5. Пантеев Я.Х. Сезонные работы в овощеводстве: Справочное пособие. – М.: Агропромиздат, 1986. – 240с.
6. Репродукция геноресурсов *Lactuca sativa* L. ВПР_2018 – URL: https://www.facebook.com/nina.grinko/photos_albums#
7. Семеноводство овощных культур на промышленной основе/ Сост. В.И.Буренин. – Л.: Лениздат, 1983. – 144с.
8. Словарь ботанических терминов/ Под общ. ред. Дудки И.А. – Киев: Наукова думка, 1984. – 304с.
9. Справочник по биологии/ Под общ. ред. акад. АН УССР К.М.Сытника. – Киев: Наукова думка, 1985. – 582с.
10. Maria Esther de N. Fonseca & Kátia R., Brunelli & Mauricio Rossato & Hécio Costa & Leonardo S., Boiteux & Ailton Reis Accepted. Relationships among Brazilian and worldwide isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* race 1 inferred from ribosomal intergenic spacer (IGS-rDNA) region and EF-1 α gene sequences Cléia S. Cabral & Eur. J. Plant Pathol., 2018. – V. 152. – P. 81 – 94 <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1453-4>.

Гульнева М.Ю., Малафеева Э.В.

Кишечный микробиом и антибактериальные антитела у больных остеоартрозом

*ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава
России
(Россия, Ярославль)*

doi: 10.18411/lj-02-2020-41

idsp: ljjournal-02-2020-41

Аннотация

Кишечный микробиом важный фактор в инициации и прогрессировании остеоартроза. Изменение микробиома может влиять на иммунные функции хозяина. Проведено изучение микрофлоры толстого кишечника и определение наличия антител к её основным представителям в сыворотке крови больных остеоартрозом. Полученные данные выявили изменение качественного и количественного состава основных представителей кишечной микрофлоры с преобладанием II степени микробиологических нарушений. У больных наблюдалось более частое выявление IgG антител к антигенам золотистого стафилококка, кишечных бактерий и в более высоком титре были выявлены антитела к антигенам кишечных бактерий. Обнаружение антибактериальных антител подтверждает их участие в патогенезе ОА и является проявлением соответствующей антигенной нагрузки.

Ключевые слова: остеоартроз; кишечная микрофлора; антибактериальные антитела.

Abstract

The intestinal microbiome is an important factor in the initiation and progression of osteoarthritis. Changing the microbiome can affect the host's immune functions. The study of the microflora of the large intestine and determination of the presence of antibodies to its main representatives in the blood serum of patients with osteoarthritis. The obtained data revealed changes in the qualitative and quantitative composition of the main representatives of the intestinal microflora with a predominance of II degree of microbiological disorders. Patients had more frequent detection of IgG antibodies to *Staphylococcus aureus* antigens, intestinal bacteria and higher titers of antibodies to intestinal bacteria antigens. Detection of antibacterial antibodies confirms their participation in the pathogenesis of osteoarthritis and is a manifestation of the corresponding antigenic load.

Keywords: osteoarthritis; intestinal microflora; antibacterial antibodies.

Остеоартроз (ОА) - это дегенеративное заболевание суставного хряща, приводящее к боли и полной инвалидности суставов [1]. В последнее время микробиом кишечника стали рассматриваться как важный фактор в инициации и прогрессировании

ОА [2]. Одним из потенциально патогенных факторов патологической активации иммунной системы является нарушение микробиоты кишечника. В последние десятилетия новые исследования дают основания полагать, что изменения микробиома кишечника способствуют возникновению или развитию ряда ревматических заболеваний, включая остеоартроз, через влияние кишечных бактерий на метаболические и иммунные функции хозяина [1]. Все это определяет целесообразность изучения особенностей микрофлоры организма больных ОА и её взаимосвязь с иммунными реакциями организма.

Цель. Изучение микрофлоры толстого кишечника и определение наличия антител к её основным представителям в сыворотке крови больных остеоартрозом.

Материалы и методы.

