



УДК 616.-022-036.22-053.2

Микроэкологический пейзаж у детей Иркутской области на фоне гигиенических характеристик территории

С. М. Попкова¹, Е. Б. Ракова¹, Е. Л. Кичигина², У. М. Немченко¹,
Н. В. Ефимова³, И. В. Мыльникова³, Н. А. Тараненко³, Ю. П. Джиоев¹

¹Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН, Иркутск,

²Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования, Иркутск,

³Ангарский филиал ВСНЦ ЭЧ СО РАМН – НИИ медицины труда и экологии человека, Ангарск
E-mail: smpopkova@gmail.com

Аннотация. Изучены региональные особенности кишечного и носоглоточного микробиоценозов у детей в возрасте от 1 месяца до 6 лет из различных городов Иркутской области. Дана характеристика уровня загрязнения атмосферного воздуха в этих городах и оценка предполагаемого риска для здоровья проживающего там населения. Приведены результаты сравнительного анализа количественного и качественного состава микрофлоры биоценозов детей в городах с различной техногенной нагрузкой. Показаны региональные особенности микробиоты в изученных биотопах. Впервые проведено изучение микроэкологических ценотипов бифидобактерий на изучаемой территории. Получены данные о видовом рейтинге бифидофлоры в условиях техногенного прессинга. Установлены индикаторные микроорганизмы у детей из различных городов. Выявлена низкая антагонистическая активность региональных штаммов бифидобактерий по отношению к представителям транзиторных оппортунистических микроорганизмов.

Ключевые слова: индекс загрязнения атмосферы, индекс опасности, микробиоценозы, цено типы, бифидобактерии, «индикаторные виды».

Введение

Реализация целей современной экологической политики, содействующей охране и улучшению здоровья населения, невозможна без понимания закономерностей функционирования нормальных биоценозов человека. Нормальная микрофлора находится в прямой зависимости от факторов окружающей среды, является первичной мишенью приложения любого попадающего в организм соединения и первой вовлекается в трансформацию естественных и чужеродных субстанций, в том числе ксенобиотиков и экотоксикантов. Если по своей интенсивности такое влияние превышает компенсаторные возможности экологической системы «макроорганизм – его нормальная микрофлора», то возникают микроэкологические (дисбиотические) нарушения, которые нередко являются пусковым механизмом развития и поддержания патологических состояний [2; 20; 21; 23–25].

Дисбиотические нарушения в пищеварительном тракте проявляются в изменении физиологических, биохимических и иммунологических показателей, накоплении и селекции

атипичных штаммов, формировании в организме новых микробных сообществ (патоценозов). Причиной широкого распространения дисбиозов являются как социальные факторы, так и ухудшение экологической обстановки, влияющей на состояние коллективной резистентности населения [16].

В процессе постоянного взаимодействия макро- и микроорганизмов формируется уникальная система, находящаяся в состоянии динамического равновесия. При этом постоянство микрофлоры, микробиологический фенотип, присущий каждому человеку, является показателем иммунологической реактивности организма и одним из факторов естественного иммунитета [1; 6; 9].

В условиях мощной техногенной нагрузки, которая имеет место в промышленных городах Иркутской области [10–12], изменения микробиоценозов в различных биотопах очевидны и имеют свои характерные региональные особенности, что подтверждается результатами многих исследований [8; 9; 14; 18]. Особенно сильно давлению неблагоприятных факторов среды подвержены дети в силу того, что у них недостаточно развиты эволюционно закреп-

лённые формы адаптационной деятельности [9; 14]. В связи с этим оценка резистентности макроорганизма детей имеет существенное значение в системе медико-биологического мониторинга.

Целью настоящего исследования стало изучение архитектоники кишечного и носоглоточного микробиоценозов у детей – жителей Иркутской области и определение основных микрoэкологических ценотипов и видового регионального рейтинга бифидофлоры в условиях техногенного прессинга.

Материалы и методы

В ходе исследования обследовались дети, проживающие в промышленных городах Иркутской области, характеризующихся высоким уровнем техногенной нагрузки: Иркутске, Ангарске, Шелехове. Материалом для изучения служили образцы фекалий, мазки из носа и зева. Исследования проводились с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности в соответствии с «Основами законодательства РФ об охране здоровья граждан» (Указ Президента РФ от 24.12.1993 № 2288). Бактериологическое исследование качественного и количественного состава микроорганизмов толстого кишечника проводили согласно методикам В. М. Коршунова и соавторов [6] и методическим рекомендациям [3] с использованием актуальных справочных материалов [4]. При исследовании микрофлоры кишечника, слизистых оболочек носа и зева использовали стандартный комплекс микробиологических методов. Качественное и количественное исследование микрофлоры кишечника проводили в соответствии с утверждёнными методиками [11; 19].

Оценка результатов бактериологических исследований на наличие кишечного дисбактериоза основывалась на современных представлениях о физиологических соотношениях различных видов нормальной микрофлоры кишечника [1; 12]. Идентификацию выделенных культур семейства Enterobacteriaceae проводили с использованием общепринятых схем как классическим методом, так и с применением коммерческих тест-систем для биохимической идентификации энтеробактерий: СИБ (НИИЭМ, Н. Новгород), ENTEROtest 16 и ENTEROtest 24 (PLIVA-Lachema, Чехия), а также сред Гисс. Оценка результатов проводилась в соответствии с нормативами, принятыми в отраслевом стандарте [11]. Степень обсеменённости образцов выражали в виде десятичного логарифма на 1 грамм фекальной массы (lg КОЕ/г).

Степень нарушения популяционного состава микроорганизмов кишечника (дисбактериоз) определялась согласно классификациям И. Б. Куваевой и К. С. Ладодо [7] и В. Б. Гриневич [5].

I степень дисбиотических нарушений кишечника диагностируется при снижении количества бифидобактерий и лактобацилл на 1–2 порядка, появлении кишечных палочек с изменёнными свойствами;

II степень – дефицит бифидобактерий и лактобацилл, снижение их количества на 3–4 порядка, размножение аэробных представителей дигестивной флоры;

III степень – значительное снижение, относительно нормы, количества облигатных анаэробных микроорганизмов и отчётливое нарастание содержания агрессивных микроорганизмов, наблюдается замещение полноценных эшерихий бактериями родов *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*;

IV степень – отсутствие бифидобактерий и значительное угнетение лактобактерий, кишечных палочек, глубокие изменения количественных соотношений облигатных и факультативных микроорганизмов, их биологических свойств, накопление энтеро- и цитотоксинов.

