

С.М. Попкова¹, Е.Б. Ракова¹, Е.Л. Кичигина^{1,2}, У.М. Немченко¹, Ю.П. Джиоев¹

МИКРОЭКОЛОГИЧЕСКИЙ ПЕЙЗАЖ РАЗЛИЧНЫХ БИОТОПОВ У ДЕТЕЙ ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ

¹ Институт эпидемиологии и микробиологии НЦ ПЗСРЧ СО РАМН (Иркутск)

² Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования (Иркутск)

Изучены особенности кишечного, носоглоточного микробиоценозов и видового состава бифидобактерий у детей, проживающих в промышленных городах Иркутской области в условиях существующей техногенной нагрузки. Определены основные варианты микробиоценозов у детей в городах с разным уровнем загрязнения атмосферного воздуха.

Ключевые слова: микробиоценозы, ценоотипы, бифидобактерии, «индикаторные виды»

MICROECOLOGICAL LANDSCAPE OF DIFFERENT BIOTOPES IN CHILDREN LIVING IN IRKUTSK REGION

S.M. Popkova¹, E.B. Rakova¹, E.L. Kichigina^{1,2}, U.M. Nemtchenko¹, Yu.P. Dzhioev¹

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

² Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk

Intestinal, nasopharyngeal microbiocenoses peculiarities and bifidobacteria species composition in children living in the Irkutsk region industrial cities under existing technogenic loading conditions have been studied. Major microbiocenosis variants in children living in the cities with the different levels of the atmospheric air pollution have been determined

Key words: microbiocenoses, cenotypes, bifidobacteria, «indicator forms»

ВВЕДЕНИЕ

Нормальная микрофлора человека находится в прямой зависимости от факторов окружающей среды и, если по своей интенсивности негативное влияние среды превышает компенсаторные возможности экологической системы «макроорганизм — его нормальная микрофлора», то возникают микроэкологические или, иначе — дисбиотические нарушения, которые нередко являются пусковым механизмом развития и поддержания патологических состояний [8]. Дисбиотические нарушения в пищеварительном тракте проявляются в изменении многих показателей, в том числе и в появлении атипичных штаммов микроорганизмов. Причиной широкого распространения дисбиозов являются как социальные факторы, так и ухудшение экологической обстановки, влияющей на состояние коллективной резистентности населения. 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]. В условиях мощной техногенной нагрузки, которая имеет место в промышленных городах Иркутской области, изменения микробиоценозов в различных биотопах очевидны и имеют свои характерные, региональные особенности. От неблагоприятных факторов внешней среды, в первую очередь, страдают дети, поэтому оценка резистентности макроорганизма

детей имеет существенное значение в системе медико-биологического мониторинга.

Цель исследования: изучение архитектоники кишечного и носоглоточного микробиоценозов у детей Иркутской области с определением основных комбинаций микроэкологических ценоотипов и видового регионального рейтинга бифидофлоры в условиях техногенного прессинга.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе обследовались дети, проживающие в промышленных городах Иркутской области, характеризующихся высоким уровнем техногенной нагрузки: гг. Иркутск, Ангарск, Шелехов, и в поселке Тиреть, имеющим значительно меньший уровень загрязнения атмосферного воздуха. 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). При исследовании микрофлоры слизистых оболочек носа и зева, бактериологическом исследовании качественного и количественного состава микроорганизмов толстого кишечника использовали стандартный комплекс микробиологических методов [6, 7]. Степень обсемененности образцов выражали в виде десятичного логарифма на 1 грамм фекальной массы (lg КОЕ/г).

Степень нарушения популяционного состава микроорганизмов кишечника (дисбактериоз) определялась по классификациям И.Б. Куваевой и

К.С. Ладодо (1991) [2]. В работе руководствовались рекомендациями, представленными в Отраслевом стандарте [6]. Видовая идентификация бифидобактерий была проведена с использованием метода гибридизации нуклеиновых кислот (МГНК) [4]. Гибридизацию со специфическими синтетическими олигонуклеотидными зондами провели на 50 образцах ДНК бифидобактерий, выделенных из 75 проб фекалий детей, проживающих в г. Иркутске и Ангарске. Был использован набор синтетических олигонуклеотидных зондов, специфически комплементарных видам: *B. bifidum*, *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. catenulatum*, т.к. именно эти виды наиболее часто встречаются в биоценотической картине людей различных возрастных групп.

