

**Тернопільський державний медичний університет
ім. І.Я. Горбачевського**
I.Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University

**Інститут епідеміології та інфекційних хвороб
ім. Л.В. Громашевського НАМН України**
L.V. Gromashevsky Epidemiology and Infectious
Diseases Institute of NAMS of Ukraine

ВСЕУКРАЇНСЬКИЙ НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ МЕДИЧНИЙ ЖУРНАЛ



ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ

ALL-UKRAINIAN SCIENTIFIC PRACTICAL MEDICAL JOURNAL INFECTIOUS DISEASES

2(92)2018

© Бендас В.В., Сидорчук Л.І., Яковичук Н.Д., 2018
 УДК 616.345-008.87-055.2:618.177
 DOI 10.11603/1681-2727.2018.2.9036

В.В. Бендас, Л.І. Сидорчук, Н.Д. Яковичук

МІКРОБІОТА ПОРОЖНИНИ ТОВСТОЇ КИШКИ У ЖІНОК З НЕПЛІДНІСТЮ II ТИПУ

ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет»

Для встановлення зв'язку дисбіотичних процесів, що відбуваються у вульвовагінальному біотопі та в кишечнику, необхідно вивчити стан мікробіоти в першу чергу порожнини товстої кишки жінок з неплідністю II типу для покращення параклінічної діагностики, розробки та впровадження у клінічну практику методів лікування гінекологічних хворих з обов'язковою корекцією у них мікроекологічних порушень.

Метою роботи було дослідити стан мікробіоти вмісту порожнини товстої кишки жінок з неплідністю II типу, вивчити таксономічний склад та популяційний рівень кожного таксону в біотопі.

Пацієнти і методи. Протягом 2000-2016 рр. нами проводилося мікробіологічне обстеження 67 жінок дітородного віку з неплідністю II типу. У жінок з неплідністю II типу вивчалася мікробіота вульвовагінального вмісту і вмісту порожнини товстої кишки. Вік жінок був від 18 до 34 років (у середньому $26,00 \pm 1,12$ р.). Діагноз верифіковано акушерами і гінекологами за результатами клініко-лабораторних, інструментальних і спеціальних досліджень. Контрольну групу склали 41 жінка віком від 19 до 35 років (середній вік $25,87 \pm 1,29$ р.), які протягом останніх шести місяців не хворіли на будь-які інфекційні та неінфекційні хвороби, включаючи гінекологічні захворювання, і вважали себе практично здоровими.

Для вивчення таксономічного складу мікробіоти порожнини товстої кишки використовували мікробіологічний метод з подальшою ідентифікацією виділених чистих культур, яку здійснювали за морфологічними, тинкторіальними, культуральними, біохімічними властивостями.

Для розкриття механізмів колонізації товстої кишки мікроорганізмами нами використаний екологічний метод, який дозволив здійснити характеристику співіснування різних компонентів екосистеми «макроорганізм – мікробіота» і прогнозувати напрямок змін мікроекології порожнини товстої кишки за порушень мікробіоценозу. Типологію домінуючих мікроорганізмів проводили на підставі визначення індексу постійності.

Для мікроскопічної характеристики мікробіоценозу порожнини товстої кишки вираховували індекс видового багатства Маргалефа і видового різноманіття Уіттекера. Для визначення ступеня домінування певного таксону у біотопі враховували індекси домінування Сімпсона і Бергера-Паркера.

Результати досліджень. Показано, що у вмісті порожнини товстої кишки жінок із неплідністю II типу настає елімінація бактерій роду *Enterococcus* та *Eubacterium*. Частково в 31,34 % пацієнток елімінують із біотопу бактерії роду *Bifidobacterium*, у 26,87 % – бактерії роду *Lactobacillus* і понижуються їх популяційний рівень. На фоні дисбалансу біфідобактерій і лактобактерій настає контамінація і колонізація порожнини товстої кишки жінок із неплідністю II типу патогенними та умовно-патогенними ентеробактеріями (*E. coli* Hly⁺, *E. coli* Lac⁻, *Proteus*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *Peptococcus niger*, *Clostridium*, *Staphylococcus* і дріжджоподібні гриби роду *Candida*) і зростає їх популяційний рівень. У більшості (59,70 %) таких пацієнток формується дисбіоз III ступеня.

Слід зазначити, що таксономічний склад мікробіоти порожнини товстої кишки в жінок з неплідністю II типу видозмінений. У цих жінок, на відміну від практично здорових, головна ендогенна мікробіота представлена умовно-патогенними бактеріями роду *Bacteroides*, *Escherichia*, а також пептококами (*P. niger*), стафілококами, лактобактеріями, протеями, біфідобактеріями, дріжджоподібними грибами роду *Candida*, причому лактобактерії і біфідобактерії не посідають основні місця в цій ієрархічній ситуації. Додаткову мікробіоту також представляють умовно-патогенні клостридії, патогенні гемолітичні кишкові палички. Інші мікроорганізми посідають у мікробіоценозі порожнини товстої кишки місце другорядних і випадкових.

В роботі показано, що популяційний рівень біфідобактерій у порожнині товстої кишки жінок з неплідністю II типу знижений на 55,27 % Ig КУО/г (або на 4 порядки), лактобактерій – на 59,44 % (або на 3-4 порядки). Це свідчить про пониження колонізаційної ре-

зистентності слизової оболонки травного тракту, що відкриває ворота до заселення кишечника умовно-патогенними ентеробактеріями та іншими мікроорганізмами, що сприяє розвитку інфекційно-запальних захворювань шлунково-кишкового тракту.

Порушення таксономічного складу і популяційного рівня мікробіоти порожнини товстої кишки жінок з неплідністю II типу призводить до дестабілізації коефіцієнту співвідношення облигатних анаеробних бактерій до факультативних анаеробних та аеробних мікроорганізмів.

Висновки. У вмісті порожнини товстої кишки жінок із неплідністю II типу настає елімінація бактерій роду *Enterococcus* та *Eubacterium*, частково також елімінують бактерії роду *Bifidobacterium* та *Lactobacillus*. На цьому фоні настає контамінація і колонізація порожнини товстої кишки патогенними та умовно-патогенними ентеробактеріями (*E. coli* Hly⁺, *E. coli* Lac⁻, *Proteus*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *P. niger*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, дріжджоподібними грибами роду *Candida*).

