https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-196-12-35-43

BY-NC-SA

Терапия синдрома раздраженного кишечника у жителей Вьетнама пробиотическими энтерококками

Ермоленко Е. И.[2], Котылева М. П.[1], Цапиева А. Н.[1], Карасева А. Б.[1], Буй Тхи Лан Ань[3], Суворов А. Н.[1, 4]

[1] ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12, Россия

[2] Северо-Западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова, 195067, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., д. 47

[3] Совместный Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр (Тропический центр), Ханой, Вьетнам

[4] Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034, Университетская наб., 7/9, Россия

Для цитирования: Ермоленко Е. И., Котылева М. П., Цапиева А. Н., Карасева А. Б., Буй Тхи Лан Ань, Суворов А. Н. Терапия синдрома раздраженного кишечника у жителей Вьетнама пробиотическими энтерококками. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2021;196(12): 35–43. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-196-12-35-43

Ермоленко Елена Игоревна, д.м.н., заведующий лабораторией биомедицинской микроэкологии, отдел молекулярной микробиологии, профессор кафедры медицинской микробиологии, СЗГМУ им. И. И. Мечникова

Цапиева Анна Николаевна, научный сотрудник, отдел молекулярной микробиологии; *ORCID: 0000–0001–7878–6339*

Карасева Алена Борисовна, научный сотрудник, отдел молекулярной микробиологии

Котылева Марина Петровна., научный сотрудник, отдел молекулярной микробиологии; *ORCID: 0000–0003–1073–6508*

Суворов Александр Николаевич., д.м.н., профессор, заведующий отделом молекулярной микробиологии; заведующий кафедрой фундаментальных проблем медицины и медицинской технологии СПБГМУ; *ORCID: 0000–0003–2312–5589*

Буй Тхи Лан Ань, научный сотрудник

✉ *Для переписки:*
Ермоленко Елена Игоревна
lermolenko1@yandex.ru

Резюме

В данной работе проведено сопоставление состава микробиоты кишечника здоровых волонтеров и больных синдромом раздраженного кишечника (СРК) жителей Ханоя до и после терапии пробиотической закваской на основе бактериоциногенного штамма *Enterococcus faecium* L3 (L3), успешно использующегося для коррекции дисбиоза и терапии СРК в России.

У больных СРК (группа IBS) α-разнообразие было выше, чем в контрольной группе (Healthy) и у больных СРК после терапии пробиотиком (группа IBS+L3). Филогенетический анализ исследуемых образцов отразил разделение исследуемых сообществ на 2 кластера, в один из которых сгруппированы образцы, преимущественно взятые при СРК до терапии. Метод главных компонент (PCoA) показал, что большинство образцов из группы IBS локализуются на графике в отдельном секторе, отдаленном от расположенных рядом образцов IBS+L3 и Healthy. Исследование микробиома вьетнамцев больных СРК после приема пробиотика на уровне типов (филов) выявило тенденцию к увеличению представительства *Firmicutes*. Введение L3 приводило к возрастанию популяции представителей семейства *Lachnospiraceae*, таких как бутират продуцирующие *Roseburia* и ацетат продуцирующие *Blautia*. В то же время снижалось процентное содержание стафилококков и бактерий относящихся к семейству *Enterobacteriaceae*. Помимо позитивных сдвигов в функционировании желудочно-кишечного тракта, выявленных на основе клинических данных, при помощи метагеномного анализа генов 16S рРНК выявлены особенности микробиоты кишечника у жителей Ханоя с СРК при сравнении со здоровыми волонтерами и у тех же больных после терапии пробиотиком.

Позитивные сдвиги в микробиоме кишечника больных СРК во Вьетнаме после терапии пробиотической закваской на основе L3 принципиально не отличаются от описанных ранее эффектов, отмеченных авторами при использовании данного пробиотика в России, что создает предпосылки для расширения возможности его использования в азиатском регионе.

Ключевые слова: микробиота, синдромом раздраженного кишечника, *Enterococcus faecium* L3, пробиотики

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

BY-NC-SA

https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-196-12-35-43

Irritable bowel syndrome therapy in Vietnam with probiotic enterococci

E.I. Ermolenko[2], M.P. Kotyleva[1], A.N. Tsapieva[1], A.B. Karaseva[1], Bui Thi Lan An[3], A.N. Suvorov[1, 4]

[1] Federal State Budgetary Scientific Institution "Institute of Experimental Medicine" (FSBRI "IEM"), 197376, Russian Federation, St. Petersburg, Acad. Pavlov str., 12.

[2] I.I. Mechnikov Northwestern State Medical University, 47 Piskarevsky Ave., Saint Petersburg, 195067

[3] Vietnam-Russia Tropical Centre, Hanoi, Vietnam.

[4] Saint Petersburg State University, 7–9 Universitetskaya Emb., St Petersburg 199034, Russia

For citation: Ermolenko E.I., Kotyleva M.P. Tsapieva A.N., Karaseva A.B., Bui Thi Lan An, Suvorov A.N. Chlrritable bowel syndrome therapy in Vietnam with probiotic enterococci. *Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2021;196(12): 35–43. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-196-12-35-43

✉ *Corresponding author:*
Elena I. Ermolenko
lermolenko1@yandex.ru

Elena I. Ermolenko, PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory of Biomedical Microecology; Professor, Faculty of Medical microbiology, Department of Medical Microbiology; *ORCID: 0000–0002–2569–6660*

Anna N. Tsapieva, Research Associate, Department of Molecular Microbiology; *ORCID: 0000–0001–7878–6339*

Alena B. Karaseva, Research Associate, Department of Molecular Microbiology

Maryna P. Kotyleva, Research Associate, Department of Molecular Microbiology; *ORCID: 0000–0003–1073–6508*

Alexander N. Suvorov, PhD, MD (Medicine), Professor, Chief of Department of Molecular Microbiology; head of the Department; *ORCID: 00000000–0003–2312–5589*

Bui Thi Lan Anh, Research Associate

Summary

In this work, we compared composition of the intestinal microbiota of healthy volunteers and patients with irritable bowel syndrome (IBS) in Hanoi residents before and after therapy with a probiotic starter culture based on the bacteriocinogenic strain *Enterococcus faecium* L3 (L3), which is successfully used to correct dysbiosis and treat IBS in Russia.

