

КОЛОНИЗАЦИОННАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ КИШЕЧНИКА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИЕРСИНИОЗЕ*

Чичерин И.Ю.¹, Погорельский И.П.², Лундовских И.А.², Бессолицына Е.А.²,
Дармов И.В.², Шабалина М.Р.²

¹ Научное общество «Микробиота», Сергиев Посад, Россия (141306, Сергиев Посад-6 МО, ул. Октябрьская, 19-3),
e-mail: rpatron@mail.ru

² ФГБОУ ВПО «Вятский государственный университет», Киров, Россия (610000, Киров, ул. Московская, 36),
e-mail: kaf_mb@vyatsu.ru

COLONIZATION RESISTANCE OF THE INTESTINAL MUCOSA IN EXPERIMENTAL YERSINIOSIS

Chicherin I.Yu.¹, Pogorelsky I.P.², Lundovskikh I.A.², Bessolitsyna E.A.², Darmov I.V.², Shabalina M.R.²

¹ Scientific society «Microbiota», Sergiev Posad, Russia (Oktyabrskaya st., 19-3, Sergiev Posad-6, Russia, 141306),
e-mail: rpatron@mail.ru,

² Vyatka State University, Kirov, Russia (Moskovskaya st., 36, Kirov, Russia, 610000), e-mail: kaf_mb@vyatsu.ru

РЕЗЮМЕ

Исследовано влияние пребиотика Стимбифид и низкомолекулярных экзометаболитов надосадочной жидкости нативных культур пробиотических бифидобактерий и лактобактерий, обладающих пребиотическим действием, на предотвращение развития кишечного иерсиниоза у конвенциональных белых мышей.

Подопытных животных инфицировали перорально культурой возбудителя кишечного иерсиниоза *Yersinia enterocolitica*, выделенного от больного с манифестной формой инфекционного заболевания. Пребиотик Стимбифид, надосадочная жидкость нативных культур бифидобактерий и лактобактерий, составляющих основу пробиотиков Бифидумбактерин и Лактобактерин, при пероральном введении инфицированным животным полностью купировали развитие кишечного иерсиниоза и предотвращали дисбиотические изменения в составе кишечной микрофлоры.

Ключевые слова: кишечный иерсиниоз, белые мыши, дисбактериоз, пребиотик, пробиотик, экзометаболиты.

ВВЕДЕНИЕ

Кишечный иерсиниоз – острая зоонозная бактериальная инфекция, вызываемая микроорганизмами *Yersinia enterocolitica* [1, 2]. Для болезни характерны фекально-оральный механизм передачи возбудителя, полиморфизм клинической симптоматики, нередко стертая картина начальных проявлений болезни, сходство клинических проявлений с другими заболеваниями кишечника различной этиологии, вовлечение в патоморфологический процесс ряда органов и систем, преимущественная спорadicность возникновения заболевания, возможность хронизации [1-4].

Эти и другие особенности кишечного иерсиниоза обуславливают известные трудности выявления, диагно-

SUMMARY

The effect of prebiotic Stimbifid and low-molecular exometabolites in the supernatant fluid of native cultures of prebiotic bifidobacteria and lactobacilli possessing prebiotic effect on the prevention of intestinal yersiniosis in the conventional white mice was investigated.

Experimental animals were infected orally with intestinal yersiniosis pathogen *Yersinia enterocolitica*, isolated from patient with manifested form of infection. Prebiotic Stimbifid, supernatant fluids of native cultures of Bifidobacteria and Lactobacteria, which form the basis of probiotics Bifidumbacterin and Lactobacterin, when administered orally to infected animals completely stopped the development of intestinal yersiniosis and prevented the dysbiotic changes in the intestinal microflora.

Key words: intestinal yersiniosis, white mice, dysbacteriosis, prebiotic, probiotic, exometabolites.

стики и лечения данного инфекционного заболевания, летальность при септической форме которого достигает 30-60 % [5, 6]. Основным резервуаром возбудителя в природе являются мелкие грызуны, которые оставляют возбудитель на различных объектах внешней среды, на почве, пищевых продуктах, заносят в воду, способствуя распространению иерсиний среди диких и домашних животных, мелких певчих птиц.

Источником инфекции для человека являются в основном домашние животные и мелкие грызуны [1, 2, 6]. Факторами передачи *Y. enterocolitica* являются контаминированные мясные продукты, молоко, овощи, вода. Иерсинии способны длительно существовать при низких положительных температурах и размножаться в пищевых

* Ссылка для цитирования: Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Лундовских И.А., Бессолицына Е.А., Дармов И.В., Шабалина М.Р. Колонизационная резистентность слизистой оболочки кишечника при экспериментальном иерсиниозе. Журнал инфектологии.- 2013.- №1.