Популяційний рівень біфідобактерій у вмісті товстої кишки жінок із неплідністю II типу понижується на 55,27 %, лактобактерій на 59,44 %, а популяційний рівень ешерихій у вмісті порожнини товстої кишки цих пацієнток підвищується на 53,97 %, протеїв – на 59,35 %, бактероїдів – на 67,02 %, пептострептококів – на 62,73 %, клостридій – у 2,89 рази, стафілококів – у 2,10 рази, дріжджоподібних грибів роду *Candida* – на 93,67 %.

У більшості (59,70 %) жінок з неплідністю II типу формується дисбіоз III ступеня, у 10,45 % – дисбіоз IV ступеня.

Ключові слова: нормальна мікробіота, мікробіоценоз, популяційний рівень, товста кишка, неплідність II типу.

Людина існує як надорганізм, який складається із домінуючого багатоклітинного (еукаріотного) макроорганізму та специфічної бактерійної (переважно із прокаріотів) полікультури (асоціації мікробів), яка значною мірою впливає на різні аспекти життєдіяльності цієї екосистеми [1].

Мікробна екологічна система – це складний динамічний комплекс, що формується в процесі онто- та філогенезу. Він включає в себе макроорганізм і різноманіття за таксономічним складом і популяційним рівнем мікробіоти, її метаболіти. Органи людини та її мікробіота, що знаходиться у різних біотопах – це єдина екологічна система, яка характеризується здатністю до автономної саморегуляції та пов'язана складними механізмами постійної взаємодії всіх компонентів усередині

цілісної системи з оточуючим середовищем. Цей специфічний мікробний екстракорпоральний орган чинить суттєвий вплив на структурно-функціональний стан внутрішніх органів, імунну систему та процеси регуляції цих життєво важливих функцій [2].

Кожен мікробіоценоз, що заселяє локальний біотоп людини, є системою, яка саморегулюється і виконує взаємодію функції в системі «макроорганізм – мікробіота». Локальні мікробіоценози всіх біотопів тісно пов'язані між собою, утворюючи єдину складну цілісну систему, що саморегулюється і функціонує за законами екологічної системи «хазяїн – мікробіота». При цьому зміна в одному локальному біоценозі закономірно може поширюватися на всі інші локальні мікроекологічні системи біотопу [2].

У попередніх роботах нами показані глибокі зміни таксономічного і популяційного рівня мікробіоти вульвовагінального вмісту жінок з неплідністю II типу. Відомо, що анатомічна особливість розташування піхви і кишечника, наявність у цих органів спільних лімфатичних і кровоносних шляхів забезпечує високу частоту обміну мікроорганізмами між кишечником та уrogenітальним трактом. За вагінальних дисбактеріозів завжди зростає в уrogenітальному тракті популяційний рівень мікроорганізмів, що персистують у кишковому тракті, найчастіше це бактерії родів *Peptostreptococcus*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Escherichia*, *Enterococcus* та інших ентеробактерій.

Для встановлення зв'язку дисбіотичних процесів, що відбуваються у вульвовагінальному біотопі та в кишечнику, необхідно вивчити стан мікробіоти, в першу чергу, порожнини товстої кишки у жінок з неплідністю II типу для покращення параклінічної діагностики, розробки та впровадження у клінічну практику методів лікування гінекологічних хворих з обов'язковою корекцією у них мікроекологічних порушень.

Мета роботи – дослідити стан мікробіоти вмісту порожнини товстої кишки жінок з неплідністю II типу.

Пацієнти і методи

Протягом 2000-2016 рр. ми проводили мікробіологічне обстеження 67 жінок дитородного віку з неплідністю II типу. У жінок з неплідністю II типу вивчали мікробіоту вульвовагінального вмісту і вмісту порожнини товстої кишки. Вік жінок був від 18 до 34 років (у середньому 26,00±1,12 р.). Верифікація діагнозу проводилась акушерами-гінекологами за результатами клініко-лабораторних, інструментальних і спеціальних досліджень. Контрольну групу складала 41 жінка віком від 19 до 35 років (середній вік 25,87±1,29 р.), які протягом останніх шести місяців не хворіли на будь-які інфекційні та неінфекційні хвороби, включаючи гінекологічні захворювання, і вважали себе практично здоровими.

У жінок основної і контрольної груп відбирали з середніх порцій вміст товстої кишки в стерильні пеніцилінові флакони більше 5-7 г. 1 г випорожнень ретельно розтирали у стерильній ступці з 9 мл стерильного буферного розчину для кращого зберігання анаеробних бактерій і можливості посіву на окремі сектори чашки з поживним агаровим середовищем. З цього основного розведення ($10^{-1}=1:10$) для виявлення патогенних ентеробактерій (*Salmonella*, *Shigella* та ін.) робили посіви на тверді живильні середовища Плоскірева, Левіна із синтоміцином або з іншим антибіотиком, вісмут-сульфіт агар. З основного розведення робили титраційний ряд з подальшим розведенням у буферному розчині з 10^{-2} до 10^{-12} . Із цих пробірок проводили посів 0,01 мл суспензії суцільним газоном стерильним скляним шпателем на оптимальні для кожного таксону тверді живильні середовища для одержання ізольованих колоній.

Для виявлення бактерій роду *Bifidobacterium* використовували розлите по 10 мл у пробірки модифіковане за Г.І. Грачевою середовище Блаурокка, висіваючи 1 мл суспензії із титраційного ряду на дно пробірки. До середовища додавали азит натрію для пригнічення супутньої мікрофлори. Через 72 год і в наступні 4-7 днів інкубації в анаеростаті відбирали пастерівською піпеткою характерні колонії у вигляді цвяшків, комет, крупинок і готували мікропрепарати, фарбували за методом Грама. Враховували розведення, при якому в мазку виявляються грампозитивні палички, дещо зігнуті, з розгалуженням на одному або двох кінцях: розташовані у вигляді букви «V», гантелоподібної форми, з булавоподібними потовщеннями або у вигляді скупчень, які нагадують китайські ієрогліфи. Культивували анаеробні бактерії в поживних середовищах компанії Vестон Dickinson (USA).