Изучен характер микрофлоры толстого кишечника и уровень антибактериальных антител у 65 больных остеоартрозом (ОА). Диагноз ОА соответствовал критериям ACR. В исследование включено 65 женщин в возрасте от 43 до 73 лет с первичным ОА коленных суставов. Средняя длительность заболевания составила $9,53 \pm 4,87$ лет. Среди обследованных больных преобладали пациентки с избыточным весом, средний ИМТ составил $31,61 \pm 7,76$ кг/м². Индекс массы тела более 30 кг/м² отмечался у 46,94% больных. Интенсивность боли в коленных суставах при ходьбе оценивали по ВАШ, средние значения составили $53,87 \pm 12,67$ мм. Большинство больных отмечали умеренную боль (46,9%). Синовит одного или обоих коленных суставов установлен у 41,8% пациентов. При рентгенографии коленных суставов I стадия гоноартроза по классификации Kellgren и Lawrens наблюдалась у 26,5%, II стадия — у 35,7%, III стадия — у 37,8%. В терапии пациентов с ОА на момент включения в исследование применялись препараты быстрого действия — НПВП в средних терапевтических дозах (нимесулид 200 мг в сутки или мелоксикам 7,5–15 мг в сутки или диклофенак 75–150 мг в сутки). Группу сравнения составили 40 практически здоровых лиц соответствующего возраста и пола, у которых отсутствовали клинические и микробиологические проявления дисбиоза. Микробиологическое исследование микрофлоры кишечника проводилось бактериологическим методом в соответствии с приказом Минздрава РФ № 231 «Об утверждении отраслевого стандарта «Протокол ведения больных, Дисбактериоз кишечника» (2003). Определялось количество отдельных представителей микрофлоры кишечника в КОЕ/г испражнений и частота выделения отдельных видов микроорганизмов. Выявление антител к условно-патогенным бактериям проведено методом ИФА на основании одновременного определения IgG антител к бактериальным антигенам, полученным из клеток микроорганизмов: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus spp.*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella* (O-12), *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*. При выявлении антител использована скрининговая иммуноферментная система для определения антител к условно-патогенным бактериям производства Научно-исследовательского института вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова. Регистрацию результатов ИФА проводили на спектрофотометре Multiskan при длине волны 450 нм. Статистическая обработка данных проводилась при помощи пакета прикладных программ STATISTICA 10.0 (StatSoftInc., США).

Результаты и обсуждение.

Проведенные исследования показали, что при ОА в 100% случаев наблюдалось выделение облигатных представителей нормальной микрофлоры кишечника: бифидобактерий, лактобактерий, бактероидов и лактозопозитивных кишечных палочек (таблица 1). Анализ микрофлоры кишечника у больных ОА выявил следующие особенности: существенно (до 100%) повышалась частота выделения кишечных палочек со сниженной ферментативной активностью; наблюдалось увеличение относительного числа лактозонегативных кишечных палочек, стафилококков,

кlostридий и энтерококков ($p < 0,01$). Отмечалось наличие в составе кишечной микробиоты УПЭБ, которые выделялись в 44,61% случаев, в то время как у лиц из группы сравнения данные микроорганизмы не высевались.

Таблица 1

Качественный состав микрофлоры кишечника больных ОА

Микроорганизмы	Группы обследованных лиц				p
	Больные ОА, n = 65		Группа сравнения, n = 40		
	Количество выделенных культур				
	абс.	%	абс.	%	
Бифидобактерии	65	100	40	100	> 0,05
Лактобактерии	65	100	40	100	> 0,05
Бактероиды	65	100	34	85	> 0,05
Энтерококки	34	52,31	4	10	< 0,01
Клостридии	27	41,54	8	20	< 0,05
Кишечные палочки типичные	65	100	40	100	> 0,05
Кишечные палочки (<lac ⁺)	65	100	9	22,50	< 0,01
Кишечные палочки (lac ⁻)	36	55,38	4	10	< 0,01
УПЭБ	29	44,61	0	0	< 0,01
Стафилококки	65	100	18	45	< 0,01
<i>S. aureus</i>	24	36,92	0	0	< 0,01
Грибы рода <i>Candida</i>	8	12,31	4	10	> 0,05
Микроорганизмы гемолитические	32	49,23	0	0	< 0,01

Условно-патогенные энтеробактерии были представлены видами: *Proteus vulgaris* (6,15%), *Klebsiella spp.* (13,85%), *Enterobacter spp.* (12,30%), *Morganella morganii* (12,30%). Существенно повышалась частота встречаемости в кишечнике больных *S. aureus* (до 36,92%) и микроорганизмов, обладающих гемолитической активностью (до 49,23%) ($p < 0,01$).