In IBS patients (IBS group) α-diversity was higher than in the control group (Healthy) and in IBS patients after probiotic therapy (IBS + L3 group). Phylogenetic analysis of the studied samples reflected the division of the studied communities into 2 clusters, one of which grouped samples, mainly taken for IBS before therapy. Principal component analysis (PCoA) showed that most of the samples from the IBS group are located on the graph in a separate sector, far from the adjacent IBS + L3 and Healthy samples. A study of the microbiome of Vietnamese patients with IBS after taking probiotic at the level of types (phyls) revealed a tendency towards an increase in the representation of *Firmicutes*. The introduction of L3 led to an increase in the population of members of the family Lachnospiraceae, such as butyrate-producing *Roseburia* and acetate-producing *Blautia*. At the same time, the percentage of staphylococci and bacteria belonging to the *Enterobacteriaceae* family was decreased. In addition to positive changes in the functioning of the gastrointestinal tract, revealed on the basis of clinical data, the features of the intestinal microbiota of IBS residents of Hanoi compared with healthy volunteers and in the same patients after probiotic therapy were revealed by metagenomic analysis of 16S rRNA genes. Positive shifts in the intestinal microbiome of IBS patients in Vietnam after therapy with a probiotic starter culture based on L3 do not fundamentally differ from the previously described effects noted by the authors when using this probiotic in Russia, which creates the preconditions for expanding the possibility of its use in the Asian region.

Keywords: microbiota, irritable bowel syndrome, *Enterococcus faecium* L3, probiotics

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

1. Введение

Синдром раздраженного кишечника (СРК) – это функциональное расстройство кишечника, при котором рецидивирующие боли в животе ассоциированы с дефекацией или с изменением ритма дефекации. Как правило, при этом более трех месяцев наблюдается нарушение опорожнения кишечника (запор, диарея или их чередование) и кишечное вздутие или распирание [1,2].

Распространенность СРК зависит от географического региона, эпидемиологической ситуации, критериев диагностики и встречается у 10–45% населения земного шара [3, 4, 5]. В странах азиатского региона рассматриваемое функциональное расстройство кишечника также получило распространение. Так, встречаемость СРК в Пекине, Гонконге и Тайване составляет 0.82%, 6.6% и 22.1%, соответственно [6]. Нельзя исключить, что это связано с особенностями микробиоты кишечника в различных регионах. Так, для жителей Китая характерно снижение содержания в кишечнике бифидобактерий, лактобацилл, превотелл, бактероидов на фоне увеличения популяций эшерихий,

псевдомонад и фекалибактерий [7]. Ранее нами было обнаружено, что микробиота кишечника жителей, проживающих в крупных мегаполисах Вьетнама (Ханой) и России (Санкт-Петербург) отличается более низким содержанием лактобацилл, большим представительством условно-патогенных энтеробактерий и стафилококков. Из фекалий вьетнамцев были выделены энтерококки преимущественно вида *Enterococcus hirae* и несколько реже – *E. faecium* [8].

Ранее нами было проведено сравнительное исследование микробиоты здоровых жителей России и больных СРК при помощи метагеномного анализа генов 16S rRNA. Выявлены следующие особенности микробиома больных СРК: 1) увеличение представительства филумов *Actinobacteria*, *Firmicutes*, представителей семейств *Streptococcaceae* (*Streptococcus*), *Lachnospiraceae* (*Dorea spp.*), *Veillonellaceae* (*Dialister*), *Proteobacteria* (семейства *Enterobacteriaceae* и *Desulfovibrionaceae*), рода *Bifidobacterium spp.* 2) уменьшение представленности филума *Bacteroidetes*, в том числе представителей семейств *Prevotellacea* (*Prevotella spp.*), *Bacteroidaceae* (*Bacteroides spp.*), фирмикутных бактерий, относящихся к семействам *Clostridiaceae* и *Ruminococcaceae* (*Faecalibacterium spp.*) [9].

При терапии СРК рекомендовано использование пробиотиков [1, 2, 10, 11], однако объективная оценка эффективности использования пробиотических бифидобактерий, лактобацилл, эшерихий, комплекса пробиотических штаммов при терапии СРК проведены в основном в европейских странах и США, причем, получены противоречивые клинические результаты, связанные с особенностями действия пробиотических средств [12, 13]. Следует подчеркнуть, что состав микробиота в рамках клинических исследований не всегда рассматривался.

В результате комплексных клинико-лабораторных исследований с оценкой изменений кишечного микробиоценоза доказана высокая эффективность использования пробиотического штамма *Enterococcus faecium* L3 при лечении больных СРК в РФ и коррекции дисбиотических состояний [1, 14].

Целью настоящего исследования явилось выявление изменений микробиоты кишечника и оценка эффективности воздействия пробиотических энтерококков на функциональное состояние желудочно-кишечного тракта при терапии СРК у жителей Ханоя.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Характеристика пациентов

Были исследованы жители Ханоя, 11 мужчин 23–51 года (31,23±7,33) страдающих СРК. В контрольную группу включены здоровые волонтеры аналогичной возрастной и гендерной группы.

Для исключения наличия инфекционной патологии при формировании групп пробы фекалий пациентов проанализированы на наличие ротавирусов, аденовирусов норавирусов, *Entamoeba histolytica* и *Giardia lamblia* при помощи иммунохроматографических экспресс-тестов (Vegal, «Биотех», Россия) для прямого выявления антигенов перечисленных патогенов в кале.

2.2. Пробиотический штамм *Enterococcus faecium* L3

Enterococcus faecium L3 – пробиотический штамм, выделенный из кисломолочного продукта, используемый в качестве продуктов функционального питания «Био-био», «Ламинолакт», «Бакфир» (ООО «Авена», Россия). Штамм депонирован в GenBank (№ SUB167269, размер генома 2 629 318 пар оснований, содержит 2717 генов) и во Всероссийском НИИ сельскохозяйственной микробиологии, ND-79, патент РФ № 2220199. Этот штамм обладает чувствительностью к ванкомицину, характеризуется отсутствием гемолизинов и других факторов патогенности, а также наличием 5 генов бактериоцинов (лактобин, энтероцины A и B, entXa и entXb), за счет которых проявляет антагонистическую активность в отношении условно-патогенных и патогенных микроорганизмов [15].

2.3. Дизайн исследования

Больные СРК в течение 10 дней принимали закваску *Enterococcus faecium* L3 на основе соевого молока («Supro», Бельгия). Прием закваски осуществлялся 2 раза в сутки, по 50 мл продукта, содержащего lg 8,5 колониеобразующих единиц (КОЕ/мл) энтерококков в 1 мл продукта в течение 10 дней. Во время приема закваски пациенты заполняли «гастроэнтерологический дневник», разработанный для контроля наличия диспепсических симптомов. Оценка течения СРК в ходе пробиотической терапии включала следующие показатели: консистенцию стула по шкале Бристоля, частоту дефекаций, вздутие, урчание, боли и тяжесть в животе, изжогу, тошноту, рвоту и снижение аппетита.