продуктах. Для кишечного иерсиниоза характерен сезонный подъем заболеваемости; в ноябре отмечается пик заражения возбудителем *Y. enterocolitica* [6].

Серьезность проблемы кишечного иерсиниоза, с которой сталкиваются врачи-инфекционисты, эпидемиологи и микробиологи, связана с тем, что заболевание часто остается нераспознанным и превращается, будучи изначально инфекционным, в терапевтическую и даже хирургическую проблему [4-6].

Важно при этом отметить, что при кишечном иерсиниозе, также как и при псевдотуберкулезе [7], возникают выраженные дисбиотические изменения в составе кишечной микрофлоры. Очень часто с микробиологическими нарушениями в консорциуме нормальной кишечной микрофлоры ассоциируются возникающие и усугубляющиеся метаболические нарушения, которые провоцируют прогрессирование патологического состояния с быстрым летальным исходом [8].

Как известно, для *Y. enterocolitica* основным является энтеральный путь инфицирования [2, 6]. Поэтому адекватной моделью, воспроизводящей кишечный иерсиниоз, является энтеральное заражение восприимчивых животных [9, 10].

Комплекс факторов патогенности *Y. enterocolitica* определяет их способность вызывать заболевание у лабораторных животных и у людей. Процесс первичного взаимодействия патогенных иерсиний с эпителием кишечника при энтеральном поступлении в организм подразделяют на два этапа: адгезию с энтеротоксигенностью различной степени выраженности при слабой или отсутствующей инвазии и пенетрацию бактерий в клетки эпителия при слабой токсинпродукции с последующей генерализацией инфекции [2, 11].

Штаммы *Y. enterocolitica* серотипа 0:9 (наиболее инвазивные, содержащие плазмиду вирулентности) характеризуются развитием генерализованного процесса с возникновением энтероколита, увеличением лимфатических узлов, печени, селезенки, полнокровием паренхиматозных органов и образованием милиарных абсцессов. Выделение патогенных бактерий отмечается из печени, лимфатических узлов брыжейки, из кишечного содержимого [2].

Установление полидетерминантной природы патогенности возбудителя кишечного иерсиниоза, факторы патогенности которого контролируются как хромосомными, так и плазмидными генами [12], имеет принципиальное значение для понимания начального этапа взаимодействия возбудителя со слизистой оболочкой кишечника.

Установлено, в частности, что бесплазмидные штаммы *Y. enterocolitica* не инициируют инфекционный процесс и иммунную перестройку организма при энтеральном инфицировании. Мутанты по гену *inv*, не синтезирующие инвазин, не способны проникать внутрь эпителиальных клеток кишечника на начальном этапе развития инфекции [13].

Данные, полученные с использованием экспериментальных моделей иерсиниозной инфекции [14], оказались весьма информативными в плане микробиолого-морфологической оценки характера взаимодействия иерсиний с чувствительным организмом [13, 15]. При естественном (энтеральном) пути введения вирулентных штаммов *Y. enterocolitica* в чувствительный организм, как и при энтеральном введении бактерий близкородственного псевдотуберкулезного микроба (*Y. pseudotuberculosis*), важнейшим этапом инфекционного процесса является взаимодействие возбудителя со слизистой оболочкой кишечника.

Высокая колонизационная резистентность слизистой оболочки кишечника и ее сопротивляемость к колони-

зации патогенными и условно-патогенными микроорганизмами является составной частью защитных механизмов кишечника в норме. Сохранив колонизационную резистентность слизистой оболочки кишечника, обеспечив бионесовместимость по типу «хозяин против патогена» [16], можно купировать развитие патологического процесса на ранней стадии иерсиниозной инфекции, предотвратив адгезию, инвазию и колонизацию слизистой оболочкой возбудителем *Y. enterocolitica*.

Цель работы состоит в изучении влияния пребиотика Стимбифид и низкомолекулярных микробных экстрактов пробиотических микроорганизмов, образующихся в процессе культивирования в жидких питательных средах, на колонизационную резистентность кишечника конвенциональных белых мышей и предотвращение развития кишечного иерсиниоза.

Материалы и методы

В экспериментах по моделированию кишечного иерсиниоза на конвенциональных белых мышах использовали кальцийнезависимый штамм 1407 *Yersinia enterocolitica* серотипа 0:9, содержащий плазмиду с молекулярной массой 42 МД. Штамм выделен от больного с манифестной формой заболевания, выраженными симптомами гастроэнтероколита и поражения суставов. Титр антител в крови больного против иерсиний 1:12000. Бактерии штамма устойчивы к ампициллину, чувствительны к хлорамфениколу, гентамицину, ципрофлоксацину, цефтриаксону. Величина LD50 для белых мышей при пероральном способе введения составляет $\sim 7,4 \cdot 10^7$ живых микробов.