Проводили висів 0,01 мл суспензії з різних розведень на тверді середовища Schaedler агар з 5 % баранячої крові або з Schaedler агар з 5 % баранячої крові з канаміцином і ванкоміцином для виділення та ідентифікації грампозитивних (біфідобактерій, еубактерій), грамнегативних (бактероїдів) облигатних анаеробних паличок і грампозитивних анаеробних коків (пептокока, пептострептококів). Спороутворюючі облигатні анаероби (*Clostridium*) вирощували на Анаеробіс – агар. Молочнокислі палички (*Lactobacillus*), коки виділяли на MRS-агарі і LBS-агарі шляхом посіву 0,01 мл суспензії із титраційного ряду (10^{-5} – 10^{-12}).

Посіви облигатних анаеробних бактерій інкубували в стаціонарному анаеростаті, (CO_2 -incubator T – 125 (Sveden) при температурі 37 °С протягом 3-7 днів, інколи до 14 діб. Однотипні колонії підраховували і ставили пробу на аеротолерантність з чистою культурою.

Стафілококи культивували на жовтково-сольовому агарі, стрептококи – на 5 % кров'яному агарі, ентеробактерії – на середовищі Ендо, Плоскірева, Левіна. Загальну кількість аеробних бактерій та їх гемолітичні властивості

визначали шляхом посіву суспензії з кожної пробірки титраційного ряду на 5 % кров'яний м'ясо-пептонний агар (КМПА). Для виділення та ідентифікації дріжджоподібних грибів роду *Candida* використовували тверде живильне середовище Сабуро з поліміксином, псевдомонади вирощували на малахітовому агарі.

Ідентифікацію виділених чистих культур здійснювали за морфологічними, тинкторіальними, культуральними, біохімічними властивостями. За необхідності в окремих випадках визначали ознаки патогенності, антигенну структуру.

У зв'язку з тим, що кількість життєздатних мікроорганізмів в одному об'ємі матеріалу налічують сотні тисяч – мільйони мікробних клітин, у матеріалі популяційний рівень трансформували в десяткові логарифми колоній утворюючих одиниць (lg КУО/г).

Для розкриття механізмів колонізації товстої кишки мікроорганізмами, нами використаний екологічний метод, який дозволив здійснити характеристику співіснування різних компонентів екосистеми «макроорганізм – мікробіота» і прогнозувати напрямок змін мікроекології порожнини товстої кишки за порушень мікробіоценозу. Типологію домінуючих мікроорганізмів проводили на підставі визначення індексу постійності [3].

Для мікроскопічної характеристики мікробіоценозу порожнини товстої кишки вираховували індекс видового багатства Маргалефа і видового різноманіття Уїттекера. Ці показники біотопу характеризують просторово-харчові ресурси та умови середовища для росту і розмноження відповідних таксонів (Уїттекер, 1980). Для визначення ступеня домінування певного таксону у біотопі враховували індекси домінування Сімпсона і Бергера-Паркера [4].

Статистичне опрацювання проводили за допомогою прикладних програм MYSTAT 12 (Systat-SoftwareInc, USA). Достовірність даних для незалежних вибірок розраховували за t-критерієм Student. Різницю вважали достовірною при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

Товста кишка (ТК) є основним резервуаром всієї мікробіоти людини, а також шлунково-кишкового тракту, яка виконує роль важливих функцій організму людини. У будь-якому мікробіоценозі завжди домінують «характерні» групи мікроорганізмів, кількість видів яких не велика, але у чисельному відношенні вони складають основу мікробіоценозу. Це автохтонна облигатна (головна, індигенна, резидентна, домінантна) мікробіота, яка відіграє провідну роль у підтримці симбіотичних відносин між організмом людини та її мікробіотою, а також у регуляції міжмікробних відносин і функціонування біотопу. Саме автохтонна облигатна мікробіота є ключовою у функціонуванні взаємовідносин між організмом і мікро-

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

біотою. Тому першим етапом було вивчення таксономічного складу мікробіоти вмісту порожнини товстої кишки жінок із неплідністю II типу (табл. 1), і другим етапом

було визначення взаємовідносин мікробіоти порожнини товстої кишки з мікробіотою вульвовагінального вмісту.

Таблиця 1

Таксономічний склад мікробіоти вмісту порожнини товстої кишки жінок з неплідністю II типу