До начала приема закваски и сразу после окончания курса приема проводился сбор фекалий для оценки состояния кишечного микробиома в ходе терапии. До анализа состава микробиоты пробы фекалий хранились при –80С°.

Группы пациентов и соответствующие пробы фекалий были обозначены следующим образом: здоровые волонтеры – «Healthy»; пациенты с СРК (Irritable bowel syndrome) до и после терапии пробиотиков – «IBS» и «IBS+L3», соответственно.

2.4. Исследование микробиоты

Исследование образцов фекалий проведено с помощью секвенирования генов 16S рРНК на платформе Illumina (секвенатор *MiSeq,* США*).*

ДНК из фекалий выделяли с помощью набора для выделения ДНК «Экспресс-ДНК-Био» («АлкорБио», Россия). Для секвенирования микробиома

Таблица 1.
Праймеры, использованные в исследовании

Праймеры к региону V3-V4 16S рРНК		Размер ампликона (п.н.)
Прямой праймер (341)	tcgtcggcagcgtcagatgtgtataagagacagcctacgggnggcwgcag	464
Обратный праймер (785)	gtctcgtgggctcggagatgtgtataagagacaggactachvgggtatctaatcc	

библиотеки ДНК были подготовлены с использованием набора для подготовки образцов Illumina Nextera с ДНК праймерами, соответствующими участкам V3 – V4 гена 16S рРНК. Нуклеотидная последовательность праймеров приведена в таблице 1.

Illumina MiSeq использовался для секвенирования библиотек. Секвенирование проводили в Ресурсном центре СПбГУ «Биобанк». Генерация Операционных таксономических единиц (OTU) Fastqc (http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/ fastqc) использовалась для оценки качества необработанных чтений. CDHIT-OTU-Miseq использовался для поиска OTU. CD-HIT-OTU-Miseq позволяет извлекать OTU из парных операций чтения без объединения парных последовательностей путем сопоставления результатов кластеризации для чтений R1 и R2. CD-HIT-OTU-Miseq использовал только высококачественные области чтения для кластеризации. Кластеризация была выполнена с использованием следующих параметров – длины высококачественных областей прочтения R1 и R2 200 и 180 п.н. соответственно, 97% сходства прочтения для отсечки кластеризации и 0,00001 для отсечения изобилия. OTU были аннотированы с использованием базы данных Greengenes версии 13.5 [16]. OTU, присутствующие менее чем в 5% образцов, были исключены из анализа при фильтрации в качестве шума. R-пакет phyloseq [17] использовался для построения графиков численности филумов. Функция R prcomp использовалась для анализа главных компонент (PCA). Векторы для PCA соответствовали содержанию OTU, отфильтрованному на шум и нормализованному по относительному содержанию. Пороговое значение фильтрации шума было увеличено для PCA, чтобы исключить OTU, присутствующие менее чем в 25% образцов. Это было сделано для увеличения процента дисперсии объясняемой первой и второй главными компонентами и для получения более представительного 2D-изображения. Состав и биологическое разнообразие микробиоты кишечника оценивали на уровне филы (типа), семейства и рода.

2.5. Статистический анализ

Статистический анализ проводился с использованием пакета программ Statistica 8.0. (StatSoft, США). Различия между группами проверяли с помощью W-критерия Вилкоксона, различия при $p \leq 0,05$ считались значимыми.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1. Клинический эффект

Анализ «гастроэнтерологических дневников» пациентов показал, что характер стула 6 испытуемых на протяжении пробиотической терапии характеризовался как нормальный и оптимальный с точки зрения времени транзита пищевого комка в ЖКТ (тип стула 3 и 4 по Бристольской шкале). У 3 испытуемых отмечалось изменение характера стула от жидкого, характерного для состояния диареи (тип стула 6 и 5 по Бристольской шкале) в начале терапии до нормальной консистенции и формы стула после терапии (*рис. 1*).

Частота дефекации у всех испытуемых (от 1 до 6 раз в сутки) как до начала терапии, так и в конце исследования, значительно не изменялась. Однако у трех пациентов были выявлены колебания частоты стула во время приема закваски (*рис. 2*).

Мониторинг клинических проявлений СРК в ходе терапии, таких как: вздутие, урчание, боли и тяжесть в животе, изжога, тошнота, рвота, нарушение аппетита, показал, что перечисленные симптомы в конце курса терапии не были обнаружены. Случаи тошноты, рвоты и нарушения аппетита не зафиксированы на всем протяжении наблюдений.

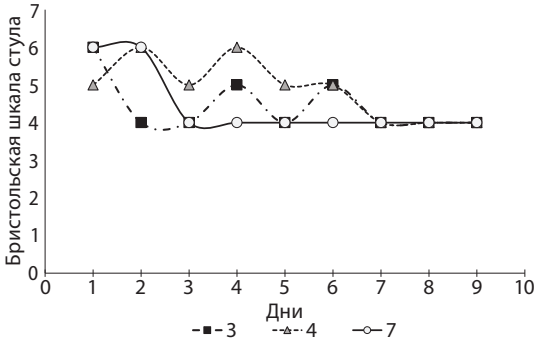
3.2. Исследование микробиома кишечника

Анализ структуры микробиома кишечника проводили при помощи метагеномного анализа генов 16S рРНК, сопоставляя представительство отдельных таксонов микробиоты кишечника здоровых волонтеров и больных СРК до и после терапии пробиотической закваской на основе *E. faecium* L3.

Для оценки α–разнообразия микробиомов исследуемых групп были использованы показатели насыщенности разнообразия с учетом относительных численностей компонентов сообщества и их количества. Не было обнаружено заметных различий в параметрах α–разнообразия, оцененных с помощью наблюдаемого видового богатства и индекса Шеннона в пробах фекалий из групп Healthy и IBS+L3. В то же время α–разнообразие в группе IBS было заметно выше по сравнению с аналогичным показателем для групп Healthy и IBS+L3 (*рис. 3*).

Кластерный анализ исследуемых образцов отразил разделение исследуемых сообществ на 2 кластера. В один из кластеров сгруппированы преимущественно образцы IBS. Также в этот кластер попали два образца IBS+L3. Во второй кластер сгруппированы образцы всех здоровых вьетнамцев (Healthy), образцы IBS+L3 и только два образца IBS (*рис. 4*).

