

УДК 616.34:612.39 (575.2) (04)

## КАЧЕСТВЕННЫЕ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА ПРИ РАЗЛИЧНОЙ КРАТНОСТИ ПРИЕМА ПИЩИ

*Мохаммад Валид Зиб*

Установлены качественные и количественные изменения состояния микрофлоры кишечника при различной кратности приема пищи – при 8-разовом кормлении снижается количество облигатной микрофлоры кишечника и увеличивается размножение патологических и условно патогенных форм.

*Ключевые слова:* кишечная микрофлора; микробиологическое исследование; кратность приема пищи.

При дисбиозе кишечника существенно меняется микробный пейзаж внутренней среды кишки, что нарушает пищеварительные процессы, оказывает повреждающее действие на кишечную стенку и усугубляет уже имеющуюся малоабсорбцию. Нарушенная кишечная микрофлора оказывает негативное воздействие на организм, усиливает кишечное брожение, выработку токсинов, канцерогенов, фенолов, аминов, что влияет на функцию ЖКТ и способствует развитию различных заболеваний. При этом бактериальному спектру отводится роль не следствия, а причины возникновения системных расстройств [1–4].

Целью данного исследования явилось изучение качественных и количественных изменений микрофлоры кишечника при различной кратности приема пищи.

**Материал и методы исследования.** Эксперименты поставлены на 120 белых лабораторных крысах средней массой 200–250, которые были разделены на три группы:

I – контрольная группа, животные находящиеся на 3-разовом стандартном кормлении (n=60);

II – опытная группа, животные находящиеся на 1-разовом кормлении (n=60);

III – опытная группа, животные находящиеся на 8-разовом кормлении (n=60).

Работа с животными проводилась в соответствии с положениями IV Европейской Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (ETS 123, 1986).

Проанализированы результаты бактериологического исследования испражнений, взятых от экспериментальных крыс без признаков острых кишечных инфекций (ОКИ). Опреде-

ление количественного и качественного состава кишечной микрофлоры проводили в соответствии с Методическими рекомендациями № 1–11/31,1986 и Информационным письмом “Совершенствование методов диагностики дисбактериозов толстого кишечника” (СП Гос. мед. акад. им. И.И. Мечникова, 2002). Культурально-ферментативные свойства изучали согласно МУ 04-723\3 МЗ СССР от 17.12.84 г. и Приказу №535 от 22.04.85 г. с использованием среды СИБ. Для изучения гемолизирующей активности использовали ГМФ-агар с добавлением 5-процентных эритроцитов барана.

Секционный материал массой не менее 20 г растирали в ступках. При посеве на плотные среды исследуемый материал наносили с помощью пипетки, с последующим втиранием материала шпателем по всей поверхности среды. На высокоселективные среды посевной материал вносили в большем объеме (в 3–5 раз), чем на слабоселективные. Пластинчатые среды подсушивали так, чтобы на их поверхности не оставалась конденсационная жидкость, что обеспечивало рост изолированных колоний. После инкубирования посевов на средах обогащения делался повторный высеив на дифференциально-диагностические среды с последующим отбором подозрительных колоний. После 18–20-часового инкубирования чашек с дифференциально-диагностическими средами (висмут-сульфит агар 48) производился учет характера роста с отбором 3–5 подозрительных колоний на одну из сред для первичной идентификации (Клиггера, Ресселя, Олькеницкого) и на скошенный питательный агар. Для идентификации вида микроорганизмов определялись морфологические

и биохимические свойства с использованием соответствующих индикаторных тестов.

Полученный фактический материал подвергли компьютерной обработке с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel с расчетом критерия Стьюдента.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Было обнаружено большое количество представителей облигатной микрофлоры толстого и тонкого кишечника (соответствующих нормативным показателям) при 3-разовом кормлении: ( $4,3 \times 10^6$ ;  $5,7 \times 10^6$ ) их количество было меньше в группе с одноразовым питанием ( $7,4 \times 10^4$ ;  $8,7 \times 10^4$ ) и наиболее низким в группе с восьмикратным приемом пищи ( $2,86 \times 10^4$ ; и  $5,71 \times 10^4$ ). Ферментативная активность кишечной палочки сохранена (ферментативная активность определена с помощью дифференциально-диагностической среды Эндо, среды первичной идентификации – среды Клигlera и короткого ряда Гисса и СИБ). В желудке в контрольной и опытной группах микроорганизмы не обнаружены.