Таксон мікробіоти	Жінки з неплідністю II типу (n=67)						Практично здорові жінки (n=41)							
	Виділено штамів	Індекс постійності (%)	Частота виявлення	Індекс видового багатства Маргалєфа	Індекс видового різноманіття Уттєкера	Індекс видового домінування		Виділено штамів	Індекс постійності (%)	Частота виявлення	Індекс видового багатства Маргалєфа	Індекс видового різноманіття Уттєкера	Індекс видового домінування	
						Сімонса	Бергера-Паркера						Сімонса	Бергера-Паркера
Облігатні анаеробні бактерії														
<i>Bifidobacterium spp.</i>	46	68,66	0,09	0,088	6/46	0,080	0,090	41	100,00	0,55	0,541	7,45	0,304	0,554
<i>Lactobacillum spp.</i>	49	73,13	0,10	0,094	6,88	0,091	0,096	41	100,00	0,55	0,541	7,454	0,304	0,554
<i>Bacteroides spp.</i>	67	100,0	0,13	0,130	9,41	0,171	0,132	41	100,00	0,55	0,541	7,45	0,304	0,554
<i>Peptococcus niger</i>	59	88,06	0,12	0,114	8,29	0,132	0,116	0	-	-	-	-	-	-
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	8	11,94	0,02	0,014	1,12	0,002	0,116	5	12,20	0,07	0,054	0,91	0,004	0,068
<i>Eubacterium spp.</i>	0	-	-	-	-	-	-	4	9,76	0,05	0,041	0,73	0,002	0,054
<i>Clostridium spp.</i>	33	49,25	0,06	0,063	4,63	0,041	0,065	1	2,44	0,01	0,014	0,18	<0,001	0,014
Факультативні анаеробні та аеробні мікроорганізми														
<i>Escherichia coli</i>	67	100,00	0,13	0,130	9,41	0,71	0,132	41	100,00	0,55	0,541	7,45	0,304	0,554
<i>E. coli Hly⁺</i>	31	16,27	0,06	0,059	4,35	0,036	0,061	0	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli Lac⁻</i>	11	16,42	0,02	0,020	1,54	0,004	0,022	0	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus spp.</i>	48	71,64	0,09	0,092	6,76	0,087	0,094	8	19,51	0,11	0,095	1,45	0,010	0,108
<i>Enterobacter cloacae</i>	8	11,94	0,02	0,014	1,12	0,002	0,016	0	-	-	-	-	-	-
<i>Citrobacter diversus</i>	3	4,48	0,01	0,004	0,42	-	0,006	0	-	-	-	-	-	-
<i>Hafnia alvei</i>	2	2,99	<0,001	0,002	0,28	-	0,004	0	-	-	-	-	-	-
<i>Serratia marcescens</i>	2	2,99	<0,001	0,002	0,28	-	0,004	0	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus spp.</i>	51	76,12	0,10	0,098	7,16	0,099	0,100	3	7,32	0,04	0,027	0,55	0,001	0,041
<i>Candida spp.</i>	34	50,75	0,07	0,065	4,78	0,043	0,067	1	2,44	0,01	0,014	0,18	<0,001	0,014
<i>Enterococcus spp.</i>	0	-	-	-	-	-	-	11	26,83	0,15	0,135	2,00	0,020	0,149

У практично здорових людей головна мікробіота представлена автохтонними облігатними бактеріями родів *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* і *Bacteroides*, а також автохтонними факультативними анаеробними бактеріями роду *Escherichia*, додаткова мікробіота представлена ентерококами.

Як видно з одержаних даних, у жінок з неплідністю II типу настає глибока дестабілізація таксономічного складу мікробіоти порожнини товстої кишки. У цих жінок, на відміну від практично здорових, головна ендогенна мікробіота представлена умовно-патогенними бактеріями роду *Bacteroides*, *Escherichia*, а також пептококами

(*P. niger*), стафілококами, лактобактеріями, протеями, біфідобактеріями, дріжджоподібними грибами роду *Candida*, причому лактобактерії і біфідобактерії не посідають основні місця в цій ієрархічній ситуації. Додаткову мікробіоту також представляють умовно-патогенні клостридії, патогенні гемолітичні кишкові палички. Інші мікроорганізми, що наведені в таблиці 1, посідають у мікробіоценозі порожнини товстої кишки місце другорядних і випадкових.

Звертає увагу те, що в деяких жінок з неплідністю II типу настає елімінація із порожнини товстої кишки найважливіших за представництвом (у всіх практично здо-

рових жінок) у складі товстокишкового мікробіоценозу людини та за мультифункціональною роллю у підтримці мікроекологічної рівноваги в системі «мікробіота – хазяїн» біфідобактерій – у 31,34 % жінок, лактобактерій – у 26,87 %. Це послаблює функціональну активність мікробіоценозу біотопу. Елімінують із порожнини товстої кишки еубактерії та ентерококи.

На фоні часткової елімінації біфідобактерій і лактобактерій настає контамінація і колонізація біотопу (порожнини товстої кишки) патогенними (ентеропатогенними ешерихіями) та умовно-патогенними ентеробактеріями (*E. coli Lac*⁻, ентеробактеріями роду *Proteus*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Hafnia*), пептококом, стафілококами і дріжджоподібними грибами роду *Candida*.

За аналітичними показниками (індексом постійності, частотою виявлення, індексом видового багатства Маргалефа, видового різноманіття Уйттекера та індексами видового домінування Сімпсона і Бергера-Паркера) мікроекологічної системи «мікробіота – макроорганізм» у жінок з неплідністю II типу настає глибока дестабілізація таксономічного складу мікробіоти порожнини товстої кишки за рахунок елімінації або дефіциту виявлення основних головних представників мікробіоценозу біотопу біфідобактерій і лактобактерій, елімінація еубактерій та ентерококів і потужна контамінація та колонізація порожнини товстої кишки вказаної категорії жінок патогенними та умовно-патогенними ентеробактеріями, пептококом, клостридіями, стафілококами, дріжджоподібними грибами роду *Candida*.

Для повної характеристики стану мікроекологічної системи «мікробіота – макроорганізм» крім таксономічного складу необхідні відомості про популяційний рівень кожного таксону в біотопі. Саме популяційний рівень є найважливішим носієм інформації про стан мікроекологічної системи будь-якого біотопу. Результати дослідження популяційного рівня мікробіоти вмісту порожнини товстої кишки жінок з неплідністю II типу наведені в таблиці 2.

Показано, що популяційний рівень біфідобактерій у порожнині товстої кишки жінок з неплідністю II типу знижений на 55,27 % Ig КУО/г (або на 4 порядки), лактобактерій – на 59,44 % (або на 3-4 порядки). Зменшення в порожнині товстої кишки популяцій бактерій родів *Bifidobacterium* і *Lactobacillus* призводить, за даними літератури, до порушення процесів всмоктування поживних речовин, засвоєння заліза, кальцію, вітаміну D; синтезу та абсорбції вітамінів, що синтезуються в організмі (B₁₂, фолієвої кислоти); зниження активності ряду ферментів і біологічно активних речовин; розвивається гіпопротеїнемія, гіповітаміноз і, можливо, бактеріємія. Але головним є те, що за пониження популяційного

рівня біфідобактерій і лактобактерій знижується колонізаційна резистентність слизової оболонки травного тракту, що відкриває ворота до заселення кишечника умовно-патогенними ентеробактеріями та іншими мікроорганізмами. Це сприяє розвитку інфекційно-запальних захворювань, а продуковані умовно-патогенними мікроорганізмами екзо- та ендотоксини знижують детоксикаційну функцію печінки, порушують проникність кишкової стінки, пригнічують регенерацію епітеліального шару слизової оболонки, призводять до розвитку диспепсії, діареї різного ступеня та інших морфофункціональних порушень шлунково-кишкового тракту.