Всего состояние кишечного и носоглоточного биотопов проанализировано у 100 клинически здоровых детей 5–6 лет и 1492 детей от 1 месяца до 5 лет с манифестацией симптомов дисбиоза кишечника из Иркутска; у 64 здоровых детей из Ангарска и 35 — из Шелехова. В пос. Тиреть 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.

Статистическая обработка данных произведена при помощи прикладных программ «MS Excel 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 последние годы на изучаемых территориях характеризовалась достоверным снижением в 3,9 раза в г. Иркутске и в 1,14 раза в г. Ангарске. Однако в указанный период увеличилось количество выбросов от автотранспорта. В целом, средний уровень загрязнения атмосферного воздуха (ИЗА) в г.г. Ангарске и Иркутске оценивался как высокий и определялся значениями ИЗА = 15,9 и ИЗА = 15,7 условных единиц соответственно.

В поселке Тиреть, муниципальном образовании Заларинского района Иркутской области, постоянного контроля за качеством воздушного бассейна не проводилось. В экспедиционных исследованиях установлено, что ИЗА = 0,7, и, следовательно, уровень загрязнения воздушного бассейна можно оценить как невысокий. Приоритетное воздействие выбросов вредных веществ во всех городах приходилось на органы дыхания. Индекс опасности (НИ дх.) в г. Ангарске составил 13,9, а в г. 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. Тиреть не превышали допустимого значения ($HI < 1$), что свидетельствует о низком риске развития экологически обусловленных нарушений показателей здоровья [5].

Сравнительный анализ региональных данных, характеризующих состав симбионтной микрофлоры в различных городах России, выявил тенденцию ее наибольшего угнетения в Иркутске и Ангарске по сравнению с другими промышленными городами России (Санкт-Петербург, Москва и Кемерово [3]). Полагаем, что оценка характерных особенностей микробиоценозов отдельных биотопов у детей Иркутской области позволит выделить сочетания микрoэкологических ценотипов, характерных для каждого конкретного города, и тем самым, определить региональные ориентиры, прикладное значение которых неоспоримо.

У обследованных «здоровых» детей из районов г. Иркутска с разным уровнем загрязнения атмосферного воздуха выявлены свои особенности архитектоники кишечного микробиоценоза. Прежде всего, следует отметить, что среднее содержание бифидобактерий у детей Кировского района $(7,76 \pm 1,10 \lg \text{КОЕ/г})$, тогда как у детей пос. Молодежный этот показатель соответствует нижней границе нормы $(8,64 \pm 0,14 \lg \text{КОЕ/г})$ [6]. Частота выявления эшерихий с атипичными свойствами выше в пос. Молодежный, чем у детей Кировского района. Это явление может свидетельствовать о том, что дети пос. Молодежный могли получить определенную ксенобиотическую нагрузку, стимулирующую диссоциацию нормальной кишечной палочки. Положительным фактором следует считать то, что у детей из этих районов не обнаружено гемолитических форм кишечной палочки и грибов рода *Candida*. Условно-патогенных микроорганизмов в диагностически значимых титрах так же не выявлено.

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

При исследовании материала из толстого кишечника у детей г. Шелехова были получены результаты, отличающиеся от аналогичных показателей у детей г.г. Иркутска и Ангарска. Доминирующее положение в кишечном биоценозе детей школьного возраста г. Шелехова занимали бифидо- и лактобактерии, резкого дефицита этих микроорганизмов не было выявлено ни у одного ребенка. Среднее содержание бифидобактерий в кишечнике определялось в $8,9 \pm 0,2 \lg \text{КОЕ/г}$, что по общезиологическим стандартам соответствовало нижней границе нормы. Содержание лактобацилл у школьников соответствовало норме и составляло $8,3 \pm 0,9 \lg \text{КОЕ/г}$. Обращает на себя внимание тот факт, что у каждого пятого ребенка в г. Шелехове выделенные эшерихии определялись как атипичные, с потерей некоторых биохимических свойств (либо лактозонегативная кишечная палочка, либо слабоферментативная). Но в целом, атипичные формы кишечной палочки выделялись в 3 раза реже, чем среди школьников г. Ангарска. В то же время в кишечном биоценозе детей г. Шелехова очень часто встречалась гемолитическая форма кишечной палочки ($36,8 \pm 8,8 \%$), тогда как в г. Ангарске этой формы не было выявлено. Таким образом, *E. coli* с гемолитическими свойствами в данном случае можно расценивать как индикаторный микроорганизм, выявление которого дает основание характеризовать микробный статус у значительного числа детей в данном городе как неблагоприятный. Другим значимым микроорганизмом в кишечном биоценозе школьников г. Шелехова можно считать энтерококки, которые были выявлены у половины детей ($52,6 \pm 9,1 \%$), что

значительно чаще, чем в г. Ангарске ($29,0 \pm 8,4 \%$) (рис. 1).