Результаты исследования у больных ОА количественного состава основных представителей микрофлоры кишечника представлены в таблице 2 и свидетельствовали о формировании дисбиотических изменений в данном биотопе. Так, у больных ОА установлено значительное снижение количества бифидобактерий и возрастание количества энтерококков ($p < 0,05$). В кишечнике больных были обнаружены гемолитические микроорганизмы и условно-патогенные кишечные бактерии, у лиц из группы сравнения данные микроорганизмы не выделялись ($p < 0,05$).

Таблица 2

Количественный состав микрофлоры кишечника больных ОА

Микроорганизмы	Группы обследованных		p
	Больные ОА, n = 65	Группа сравнения, n = 40	
	Количество микроорганизмов lg КОЕ/г		
	M ± SD	M ± SD	
Бифидобактерии	6,71 ± 0,69	9,11 ± 0,93	< 0,05
Лактобактерии	5,58 ± 0,83	7,15 ± 1,09	> 0,05
Бактероиды	8,29 ± 1,23	9,45 ± 0,82	> 0,05
Энтерококки	5,70 ± 1,77	3,20 ± 0,84	< 0,05
Клостридии	4,30 ± 1,42	5,37 ± 1,01	> 0,05
Кишечные палочки типичные	5,96 ± 1,27	7,37 ± 1,01	> 0,05
Кишечные палочки (<Iac ⁺)	6,29 ± 1,46	3,89 ± 0,60	< 0,05
Кишечные палочки (Iac ⁻)	3,42 ± 1,45	3,00 ± 0,71	> 0,05
УПЭБ	5,42 ± 1,02	0	< 0,05
Стафилококки	5,89 ± 1,54	2,88 ± 0,93	< 0,05
<i>S. aureus</i>	3,78± 1,48	0	< 0,05
Грибы рода <i>Candida</i>	3,33 ± 0,52	2,60 ± 0,55	> 0,05
Микроорганизмы гемолитические	3,55 ± 1,42	0	< 0,05

У больных ОА наблюдалось значительное изменение кишечного биоценоза, отмечалась смена доминирующего состава кишечной микрофлоры. В составе доминирующих видов обнаруживались бифидобактерии, лактобактерии, бактероиды, лактозопозитивные кишечные палочки. Наряду с этим в состав доминирующих видов вошли стафилококки и кишечные палочки со сниженной ферментативной активностью. К доминирующим видам также принадлежали энтерококки и лактозоотрицательные эшерихии. В группу добавочных видов вошли УПЭБ, клостридии и золотистый стафилококк. К транзиторным видам принадлежали дрожжеподобные грибы рода *Candida*.

Изменение микробиоценоза толстого кишечника у больных ОА соответствовало развитию микробиологических нарушений микрофлоры кишечника в 75,38% случаев ($p < 0,01$). Так, I степень микробиологических нарушений кишечной микрофлоры установлена у 18,46% пациентов, II степень — у 49,23 % и III степень — у 7,69 % больных. У 16 больных ОА (24,61%) микробиологических нарушений кишечной микрофлоры не наблюдали. Сравнительное изучение частоты возникновения и степени выраженности микробиологических нарушений микрофлоры показало, что у больных ОА микробиологические нарушения II степени развивались значительно чаще ($p < 0,01$).

Изучение IgG антител в сыворотках крови показало, что частота выявления антител к антигенам ряда условно-патогенных бактерий у больных ОА была больше, чем у здоровых лиц (таблица 3). У больных ОА значительно чаще выявлялись антитела к антигенам *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* и *P. vulgaris* ($p < 0,01$). У больных ОА существенно реже определялись антитела к антигенам коагулазоотрицательного стафилококка ($p < 0,01$).