Зниження популяційного рівня найважливіших у представництві кишкового мікробіоценозу біфідобактерій і лактобактерій призводить до підвищення популяційного рівня умовно-патогенних ентеробактерій: ешерихій на 53,97 % (на 3 порядки), протеїв на 59,35 %, а також облигатних анаеробних бактероїдів – на 67,02 %, пептострептококів – на 62,73 %, клостридій – у 2,89 разу, а також факультативних анаеробних та аеробних стафілококів – у 2,10 разу та дріжджоподібних грибів роду *Candida* – на 93,67 %. Крім того, кількісний пул умовно-патогенної мікробіоти в порожнині товстої кишки поповнюють контамінанти – *E. coli Hly*⁺, *E. coli lac*⁻, *P. niger*, умовно-патогенні ентеробактерії роду *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Hafnia*, *Serratia* та ін.

Порушення таксономічного складу і популяційного рівня мікробіоти порожнини товстої кишки жінок з неплідністю II типу призводить до дестабілізації коефіцієнту співвідношення облигатних анаеробних бактерій до факультативних анаеробних та аеробних мікроорганізмів [5, 6]. У практично здорових жінок цей коефіцієнт має значення (1,72±0,07) у.о., а в жінок з неплідністю значення цього коефіцієнта 0,69, тобто він у жінок з неплідністю II типу понижений у 2,49 разу, що засвідчує про глибокі порушення мікробіоценозу.

Порушення таксономічного складу і популяційного рівня мікробіоти порожнини товстої кишки жінок із неплідністю II типу призводить до змін ролі кожного компонента асоціативної мікробіоти [7]. За індексом постійності, частотою виявлення, індексом видового багатства Маргалефа, видового різноманіття Уйттекера, видового домінування за Сімпсоном, Бергером-Паркером, а також за популяційним рівнем, коефіцієнтом кількісного домінування і значущості в практично здорових жінок у порожнині товстої кишки провідна роль належить біфідобактеріям і лактобактеріям, їх коефіцієнт кількісного домінування складає 187,45 і 176,55, а коефіцієнт значущості – 1,03 і 0,97 відповідно. Суттєву роль відіграють також бактероїди та ешерихії. Їх роль у мікробіоценозі поступається біфідобактеріям за коефіцієнтом кількісного домінування на 81,83 % та на 67,37 % відповідно,

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

а за коефіцієнтом значущості – на 80,70 та 66,13 %. Роль у мікробіоценозі пептострептококів менша від біфідобактерій у 17,5 разу, еубактерій – у 22,18 разу, протеїв

– у 17 разів, стафілококів – у 50,12 разу і дріжджоподібних грибів роду *Candida* – мінімальна – менша, ніж у біфідобактерій у 50,12 разу.

Таблиця 2

Популяційний рівень мікробіотів вмісту порожнини товстої кишки жінок з неплідністю II типу

Таксон мікробіотів	Жінки з неплідністю II типу (n=67)			Практично здорові жінки (n=41)			P
	Популяційний рівень з Ig КУО/г, M±m	Коефіцієнт кількісного домінування	Коефіцієнт значущості	Популяційний рівень з Ig КУО/г, M±m	Коефіцієнт кількісного домінування	Коефіцієнт значущості	
Облігатні анаеробні бактерії							
<i>Bifidobacterium spp.</i>	6,64±0,32	64,03	0,08	10,31±0,72	187,45	1,03	<0,05
<i>Lactobacillus spp.</i>	6,09±0,27	62,55	0,09	9,71±0,59	176,55	0,97	<0,01
<i>Bacteroides spp.</i>	9,47±0,39	133,01	0,17	5,67±0,40	103,09	0,57	<0,01
<i>Peptococcus niger</i>	7,88±0,24	97,46	0,13	0	-	-	-
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	7,86±0,27	13,18	0,02	4,83±0,27	10,71	0,06	<0,01
<i>Eubacterium spp.</i>	0	-	-	4,76±0,32	8,45	0,04	-
<i>Clostridium spp.</i>	8,68±0,37	60,04	0,07	3,00	1,33	0,01	-
Факультативні анаеробні та аеробні бактерії							
<i>Escherichia coli</i>	9,50±0,34	133,43	0,17	6,17±0,37	1,12	0,62	<0,01
<i>E. coli Hly⁺</i>	6,90±0,29	44,84	0,06	0	-	-	-
<i>E. coli Lac⁻</i>	6,78±0,30	15,64	0,02	0	-	-	-
<i>Proteus spp.</i>	4,94±0,22	479,71	0,06	3,10±0,06	11,00	0,06	<0,01
<i>Enterobacter cloacae</i>	6,85±0,22	11,49	0,02	0	-	-	-
<i>Citrobacter diversus</i>	6,80±0,17	4,28	0,01	0	-	-	-
<i>Hafnia alvei</i>	6,87±0,21	2,89	<0,01	0	-	-	-
<i>Serratia marcescens</i>	6,89±0,19	2,89	<0,01	0	-	-	-
<i>Staphylococcus spp.</i>	5,91±0,18	63,18	0,08	2,81±0,09	3,74	0,02	<0,01
<i>Candida spp.</i>	5,81±0,23	41,41	0,06	3,00	1,33	0,01	-
<i>Enterococcus spp.</i>	0	-	-	7,11±0,47	34,68	0,19	-

За перерахованими мікроекологічними показниками в мікробіоценозі порожнини товстої кишки жінок із неплідністю II типу певну роль відіграють аеробні ешерихії і бактероїди. На формування мікробіоценозу порожнини товстої кишки жінок із неплідністю II типу досить потужно впливає умовно-патогенний пептокок, його роль дещо менша (на 36,48 %), стафілокок (у 2,11 разу).