Визуализация результатов анализа с использованием метода главных компонент, PCoA (*рис. 5*) показала, что большинство образцов IBS образуют



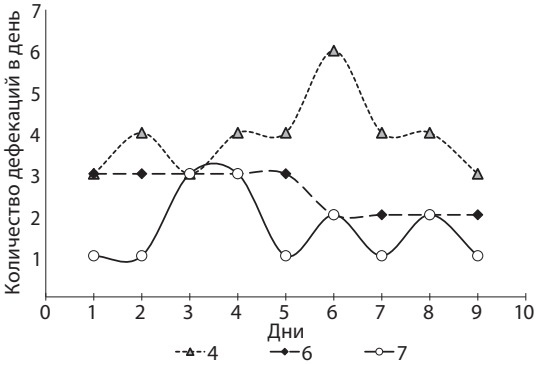
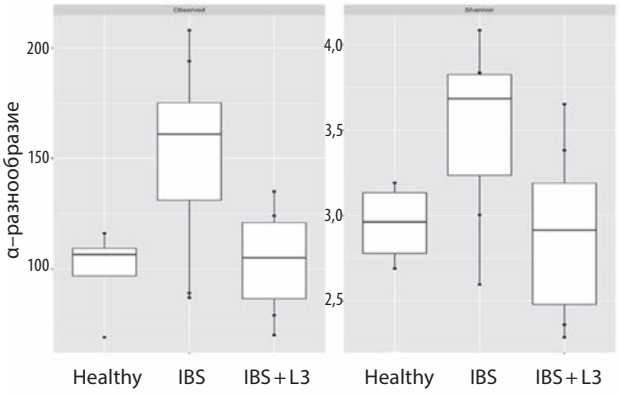


Рисунок 1.
Динамика изменений шкалы стула по Бристолю у трех больных СРК (№ 3, № 4, № 7) при терапии пробиотиком.

Рисунок 2.
Динамика изменения частоты стула у трех больных СРК (№ 4, № 6, № 7) при терапии пробиотиком.



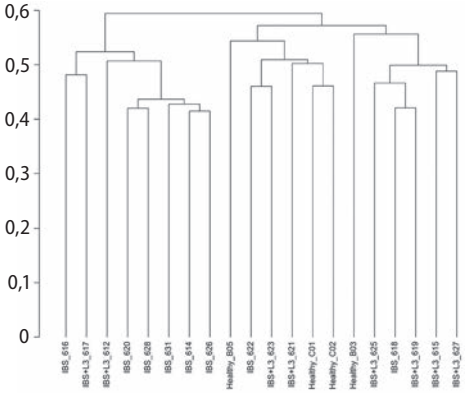
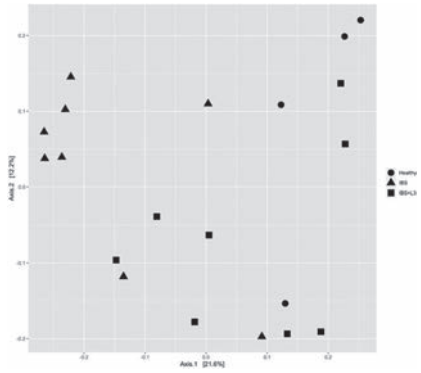


Рисунок 3.
α–разнообразие микробиомов исследуемых групп.

Рисунок 4.
Кластерный анализ групп объединенных библиотек 16S рРНК исследуемых образцов.



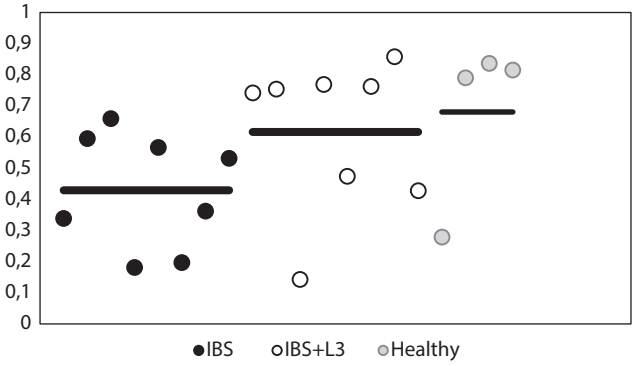


Рисунок 5.
Анализ различий с структуре микробных сообществ, выполненный с использованием метода PCoA.

Рисунок 6.
Представительство *Firmicutes* в микробиоме кишечника здоровых вьетнамцев, а также больных СРК до и после пробиотической терапии.

отдельную группу, отдаленную от сгруппированных вместе образцов IBS+L3 и Healthy.

Использование *E. faecium* L3 для терапии СРК привело к изменению микробиоты кишечника не только на уровне мета-параметров сообщества, таких как филогенетическое разнообразие, но и на уровне отдельных таксонов.

Исследование микробиома вьетнамцев больных СРК после приема пробиотика на уровне филов (типов) выявило тенденции к увеличению представительства *Firmicutes* и *Bacteroidetes* (*рис. 6* и *рис. 7*, соответственно).

При статистическом анализе на уровне семейства отмечалось снижение доли представителей *Enterobacteriaceae*, а также увеличение *Lachnospiraceae* (*рис. 8* и *рис. 9*, соответственно).

Введение *E. faecium* L3 приводило к снижению содержания бактерий рода *Staphylococcus* (*рис. 10*), представительство которых было минимальным в группе здоровых пациентов. Кроме того, прием пробиотика приводил к достоверному увеличению популяции *Roseburia sp.* (*рис. 11*) и тенденции к увеличению рода *Blautia* (*рис. 12*), по-видимому, компенсаторному, так как у здоровых пациентов представительство этих бактерий было низким. Также прослеживалась тенденция к снижению *Lactobacillus spp.* (*рис. 13*) в микробиоме вьетнамцев после терапии до уровня характерного для здоровых волонеров. При этом популяция лактобацилл в группе IBS + L3 и Healthy была существенна ниже, по сравнению с группой IBS.

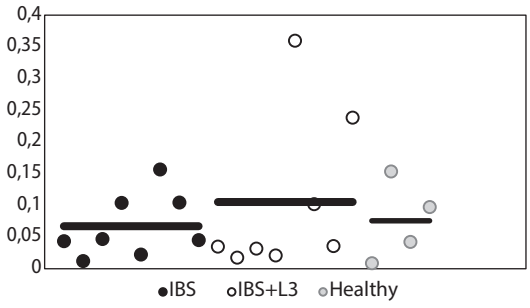


Рисунок 7. Представительство *Bacteroidetes* в микробиоме кишечника здоровых вьетнамцев, а также больных СРК до и после пробиотической терапии.