Таблица 3

Частота обнаружения IgG-антител к бактериальным антигенам у больных ОА

Антигены бактерий	Группы обследования:				p
	Больные ОА, n = 28		Группа сравнения, n = 32		
	Частота определения IgG антител				
	абс.	%	абс.	%	
<i>S. aureus</i>	20	71,4	6	18,7	< 0,01
<i>S. epidermidis</i>	18	64,3	32	100	< 0,01
<i>S. saprophyticus</i>	6	21,4	15	46,9	> 0,05
<i>S. pneumoniae</i>	8	28,6	10	31,3	> 0,05
<i>Streptococcus spp.</i>	18	64,3	17	53,1	> 0,05
<i>M. luteus</i>	6	21,4	0	0	> 0,05
<i>P. aeruginosa</i>	6	21,4	5	15,6	> 0,05
<i>E. coli</i>	24	85,7	7	21,9	< 0,01
<i>P. vulgaris</i>	24	85,7	10	31,3	< 0,01
<i>Salmonella</i> (O-12)	18	64,3	4	12,5	< 0,01
<i>H. influenzae</i>	22	78,6	19	59,4	> 0,05
<i>K. pneumoniae</i>	10	35,7	19	59,4	> 0,05

Уровень IgG антител к бактериальным антигенам в сыворотке крови больных ОА был значительно выше, чем у лиц группы сравнения (таблица 4). Наблюдалось увеличение уровня антител к антигенам *E. coli*, *P. vulgaris* и *Salmonella* (O-12) ($p < 0,01$).

Таблица 4

Уровень антител к бактериальным антигенам у больных ОА

Антигены бактерий	Группы обследования:		
	Больные ОА, n = 28		Группа сравнения, n = 32
	Уровень IgG антител		
	Me (Q25–Q75)	p	Me (Q25–Q75)
<i>S. aureus</i>	0,14 (0,12–0,15)	> 0,05	0,14 (0,14–0,15)
<i>S. epidermidis</i>	0,24 (0,20–0,26)	> 0,05	0,20 (0,16–0,23)
<i>S. saprophyticus</i>	0,11 (0,08–0,12)	> 0,05	0,20 (0,16–0,24)
<i>S. pneumoniae</i>	0,14 (0,09–0,15)	> 0,05	0,13 (0,12–0,14)
<i>Streptococcus spp.</i>	0,08 (0,06–0,10)	< 0,02	0,14 (0,12–0,14)
<i>M. luteus</i>	0,06 (0,04–0,10)	> 0,05	0
<i>P. aeruginosa</i>	0,09 (0,06–0,10)	> 0,05	0,04 (0,02–0,10)
<i>E. coli</i>	0,13 (0,11–0,15)	< 0,01	0,06 (0,04–0,10)
<i>P. vulgaris</i>	0,14 (0,14–0,15)	< 0,01	0,07 (0,04–0,10)
<i>Salmonella</i> (O-12)	0,15 (0,14–0,15)	< 0,01	0,06 (0,05–0,07)
<i>H. influenzae</i>	0,08 (0,06–0,10)	< 0,01	0,14 (0,14–0,16)
<i>K. pneumoniae</i>	0,20 (0,16–0,20)	> 0,05	0,20 (0,14–0,24)

У больных ОА наблюдалось нарушение микробного биоценоза толстого кишечника. Микробиоценоз кишечника характеризовался изменением качественного и количественного состава основных представителей кишечной микрофлоры. Была выявлена колонизация толстого кишечника УПЭБ золотистым стафилококком и микроорганизмами, имеющими фактор патогенности — гемолизин. Изменялась структура симбиотических взаимоотношений микроорганизмов. Полученные данные выявили развитие у больных ОА микробиологических нарушений кишечной микрофлоры с преобладанием II степени. У больных ОА наблюдалось более частое выявление IgG антител к антигенам золотистого стафилококка и кишечных бактерий (*E. coli*, *Salmonella* (O-12) и *P. vulgaris*) и в более высоком титре были выявлены антитела к антигенам *E. coli*, *P. vulgaris* и *Salmonella*. Обнаружение антител к условно-патогенным микроорганизмам подтверждает их участие в патогенезе ОА и является проявлением соответствующей антигенной нагрузки [3]. Повышенный титр IgG антител к нескольким видам условно-патогенных бактерий (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus spp.*, *Klebsiella pneumoniae*) характеризует поликлональную стимуляцию иммунного ответа и ассоциируется с расстройством системы распознавания при селективном ответе на антигены микроорганизмов [4].