В работе использовали:

пребиотический препарат Стимбифид (серия 030910 ТУ 9330-002-50168265-05 с изм. № 1, произведен ООО «В-МИН» (ООО «МедСтар», Россия). Препарат создан на основе фруктоолиго- и фруктополисахаридов, содержит премикс витаминно-минеральный «Immunity» и вспомогательные вещества (натрия бикарбонат, лактоза, кальция стеарат). Лечебная и профилактическая эффективность пребиотика Стимбифид подтверждена клиническими испытаниями [17];

пробиотик Бифидумбактерин (серия 315/6, произведен ФГУП «НПО «Микроген», Россия);

пробиотик Лактобактерин (серия 15/6, произведен ФГУП «НПО «Микроген», Россия).

Выращивание штамма *Y. enterocolitica* 1407 с учетом его психрофильности [2] проводили при температуре 24 °С.

Результаты исследования

На основании данных, представленных J.C. Pere и V.L. Miller в работе [13], инициация кишечного иерсиниоза при энтеральном поступлении *Y. enterocolitica* в чувствительный организм выглядит следующим образом: на первой стадии процесса происходит адгезия и инвазия возбудителя с последующей транслокацией через интестинальный эпителий в терминальном отделе подвздошной кишки и размножением в пейеровых бляшках; на второй стадии – диссеминация возбудителя по органам и системам тканей и развитие генерализованной (системной) инфекции.

Таким образом, воздействуя на начальной стадии инициации кишечного иерсиниоза при пероральном поступлении возбудителя в организм, можно предупредить его адгезию к эпителиоцитам слизистой оболочки кишечника, колонизацию и инвазию. С этой целью использованные в работе конвенциональные белые мыши были разделены на 6 групп по 10 особей в каждой группе. Первая группа, животных которой инфицировали перо-

рально возбудителем кишечного иерсиниоза, являлась контрольной.

Инфицированных перорально возбудителем кишечного иерсиниоза животных второй группы лечили внутримышечным введением гентамицина по 1 мг в сутки в течение 6 дней, начиная со вторых суток после инфицирования.

Животные третьей и четвертой групп являлись опытными. Животным третьей группы вводили перорально пребиотик Стимбифид в дозе 13 мг в сутки за 3 дня до инфицирования культурой *Y. enterocolitica* и еще в течение 6 дней после инфицирования. Животным четвертой группы пребиотик Стимбифид начинали вводить *per os* в той же дозе через 24 часа после инфицирования в течение 7 дней.

Пятая и шестая группы животных также являлись опытными. Животным пятой группы вводили по 0,2 мл перорально надосадочную жидкость нативной культуры бифидобактерий за 3 дня до заражения возбудителем *Y. enterocolitica*, а также в течение 6 дней после заражения. Животным шестой группы за 3 дня до заражения, как и животным пятой группы, вводили по 0,2 мл перорально надосадочную жидкость нативной культуры лактобактерий, а также в течение 6 дней после заражения.

Нативные культуры пробиотических бифидобактерий и лактобактерий, в которых накапливались низкомолекулярные микробные экзотометалиты, получали путем культивирования выделенных из коммерческих препаратов Бифидумбактерин и Лактобактерин микроорганиз-

мов в жидких питательных средах при температуре 37°C в течение 72 часов до концентрации бифидобактерий $8,8 \cdot 10^8$ КОЕ \cdot мл⁻¹ и лактобактерий $3,0 \cdot 10^9$ КОЕ \cdot мл⁻¹.

Заражающая доза возбудителя кишечного иерсиниоза для животных всех 6 групп составила $10 LD_{50}$ ($\sim 7,4 \cdot 10^8$ КОЕ) при пероральном введении бактериальной взвеси, что гарантировало развитие манифестной формы заболевания. Результаты экспериментов представлены в таблице.

Как следует из представленных в таблице данных, животные контрольной группы, инфицированные энтерально возбудителем кишечного иерсиниоза, погибли в сроки от 8 до 15 суток со дня инфицирования. О развитии системной инфекции свидетельствует выделение чистой культуры иерсиний от павших животных.

При бактериологическом изучении фекалий погибших животных на селективной плотной питательной среде выявлен рост колоний иерсиний, соответствующий их количеству в 1 г фекалий, равному $6,8 \cdot 10^5$ КОЕ \cdot г⁻¹. Одновременно отмечалось снижение общего количества нормальной кишечной микрофлоры в $3,5 \cdot 10^5$ раз, бифидобактерий – в $4,7 \cdot 10^4$ раз, лактобактерий – $2,1 \cdot 10^6$ раз, эшерихий – в $1,6 \cdot 10^3$ раз.