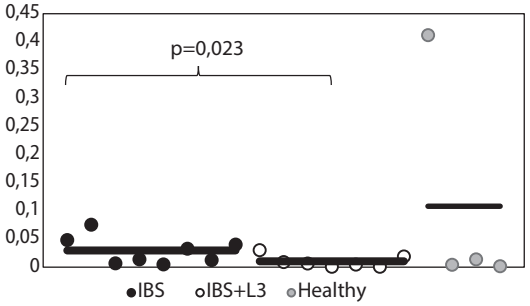


Рисунок 8. Представительство семейства *Enterobacteriaceae* в микробиоме кишечника здоровых вьетнамцев, а также больных СРК до и после пробиотической терапии.

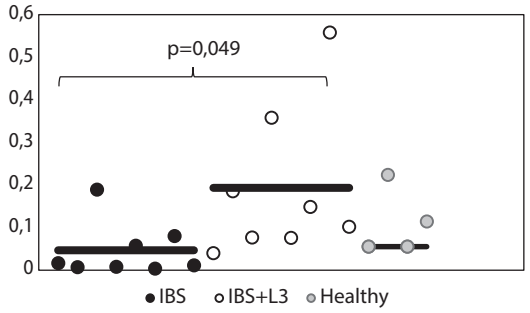


Рисунок 9. Представительство семейства *Lachnospiraceae* в микробиоме кишечника здоровых вьетнамцев, а также больных СРК до и после пробиотической терапии.

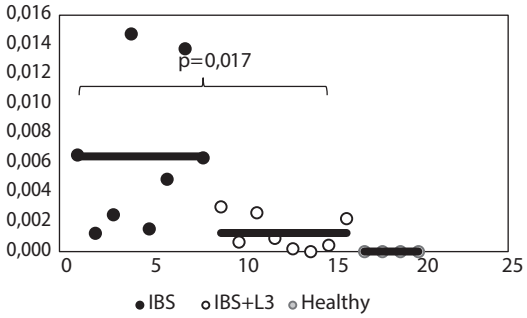


Рисунок 10. Представительство рода *Staphylococcus* в микробиоме кишечника здоровых вьетнамцев, а также больных СРК до и после пробиотической терапии.

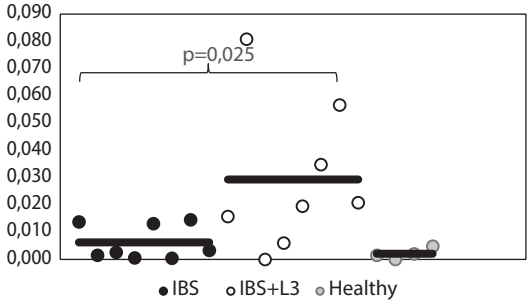


Рисунок 11. Представительство рода *Roseburia* в микробиоме кишечника здоровых вьетнамцев, а также больных СРК до и после пробиотической терапии.

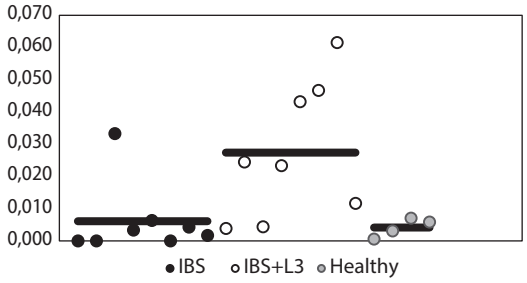


Рисунок 12. Представительство рода *Blautia* в микробиоме кишечника здоровых вьетнамцев, а также больных СРК до и после пробиотической терапии.

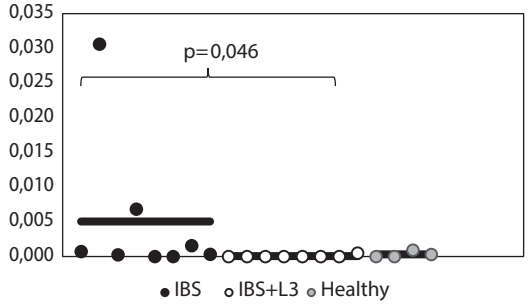


Рисунок 13. Представительство рода *Lactobacillus* в микробиоме кишечника здоровых вьетнамцев, а также больных СРК до и после пробиотической терапии.

4. Обсуждение

В данной работе проводится сравнение микробиоты здоровых жителей Ханоя и пациентов, страдающих СРК, а также оценивается эффективность терапии данного функционального расстройства желудочно-кишечного тракта при помощи пробиотика. В терапии был использован пробиотический штамм *E. faecium* L3 [15], оказывающий благотворное влияние на микробиоту кишечника при коррекции дисбиоза, терапии СРК [18, 19] и терапии нейроиммунных заболеваний [20, 21, 22] в России. *E. faecium* L3 характеризуется способностью к продукции бактериоцинов, обладающих антагонистическим воздействием на определенных представителей микробиоценоза, в том числе патогенных и условно-патогенных клебсиелл, стафилококков, стрептококков, псевдомонад [15]. Это было дополнительным аргументом при выборе пробиотика, так как популяция патогенных энтеробактерий увеличена у жителей Вьетнама, страдающих СРК [23].

Бесспорным ожидаемым положительным эффектом использования *E. faecium* L3 при терапии

СРК являлось и его влияние на моторику кишечника, доказанном на экспериментальной модели [24] и при клиническом применении [21, 15]. Влияние на моторику кишечника также, как и на активность пищеварительных ферментов [25], тесно связано с изменениями кишечного микробиоценоза.

Ранее было отмечено, что при СРК у жителей России увеличивается содержание следующих бактериальных таксонов: *Actinobacteria, Firmicutes*, *Proteobacteria* (семейства *Enterobacteriaceae и Desulfovibrionaceae*), *Gammaproteobacteria*, *Lachnospiraceae* (*Dorea spp.*), *Veillonellaceae* (*Dialister*), *Ruminococcus* sp., *Clostridium* sp., *Dorea* sp., *Bacteroidetes*, *Clostridium*, *Haemophilus influenza, Streptococcaceae* (*Streptococcus*), в то время как содержание *Prevotellaceae* (*Prevotella spp.*), *Clostridiaceae*, *Ruminococcaceae* (*Faecalibacterium spp.*), *Bifidobacterium* spp., *Bacteroides*, *Dorea* spp. и *Ruminococcus spp.* снижается [26, 9].