В работе использованы эталонные музейные штаммы индигенных микроорганизмов: *Bifidobacterium bifidum* 791, *B. longum* В 4а 200, *B. adolescentis* МС-4, *B. catenulatum* ССМ 7094, а также условно-патогенных и патогенных микроорганизмов кишечника: *Staphylococcus aureus* 209 и *Escherichia coli* ЭПК-028/57, полученные из Государственной коллекции микроорганизмов нормальной микрофлоры человека ГКНМ ФГУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора. Вышеперечисленные микроорганизмы использовались при изучении антагонистической активности бифидобактерий по отношению к оппортунистическим микроорганизмам кишечника.

Антагонистическая активность аутоштаммов бифидобактерий определялась методом отсроченного антагонизма (метод штрихов) [15]. Для определения и оценки антагонистической активности использовались аутоштаммы бифидобактерий, выделенные от детей (192 аутоштамма) и музейные штаммы *B. bifidum* 791 и *B. longum* В 4а 200. В качестве антагонистической «мишени» были использованы эталонные штаммы условно-патогенных микроорганизмов (УПИМ): *S. aureus* 209 и энтеропатогенная кишечная палочка (ЭПК-028/57), аутоштаммы *S. aureus*, выделенные от детей.

Техника проведения методики следующая: в центр чашки Петри со средой наносили петлёй диаметром 3,5 мм культуру тест-штаммов бифидобактерий $5,6 \cdot 10^8$ КОЕ/мл; через 96 ч инкубации при температуре 35–36 °С на эту же среду мерной петлёй диаметром 1,75 мм перпендикулярно зоне роста антагониста, не касаясь её, засеивали индикаторные бактерии $5,5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл. После 24 ч инкубации определяли наличие зон задержки роста антагонистов и их величины. Культуру считают чувствительной, если зона задержки роста превышает 10 мм.

Видовая идентификация бифидобактерий проведена с использованием метода гибридизации нуклеиновых кислот. Гибридизацию со специфическими синтетическими олигонуклеотидными зондами прошли 50 образцов ДНК бифидобактерий, выделенных из 75 образцов фекалий детей, проживающих в Иркутске и Ангарске. Для получения результатов молекулярно-генетического анализа видовой разнообразия бифидобактерий применялся метод молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот (МГНК). Был использован набор синтетических олигонуклеотидных зондов, специфически комплементарных видам *B. bifidum*, *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. catenulatum*, поскольку именно они наиболее часто встречаются в биоценотической картине людей различных возрастных групп [23].

Состояние кишечного и носоглоточного биотопов проанализировано у 64 детей, проживающих в Ангарске; 35 – в Шелехове; у 100 5–6-летних и 1 492 детей в возрасте от 1 месяца до 5 лет из Иркутска. В пос. Тыреть у 30 дошкольников была исследована микрофлора носоглоточного биоценоза. Оценка качества атмосферного воздуха (индекс загрязнения атмосферы ИЗА) дана по материалам Иркутского межрегионального территориального управления по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды за 2001–2007 гг., а также по результатам исследований, проведённых в 2007 г. сотрудниками физико-химической лаборатории Ангарского филиала ВСНЦ ЭЧ СО РАМН – НИИ медицины труда и экологии человека. Риск для здоровья определяли по стандартной методике [17].

Статистическая обработка данных произведена при помощи табличного процессора Excel из пакета прикладных программ MS Office 2003 for Windows методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента при критическом значении уровня значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

По данным Всемирной организации здравоохранения 40–50 % заболеваний человека так или иначе связаны с изменением состояния окружающей среды и, в первую очередь, с загрязнением воздушного бассейна. Динамика валовых выбросов от стационарных источников за 2001–2009 гг. на изучаемых территориях характеризовалась достоверным их снижением в г. Иркутске в 3,9 раза, в г. Ангарске – в 1,14 раза. Однако в указанный период возрос объём выбросов автотранспорта. Средний уровень загрязнения атмосферного воздуха в Ангарске и Иркутске оценивался как высокий и определялся значениями ИЗА=15,9 и ИЗА=15,7 условных единиц соответственно.

Пос. Тыреть – муниципальное образование Заларинского района Иркутской области, имеющее статус посёлка городского типа с населением 4 337 человек (данные 2007 г.). Здесь расположен один из самых известных соляных рудников страны. В 2003 г. в результате разлива нефти после аварии на магистральном нефтепроводе Омск – Ангарск подземные воды в посёлке стали практически непригодными для питья, хотя вода и ранее характеризовалась высокой жесткостью и большим содержанием железа. Постоянного контроля за качеством воздушного бассейна в посёлке не проводилось. В ходе экспедиционных исследований установлено, что показатель ИЗА здесь составляет 0,7, и, следовательно, уровень загрязнения воздушного бассейна можно оценить как невысокий.

Как правило, общетоксический эффект атмосферного загрязнения связан с содержанием газообразных примесей (диоксида азота, оксида углерода, формальдегида, бенз(а)пирена) и взвешенных веществ. Вероятность развития вредных эффектов при хроническом ингаляционном воздействии в черте г. Ангарска была ниже ($HI = 15,9$), чем в Иркутске ($HI = 22,0$). Приоритетное воздействие во всех городах приходилось на органы дыхания. Индекс опасности (HI дых.) в Ангарске составил 13,9, а в Иркутске – 7,4. Отмечены также высокие уровни риска нарушений иммунитета у детей в этих городах: 5,6 и 4,9 соответственно. Индексы опасности в пос. Тыреть не превышали допустимого значения ($HI < 1$), что свидетельствует о низком риске развития экологически обусловленных нарушений показателей здоровья.

Сравнительный анализ региональных данных, характеризующих состав симбионтной микрофлоры в различных городах России, вы-

явил тенденцию её наибольшего угнетения в Иркутске и Ангарске по сравнению с другими промышленными городами России (Санкт-Петербург, Москва и Кемерово) [13; 14; 18] (рис. 1). Полагаем, что оценка характерных особенностей микробиоценозов отдельных биотопов у детей Иркутской области позволит выделить микрoэкологические ценотипы, характерные для каждого конкретного города, и тем самым определить региональные ориентиры, прикладное значение которых неоспоримо.