Данные бактериологического исследования фекалий белых мышей контрольной группы свидетельствуют о развитии дисбиотических изменений в микробном сообществе с уменьшением бифидобактерий, лактобактерий и эшерихий и довольно значительном содержании бактерий кишечного иерсиниоза.

Таблица.

Протективная эффективность пребиотика Стимбифид и низкомолекулярных экзотометалитов бифидобактерий и лактобактерий при пероральном заражении конвенциональных белых мышей возбудителем кишечного иерсиниоза ($\bar{X} \pm I_{95}$, n=10)								
№ п/п	Группа животных	Заражающая доза, КОЕ	Количество животных, особей ...		Сроки гибели, сутки \bar{X} ($X_{min} - X_{max}$)	Содержание живых бактерий в 1 г фекалий на ... сутки эксперимента, КОЕ \cdot г ⁻¹		
			взятых в опыт	павших от кишечного иерсиниоза		выделенные микроорганизмы	начало эксперимента	25 (или в день гибели)
1	Контрольная		10	10	11,0 (8-15)	Общее количество	$(6,4 \pm 0,5) \cdot 10^9$	$(1,8 \pm 0,5) \cdot 10^4$
						Бифидобактерии	$(6,6 \pm 0,6) \cdot 10^6$	$(1,4 \pm 0,6) \cdot 10^2$
						Лактобактерии	$(2,5 \pm 0,7) \cdot 10^8$	$(1,2 \pm 0,5) \cdot 10^2$
						Эшерихии	$(1,8 \pm 0,5) \cdot 10^4$	$(1,1 \pm 0,5) \cdot 10^1$
2	Лечение гентамицином через 24 часа после заражения в течение 5 дней		10	0	-	Общее количество	$(6,8 \pm 0,6) \cdot 10^9$	$(2,0 \pm 0,6) \cdot 10^6$
						Бифидобактерии	$(6,5 \pm 0,8) \cdot 10^6$	$(6,5 \pm 0,5) \cdot 10^4$
						Лактобактерии	$(2,0 \pm 0,6) \cdot 10^8$	$(7,0 \pm 0,5) \cdot 10^4$
						Эшерихии	$(1,7 \pm 0,7) \cdot 10^4$	$(1,2 \pm 0,6) \cdot 10^3$
3	Введение <i>per os</i> пребиотика Стимбифид за 3 дня до заражения и в течение 6 дней после заражения	$10 LD_{50}$ ($7,4 \cdot 10^8$)	10	0	-	Общее количество	$(6,2 \pm 0,6) \cdot 10^9$	$(8,0 \pm 0,5) \cdot 10^9$
						Бифидобактерии	$(6,2 \pm 0,5) \cdot 10^6$	$(5,2 \pm 0,6) \cdot 10^7$
						Лактобактерии	$(2,0 \pm 0,5) \cdot 10^8$	$(4,2 \pm 0,5) \cdot 10^8$
						Эшерихии	$(1,8 \pm 0,6) \cdot 10^4$	$(3,9 \pm 0,6) \cdot 10^4$
4	Введение <i>per os</i> пребиотика Стимбифид через 24 часа после заражения в течение 7 дней		10	0	-	Общее количество	$(5,9 \pm 0,6) \cdot 10^9$	$(4,1 \pm 0,6) \cdot 10^9$
						Бифидобактерии	$(6,2 \pm 0,5) \cdot 10^6$	$(5,8 \pm 0,6) \cdot 10^7$
						Лактобактерии	$(2,5 \pm 0,5) \cdot 10^8$	$(4,4 \pm 0,6) \cdot 10^8$
						Эшерихии	$(1,7 \pm 0,5) \cdot 10^4$	$(3,0 \pm 0,8) \cdot 10^4$
5	Введение <i>per os</i> надосадочной жидкости нативной культуры бифидобактерий за 3 дня до заражения и в течение 6 дней после заражения		10	0	-	Общее количество	$(6,0 \pm 0,6) \cdot 10^9$	$(2,6 \pm 0,5) \cdot 10^9$
						Бифидобактерии	$(6,3 \pm 0,5) \cdot 10^6$	$(5,8 \pm 0,6) \cdot 10^6$
						Лактобактерии	$(3,0 \pm 0,5) \cdot 10^8$	$(2,3 \pm 0,5) \cdot 10^8$
						Эшерихии	$(1,5 \pm 0,7) \cdot 10^4$	$(1,6 \pm 0,5) \cdot 10^4$
6	Введение <i>per os</i> надосадочной жидкости нативной культуры лактобактерий за 3 дня до заражения и в течение 6 дней после заражения	$10 LD_{50}$ ($7,4 \cdot 10^8$)	10	0	-	Общее количество	$(6,0 \pm 0,5) \cdot 10^9$	$(8,2 \pm 0,5) \cdot 10^9$
						Бифидобактерии	$(6,4 \pm 0,7) \cdot 10^6$	$(6,8 \pm 0,6) \cdot 10^7$
						Лактобактерии	$(2,3 \pm 0,6) \cdot 10^8$	$(5,8 \pm 0,6) \cdot 10^8$
						Эшерихии	$(2,0 \pm 0,6) \cdot 10^4$	$(1,7 \pm 0,5) \cdot 10^4$