Характерной особенностью микробного пейзажа слизистой носоглотки детей из г. Шелехова было то, что выделенный эпидермальный стафилококк, во всех случаях обладал ярко выраженной гемолитической активностью. Наличие гемолитических свойств у эпидермального стафилококка 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 из зева ($27,5 \pm 2,4$). Анализ микрофлоры носоглоточного биотопа дает основание констатировать, что для школьников г. Шелехова «микроорганизмом-индикатором», отражающим неблагоприятную ситуацию носоглоточного биоценоза, может быть назван эпидермальный стафилококк с гемолитическими свойствами.

В результате микробиологического анализа мазков со слизистых поверхностей носоглотки у детей г. Ангарска было установлено, что они в значительной степени обсеменены двумя видами стафилококков — *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis*. Было установлено, что все выделенные аутоштаммы эпидермального стафилококка обладали ярко выраженной гемолитической активностью. Причем дошкольники имели 100%-ю суммарную обсемененность носоглотки этим условно-патогенным микроорганизмом, а у школьников высеваемость стафилококков со слизистых носоглотки по сравнению с дошкольниками снизилась до 66,6 %, при этом и индикация в-гемолитического стрептококка также уменьши-

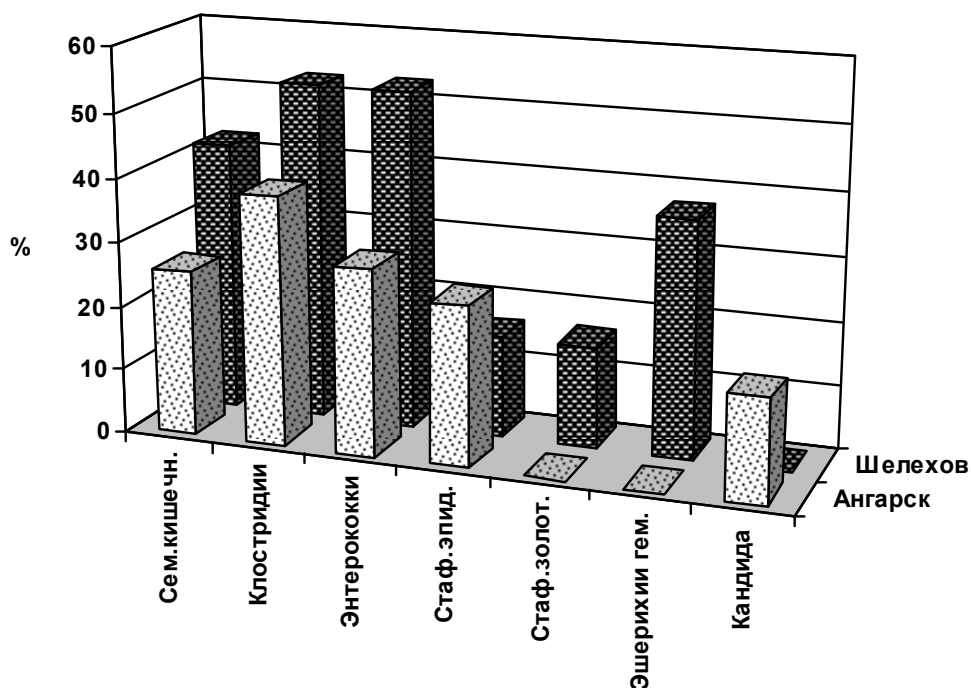


Рис. 1. Частота выделения условно-патогенных микроорганизмов из кишечного биоценоза школьников г.г. Ангарск, Шелехов.

лась вдвое. Следует отметить, что неблагоприятным моментом для детей г. Ангарска является то, что у школьников отмечается заметное повышение частоты носительства на слизистых зева дрожжеподобных грибов рода *Candida* (до 12,5 %) по сравнению с дошкольниками (6,9 %). Носительство патогенных грибов рода *Candida* во всех установленных случаях сочеталось с носительством золотистого стафилококка.