В данной работе у больных СРК жителей Вьетнама выявлены некоторые сходные структурные особенности микробиоты, характерные для пациентов, страдающих СРК: снижено представительство филы *Bacteroidetes*. Однако при этом, в отличие от данных других авторов представительство *Firmicutes* также было минимальным по сравнению с контрольной группой.

Принципиальным различием явилось обнаружение у жителей Ханоя при СРК большего содержания по сравнению с больными после терапии и здоровыми людьми лактобацилл, относящихся к фирмикутам. Очевидно, это связано с особенностью микробиоты жителей азиатского региона, выявленной ранее [9, 23].

В дальнейшем представляет интерес видовая идентификация представителей семейства *Lactobacillaceae*, отличающихся значительным видовым, а после реклассификации и родовым разноообразием: гомоферментативные *Lactobacillus, Holzapfelia, Amylolactobacillus, Bombilactobacillus, Companilactobacillus, Lapidilactobacillus, Agrilactobacillus, Schleiferilactobacillus, Loigolactobacillus, Lacticaseibacillus, Latilactobacillus, Dellaglioa, Liquorilactobacillus, Ligilactobacillus* и гетероферментативные *Lactiplantibacillus*, *Furfurilactobacillus, Paucilactobacillus, Limosilactobacillus, Fructilactobacillus, Acetilactobacillus, Apilactobacillus, Levilactobacillus, Secundilactobacillus*, *Lentilactobacillus* виды [27].

Обращало на себя внимание также повышение α–разнообразия у больных группы СРК, которое чаше выявляется у здоровых людей при сравнении с больными, получающими антимикробные препараты, либо страдающими различными кишечными и внекишечными соматическими заболеваниями и дисбиотическими состояниями, сопровождающиеся снижением колонизационной резистентности организма [28, 29]. Следует подчеркнуть, что повышенное α–разнообразия у больных группы IBS, имело тенденцию к уменьшению после терапии пробиотиком. При этом уровень α -разнообразия после приема пробиотика *E. faecium* L3 становился сходным с контрольной группой (Healthy), что можно рассматривать в качестве тенденции к восстановлению нормального микробиоценоза.

Анализ β-разнообразия (филогенетического разнообразия) исследуемых групп показал, что структура микробиома IBS отличается от структуры микробиомов IBS+L3 и Healthy, в то время как сообщества IBS+L3 и Healthy оказались схожи друг с другом, это подтверждает благоприятный эффект терапии.

Более интересные и статистически достоверные данные получены при рассмотрении воздействия пробиотика L3 на отдельные компоненты микробиоценоза кишечника. Было отмечено увеличение представителей семейства *Lachnospiraceae*, таких как бутират продуцирующие *Roseburia* и ацетат продуцирующие *Blautia* [30]. Бактерии рода *Roseburia cecicola* и *Roseburia faecis* являются одними из основных продуцентов масляной кислоты (бутиратов) в толстой кишке. Масляная кислота играет большую роль в физиологии, она является основным энергетическим материалом для эпителиоцитов, поддерживает кишечный гомеостаз, контролирует нормальное развитие клеток и предотвращает развития различных заболеваний кишечника. Показано, что уменьшение числа бактерий рода *Roseburia* ассоциировано с развитием атеросклероза, что предположительно, связано с уменьшением обладающих противовоспалительными свойствами бутиратов, продуцируемых бактериями [31].

Роль ацетат продуцирующих бактерий рода *Blautia* до конца не ясна, имеются противоречивые данные о представительстве этих резистентных к желчи бактерий в микробиоме кишечника при СРК, во много зависящем от диетических предпочтений пациентов [32]. Однако известен антимикробный эффект ацетата и его ключевые позиции в регуляции метаболизма путем «химической коммуникации» [33]. Принципиально важно, что блаутии могут участвовать в реакции преобразования водорода и углекислого газа в негазообразный ацетат, тем самым уменьшая общий объем газа в толстой кишке [34], затем включаясь в ключевые метаболические процессы организма, прежде всего в углеводный обмен [35, 32].

В целом, действие пробиотика *E. faecium* L3 на микробиом кишечника при терапии СРК у вьетнамцев имеет благоприятный эффект, приближая его к группе здоровых добровольцев: снижение содержания условно-патогенных представителей *Staphylococcus spp.*, популяции *Enterobacteriaceae*, увеличение продуцентов КЦЖК таких как *Roseburia* и *Blautia*.

Восстановление микробиоценоза кишечника как правило сопровождается нормализацией перистальтики, висцеральной чувствительности и/или газообразования в кишечнике, что смягчает выраженность симптоматики СРК [30, 36]. По данным ряда плацебо-контролируемых исследований с большим числом испытуемых при приеме пробиотиков наблюдалось уменьшение проявлений некоторых симптомов СРК, в частности: абдоминальной боли [37, 38] и метеоризма [39]. В данной работе также отмечены позитивные изменения, связанные с уменьшением диспепсических симптомов, прежде всего это проявлялось нормализацией частоты стула и его характера, оцененного при помощи шкалы Бристоля. Побочных эффектов в ходе терапии не отмечалось.

Заключение

Пробиотический штамм *Enterococcus faecium* L3 ранее во Вьетнаме не использовался, и данное пилотное исследование проведено впервые.

Несмотря на то, что вид *E. faecium* менее часто встречается в составе фекальной микробиоты вьетнамцев по сравнению с *E. hirae,* штамм L3 по результатам пилотного исследования не вызвал негативных клинических проявлений, а отмеченные благоприятные эффекты на микробиоту создают предпосылки для расширения возможности его использования в азиатском регионе и других регионах мира, как это происходит и происходило со многими пробиотическими средствами, изначально разработанным для локального применения в Европе, США и Японии.

Литература | References

1. Solov'eva O.I., Simanenkov V. I., Suvorov A. N., Ermolenko E. I., Shumihina I. A., Svirido D. A. The use of probiotics and autoprobiotics in the treatment of irritable bowel syndrome. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2017;(7):115–120. (In Russ.)

   Соловьева О. И., Симаненков В. И., Суворов А. Н., Ермоленко Е. И., Шумихина И. А., Свиридо Д. А. Использование пробиотиков и аутопробиотиков в лечении синдрома раздраженной толстой кишки. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология– 2017. – Т. 143, № 7. – С. 115–120.