Примечание – В таблице приведены результаты определения содержания бактерий, выделенных из кишечного содержимого погибших животных в группе 1 (контроль); в группах 2-6 (опыт) на 25 сутки эксперимента

Лечение инфицированных животных второй группы гентамицином, начатое через 24 часа после перорального введения животным суспензии бактерий *Y. enterocolitica* 1407, полностью купировало развитие инфекционного процесса. При этом в фекалиях выживших животных было выявлено существенное снижение как общего содержания нормальной кишечной микрофлоры (в $3,4 \cdot 10^3$ раз), так и бифидобактерий (в 100 раз), лактобактерий (в $2,9 \cdot 10^3$ раз) и эшерихий (в 14,2 раза).

Вводимый перорально инфицированным животным пребиотик Стимбифид в соответствующих дозах полностью предотвратил колонизацию и размножение бактерий кишечного иерсиниоза и генерализацию инфекционного процесса. Бактериологическое исследование фекалий этой группы животных свидетельствует о том, что в них не было выявлено дисбиотических изменений в составе кишечной микрофлоры, а количество бифидобактерий даже возросло.

Важно подчеркнуть, что протективный эффект пребиотика Стимбифид в отношении патогенных иерсиний *Y. enterocolitica* 1407 проявляется как на фоне его профилактического введения (т.е. за 3 дня до заражения животных третьей группы), так и через 24 часа после заражения животных (четвертая группа).

Животным пятой и шестой опытных групп вводили за 3 дня до заражения возбудителем *Y. enterocolitica* 1407 надосадочную жидкость нативных культур соответственно бифидобактерий (штамм *B. bifidum* 1) и лактобактерий (штамм *L. plantarum* 8P-A3), а также еще в течение 6 дней после заражения. В обеих группах не было зафиксировано гибели ни одного подопытного животного. При этом бактериологическое изучение фекалий подопытных животных на 25 сутки эксперимента не выявило дисбиотических изменений в сообществе микроорганизмов кишечной микрофлоры, а в содержимом кишечника животных шестой группы содержание бифидобактерий даже возросло.

Представленные в таблице результаты свидетельствуют о действительном влиянии пребиотика Стимбифид и низкомолекулярных микробных экзометаболитов, содержащихся в надосадочной жидкости нативных культур *B. bifidum* 1 и *L. plantarum* 8P-A3, на начальный этап инфекционного процесса и предотвращение его генерализации.

Обсуждение полученных результатов

Несмотря на то, что возбудитель кишечного иерсиниоза *Y. enterocolitica* менее патогенный, чем близкородственные возбудители чумы *Y. pestis* и псевдотуберкулеза *Y. pseudotuberculosis*, однако вызываемое им заболевание представляет довольно серьезную проблему для врачей как в плане диагностики, так и лечения [5, 6].

Особенностью возбудителя *Y. enterocolitica*, как это отмечено в работе [13], является не его вирулентность, а наличие детерминируемого соответствующим геном биосинтеза инвазина, определяющего проникновение бактерий внутрь эпителиальных клеток в период начальной стадии инфекции. В последующих стадиях кишечного иерсиниоза роль инвазина второстепенная, поскольку как исходный штамм, так и его *inv*-мутант вызывают системную летальную инфекцию у мышей [2, 13].

Как следует из результатов исследований А.В. Цинзерлинга, внедрение и размножение *Y. enterocolitica* происходит в собственной мембране слизистой оболочки тонкой кишки, преимущественно в области илеоцекального угла и червеобразного отростка [18]. Начиная

со 2 суток иерсинии размножаются на поверхности эпителия (колонизация), что проявляется цитотоксическим повреждением апикальной цитоплазмы и инвазии в некоторые эпителиоциты [19]. Через 3 суток колонизация иерсиний приводит к образованию биопленок, в том числе и сплошных, на покровном эпителии и в криптах илеоцекального угла и подвздошной кишки.