Лидирующим видом из выделенных культур УПМ на слизистых поверхностях носоглотки у всех детей дошкольного возраста п. Тыреть был *S. aureus* (66,6 %), следующим по выделяемости — гемолитический стрептококк (40 %), в равных долях высевались *S. epidermidis* и патогенные грибы рода *Candida*. Микроорганизмы родов Эшерихии, Цитробактер и Клебсиелла высевались в единичных случаях. *S. aureus* чаще выделялся со слизистых носоглотки по сравнению с *S. epidermidis*. Золотистый стафилококк преимущественно поражал слизистые носа (50,0 %) по сравнению с зевом (13,3 %). Эпидермальный стафилококк с гемолитической активностью выделялся со слизистых зева у такого же числа лиц, что и золотистый стафилококк ($10,0 \pm 5,5$ % и $13,3 \pm 6,2$ % соответственно). Кроме того, важно, что среди обследованных детей дошкольного возраста в п. Тыреть был установлен высокий процент носительства патогенных грибов рода *Candida* ($33,3 \pm 8,6$), которые, как правило, выделялись в виде ассоциаций и преимущественно с эпидермальным стафилококком (в 90 %). Следует подчеркнуть, что подобные ассоциации проявляют большую патогенность по отношению к организму, чем те же микроорганизмы, заселяющие биотопы по отдельности.

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 условно-патогенной микрофлоры (УПМ) в диагностически значимых количествах. Так, нами было установлено, что при нормальном количественном (физиологичном) содержании в кишечнике бифидофлоры ($\lg$ КОЕ/мл > 9) *S. aureus* регистрировался в 38 % случаев, а 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 инфекционного 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.

Характеристика видового разнообразия бифидобактерий, их качественное и количественное соотношение в кишечнике человека являются важным индикатором влияния внешних дестабилизаторов. Из всех циркулирующих видов бифидобактерий у индивида преобладает, как правило, один вид, и для адекватной коррекции дисбиозов необходимо точно знать, какой. 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. Следует отметить, что в пробах из г. Ангарска (в 57,14 % случаев) и г. Иркутска (в 35,1 % случаев) бифидобактерии персистировали в двух видовых композициях. Основу всех установленных композиций составлял доминирующий вид *B. longum*. Другие виды бифи-

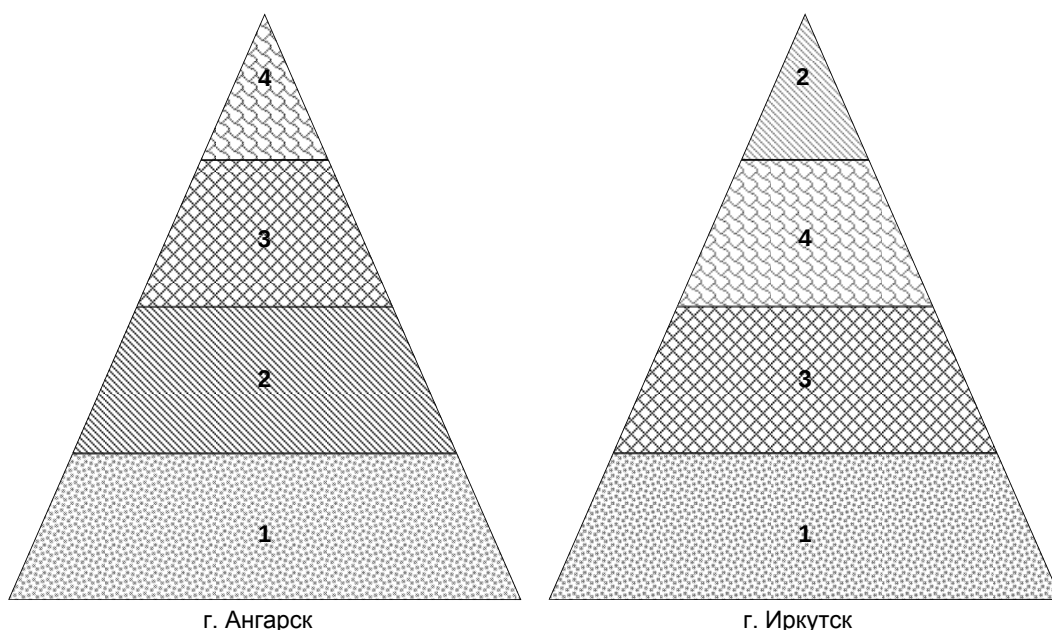


Рис. 2. Видовая архитектура бифидобактерий в кишечном биоценозе жителей городов Иркутской области. 1 – *Bifidobacterium longum*, 2 – *Bifidobacterium bifidum*, 3 – *Bifidobacterium catenulatum*, 4 – *Bifidobacterium adolescentis*.