Показано, що роль бактероїдів у формуванні асоційованої мікробіоти порожнини товстої кишки переважає

роль біфідобактерій – у 2,08 разу, лактобактерій – у 2,13 разу. Кишкова паличка відіграє більшу роль у мікробіоценозі товстої кишки жінок із неплідністю II типу, ніж біфідобактерії, у 2,08 разу, а також ніж лактобактерії у 2,13 разу. Умовно-патогенний пептокок проявляє більшу роль у мікробіоценозі товстої кишки жінок із неплідністю II типу, ніж біфідобактерії, на 52,21 %, а ніж лактобактерії – на 55,81 %. Неплідність II типу, а також динамічні порушення мікробіоти вульвовагінального вмісту призво-

дять до суттєвого зниження ролі у формуванні мікробіоценозу біфідобактерій – у 2,93 разу, лактобактерій – у 2,82 разу. При цьому зростає роль у формуванні мікробіоценозу бактероїдів на 29,02 %, клостридій – у 45,14 разу, пептострептококів – на 23,06 %, дріжджоподібних грибів роду *Candida* – у 71,14 разу. Ентеропатогенні кишкові палички відіграють активну роль у мікробіоценозі, що практично відповідає ролі біфідобактерій і лактобактерій.

Таким чином, у вмісті порожнини товстої кишки жінок із неплідністю II типу виявляється глибока дестабілізація як таксономічного складу і популяційного рівня, так і мікроекологічних показників мікробіоти – індексу постійності, частоти виявлення таксона, індексів видового багатства Маргалефа, видового різноманіття Уїттекера, видового домінування за Сімпсоном і Бергер-Паркером,

а також за коефіцієнтами кількісного домінування та значущості, що необхідно враховувати при діагностиці неплідності II типу та, що важливо, – при вивченні патогенезу запального процесу в репродуктивних органах жінок дітородного віку необхідно встановити причини формування неплідності за II типом з врахуванням порушень мікробіоти порожнини товстої кишки [8].

При встановленні рівня порушень таксономічного складу, популяційного рівня та мікроекологічних показників мікробіоти порожнини товстої кишки в кожній жінки з неплідністю II типу визначений ступінь дисбактеріозу/дисбіозу порожнини товстої кишки, згідно з наказом МОЗ України №4 від 01.05.1995 р. Результати встановлення ступеня порушень мікробіоти (дисбіозу) порожнини товстої кишки в жінок з неплідністю II типу наведені у табл. 3.

Таблиця 3

Ступінь порушень мікробіоти вмісту порожнини товстої кишки у жінок з неплідністю II типу

Ступінь дисбіозу	Жінки з неплідністю II типу (n=67)		Практично здорові жінки (n=41)		P
	абс.	%	абс.	%	
Нормофлора	0	-	35	85,37	-
I ступінь	0	-	4	9,76	-
II ступінь	20	29,85	2	4,87	<0,01
III ступінь	40	59,70	0	-	-
IV ступінь	7	10,45	0	-	-

Встановлено, що в більшості (59,70 %) жінок з неплідністю II типу сформований дисбактеріоз III ступеня. Вважається, що в порожнині товстої кишки значно знижений популяційний рівень бактерій роду *Bifidobacterium* і *Lactobacillus*, і на цьому фоні різко зростає таксономічний склад патогенних та умовно-патогенних ентеробактерій (*E. coli Hly⁺*, *E. coli lac⁻*), ентеробактера, протеїв, цитробактера, гафній, серацій, пептокока, клостридій, стафілококів і дріжджоподібних грибів роду *Candida* та ін. На цьому тлі створюються сприятливі умови, згідно з індексами Маргалефа та Уїттекера, для прояву патогенних властивостей патогенної та умовно-патогенної мікрофлори, що призводять до появи дисфункцій шлунково-кишкового тракту.

У 10,45 % жінок дітородного віку з неплідністю II типу виявлений IV ступінь дисбактеріозу. У цих пацієнток біфідобактерії або лактобактерії не виявляються в популяційному рівні нижче 4,00 Іg КУО/г, розширюється таксономічний склад патогенних та умовно-патогенних ентеробактерій, пептокока, клостридіальних форм бактерій, стафілококів і дріжджоподібних грибів, які не виявляються в практично здорових жінок. При цьому в цих

пацієнток проявляється маніфестація дисфункції шлунково-кишкового тракту.

Висновки

1. У вмісті порожнини товстої кишки жінок із неплідністю II типу настає елімінація бактерій роду *Enterococcus* та *Enbacterium*. Частково у 31,34 % пацієнток елімінують бактерії роду *Bifidobacterium*, у 26,87 % – бактерії роду *Lactobacillus*. На цьому фоні настає контамінація і колонізація порожнини товстої кишки патогенними та умовно-патогенними ентеробактеріями (*E. coli Hly⁺*, *E. coli Lac⁻*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *P. niger*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, дріжджоподібними грибами роду *Candida*).

2. Популяційний рівень біфідобактерій у вмісті товстої кишки жінок із неплідністю II типу знижується на 55,27 %, лактобактерій – на 59,44 %, а популяційний рівень ешерихій у вмісті порожнини товстої кишки цих пацієнток підвищується на 53,97 %, протеїв – на 59,35 %, бактероїдів – на 67,02 %, пептострептококів – на 62,73 %, клостридій – у 2,89 разу, стафілококів – у 2,10 разу, дріжджоподібних грибів роду *Candida* – на 93,67 %.

3. У більшості (59,70 %) жінок з неплідністю II типу формується дисбіоз III ступеня, у 10,45 % – дисбіоз IV ступеня.

Література

1. Уголев А.М. Теория адекватного питания и трофология / А.М. Уголев. – СПб: Наука, 1991. – 270 с.
2. Ширококов В.П. Мікробна екологія людини з кольоровим атласом / В.П. Ширококов, Д.С. Янковський, Г.С. Диметр. – К.: ТОВ «Червона Рута – Туре», 2009. – 372 с.
3. Глебова Н.С. Изменения микробиоценоза кишечника под влиянием дестабилизирующего действия бластоцистной инвазии / Н.С. Глебова // Вестник ОГУ. – 2007. – № 5. – С. 155-160.
4. География и мониторинг биоразнообразия / Н.В. Лебедева, Н.А. Кривоуццкий, Ю.Г. Пузаченко и др. – М.: Изд. научного и учебно-методического центра, 2002. – 422 с.