2. Ivashkin V.T., Shelygin Ju.A., Baranskaja E. K., et al. Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of patients with irritable bowel syndrome. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2014; 24(2):92–101. (In Russ.)

   Ивашкин В. Т., Шелыгин Ю. А., Баранская Е. К., и соавт. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации, Ассоциации колопроктологов России по диагностике и лечению больных с синдромом раздраженного кишечника. Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2014. – Т. 24, № 2. – С. 92–101.

3. Xiong L. S., Chen M. H., Chen H. X., Xu A. G., Wang W. A., Hu P. J. A population-based epidemiologic study of irritable bowel syndrome in South China: stratified randomized study by cluster sampling. *Aliment. Pharmacol. Ther*. 2004. Vol.19, pp.1217–1224. doi: 10.1111/j.1365–2036.2004.01939.

4. Chey W. D., Kurlander J., Eswaran, S. Irritable bowel syndrome: aclinical review. *JAMA*. 2015. Vol. 313, pp.949–958. doi: 10.1001/jama.2015.0954.

5. Zhuang X., Tian Z., Li L., Zeng Z., Chen M., Xiong L. Fecal Microbiota Alterations Associated With Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome. *Front. Microbiol*. 2018. Vol. 25; 9:1600. doi: 10.3389/fmicb.2018.01600. eCollection 2018.

6. Quigley E. M., Fried M., Gwee K. A., et al.; Review Team:. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines Irritable Bowel Syndrome: A Global Perspective Update September 2015. *J Clin Gastroenterol*. 2016; 50(9):704–13. doi: 10.1097/MCG.0000000000000653.

7. Liu H. N., Wu H., Chen Y. Z., Chen Y. J., Shen X. Z., Liu T. T. Altered molecular signature of intestinal microbiota in irritable bowel syndrome patients compared with healthy controls: A systematic review and meta-analysis. *Dig Liver Dis*. 2017; 49(4):331–337. doi: 10.1016/j.dld.2017.01.142.

8. Ermolenko E. I., Bui T. L.A., Karaseva A. B., et al. Characteristics of enterococci isolated from the intestines of residents of Vietnam and Russia with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology of St. Petersburg*. 2017, vol. 153, pp. 78–79. (In Russ.)

   Ермоленко Е. И., Буй Т. Л.А., Карасева А. Б., Краева Л. А., Лавренова Н. С., Чан Т. Н., Богумильчик Е. А., Котылева М. П., Тан Н., Суворов А. Н. Характеристика энтерококков, выделенных из кишечника жителей Вьетнама и России при синдроме раздраженного кишечника. Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. –2017. –Т. 153. –С. 78–79.

9. Ermolenko E. I., Kudryavtsev I. V., Solovyova O. I., et al. Profile of subpopulation composition of regulatory T lymphocytes and intestinal microbiota in patients with irritable bowel syndrome. *Medical Immunology* (Russia). 2020; 22(2):335–346. doi: 10.15789/1563–0625-POS-1905.

10. Lee B. J., Bak Y. T. Irritable bowel syndrome, gut microbiota and probiotics. *J Neurogastroenterol Motil*. 2011; 17(3):252–66. doi: 10.5056/jnm.2011.17.3.252.

11. Ford A. C., Harris L. A., Lacy B. E., Quigley E. M.M., Moayyedi P. Systematic review with meta-analysis: the efficacy of prebiotics, probiotics, synbiotics and antibiotics in irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther*. 2018; 48(10):1044–1060. doi: 10.1111/apt.15001.

12. Kim H. J., Vazquez Roque M. I., Camilleri M., Stephens D., Burton D. D., Baxter K., Thomforde G., Zinsmeister A. R. A randomized controlled trial of a probiotic combination VSL# 3 and placebo in irritable bowel syndrome with bloating. *Neurogastroenterol Motil*. 2005; 17(5):687–96. doi: 10.1111/j.1365–2982.2005.00695.x.

13. Simrén M., Ohman L., Olsson J., Svensson U., Ohlson K., Posserud I., Strid H. Clinical trial: the effects of a fermented milk containing three probiotic bacteria in patients with irritable bowel syndrome – a randomized, double-blind, controlled study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010; 31(2):218–27. doi: 10.1111/j.1365–2036.2009.04183.x.

14. Suvorov A. What Is Wrong with Enterococcal Probiotics? *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2020; 12(1):1–4. doi: 10.1007/s12602–020–09633-y.

15. Suvorov A., Ermolenko E., Alechina G., Chernysh A., Karaseva A., Pierro F. Di. Enterococcus as probiotics: what is the advantage? *Nutrafoods*. 2019; 1:17–25. doi: 10.17470/NF-019–0003.

16. DeSantis T.Z., Hugenholtz P., Larsen N., et al. Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Appl Environ Microbiol*. 2006; 72(7):5069–72. doi: 10.1128/AEM.03006–05.

17. McMurdie P.J., Holmes S. Phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PLoS One*. 2013; 22; 8(4): e61217. doi: 10.1371/journal.pone.0061217.

18. Alekhina G. G., Suvorov A. N. Enterococcus strain Enterococcus faecium l-3 for preparing curative-prophylactic agents and foodstuffs of curative-prophylactic designation. Patent № 2220199, 2002. (In Russ.)

    Алехина Г. Г., Суворов А. Н. Штамм энтерококков Enterococcus faecium l-3 для изготовления лечебно-

профилактических средств и продуктов питания лечебно-профилактического назначения. Патент № 2220199, 2002.

19. Ermolenko E. I., Svirido D. A., Kotyleva M. P., Karaseva A. B., Simanenkov V. I., Suvorov A. N. Usage of indigenous enterococcus for the experimental irritable bowel syndrome treatment. [International Human Microbiome Consortium Congress]. Kaunas, 2016.
20. Abdurasulova I. N., Matsulevich A. V., Tarasova E. A., et al. Enterococcus faecium strain L-3 and glatiramer acetate ameliorate experimental allergic encephalomyelitis in rats by affecting different populations of immune cells. *Benef Microbes*. 2016; 7(5):719–729. doi: 10.3920/BM2016.0018.
21. Miliukhina I., Ermolenko E., Ivanova A., Kotyleva M., Suvorov A. Probiotic correction of intestinal dysbiosis in Parkinson's disease [abstract]. *Mov Disord*. 2017; 32 (suppl 2). https://www.mdsabstracts.org/abstract/probiotic-correction-of-intestinal-dysbiosis-in-parkinsons-disease/.
22. Ermolenko E. I., Milyukhina I. V., Tsapieva A. N., et al. Method of reducing manifestation of non-motor symptoms in patients with parkinson's disease. Patent RU2734718C1, 2019. (In Russ.)