В дальнейшем происходит инвазия бактерий в эпителиоциты, размножение и транслокация за пределы кишечника с генерализацией заболевания. Именно в таком направлении прошла генерализация кишечного иерсиниоза у подопытных животных первой контрольной группы, которых заразили культурой иерсиний штамма *Y. enterocolitica* 1407. Все 10 инфицированных животных погибли от кишечного иерсиниоза в сроки от 8 до 15 суток. Специфика поражения была подтверждена выделением культуры иерсиний из внутренних органов и кишечного содержимого, где выявлено существенное снижение как общего количества кишечной микрофлоры, так и отдельных ее представителей (бифидобактерий, лактобактерий и эшерихий).

Гентамицин, введенный внутримышечно в соответствующей дозе инфицированным белым мышам, предотвратил развитие инфекционного процесса. У излеченных животных в фекалиях не были обнаружены бактерии кишечного иерсиниоза, но в то же время выявлены дисбиотические изменения в микробном сообществе кишечника.

Введение инфицированным животным третьей и четвертой групп перорально пребиотика Стимбифид в соответствующей дозировке предотвратило, согласно патоморфологическим исследованиям, описанным в работах [18, 19], адгезию и колонизацию иерсиний с последующим формированием обширных участков биопленки на покровном эпителии и в криптах кишечника и, тем самым, был ликвидирован первичный патоморфологический субстрат кишечного иерсиниоза у белых мышей.

Аналогичным эффекту от введения инфицированным животным пребиотика Стимбифид оказался эффект от перорального введения подопытным инфицированным мышам надосадочной жидкости нативных культур бифидобактерий *B. bifidum* 1 и лактобактерий *L. plantarum* 8P-A3 (соответственно 5 и 6 группы животных). Выявленный протективный эффект можно напрямую связать с микробными экзометаболитами *B. bifidum* 1 и *L. plantarum* 8P-A3, положительно влияющими на колонизационную резистентность слизистой оболочки кишечника подопытных животных и ингибирующими адгезию патогенных иерсиний, а в последующем их ускоренную элиминацию из кишечника.

Как известно, основным механизмом колонизационной резистентности является активация иммунной системы [20]. В то же время состояние колонизационной резистентности напрямую зависит от биологических свойств микроорганизмов всего сообщества кишечной микрофлоры, а также условно-патогенных (патогенных) и пробиотических микроорганизмов, назначаемых с профилактической или лечебной целью.

Взаимоотношения между указанными группами микроорганизмов могут носить антагонистический, синергидный или индифферентный характер, что проявляется в виде конкурентности либо совместимости.

Очевидно, что перорально введенные пребиотик Стимбифид, а также надосадочные жидкости нативных культур бифидобактерий *B. bifidum* 1 и лактобактерий *L. plantarum* 8P-A3, содержащие микробные экзометаболиты, обеспечивают оптимальный качественный и

количественный состав нормальной кишечной микрофлоры и, вследствие этого, микроэкологическое преимущество перед попадающими в организм с пищей и водой патогенными и условно-патогенными микроорганизмами. Являясь экологически и функционально маргинальными, они с неизбежностью, в соответствии с общесистемным законом Г.Ф. Хильми [21, 22], потеряют свою индивидуальность и структуру, будут подвергнуты рестрикции и исчезнут из биотопа.

Полученные нами результаты в определенной мере согласуются с результатами В.М. Добрынина с соавторами [23], изучавшими перспективы использования пробиотических препаратов в качестве средств патогенетической профилактики и терапии сибирской язвы. Авторами доказана перспективность использования доксицилина в комбинации с бактистатином при заражении беспородных белых мышей возбудителем сибирской язвы в дозе 10 LD₅₀, при которой выживаемость инфицированных животных составила 100 %.

В качестве одного из вероятных механизмов положительного воздействия комбинации антибиотика и пробиотика на доброкачественное течение сибирезывенной инфекции авторы указывают на возможное стимулирующее влияние бактистатина на систему неспецифической иммунологической резистентности.

К такому заключению они пришли, исходя из результатов исследований, в которых выявлена способность бактистатина повышать функциональную активность клеток фагоцитарной системы крови и активировать процессы, ответственные за синтез и секрецию в кровь лизоцима и миелопероксидазы, — ферментов, обладающих как иммунорегулирующим действием, так и бактерицидной активностью [23].

Еще одно обстоятельство, на которое обратили внимание В.М. Добрынин с соавторами [23], касается состояния аутомикрофлоры при опасных инфекционных заболеваниях. Несмотря на недостаток информации, авторы убеждены, что с учетом патогенного действия возбудителей опасных инфекционных заболеваний на макроорганизм должны быть изменения со стороны нормофлоры, проявляющиеся развитием дисбиозов, которые способствуют прогрессированию основного заболевания.