Более высокий уровень IgG антител к бактериальным антигенам может свидетельствовать о снижении колонизационной резистентности индигенной микрофлоры, нарушении ее защитных свойств, так как кишечная микрофлора обеспечивает защиту хозяина через TLR4 и активацию цитокинов [5]. Дисбиотическая кишечная микрофлора также может вызывать воспаление суставов и провоцировать развитие артрита, активируя аутореактивные Т-клетки [6]. Изменение состава кишечной микрофлоры и уровня антител у больных ОА может быть результатом нарушения регуляции деятельности иммунной системы при персистенции условно-патогенных микроорганизмов [7]. Выявление IgG антител к антигенам условно-патогенных бактерий подтверждает колонизацию организма больных ОА условно-патогенной микрофлорой. Кишечная микрофлора за счет выделения эндотоксина снижает активность TLR4 и барьерную функцию слизистой кишечника, способна увеличить проницаемость слизистой кишечника, в результате чего повышается уровень ЛПС в плазме, развивается метаболическая эндотоксемия, что приводит к развертыванию системных и локальных патологических эффектов действия [8,9].

Таким образом, при ОА прослеживается тесная взаимосвязь изменения кишечного микробиоценоза и иммунного ответа организма на синантропные микроорганизмы, что может иметь значение в возникновении и прогрессировании

поражения суставов. Наличие дисбиотических нарушений и развитие изменения механизмов гуморальной защиты организма необходимо учитывать при оптимизации методов терапии остеоартроза.

1. Szychlińska M.A., Di Rosa M., Castorina A. et al. A correlation between intestinal microbiota dysbiosis and osteoarthritis. *Heliyon*. 2019. 12; 5(1): 01134.
2. Favazzo LJ, Hendesi H, Villani DA et al. The gut microbiome-joint connection: implications in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2020. 32(1): 92–101.
3. Terato K. et al. Preventing intense false positive and negative reactions attributed to the principle of ELISA to re-investigate antibody studies in autoimmune diseases. *Journal of immunological methods*. 2014. 407: 15–25.
4. Ястребова Н. Е., Ванеева Н. П., Цветкова Н. В. Характеристика скрининг-иммуоферментного теста для определения антител к условно-патогенным бактериям. *Аллергия, астма и клиническая иммунология*. 1999. 9: 148–151.
5. Chen L. W., Chen P. H., Hsu C. M. Commensal microflora contribute to host defense against *Escherichia coli* pneumonia through Toll-like receptors. *Shock*. 2011. 36(1): 67–75.
6. Maeda Y., Kumanogoh A., Takeda K. Altered composition of gut microbiota in rheumatoid arthritis patients. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi*. 2016. 39(1): 59–63.
7. Kverka M., Tlaskalova-Hogenova H. Two faces of microbiota in inflammatory and autoimmune diseases: triggers and drugs. *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*. 2013. 121 (5): 403–421.
8. Geurts L. et al. Gut microbiota controls adipose tissue expansion, gut barrier and glucose metabolism: novel insights into molecular targets and interventions using prebiotics. *Beneficial microbes*. 2014. 5(1): 3–17.
9. Muccioli G. G. et al. The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis [electronic resource]. *Molecular systems biology* : site. Режим доступа: <http://msb.embopress.org/content/6/1/392>. Загл. с экрана.

Дурнова Н.А.¹, Андропова Т.А.¹, Гризель В.В.¹, Кожанова О.И.², Красильникова Н.Н.², Большакова Е.В.², Курчатова М.Н.¹

Дирофиляриозы в России и в Саратовской области: распространение, уровень заболеваемости и профилактика

¹ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации

²Управление Роспотребнадзора по Саратовской области (Россия, Саратов)

doi: 10.18411/lj-02-2020-42

idsp: ljjournal-02-2020-42

Аннотация

В статье представлены данные о заболеваемости дирофиляриозом среди населения ряда областей РФ и, в частности, в Саратовской области. Отмечена тенденция к увеличению частоты встречаемости данным гельминтозом и рассмотрены факторы, способствующие росту инвазии. Указаны проводимые мероприятия, направленные на профилактику данного заболевания в Саратовской области.

Ключевые слова: дирофиляриоз, гельминтоз, Саратовская область

Abstract

The article presents the data about the incidence of dirofilariasis among the population of the Russian Federation, in particular, in the Saratov region. The tendency is that the frequency of occurrence of these helminthiasis becomes higher. We cite the factors that contribute to the growth of infestation. The measures to prevent this disease in the Saratov region are denoted.

Keywords: dirofilariasis, helminthiasis, the Saratov region