У обследованных «здоровых» детей из разных районов Иркутска выявлены собственные

особенности архитектоники кишечного микробиоценоза. Прежде всего, следует отметить, что среднее содержание бифидобактерий у здоровых детей из Кировского района находится ниже нижнего предела общефизиологической нормы ($7,76 \pm 1,10 \lg \text{ КОЕ/г}$), тогда как у детей из пригородного пос. Молодёжный этот показатель приближен к нижней границе нормы ($8,64 \pm 0,14 \lg \text{ КОЕ/г}$). Частота выявления эшерихий с атипичными свойствами здесь выше, чем у детей из Кировского района.

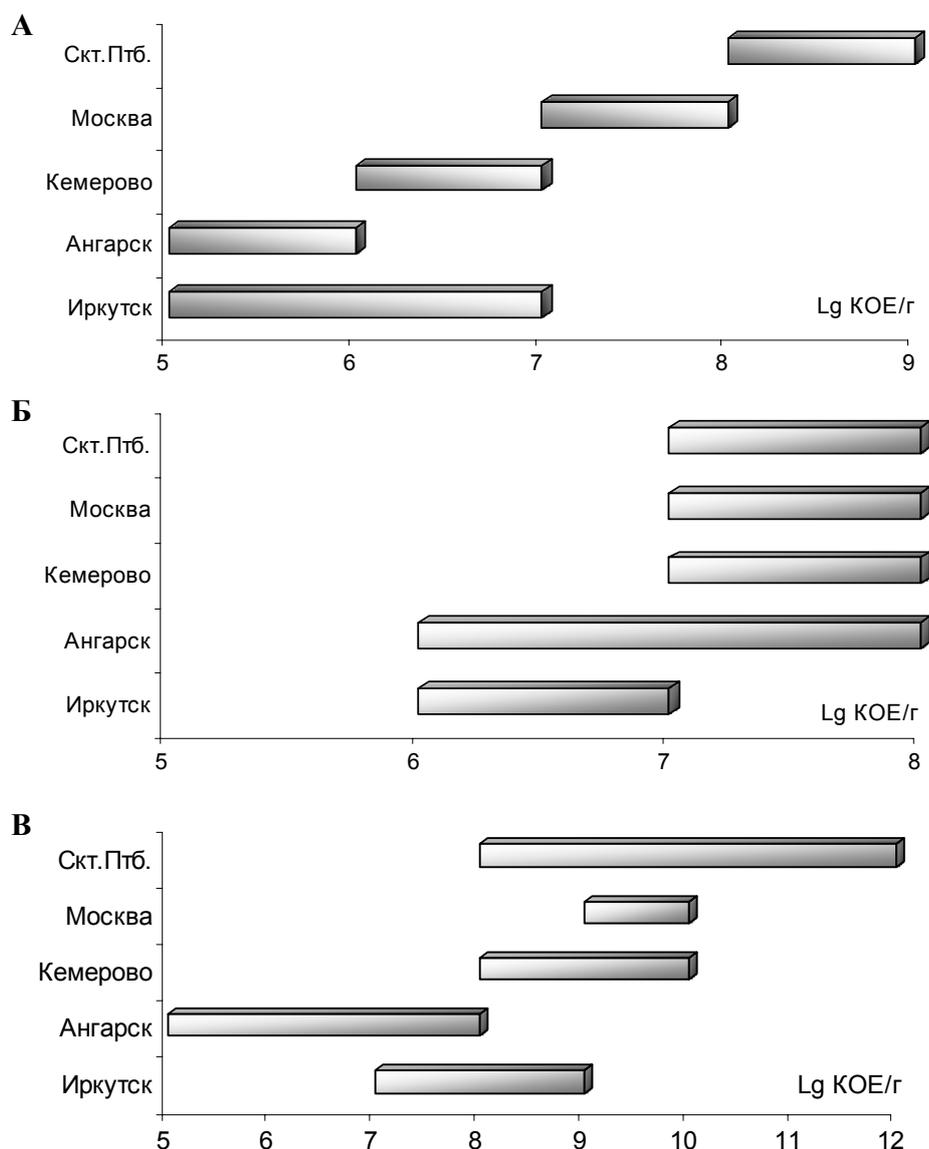


Рис. 1. Количественные региональные «ориентиры» содержания индигенной микрофлоры в кишечном микробиоценозе детей из городов Иркутской области (Иркутск, Ангарск) в сравнении с городами других регионов РФ [13; 14; 18]: А – содержание лактобацилл; Б – содержание нормальной кишечной палочки; В – содержание бифидобактерий

Это явление может свидетельствовать о том, что дети из пос. Молодёжный могли получить определённую ксенобиотическую нагрузку, стимулирующую диссоциацию нормальной кишечной палочки. Положительным фактором следует считать то, что у детей из обоих районов не обнаружено гемолитических форм кишечной палочки и грибов рода *Candida*. Условно-патогенные микроорганизмы в диагностически значимых титрах также не выявлены.

Несколько иные результаты получены при обследовании детей в Ангарске. Среднее содержание бифидобактерий в кишечном биоценозе дошкольников Ангарска составляло $8,8 \pm 0,4$ lg КОЕ/г, что сопоставимо с нижним пределом показателей физиологической нормы [11; 20; 21]. У детей школьного возраста среднее содержание бифидо- и лактобактерий было значительно ниже общефизиологических показателей. У всех детей в значительных концентрациях ($7,1 \pm 0,9$ lg КОЕ/г), вытесняя нормальную кишечную палочку, выделялась *E. coli*, утратившая биохимическую активность (лактозонегативные и слабоферментативные варианты). Рейтинговая архитектура и возрастной анализ условно-патогенной микрофлоры, присутствующей в кишечной микробиоте, показали, что, если у младших детей из Ангарска преобладали энтеробактерии, то у школьников доминировали клостридии; в то же время вдвое возрос контингент носителей патогенных грибов рода *Candida*, выделяемых в диагностически значимых титрах (5 lg КОЕ/г), что является отражением пониженной иммунорезистентности организма.