References

1. Ugolev, A.M. (1991). *Teoriya adekvatnogo pitaniya i trofologiya [Theory of adequate nutrition and trophology]*. Saint Petersburg: Nauka [in Russian].
2. Shyrobokov, V.P., Yankovskyi, D.S., & Dymetr, H.S. (2009). *Mikrobna ekolohiia liudyny z kolorovym atlasom [Microbial ecology of a human with a color atlas]*. Kyiv: TOV "Chervona Ruta – Ture" [in Ukrainian].
3. Glebova, N.S. (2007). *Izmeneniya mikrobiotsenoza kischechnika pod vliyaniyem destabiliziruyushchego deystviya blastotsistnoy invazii [Changes in the intestinal under the effect of the destabilizing action of the blastocyst invasion]*. *Vestnik OGU – Bulletin of OGU*, (5), 155-160 [in Russian].
4. Lebedeva, N.V., Kryvolutskiy, N.A., Puzachenko, Yu.G., Dkonov, K.N., Aleshchenko, A.V., Smurov, V.N. & Kotova, N.V. (2002). *Geo-*

5. Assessing the prevalence of bacterial vaginosis among infertile women of Qom city / Mahdiah Ghiasi, Hoda Fazaeli, Naser Kalhor [et al.] // *Iran. J. Microbiol.* – 2014. – N 6. – P. 404-408.
6. Biological control of vaginosis to improve reproductive health / P. Mastromarino, R. Hemalatha, A. Bartonetti [et al.] // *Indian J. Med. Res.* – 2014. – Vol. 140, N 1. – P. 91-97.
7. Bacterial agents as a cause of infertility in humans / M. Ruggeri, S. Cannas, M. Cubeddu [et al.] // *The New Microbiologica.* – 2016. – Vol. 39, N 3. – P. 206-209.
8. Franasiaak J.M. Jr. Introduction: Microbiome in human reproduction / J.M. Franasiaak, R.T. Scott // *Fertility and sterility.* – 2015. – Vol. 104, N 6. – P. 1341-1343.

grafiya i monitoring bioraznoobraziya [Geography and monitoring of biodiversity]. Moscow: Izdatelstvo nauchnogo i uchebno-metodicheskogo tsentra [in Russian].

5. Ghiasi, M., Fazaeli, H., Kalhor, N., Sheykh-Hasan, M., & Tabatabaei-Qomi, R. (2014). Assessing the prevalence of bacterial vaginosis among infertile women of Qom city. *Iran. J. Microbiol.*, (6), 404-408.
6. Mastromarino, P., Hemalatha, R., Bartonetti, A., Cinque, B., Cifone, MG., Tamaro, F., & Francavilla, F. (2014). Biological control of vaginosis to improve reproductive health. *Indian J. Med Res.*, 140(1), 91-97.
7. Ruggeri, M., Cannas, S., Cubeddu, M., Mollicotti, P., Piras, G.L., Dessole, S., & Zanetti, S. (2016). Bacterial agents as a cause of infertility in humans. *New Microbiol.*, 39(3), 206-209.
8. Franasiaak, J.M., & Scott, R.T. (2015). Jr. Introduction: Microbiome in human reproduction. *Fertil. Steril.* 104(6), 1341-1343.

MICROBIOTA OF COLON IN WOMEN WITH TYPE II INFERTILITY

V.V. Bendas, L.I. Sydorhuk, N.D. Yakovychuk
Bukovinian State Medical University

SUMMARY. To establish the connection between the dysbiotic processes occurring in the vulvovaginal biotope and the intestine, it is necessary to study the microbiota state, primarily of the colon in women with type II infertility, in order to improve the paraclinical diagnosis,

to develop and introduce into clinical practice the methods of treatment for gynecological patients with required correction of their microecological disorders. **The aim of the work** was to investigate the state of microbiota of the colon content in women with II type infertility, to study the taxonomic composition and population level of each taxon in a biotype.

Patients and Methods. During 2000-2016, we conducted a microbiological examination of 67 women with II infertility type. We have been studied microbiota of

vulvovaginal and colon contents. The age of women was between 18 and 34 years (average age: (26.00 ± 1.12) years). Verification of the diagnosis was established by obstetricians and gynecologists on the basis of clinical, laboratory, instrumental and special investigations. The control group consisted of 41 women aged 19 to 35 years (average age: (25.87 ± 1.29) years) who during the last six months did not suffer from any infectious and non-infectious diseases, including gynecological diseases, and considered themselves to be practically healthy.

To study the taxonomic composition of microbiota of the cavity of the colon, a microbiological method was used with following identifications of isolated pure cultures that were carried out according to morphological, tinctorial, cultural and biochemical properties.

To open up the mechanisms of colonization of the colon by microorganisms, we used an ecological method that allowed to characterize the coexistence of various components of ecosystem «macroorganism-microbiota» and predict the direction of change in the microecology of microbiocenosis of the colon cavity. The typology of dominant microorganisms was carried out on the basis of the determination of the constancy index.

For the microscopic characteristics of the microbiocenosis of the colon cavity Margaleff index of the species richness and Whittaker species variety index were calculated. To determine the degree of dominance of a particular taxon in the biotope, the dominant indexes of Simpson and Berger-Parker were taken into account.

Research results. It was shown that in the contents of the colon cavity in women with II infertility type, the elimination of bacteria of the genus *Enterococcus* and *Eubacterium* occurs. Partially in 31.34 % of the patients, the bacteria of the genus *Bifidobacterium* are eliminated from the biotope, 26.87 % of bacteria of the genus *Lactobacillus* and their population level is lowered. On the background of deficiency of bifidobacteria and lactobacilli, there occurs contamination and colonization of the colon in women with infertility of type II with pathogenic and opportunistic enterobacteria (*E. coli* Hly+, *E. coli* Lac-, *Proteus*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *Peptococcus niger*, *Clostridium*, *Staphylococcus* and yeast-like fungi of the genus *Candida*) and their population level increases. In majority of such patients (59.70 %) dysbiosis of III stage is formed.