Во второй группе с 1-разовым кормлением в среднем количество кишечной палочки составило  $5 \times 10^5 - 6 \times 10^5$ . Отсутствовала условно-патогенная флора вследствие бактерицидного действия кишечной палочки, определялись бифидо- и лактобактерии в количестве 10–100 кл/г (рис. 1).



Рис. 1. Среда Блаурокка, рост бифидобактерий с изменением прозрачности среды при внесении содержимого толстого кишечника крыс с одноразовым кормлением.

Обнаружение небольшого количества *Candida*, в пределах 1000 микробных клеток (рис. 2), указывало на некоторое ингибирование ферментативной активности нормальной облигатной микрофлоры кишечника.



Рис. 2. Среда Сабуро, рост колоний *Candida* при внесении содержимого толстого кишечника крыс с одноразовым кормлением.

В третьей группе с восьмиразовым кормлением наблюдалась общая тенденция к снижению количества облигатной микрофлоры кишечника по совокупности всех ее представителей. Так, например, количество кишечной палочки снижено до 1000 кл/г. Отсутствуют бифидо- и лактобактерии за счет снижения количества кишечной палочки. При дефиците защитных компонентов кишечной микрофлоры происходит размножение таких патологических видов, как плазмокоагулирующих стафилококков, протеев, грибов рода *Candida*, повышено количество условно-патогенных энтеробактерий: *Klebsiella* spp, *Citrobacter* spp, *Enterobacter* spp, *Proteus* spp. (рис. 3) в количестве от 100–1000 кл/г.

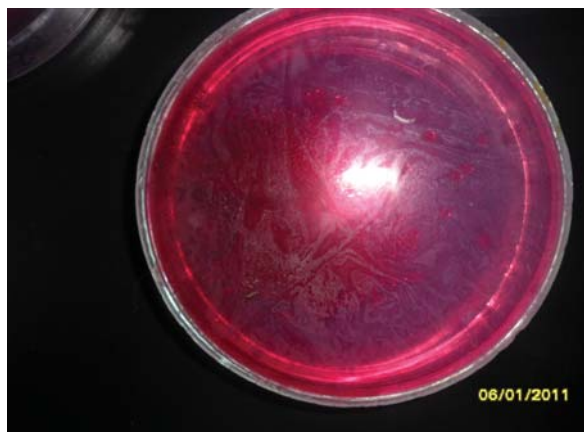


Рис. 3. Рост колоний *Klebsiella* на среде Эндо при внесении содержимого толстого кишечника крыс с восьмиразовым кормлением.

Среди атипичных разновидностей эшерихий гемолитические *E.coli* встречались чаще лактозонегативных. При исследовании испражнений третьей группы экспериментальных крыс патогенной флоры (шигеллы и сальмонеллы) не обнаружено.

Выводы. При сравнении групп, различающихся кратностью питания, установлено, что наиболее благоприятное содержание микрофлоры тонкого кишечника было при трехразовом питании, несколько снижено – при однократном и наиболее худшее состояние регистрировалось при восьмикратной даче корма.

Во второй группе с одноразовым кормлением в среднем количество кишечной палочки составляло  $5 \times 10^5$  –  $6 \times 10^5$ . Определялись бифидо- и лактобактерии в количестве от 10–100 кл/г и грибки рода *Candida* в пределах 1000 микробных клеток. Отсутствовала условно-патогенная флора за счет бактерицидного действия кишечной палочки.

В третьей группе с восьмиразовым кормлением наблюдалось снижение количества облигатной микрофлоры кишечника по совокупности

всех ее представителей. Отсутствовали бифидо- и лактобактерии. Происходило размножение патогенной микрофлоры плазмокоагулирующих стафилококков, протеев, грибов рода *Candida*, количество условно-патогенных энтеробактерий (*Klebsiella* spp, *Citrobacterspp*, *Enterobacter* spp, *Proteus* spp.).

#### **Литература**

1. *Усманова М.В.* Значение комплексных исследований содержимого кишечника для совершенствования лабораторной диагностики энтеропатологий у подростков: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Алматы, 2004. 31 с.
2. *Парфенов А.И.* Микробная флора кишечника и дисбактериоз // Русский медицинский журнал. 1998. №18. С. 12–27.
3. *Steven R.* Metagenomic Analysis of the Human Distal Gut Microbiome // Science. 2006. Vol. 312. P. 1355–1359.
4. *Шульпекова Ю.О.* Избыточный бактериальный рост в кишечнике: патогенетические особенности и лечебные подходы // Русский медицинский журнал. 2003. №5. С. 557–562.