При исследовании материала толстого кишечника у детей из Шелехова были получены результаты, отличающиеся от аналогичных показателей у детей из Иркутска и Ангарска. Доминирующее положение в кишечном биоценозе детей школьного возраста здесь занимали бифидо- и лактобактерии, которые имели коэффициент постоянства 100 %, т. е. выделялись у всех детей. Среднее содержание бифидобактерий в кишечнике определялось в $8,9 \pm 0,2$ lg КОЕ/г, что по общефизиологическим стандартам соответствует нижней границе нормы. Содержание лактобацилл у школьников соответствовало норме и составляло $8,3 \pm 0,9$ lg КОЕ/г. Эшерихии также присутствовали у всех детей, однако у каждого пятого ребенка ($21,0 \pm 7,4$ %) выделенные эшерихии определялись как атипичные, с потерей некоторых биохимических свойств (лактозонегативная, либо слабоферментативная кишечная палочка). Кроме этого, в кишечном биоценозе детей из Шелехова часто ($36,8 \pm 8,8$ % случаев) встречалась гемолити-

ческая форма кишечной палочки, тогда как в Ангарске она не была выделена ни у одного ребёнка.

Таким образом, *E. coli* с гемолитическими свойствами в данном случае можно расценивать как индикаторный микроорганизм, выявление которого даёт основание характеризовать микробный статус у значительного числа детей в городе как неблагоприятный. Другим значимым микроорганизмом в кишечном биоценозе школьников из Шелехова можно считать энтерококки, которые были выявлены у половины детей ($52,6 \pm 9,1$ %), что значительно чаще, чем в Ангарске ($29,0 \pm 8,4$ %) (рис. 2).

Слизистые поверхности носоглотки у детей из Ангарска в значительной степени обсеменены двумя видами стафилококков: *Staphylococcus aureus* и *S. epidermidis*. Поскольку все выделенные аутоштаммы эпидермального стафилококка обладали ярко выраженной гемолитической активностью, в таблице оба вида объединены в одну группу по данному признаку патогенности. Причём дошкольники имели 100 %-ную суммарную обсеменённость носоглотки этим условно-патогенным микроорганизмом. У школьников высеваемость стафилококков со слизистых носоглотки по сравнению с дошкольниками снизилась до 66,6 %. У них же в два раза снизилась высеваемость и β -гемолитического стрептококка.

Весьма неблагоприятным явлением можно считать заметное повышение частоты носительства на слизистых зева дрожжеподобных грибов рода *Candida* у школьников (12,5 %) по сравнению с дошкольниками (6,9 %). Носительство этих патогенных грибов во всех случаях сочеталось с носительством золотистого стафилококка.

Характерной особенностью микробного пейзажа детей из Шелехова являются ярко выраженные во всех случаях гемолитические свойства выделяемого со слизистых носоглотки эпидермального стафилококка. Наличие такой активности свидетельствует о повышенной вирулентности циркулирующих среди детей штаммов этого вида. У обследованных нами школьников стафилококки высевались чаще со слизистых носа ($68,9 \pm 8,4$), чем зева ($27,5 \pm 2,4$).

Анализ микрофлоры носоглоточного биотопа даёт основание констатировать, что для школьников Шелехова «микробноиндикатором», отражающим неблагоприятную ситуацию носоглоточного биоценоза, является стафилококк эпидермальный с гемолитическими свойствами.

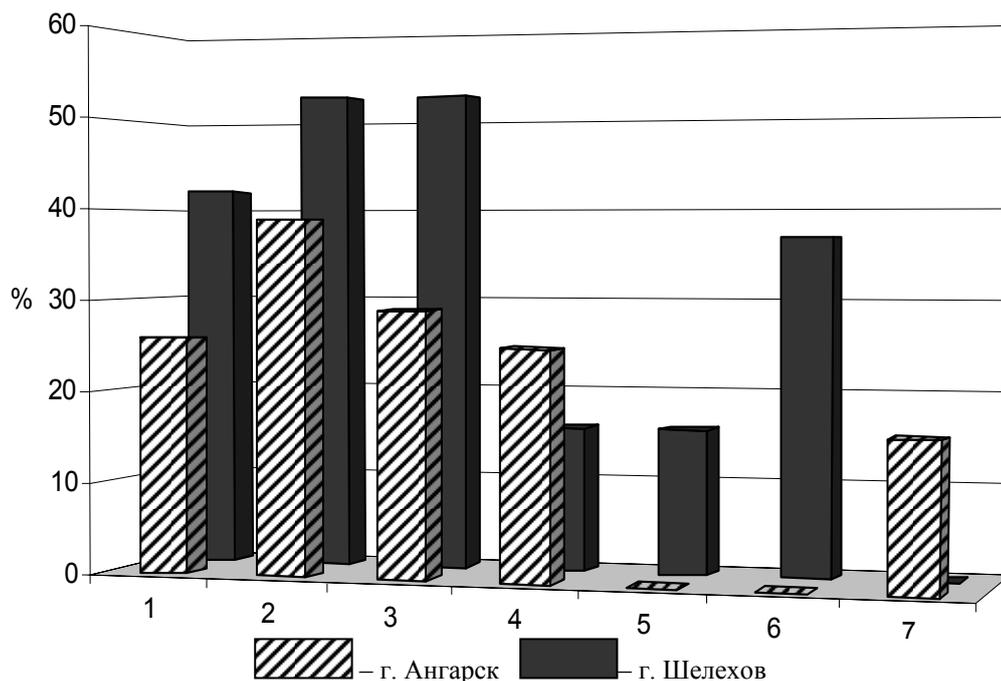


Рис. 2. Частота выделения условно-патогенных микроорганизмов из кишечного биоценоза школьников двух городов Иркутской области: 1 – семейство кишечных бактерий; 2 – клостридии; 3 – энтерококки; 4 – стафилококк эпидермальный; 5 – стафилококк золотистый; 6 – эшерихии гемолитические; 7 – грибы рода *Candida*

