 83. № 6. P. 1256–1264.
17. Rautio M., Jousimies-Somer H., Kauma H., Pietarinen I., Saxelin M., Tynkkynen S., Koskela M. // Clin. Infect. Dis. 1999. V. 28. № 5. P. 1159–1160.
18. Mackay A.D., Taylor M.B., Kibbler C.C., Hamilton-Miller J.M. // Clin. Microbiol. Infect. 1999. V. 5. № 5. P. 290–292.
19. DeGroot M.A., Frank D.N., Dowell E., Glode M.P., Pace N.R. // Pediatr. Infect. Dis. J. 2005. V. 24. № 3. P. 278–280.
20. Land M.H., Rouster-Stevens K., Woods C.R., Cannon M.L., Cnota J., Shetty A.K. // Pediatrics. 2005. V. 115. № 1. P. 178–181.
21. Richard V., van der Auwera P., Snoeck R., Daneau D., Meunier F. // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 1988. V. 7. № 6. P. 783–785.
22. Oggioni M.R., Pozzi G., Valensin P.E., Galieni P., Bigazzi C. // J. Clin. Microbiol. 1998. V. 36. № 1. P. 325–326.
23. Perapoch J., Planes A.M., Querol A., Lopez V., Martínez-Bendayan I., Tormo R., Fernandez F., Peguero G., Salcedo S. // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2000. V. 19. № 6. P. 468–470.
24. Bassetti S., Frei R., Zimmerli W. // Am. J. Med. 1998. V. 105. № 1. P. 71–72.
25. Riquelme A.J., Calvo M.A., Guzman A.M., Depix M.S., Garcia P., Perez C., Arrese M., Labarca J.A. // J. Clin. Gastroenterol. 2003. V. 36. № 1. P. 41–43.
26. Оришак Е.А., Бойцов А.Г., Нилова Л.Ю. // Патент № 2428468 РФ. С12N1/20, А61К35/74. 2010.
27. Шендеров Б.А. // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 1998. Т. 8. № 1. С. 61–65.
28. Kirjavainen P.V., Ouwehand A.C., Isolauri E., Salminen S.J. // FEMS Microbiol. Lett. 1998. V. 167. № 2. P. 185–189.
29. Boris S., Suraz J.E., Vazquez F., Barbes C. // Infect. Immun. 1998. V. 66. № 5. P. 1985–1989.
30. Бойцов А.Г., Рищук С.В., Ильясов Ю.Ю., Гречанинова Т.А. // Вестн. Санкт-Петербургской мед. акад. им. И.И. Мечникова. 2004. Т. 4. № 5. С. 191–193.
31. Шендеров Б.А., Манвелова М.А. // Патент № 2139070 РФ. А61К35/00. 1999.
32. Шендеров Б.А. // Вестн. восстановительной медицины. 2003. № 1. С. 29–31.
33. Хачатрян А.П., Хачатрян Р.Г. // Патент № 2126043 РФ. С12N1/00. 1999.
34. Суворов А.Н., Симаненков В.И., Сундукова З.Р., Ермоленко Е.И., Цапиева А.Н., Донец В.Н., Соловьёва В.И. // Патент № 2460778 РФ. С12N1/20. 2012.
35. Ван Ликуй. Использование пробиотиков и аутоштаммов лактобактерий в комплексном лечении бактериального вагиноза. М.: ГОУ ВПО РГМУ Росздрава, 2006.
36. Высоцких Т.С., Беккиева М.Х., Тикина А.П. // Мат. IX Всерос. научного форума «Мать и дитя». М., 2007. С. 43.
37. Мельников В.А., Стулова С.В., Тюмина О.В., Денисова Н.Г., Шукин В.Ю. // Фундаментальные исследования. 2012. № 1. С. 64–67.
38. Коршунов В.М., Смеянов В.В., Ефимов Б.А. // Вестн. РАМН. 1996. № 2. С. 60–65.
39. Симаненков В.И., Суворов А.Н., Донец В.Н., Ермоленко Е.И., Сундукова З.Р. // Мат. Всерос. конф. гастроэнтерологов Юго-Западного региона. Ростов-на-Дону, 2009. С. 83–87.
40. Сундукова З.Р., Донец В.И. // Актуальные вопр. клинической и эксп. медицины: Сб. тез. к научно-практической конференции молодых ученых. СПб., 2009. С. 62.
41. Ильин В.К., Суворов А.Н., Кирюхина Н.В., Усанова Н.А., Старкова Л.В., Бояринцев В.В., Карасева А.Б. // Вестн. РАМН. 2013. № 2. С. 56–62.
42. Кирюхина Н.В. Применение пробиотиков в целях коррекции микрофлоры верхних дыхательных путей. М.: ГБУЗ МНПЦО ДЗМ, 2009.
43. Pyin V.K., Kirjukkina N.V., Usanova N.A., Tiurina D.A. // Proc. 3rd Int. probiotic conf. Košice (Slovakia), 2008. P. 17.