Настоящими исследованиями впервые показано, что при генерализации иерсиниозной инфекции, сопровождающейся увеличением возбудителя в чувствительном организме до летальной популяции, отмечается действительное снижение в кишечном содержимом подопытных животных как общего количества микроорганизмов, а также таких значимых представителей, как бифидобактерии, лактобактерии и эшерихии.

Выживаемость инфицированных животных при пероральном введении пребиотика Стимбифид и микробных экзосометаболитов в составе надосадочных жидкостей нативных культур бифидобактерий и лактобактерий является интегральным показателем эффективности пребиотического действия на кишечную микрофлору, при котором происходит ингибирование роста, размножения и колонизации патогенных микроорганизмов, оптимизация микроэкологических условий для функционирования кишечного нормобиоценоза и, по-видимому, иммуномодуляция.

Весьма показательно, что при септической форме кишечного иерсиниоза, вторичных очагах инфекции, а также кишечной форме заболевания, протекающего на фоне ослабленного иммунитета, в состав средств лечения включают «при необходимости» пробиотики [6]. Как показывает опыт инфекционистов, такая необходимость

возникает, когда кишечный иерсиниоз развивается на фоне хронических заболеваний печени, злокачественных новообразований, сахарного диабета, иммуносупрессивной терапии, алкоголизма, истощения, гемолитической анемии, а также у пожилых людей.

Именно в этих случаях целесообразно использовать зарекомендовавший себя с положительной стороны пребиотик Стимбифид [17] и, как показано в наших исследованиях, микробные экзосометаболиты, которые могут стать основой нового класса лечебных препаратов [24].

Выводы

1. В экспериментах на конвенциональных белых мышках изучено влияние пребиотика Стимбифид и низкомолекулярных микробных экзосометаболитов, образующихся в процессе культивирования в жидких питательных средах бифидобактерий *B. bifidum* 1 и лактобактерий *L. plantarum* 8P-A3, на колонизационную резистентность кишечника и предотвращения развития кишечного иерсиниоза при пероральном введении животным бактерий штамма *Y. enterocolitica* 1407.

2. Получены нативные культуры пробиотических бактерий *B. bifidum* и *L. plantarum* 8P-A3 с концентрацией соответственно $8,8 \cdot 10^8$ КОЕ \cdot мл⁻¹ и $3,0 \cdot 10^9$ КОЕ \cdot мл⁻¹. Надосадочная жидкость нативных культур, освобожденная центрифугированием от микробных клеток *B. bifidum* 1 и *L. plantarum* 8P-A3, и пребиотик Стимбифид, введенные перорально инфицированным возбудителем кишечного иерсиниоза конвенциональным белым мышам, характеризуются хорошей переносимостью и отсутствием побочных эффектов.

3. Установлена протективная эффективность пребиотика Стимбифид и надосадочной жидкости нативных культур пробиотических бактерий *B. bifidum* 1 и *L. plantarum* 8P-A3 при пероральном введении конвенциональным белым мышам, зараженным при естественном пути поступления в организм возбудителем кишечного иерсиниоза *Y. enterocolitica* 1407 в дозе 10 LD₅₀.

4. При бактериологическом изучении фекалий выживших в опыте перорального инфицирования возбудителем кишечного иерсиниоза конвенциональных белых мышей не выявлено дисбиотических нарушений кишечной микрофлоры на фоне перорального введения пребиотика Стимбифид и надосадочной жидкости нативных культур пробиотических бактерий *B. bifidum* 1 и *L. plantarum* 8P-A3 в отличие от выраженности дисбиотических нарушений кишечной микрофлоры у погибших в результате развития экспериментального кишечного иерсиниоза подопытных животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Юшук Н.Д., Венгеров Ю.Я. Иерсиниозы. В кн.: Лекции по инфекционным болезням. В 2 томах. Том 1. — 2-е изд. перераб. и доп. М.: ВУНМЦ; 1999; 454 с.
2. Юшук Н.Д., Ценева Г.Я., Кареткина Г.Н., Бродов Л.Е. Иерсиниозы. М.: Медицина; 2003; 208 с.
3. Юшук Н.Д., Кареткина Г.Н. Иерсиниоз как хирургическая проблема. Хирургия 1999; (12): 50-52.
4. Седельникова С.М., Ющенко Т.В., Асеева Э.И. Иерсиниозы как терапевтическая проблема. Терапевт. архив 2000; (11): 27-30.
5. Юшук Н.Д., Кареткина Г.Н. Клиника, диагностика и лечение иерсиниоза. М.: Медицина; 1987; 24 с.
6. Звягинцева Т.Д., Мирзоева Л.А. Кишечный иерсиниоз: особенности течения, диагностика, принципы лечения. Здоровье Украины 2008; (6/1): 72-73.
7. Сомов Г.П., Покровский В.И., Беседнова Н.П., Антоненко Ф.Ф. Псевдотуберкулез. — 2-е изд. перераб. и доп. М.: Медицина; 2001; 256 с.
8. Захаренко С.М., Фоминых Ю.А., Мехтиев С.Н. Инфекции, микробиота кишечника человека и метаболический синдром. Эффективная фармакотерапия. Гастроэнтерология 2012; 3: 14-20.