Слизистые поверхности носоглотки у всех детей дошкольного возраста пос. Тыреть также обсеменены в основном *S. aureus*, либо *S. epidermidis*. Все аутоштаммы *S. epidermidis* обладали гемолитической активностью. Лидирующим видом из выделенных культур УПМ на слизистых был *S. aureus* (66,6%), следующим по выделяемости – β -гемолитический стрептококк (40%), в равных долях высевались *S. epidermidis* и патогенные грибы рода *Candida*. Микроорганизмы родов Эшерихия, Цитробактер и Клебсиелла высевались в единичных случаях. *S. aureus* чаще выделялся со слизистых носоглотки, нежели *S. epidermidis*. Золотистый стафилококк преимущественно поражал слизистые носа (50,0%) по сравнению с зевом (13,3%). Эпидермальный стафилококк с гемолитической активностью и золотистый стафилококк выделялись со слизистых зева у примерно равного числа обследованных (10,0 \pm 5,5% и 13,3 \pm 6,2% соответственно). Кроме того, важно, что среди обследованных детей дошкольного возраста в пос. Тыреть был установлен высокий процент носительства патогенных грибов рода *Candida* (33,3 \pm 8,6), которые, как правило, выделялись в виде ассоциаций преимущественно с эпидермальным стафилококком (90%). Следует подчеркнуть, что подоб-

ные ассоциации проявляют большую патогенность по отношению к организму, чем те же микроорганизмы, заселяющие биотопы по отдельности.

Одной из ключевых функций индигенных микроорганизмов ЖКТ является формирование и поддержание колонизационной резистентности [22]. Большой интерес представляет исследование антагонистической активности бифидобактерий и лактобацилл как *in vivo*, так и *in vitro* [22; 23]. Механизм антагонистической активности основан на продукции бактериями ингибиторных факторов (короткоцепочечные жирные кислоты, бактериоцины, дефенсины, лантабиотики и др.), нарушающих метаболизм патогенных и условно-патогенных бактерий, конкурентной борьбе за питательные субстраты, места адгезии, прямой деградации токсинов, антиэндотоксическом действии, препятствии транслокации в другие участки организма. Так, Bifidocin B, продуцируемый *B. bifidum* NCFB 1454, обладает широким спектром антимикробного действия [22; 23].

Кроме зафиксированной нами тенденции выделения из кишечного биоценоза детей представителей УПМ на фоне низкого содержания их естественных антагонистов – бифидобактерий и лактобацилл, что вполне логично,

обращали на себя внимание частые случаи выделения УПМ на фоне оптимальной концентрации бифидобактерий и лактобацилл. Это свидетельствует о низкой антагонистической активности данных симбионтов кишечника.

При исследовании антагонистической активности бифидобактерий к эталонному и аутоштаммам *S. aureus in vitro* было установлено, что $71,4 \pm 3,2$ % аутоштаммов, изолированных из кишечника проживающих в Иркутске детей,

имели низкую антагонистическую активность как к эталонным штаммам *S. aureus* и ЭПКП О28, так и к аутоштаммам *S. aureus*. Полагаем, что данное обстоятельство является особенностью микробной экологии детей, проживающих в экологически неблагоприятных условиях Восточной Сибири и косвенно свидетельствует о снижении у них с возрастом колонизационной резистентности (рис. 3).

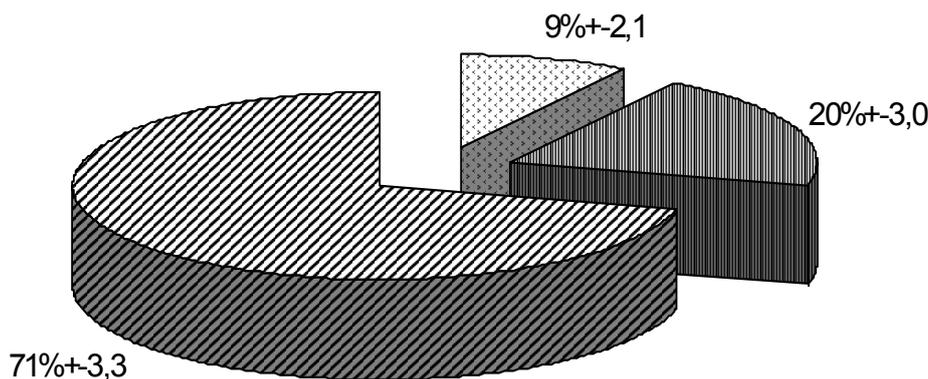


Рис. 3. Антагонистическая активность изолированных из кишечника проживающих в Иркутске детей аутоштаммов бифидобактерий к *Staphylococcus aureus*:

▤ – высокая; ▨ – пониженная; ▧ – низкая

Начальной точкой дисбиотических состояний кишечника является подавление индигенного анаэробного микробного компонента, прежде всего бифидобактерий и лактобактерий, которые в норме оказывают сдерживающее влияние на размер популяций эндогенных условно-патогенных микроорганизмов, и в значительной степени ответственны за поддержание резистентности кишечника к колонизации экзогенными патогенными микроорганизмами, так называемой колонизационной резистентности [12].

В Иркутске среди детей с дисбиотическими нарушениями большой удельный вес составляли те, у кого зарегистрирован дефицит «дружественной» микрофлоры (бифидобактерий и лактобактерий – $50,8 \pm 1,9$ %) и наличие УПМ в диагностически значимых количествах. Нами установлено, что при нормальном (физиологичном) количественном содержании в кишечнике бифидофлоры (\lg КОЕ/мл > 9) *S. aureus* регистрировался в 38 % случаев, тогда как при дефиците бифидобактерий (\lg КОЕ/мл < 9) наличие *S. aureus* в диагностически значимых количествах возрастало до 62 %. В то же время в отечественной и зарубежной литературе все чаще признается возможность развития инфек-

ционного процесса, спровоцированного оппортунистическими микроорганизмами при их концентрации 10^2 – 10^3 КОЕ/г. Это связывают со снижением общей резистентности организма человека в условиях неблагоприятной экологической обстановки [13].

Для сравнения была определена антагонистическая активность бифидобактерий двух видов (*B. bifidum* 791 и *B. longum* В 4а 200), входящих в состав сухих коммерческих пробиотических препаратов и аутоштаммов бифидобактерий. Было установлено, что зона задержки роста, как показатель антагонистической активности, у коммерческих штаммов бифидобактерий в два раза больше, чем у аутоштаммов, выделенных от обследованных детей.