    Ермоленко Е. И., Милюхина И. В., Цапиева А. Н., Алехина Г. Г., Истомина А. С., Грачева Е. В., Котылева М. П., Суворов А. Н. Способ уменьшения выраженности немоторных симптомов у пациентов, страдающих болезнью Паркинсона. Патент RU2734718C1, 2019.
23. Ermolenko E.I., Kotyleva M. P., Bui Thi Lan An, et al. Research of the intestinal microbiota of residents of Vietnam and Russia. *Journal of Tropical Science and Technology*. 2016; 12:24–35. ISSN: 0866–753512.

    Ермоленко Е. И., Котылева М. П., Буй Тхи Лан Ань, и Соавт. Исследование микробиоты кишечника жителей Вьетнама и России. Journal of Tropical Science and Technology. – 2016. –№ 12. – P. 24–35. ISSN: 0866–753512.
24. Ermolenko E. I., Erofeev N. P., Zacharova L. B., et al. Features of microbiota content and intestinal motility after the correction of experimental dysbiosis with probiotic and autoprobiotic enterococci. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2017; (7):89–96. (In Russ.)

    Ермоленко Е. И., Ерофеев Н. П., Захарова Л. Б., Парийская Е. Н., Котылева М. П., Крамская Т. А., Карасева А. Б., Суворов А. Н. Особенности состава микробиоты и моторики кишечника после коррекции экспериментального дисбиоза пробиотическими и аутопробиотическими энтерококками. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2017. – № 7. – С. 89–96.
25. Ermolenko E., Gromova L., Borschev Yu., et al. Influence of different probiotic lactic Acid bacteria on microbiota and metabolism of rats with dysbiosis. *Biosci Microbiota Food Health*. 2013; 32(2):41–9. doi: 10.12938/bmfh.32.41.
26. Saulnier D. M., Riehle K., Mistretta T., et al. Gastrointestinal microbiome signatures of pediatric patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*. 2011; 141(5):1782–91. doi: 10.1053/j.gastro.2011.06.072.
27. Zheng J., Wittouck S., Salvetti E., et al. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2020; 70(4):2782–2858. doi: 10.1099/ijsem.0.004107.
28. Suvorov A., Karaseva A., Kotyleva M., et al. Autoprobiotics as an Approach for Restoration of Personalised Microbiota. *Front Microbiol*. 2018; 9:1869. doi: 10.3389/fmicb.2018.01869.
29. Le Chatelier E., Nielsen T., Qin J., Prifti E., Hildebrand F., Falony G., Almeida M., Arumugam M., Batto J. M., Kennedy S., Leonard P., Li J., Burgdorf K., Grarup N., Jørgensen T., Brandslund I., Nielsen H. B., Juncker A. S., Bertalan M., Levenez F., Pons N., Rasmussen S., Sunagawa S., Tap J., Tims S., Zoetendal E. G., Brunak S., Clément K., Doré J., Kleerebezem M., Kristiansen K., Renault P., Sicheritz-Ponten T., de Vos W. M., Zucker J. D., Raes J., Hansen T.; MetaHIT consortium, Bork P., Wang J., Ehrlich S. D., Pedersen O. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*. 2013; 500(7464):541–6. doi: 10.1038/nature12506.
30. Duncan S. H., Hold G. L., Barcenilla A., Stewart C. S., Flint H. J. Roseburia intestinalis sp. nov., a novel saccharolytic, butyrate-producing bacterium from human faeces. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2002; 52(Pt 5):1615–1620. doi: 10.1099/00207713–52–5–1615.
31. Marchesi J. R., Dutilh B. E., Hall N., Peters W. H., Roelofs R., Boleij A., Tjalsma H. Towards the human colorectal cancer microbiome. *PLoS One*. 2011; 6(5): e20447. doi: 10.1371/journal.pone.0020447.
32. Rajilić-Stojanović M., Jonkers D. M., Salonen A., et al. Intestinal microbiota and diet in IBS: causes, consequences, or epiphenomena? *Am J Gastroenterol*. 2015; 110(2):278–87. doi: 10.1038/ajg.2014.427.
33. Vakhitov T. Ia., Sitkin S. I. [The superorganism concept in biology and medicine]. *Eksp Klin Gastroenterol*. 2014; 107(7):72–85. PMID: 25842410. (In Russ.)

    Вахитов Т. Я. 1, Ситкин С. И., Концепция суперорганизма в биологии и медицине. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. –2014. –Т.107, № 7. –С. 72–85.
34. Bernalier A., Willems A., Leclerc M., Rochet V., Collins M. D. Ruminococcus hydrogenotrophicus sp. nov., a new H2/CO2-utilizing acetogenic bacterium isolated from human feces. *Arch Microbiol*. 1996; 166(3):176–83. doi: 10.1007/s002030050373.
35. Rey F. E., Faith J. J., Bain J., Muehlbauer M. J., Stevens R. D., Newgard C. B., Gordon J. I. Dissecting the in vivo metabolic potential of two human gut acetogens. *J Biol Chem*. 2010; 285(29):22082–90. doi: 10.1074/jbc.M110.117713.
36. Ushkalova E. A. The Role of Probiotics in Gastroenterology. *Pharmateka*. 2007; 6:18–25. (In Russ.)

    Ушкалова Е. А. Роль пробиотиков в гастроэнтерологии. Фарматека. – 2007. – № 6. – С. 18–25.
37. Drouault-Holowacz S., Bieuvelet S., Burckel A., Cazaubiel M., Dray X., Marteau P. A double blind randomized controlled trial of a probiotic combination in 100 patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterol Clin Biol*. 2008; 32(2):147–52. doi: 10.1016/j.gcb.2007.06.001.
38. Enck P., Zimmermann K., Menke G., Klosterhalfen S. Randomized controlled treatment trial of irritable bowel syndrome with a probiotic E.-coli preparation (DSM17252) compared to placebo. *Z Gastroenterol*. 2009; 47(2):209–14. doi: 10.1055/s-2008–1027702.
39. Kajander K., Myllyluoma E., Rajilic-Stojanovic M., et al. Clinical trial: multispecies probiotic supplementation alleviates the symptoms of irritable bowel syndrome and stabilizes intestinal microbiota. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008; 27(1):48–57. doi: 10.1111/j.1365–2036.2007.03542.x.