Study of taxonomic composition of the microbiota of the colon cavity in women with type II infertility testifies its deep destabilization. In these women, unlike the practically healthy one, the main, endogenous microbiota is represented by pathogenic and opportunistic bacteria of the genus *Bacteroides*, *Escherichia*, as well as *Pep-*

tococci (*P. niger*), *Staphylococci*, *Lactobacillus*, *Proteus*, *Bifidobacteria*, yeast-like fungi of the genus *Candida*, in which *Lactobacillus* and *Bifidobacteria* do not occupy the main places in this hierarchical situation. Additional microbiota is also represented by conditionally pathogenic clostridia, pathogenic hemolytic intestinal rods. Other microorganisms take a place in the microbiocenosis of the cavity of the colon as secondary and accidental.

It has been shown that the population level of *Bifidobacteria* in the intestinal cavity of women with type II infertility is reduced by 55.27 % of Ig CFU/g (or 4 orders), *Lactobacilli* – by 59.44 % (or 3 to 4 orders). This reduction indicates a decrease in the colonization resistance of the mucous membrane of the digestive tract, which opens the gate to colonize the intestine by conditionally pathogenic enterobacteria and other microorganisms, which contributes to the development of infectious and inflammatory diseases of the gastrointestinal tract.

Violation of the taxonomic composition and population level of the microbiota of the colon of women with type II infertility leads to destabilization of the ratio of obligate anaerobic bacteria to facultative anaerobic and aerobic microorganisms.

Conclusions. 1. In the contents of the colon cavity of women with type II infertility, the elimination of bacteria of the genus *Enterococcus* and *Eubacterium* occurs. Partially in 31.34 % of patients there eliminate bacteria of the genus *Bifidobacterium*, in 26.87 % – bacteria of the genus *Lactobacillus*. On this background occurs contamination and colonization of the colon of women with type II infertility with pathogenic and opportunistic enterobacteria (*E. coli* Hly +, *E. coli* Lac-, *Proteus*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *P. niger*, *Clostridium*, *Staphylococcus* yeast-like fungi of the genus *Candida*).

2. The population level of *Bifidobacteria* in the content of the colon of women with type II infertility is reduced by 55.27 %, *Lactobacilli* by 59.44 %, and the population level of *Escherichia* in the contents of the intestinal cavity of these patients increases by 53.97 %, *Proteus* – by 59.35 %, *Bacteroides* – by 67.02 %, *Peptostreptococci* – by 62.73 %, *Clostridia* – by 2.89 times, *Staphylococci* – by 2.10 times, yeast-like fungi of the genus *Candida* – by 93.67 %.

3. Dysbacteriosis is found in 49.25 % of women with infertility type II, and in 50.75 % – dysbiosis. In the majority (59.70 %) of women with type II infertility, dysbiosis of III stage is formed, in 10.45 % – dysbiosis of the IV stage.

Key words: normal microbiota; microbiocenosis; population level; colon; type II infertility.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Відомості про авторів:

Бендас В.В. – асистент, ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет»; bendas@bsmu.edu.ua

Сидорчук Л.І. – доцент, ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет»; sydorchuk.leonid@bsmu.edu.ua

Яковичук Н.Д. – доцент, ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет»; yakovychuk.nina@bsmu.edu.ua

Information about authors:

Bendas V. – assistant, Higher State Educational Establishment of Ukraine, «Bukovinian State Medical University»; bendas@bsmu.edu.ua

Sydorchuk L. – associate professor, Higher State Educational Establishment of Ukraine, «Bukovinian State Medical University»; sydorchuk.leonid@bsmu.edu.ua

Yakovychuk N. – associate professor, Higher State Educational Establishment of Ukraine, «Bukovinian State Medical University»; yakovychuk.nina@bsmu.edu.ua

Конфлікту інтересів немає.

Authors have no conflict of interest to declare.

Отримано 4.12.2017 р.

Вельмишановні колеги!

Запрошуємо Вас взяти участь у роботі Всеукраїнської науково-практичної конференції і пленуму Всеукраїнської асоціації інфекціоністів на тему: "Сучасні діагностичні, лікувальні і профілактичні технології у практиці інфекціоніста", які відбудуться 4-5 жовтня 2018 року в м. Чернівці.

Конференція внесена до Реєстру з'їздів, конгресів, симпозіумів, науково-практичних конференцій, наукових семінарів і пленумів, що проводяться у 2018 році МОЗ і НАМН України (№ 209).

Основні питання, що будуть розглядатися на конференції:

– Епідеміологічні особливості та клінічні прояви поширених інфекційних хвороб у сучасних умовах у дорослих і дітей.

– Ускладнення інфекційних хвороб, їх рання діагностика, запобігання, лікування.

– Невідкладні стани в клініці інфекційних хвороб: діагностика і лікування.

– Впровадження у практику нових інноваційних технологій діагностики і лікування розповсюджених інфекційних хвороб.

– Необхідний обсяг лабораторних обстежень при виявленні інфекційного хворого на лікарській дільниці. Співпраця інфекціоністів із сімейними лікарями, терапевтами і педіатрами.

– Актуальні питання специфічної і неспецифічної профілактики інфекційних хвороб у сучасних умовах.

– Оптимізація фахової підготовки інфекціоністів, інтернів і сімейних лікарів з інфекційних хвороб.

У дні роботи конференції відбудеться спеціалізована виставка медикаментів, медичного обладнання та інформаційних матеріалів.

Планується видання збірника матеріалів конференції.

Контактні телефони в Тернополі:

Президент ВАІ академік НАМНУ, проф. Михайло Антонович Андрейчин – тел. служб. (0352) **52-47-25**.

Секретар правління ВАІ доц. Олег Любомирович Івахів – тел. моб. **050-377-59-85; 068-941-89-17**. E-mail: **olivakhiv@ukr.net** або **infecdis@ukr.net**

Оргкомітет