Характеристика видового разнообразия бифидобактерий, их качественное и количественное соотношение в кишечнике человека являются важным индикатором влияния внешних дестабилизаторов (продуктов техногенного загрязнения, некачественных продуктов питания, лекарственных средств). Из всех циркулирующих видов бифидобактерий у индивида преобладает один вид, и для адекватной коррекции дисбиозов необходимо точно знать, ка-

кой. Поэтому видовая идентификация бифидобактерий с определением видового районирования штаммов имеет особое значение. Молекулярно-генетический подход значительно ускоряет процесс идентификации, позволяет получить более точные результаты по сравнению с биохимическим тестированием. В данной работе видовая идентификация бифидобактерий у детей Иркутска (40 человек) и Ангарска (35 человек) проводилась с использованием метода МГНК. Гибридизационный тест с олигонуклеотидами четырёх видов бифидобактерий (*B. bifidum*, *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. catenulatum*) провели с 50 образцами ДНК, выделенными из клеточной биомассы, выращенной на тиогликолевой среде из разведений фекалий. Следует отметить, что в пробах из Ангарска (в 57,14 % случаев) и Иркутска (в 35,1 % случаев) бифидобактерии персистировали в двух видовых композициях. Основу всех установленных

композиций составлял доминирующий вид *B. longum*. Другие виды бифидобактерий представлены у жителей изучаемых городов следующим образом: в Ангарске вторым по численности видом был *B. bifidum*, а в Иркутске – *B. catenulatum*. Минорными для Иркутска и Ангарска являлись *B. bifidum* и *B. adolescentis* соответственно (рис. 4). Факт индикации *B. adolescentis* среди «здоровых» детей обоих городов может свидетельствовать о микроэкологических сдвигах в кишечном биотопе в сторону развития дисбиоза. Используемый метод МГНК, адаптированный к особенностям культивирования бифидобактерий, является достаточно информативным для изучения видового состава бифидобактерий в кишечнике как при нормальном соотношении микроорганизмов в биотопе, так и при различных дисбиотических состояниях [26; 27].

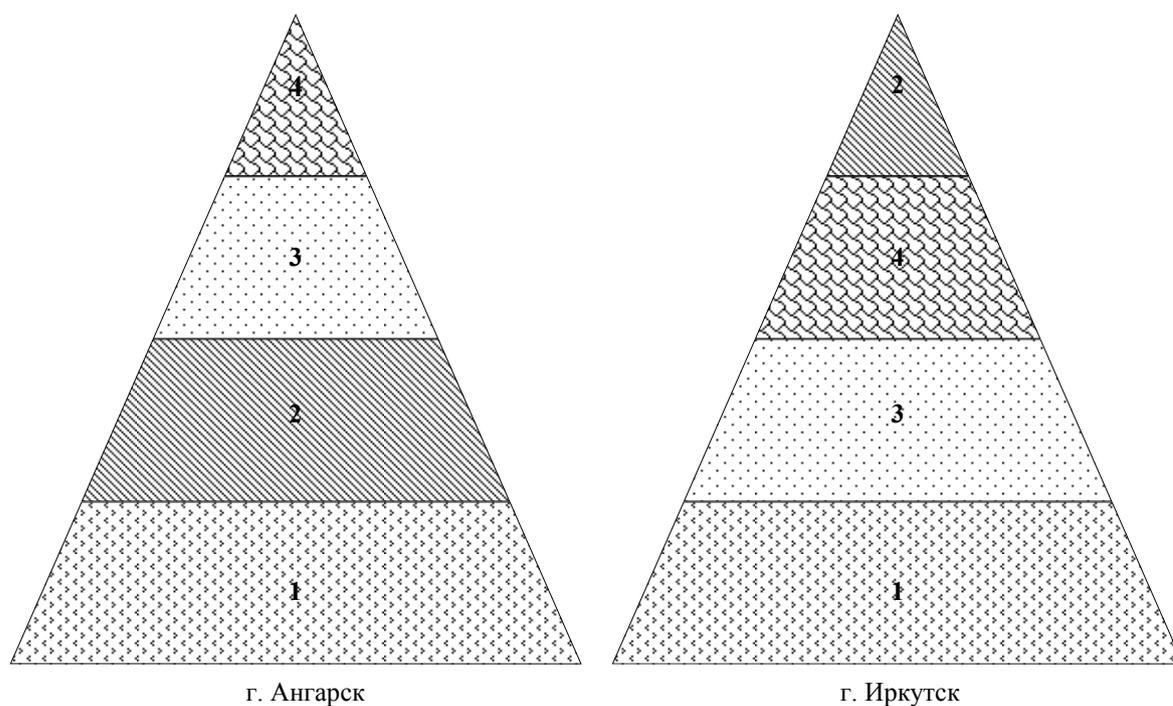


Рис. 4. Видовая архитектура бифидобактерий в кишечном биоценозе жителей городов Иркутской области: 1 – *Bifidobacterium longum*; 2 – *B. bifidum*; 3 – *B. catenulatum*; 4 – *B. adolescentis*

Заключение

В ходе проведённых исследований показано, что наряду с существованием микроэкологических особенностей кишечной микробиоты детей в зависимости от места проживания существуют и общие закономерности формирования микробиоценозов кишечника детей на

территории Иркутской области. Прежде всего региональные ориентиры основных групп резидентных микроорганизмов в кишечной микробиоте характеризуются снижением их титров относительно общезиологических показателей, принятых в других крупных промышленных городах России и сдвигом диапазона количественных показателей плотности популяций

бифидобактерий в среднем до 5–7 lg КОЕ/г, лактобацилл – до 5 lg КОЕ/г, нормальных эшерихий – до 5–6 lg КОЕ/г.

Полученные данные свидетельствуют о том, что микробиологическая структура кишечных биоценозов здоровых детей Иркутской области характеризуется высокой частотой диссоциации нормальных эшерихий: появление кишечной палочки с изменённой ферментативной активностью и обнаружение гемолитических форм.