9. Carter P.D. Pathogenicity of *Yersinia enterocolitica* for mice. *Infect. and Immun.* 1975; 11(5): 164-170.
10. Дайтер А.Б., Полоцкий Ю.Е., Ценева Г.Я. Патогенные свойства иерсиний и их роль в патологии иерсиниозов. *Журн. микробиол.* 1987; (5): 108-115.
11. Ценева Г.Я., Бондаренко В.М., Полоцкий Ю.А. Инвазивность и цитотоксичность как критерии оценки аттенуации иерсиний. *Журн. микробиол.* 1988; (9): 10-16.
12. Darwin A., Miller V.Z. Identification of *Yersinia enterocolitica* genes affecting survival in an animal host using signature tagget transposon mutagenesis. *Mol. Microbiol.* 1999; 32: 51-62.
13. Pepe J.C., Miller V.Z. *Yersinia enterocolitica* invasion: a primary role in the initiation of infection. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 1993; 90: 6473-6477.
14. Ценева Г.Я., Полоцкий Ю.Е., Клеганов В.К., Ефремов В.Е. Выбор моделей для определения патогенных свойств возбудителя псевдотуберкулеза. *Журн. микробиол.* 1982; (11): 68-71.
15. Ценева Г.Я., Полоцкий Ю.Е., Дмитриева Г.М., Полоцкий В.Ю. Характеристика инвазивности возбудителя псевдотуберкулеза. *Журн. микробиол.* 1984 (5): 26-30.
16. Глушанова Н.А., Шендеров Б.А. Взаимоотношения пробиотических и индигенных лактобацилл хозяина в условиях совместного культивирования *in vitro*. *Журн. микробиол.* 2005 (2): 56-61.
17. Грачева Н.М., Ардатская М.Д., Аваков А.А., Соловьева А.И. Сравнительная оценка клинико-лабораторной эффективности современных про- и пребиотических препаратов в коррекции дисбиотических нарушений желудочно-кишечного тракта: отчет о клинико-лабораторном исследовании. — М.: Московский НИИ-ЭМ им. Г.Н.Габричевского, 2010; 23 с.
18. Цинзерлинг А.В., Цинзерлинг В.А. Современные инфекции: патологическая анатомия и вопросы патогенеза. — СПб.; 2002; 376 с.
19. Авцын А.П., Исачкова Л.М., Жаворонков А.А., Сомов Г.П., Махнев М.В. Основные черты патогенеза псевдотуберкулеза (иерсиниоза). *Арх. патол.* 1990; (5): 3-7.
20. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание: в 3 т. Том I: Микрофлора человека и животных и ее функции. М.: ГРАНТЬ; 1998; 288 с.
21. Погорельский И.П., Чичерин И.Ю., Лундовских И.А. Экологическая и функциональная маргинальность пробиотических микроорганизмов. Общество, наука, инновации (НТК-2012): ежегод. открыт. всерос. науч.-техн. конф. 16-27 апреля 2012 г.: сб. материалов Вят. гос. ун-т; отв. ред. С.Г.Литвинец. Киров; 2012. 1 электрон. опт. диск (CD-ROM) (Биологический факультет. Секция «Микробиология»).
22. Хильми Г.Ф. Основы биофизики биосферы. Л.: Гидрометеоздат; 1966; 272 с.
23. Добрынин В.П., Степанов А.В., Захарченко М.М. Перспективы использования пробиотических препаратов в качестве средств патогенетической профилактики и терапии опасных инфекционных заболеваний. Диагностика, лечение и профилактика опасных и особо опасных инфекционных заболеваний. Биотехнология. Матер. Всерос. науч. конф., посвящ. 80-летию со дня основания ФГУ «48 ЦНИИ Минобороны России». Киров; 2008; с. 69-71.
24. Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Лахтин М.В., Алёшкин В.А., Невсвижский Ю.В., Поспелов В.В. Нанотехнологии и перспективы их использования в медицине и биотехнологии. *Вестник РАМН* 2008; (4): 50-55.