добактерий представлены у жителей изучаемых городов следующим образом: в г. Ангарске вторым по численности видом был *B. bifidum*, а в Иркутске — *B. catenulatum*. В г. Иркутске наименьшее число встречаемости составили штаммы *B. bifidum*, а в г. Ангарске *B. adolescentis* соответственно (рис. 2). Факт индикации *B. adolescentis* среди «здоровых» детей обоих городов может свидетельствовать о микрoэкологических сдвигах в кишечном биотопе в сторону развития дисбиоза. Используемый подход 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.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенных исследований показано, что наряду с существованием микрoэкологических особенностей кишечной микробиоты у 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 детей Иркутской области характеризуются снижением их титров относительно общезиологических показателей и данных по другим крупным промышленным городам России, а также 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 микрoэкологическая структура кишечных биоценозов здоровых детей Иркутской области характеризуется высокой частотой диссоциации нормальных эшерихий: появление кишечной палочки с измененной ферментативной активностью и обнаружение гемолитических форм.

Видовая архитектура бифидобактерий у жителей г.г. 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 микрoэкологических сдвигах в кишечном биотопе детей в сторону дисбиоза. В ходе проведенного исследования у детей, проживающих в разных городах, определен микрoэкологический 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 микрoэкологического дисбаланса с учетом индивидуальных особенностей кишечного микробиоценоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барановский А.Ю., Кондрашина З.А. Дисбактериоз и дисбиоз кишечника. — СПб: Питер, 2000. — 224 с.
2. Куваева И.Б., Ладодо К.С. Микрoэкологические и иммунные нарушения у детей. — М., 1991. — 240 с.
3. Леванова Л.А. Микрoэкология кишечника жителей Западной Сибири, коррекция дисбиотических состояний : автореф. дис. ... докт. мед. наук. — М., 2003. — 48 с.
4. Молекулярная клиническая диагностика. Методы / Под ред. С. Херрингтона и Дж. Макти — Издательство «Мир», 1999. — 527 с.
5. Особенности микрoэкологических цено-типов у детей, проживающих в условиях техно-генного прессинга / Е.Б. Ракова [и др.] // Гиг. и санит. — 2011. — № 4. — С. 22–26.
6. Отраслевой Стандарт «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» // ОСТ 91500.11.0004-2003. Приказ МЗ РФ № 231 от 09.06.2003.
7. Совершенствование методов диагностики дисбактериоза толстого кишечника / Информационное письмо. — СПб., 2002. — 20 с.
8. Шендеров Б.А., Манвелова М.А. Функциональное питание и пробиотики: микрoэкологические аспекты. — М., 1997. — 180 с.

Сведения об авторах

Попкова София Марковна — д.б.н., с.н.с., зав. лабораторией микрoэкологии Института эпидемиологии и микробиологии НЦ ПЗСРЧ СО РАМН (664025, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 3; тел. 8(3952)33-34-41; факс 8(3952)-24-03-052 smpopkova@gmail.com)
Ракова Елена Борисовна — н.с. лаборатории микрoэкологии Института эпидемиологии и микробиологии НЦ ПЗСРЧ СО РАМН (664025, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 3; тел. 8(3952)33-34-41; факс 8(3952)-24-03-052)
Кичигина Елена Леонидовна — к.б.н., с.н.с., доцент кафедры эпидемиологии и микробиологии ИГМАПО (664079, г. Иркутск, мкр. Юбилейный, 100; тел./факс 8(3952)46-28-01)
Немченко Ульяна Михайловна — м.н.с. лаборатории микрoэкологии Института эпидемиологии и микробиологии НЦ ПЗСРЧ СО РАМН (664025, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 3; тел. 8(3952)33-34-41; факс -8(3952)-24-03-052)
Джигоев Юрий Павлович — к.б.н., с.н.с. лаб. молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики Института эпидемиологии и микробиологии НЦ ПЗСРЧ СО РАМН (664025, г. Иркутск, тел. 8(3952)33-34-41)