Региональные штаммы бифидобактерий обладают низкой антагонистической активностью по отношению к представителям транзитных оппортунистических микроорганизмов. В 71,4 % случаев они были неактивны по отношению к референтным штаммам золотистого стафилококка (*S. aureus* 209) и энтеропатогенной кишечной палочки ($p < 0,05$), а в 84,5 % – не препятствовали активному росту аутоштаммов *S. aureus in vitro* ($p < 0,05$). Таким образом, низкий уровень антагонизма бифидобактерий также является региональной особенностью кишечной микробиоты детей Иркутской области и способствует снижению колонизационной резистентности.

Видовая архитектура бифидобактерий у жителей Иркутска и Ангарска имеет оригинальную структуру, характеризующуюся различным соотношением видов (*B. bifidum*, *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. catenulatum*) в каждом городе, но с общим региональным признаком – доминирующим преобладанием *B. longum*. Показано разнообразие и степень представительства разных видов бифидобактерий в кишечном биоценозе, а выявляемость *B. adolescentis* среди «здоровых» детей обоих городов может свидетельствовать о микробиологических сдвигах в кишечном биотопе детей в сторону дисбиоза.

В ходе проведённого исследования у детей, проживающих в разных населённых пунктах региона, определён микробиологический фенотип с выявлением «индикаторных» видов условно-патогенных микроорганизмов. Дана характеристика видовой архитектуры бифидобактерий в кишечном биоценозе у лиц, проживающих в различных экологических условиях, что в практическом плане позволит подобрать оптимальные схемы коррекции микробиологического дисбаланса с учётом индивидуальных особенностей кишечного микробиоценоза.

Литература

1. Барановский А. Ю. Дисбактериоз и дисбиоз кишечника / А. Ю. Барановский, З. А. Кондрашина. – СПб. : Питер, 2000. – 224 с.

2. Воеводин Д. А. Дисбактериоз и иммунопатологический процесс / Д. А. Воеводин, Г. Н. Розанова // Журн. микробиологии. – 2005. – № 2. – С. 89–92.

3. Диагностика, профилактика и лечение дисбактериозов кишечника : метод. рекомендации / МЗ СССР № 10–11/4. – М., 1991. – 15 с.

4. Йоргенсен Дж. Х. Микробиологический справочник для клиницистов / Дж. Х. Йоргенсен. – М. : Мир, 2006. – 242 с.

5. Клинические аспекты диагностики и лечения дисбиоза кишечника в общетерапевтической практике : учеб.-метод. пособие / В. Б. Гриневич [и др.]. – СПб., 2003 – 28 с.

6. Коршунов В. М. Характеристика биологических препаратов и пищевых добавок для функционального питания и коррекции микрофлоры кишечника / В. М. Коршунов, Б. А. Ефимов, А. П. Пикина // Журн. микробиол. – 2000. – № 3. – С. 86–91.

7. Куваева И. Б. Микробиологические и иммунные нарушения у детей / И. Б. Куваева, К. С. Ладодо. – М., 1991. – 240 с.

8. Леванова Л. А. Микробиология кишечника жителей Западной Сибири, коррекция дисбиотических состояний : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Л. А. Леванова. – М., 2003. – 48 с.

9. Микробная экология человека в промышленных городах Восточной Сибири // С. М. Попкова [и др.] // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2004. – Т. 3, № 1. – С. 143–146.

10. Микробный статус человека в условиях Крайнего Севера, как показатель здоровья индивидуума / Л. О. Иноземцева [и др.] // Лабораторное дело и профилактика : науч.-практ. изд. – Якутск, 2000. – С. 92–93

11. Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника. Отраслевой стандарт (Приказ МЗ РФ №231 от 9.06.2003) / под ред. А. И. Вялкова [и др.]. – М. : ГРАНТЬ, 2004. – 128 с.

12. Пинегин Б. В. Дисбактериозы кишечника / Б. В. Пинегин, В. Н. Мальцев, В. М. Коршунов. – М., 1984. – 144 с.

13. Подволоцкая А. Б. Функциональная характеристика аутомикрофлоры кожи детей младшего школьного возраста в условиях техногенного загрязнения среды : автореф. дис. ... канд. биол. наук / А. Б. Подволоцкая. – Владивосток, 2000. – 31 с.

14. Попкова С. М. Иммуноэкологическая концепция развития кишечных дисбактериозов / С. М. Попкова, Е. Л. Кичигина // Журн. инфекц. патологии. – 1999. – № 2–3. – С. 13–15.

15. Постникова Е. А. Изучение биологических свойств бифидо- и лактобактерий, выделенных из кишечника здоровых детей раннего возраста, с целью создания на их основе препарата для лечения дисбиотических нарушений нормальной микрофлоры : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 03.00.07 / Е. А. Постникова ; ММА им. И. М. Сеченова. – М., 2003. – 24 с.

16. Проблемы диагностики дисбиоза под влиянием факторов окружающей среды / М. П. Захарченко [и др.] // Гигиена и санитария. – 2003. – № 5. – С. 74–76.

17. Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду. – Р 2.1.10.1920–04.
18. Савченков М. Ф. Состояние здоровья населения г. Иркутска в связи с техногенным загрязнением окружающей среды / М. Ф. Савченков. – Иркутск, 1991. – 75 с.
19. Совершенствование методов диагностики дисбактериоза толстого кишечника : информ. письмо. – СПб., 2002. – 20 с.
20. Шендеров Б. А. Функциональное питание и пробиотики: микробиологические аспекты / Б. А. Шендеров, М. А. Манвелова. – М., 1997. – 180 с.
21. Шендеров Б. А. Медицинская микробная экология и функциональное питание / Б. А. Шендеров. – М. : Грант, 1998. – Т. 1. – 286 с.; Т. 2. – 412 с.
22. Microbiomic analysis of the bifidobacterial population in the human distal gut / F. Turroni [et al.] // ISME J. – 2009. – Vol. 3, N 6 – P. 745–751.
23. Redefining the Role of Intestinal Microbes in the Pathogenesis of Necrotizing Enterocolitis / M. J. Morowitz [et al.] // Pediatrics. – 2010. – Vol. 125. – P. 777–785.
24. Sekirov I. The role of the intestinal microbiota in enteric infection / I. Sekirov, B. B. Finlay // J. Physiol. – 2009. – Vol. 587. – P. 4159–4167.
25. Servin A. L. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens / A. L. Servin // FEMS Microbiol Rev. – 2004. – Vol. 28(4). – P. 405–440.
26. Van der Waaij D. The immunoregulation of the intestinal flora: experimental investigation on the development and the composition of the microflora in normal and thymusless mice / D. Van der Waaij // Microecol. Therapy. – 1984. – Vol. 14. – P. 197–201.
27. Yildirim Z. Characterization and antimicrobial spectrum of Bifidocin B a bacteriocin produced by *Bifidobacterium bifidum* NCFB 1454 / Z. Yildirim, M. Johnson // J. Food Prot. – 1998. – Vol. 61. – P. 47–51.

Microecological landscape in children of the Irkutsk region against of the hygienic characteristics background of territories

S. M. Popkova¹, E. B. Rakova¹, E. L. Kichigina², U. M. Nemtchenko¹, N.V. Efimova³, I. V. Myl'nikova³, N. A. Taranenko³, Yu. P. Dzhioev¹

¹ Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS, Irkutsk

² Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk

³ Angarsk Branch of East-Siberian Scientific Center of Human Ecology SB RAMS, Angarsk

Abstract. Intestinal, nasopharyngeal microbiocenoses in children aged from 1 month till 6 years living in the various Irkutsk region cities were studied. The characteristic of the atmospheric air pollution level and estimation of the assumed risk for population health in these cities was given. Comparative analysis results of the quantitative and qualitative microflora structure in children biocenoses in the cities with various technogenic loading were given. Regional features of microbiota in the studied biotopes were shown. For the first time studying of bifidobacteria microecological cenotypes in studied territory was carried out. Data on a bifidobacteria species rating under existing technogenic loading conditions were obtained. «Indicator» microorganisms in children from various cities were established. Low antagonistic activity of bifidobacteria regional strains against opportunistic microorganisms was revealed.

Key words: index of air pollution, index of danger, microbiocenoses, cenotypy, bifidobacterium, «indicator forms».

Попкова София Марковна
Институт эпидемиологии и микробиологии
НЦ ПЗС РЧ СО РАМН
664025, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 3
доктор биологических наук,
заведующий лабораторией микробиологии
тел. (3952)33–34–41
E-mail: smpopkova@gmail.com

Popkova Sofia Markovna
Institute of Epidemiology and Microbiology,
Scientific Centre of Family Health and Human
Reproduction Problems SB RAMS
3 K. Marx St., Irkutsk, 664025
D. Sc. of Biology,
Head of Laboratory of Microecology
phone: (3952)33–34–41
E-mail: smpopkova@gmail.com

Ракова Елена Борисовна
Институт эпидемиологии и микробиологии
НЦ ПЗС РЧ СО РАМН
664025, Иркутск, ул. К. Маркса, 3
научный сотрудник
тел. (3952) 33–34–41
E-mail: lenova_@mail.ru

Rakova Elena Borisovna
Institute of Epidemiology and Microbiology,
Scientific Centre of Family Health
and Human Reproduction Problems SO RAMS
3 K. Marx St., Irkutsk, 664025
research scientist
phone: (3952) 33–34–41,
E-mail: lenova_@mail.ru

Кичигина Елена Леонидовна
Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования
664079, г. Иркутск, мкр. Юбилейный, 100
кандидат биологических наук, доцент
тел. (3952)46–28- 01

Немченко Ульяна Михайловна
Институт эпидемиологии и микробиологии
НЦ ПЗС РЧ СО РАМН

664025, Иркутск, ул. К. Маркса, 3
младший научный сотрудник
тел. (3952) 33–34–41

Ефимова Наталья Васильевна
Ангарский филиал ВСНЦ ЭЧ СО РАМН –
НИИ медицины труда и экологии человека
665827, г. Ангарск, мкр. 12а, д. 3
доктор медицинских наук,
заведующий лабораторией медицинской экологии
тел. (3955)55–40–85
E-mail: medecolab@inbox.ru

Мыльникова Инна Владимировна
Ангарский филиал ВСНЦ ЭЧ СО РАМН –
НИИ медицины труда и экологии человека
665827, г. Ангарск, мкр. 12а, д. 3
кандидат медицинских наук,
старший научный сотрудник
тел. (3955) 55–40–85

Тараненко Наталья Анатольевна
Ангарский филиал ВСНЦ ЭЧ СО РАМН –
НИИ медицины труда и экологии человека
665827, г. Ангарск, мкр. 12а, д. 3
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
тел. (3955) 55–40–85

Джзиев Юрий Павлович
Институт эпидемиологии и микробиологии
НЦ ПЗС РЧ СО РАМН
664025, Иркутск, ул. К. Маркса, 3
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
тел. (3952) 33–34–41
E-mail: alanir07@mail.ru

Kichigina Elena Leonidovna
Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education
100 Yubileiny rn., Irkutsk, 664079
Ph. D. in Biology, ass. prof.
phone: (3952)33–34- 41
E-mail: kichel@bk.ru

Nemchenko Ulyana Mikhailovna
Institute of Epidemiology and Microbiology,
Scientific Centre of Family Health and Human
Reproduction Problems SO RAMS
3 K. Marx St., Irkutsk, 664025
junior research scientist
phone: (3952) 33–34–41

Efimova Natalia Vasilyevna
Angarsk Branch of East-Siberian Scientific Center
of Human Ecology SB RAMS
3 12a rn., Angarsk, 665827
D. Sc. of Medicine, Head of Laboratory
of Medical Ecology
phone: (3955)55–40–85,
E-mail: medecolab@inbox.ru

Myl'nikova Inna Vladimirovna
Angarsk Branch of East-Siberian Scientific Center
of Human Ecology SB RAMS
3 12a rn, Angarsk, 665827
Ph. D. in Medicine, senior research scientist
phone: (3955) 55–40–85

Taranenko Natalia Anatolyevna
Angarsk Branch of East-Siberian Scientific Center
of Human Ecology SB RAMS
3 12a rn., Angarsk, 665827
Ph. D. in Biology, senior research scientist
phone: (3955) 55–40–85

Dhziev Yuri Pavlovich
Institute of Epidemiology and Microbiology,
Scientific Centre of Family Health and Human
Reproduction Problems SO RAMS
3 K. Marx St., Irkutsk, 664025
Ph. D. in Biology, senior research scientist
phone: (3952) 33–34–41,
E-mail: alanir07@mail.ru