

СОСТОЯНИЕ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА У ЛИКВИДАТОРОВ ПОСЛЕДСТВИЙ АВАРИИ НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС

Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А. М. Никитина МЧС России
(Россия, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 4/2)

Представлены данные по применению масс-спектрометрии микробных маркеров у 129 ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС для изучения пристеночной (пробы крови) и просветной (фекалии) микробиоты кишечника. Метод дает качественно новый вариант молекулярного микробиологического исследования благодаря возможности одновременного количественного определения более сотни микробных маркеров непосредственно в биологических пробах без предварительного культивирования микроорганизмов и использования биохимических тестовых материалов и генетических праймеров. Проведенное исследование микробиоты крови и фекалий методом хромато-масс-спектрометрии микробных маркеров свидетельствует о наличии у обследуемых ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС выраженного дисбиоза кишечника. Отмечаются увеличение общего количества микробных маркеров в крови и их снижение в фекалиях; двукратное повышение в крови количества микробных маркеров *Propionibacterium/Clostridium Subterminale* на фоне снижения *Lactobacillus*, а в фекалиях – повышение микробных маркеров *Eubacterium/Clostridium Coccoides* и снижение маркеров *Lactobacillus*; увеличение количества микробных маркеров условно-патогенной микробиоты в крови и фекалиях. Полученные индивидуальные профили микробиома послужили основой для целенаправленной коррекции выявленных нарушений.

Ключевые слова: чрезвычайная ситуация, авария, Чернобыльская АЭС, ликвидатор последствий аварии, масс-спектрометрия, микробный маркер, микробиота, микроорганизм, микрорасположенный статус.

Введение

Результаты эпидемиологического анализа состояния здоровья граждан, подвергшихся радиационному воздействию в результате аварии на Чернобыльской АЭС (ЧАЭС) в отдаленном периоде [1], свидетельствуют о том, что болезни органов пищеварения (XI класс по МКБ-10) в структуре заболеваемости составляют 11%, онкологические заболевания желудочно-кишечного тракта – 38% от всех новообразований (II класс по МКБ-10).

Отдаленная радиационная патология пищеварительного тракта может развиваться в результате воздействия внешних источников радиации и инкорпорации радионуклидов, для которых желудочно-кишечный тракт является одним из важнейших путей посту-

пления и экскреции из организма. В тонкой кишке есть активно делящиеся клетки, являющиеся родоначальниками (стволовыми) для всех функционирующих клеток крови и клеток тонкой кишки. При дозе 45 Гр осложнения составляют 1–5%, при дозах 50–60 Гр – до 60%. При дозах 30 Гр наступает атрофия слизистой оболочки, нарушается адсорбция витамина В₁₂. У лиц, подвергающихся низкоинтенсивному профессиональному облучению, развиваются отчетливые дисбиотические изменения, заключающиеся в снижении количества анаэробных микроорганизмов (бактероидов, пептострептококков, фузобактерий, лакто- и бифидофлоры).

По данным авторов [2], функциональные заболевания кишечника у этих лиц составля-

✉ Родионов Геннадий Георгиевич – д-р мед. наук доц., зав. науч.-исслед. лаб. токсикологии и лекарств. мониторинга Всерос. центра экстрен. и радиац. медицины им. А. М. Никитина МЧС России (Россия, 190044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 4/2); e-mail: rodgenggeor@yandex.ru;

Ушал Инна Эдвардовна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. науч.-исслед. лаб. токсикологии и лекарств. мониторинга Всерос. центра экстрен. и радиац. медицины им. А. М. Никитина МЧС России (Россия, 190044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 4/2); e-mail: innaushal@mail.ru;

Колобова Екатерина Алексеевна – химик-эксперт науч.-исслед. лаб. токсикологии и лекарств. мониторинга Всерос. центра экстрен. и радиац. медицины им. А. М. Никитина МЧС России (Россия, 190044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 4/2); e-mail: ekatderyabina@mail.ru;

Светкина Екатерина Владимировна – ординатор отд. клинич. лаб. диагностики Всерос. центра экстрен. и радиац. медицины им. А. М. Никитина МЧС России (Россия, 190044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 4/2); e-mail: moerabo4eemilo@gmail.com;

Павлова Елена Ивановна – аспирант отд. клинич. лаб. диагностики Всерос. центра экстрен. и радиац. медицины им. А. М. Никитина МЧС России (Россия, 190044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 4/2); e-mail: lena19828@mail.ru.

ют 37%, а в 51% случаев выявлены признаки воспаления слизистой оболочки толстой кишки. Авторами сделан вывод о более выраженных воспалительных изменениях слизистой оболочки толстой кишки при незначительной клинической симптоматике и более частом выявлении синдрома избыточного бактериального роста. Эти данные свидетельствуют об актуальности определения микробиоты кишечника с помощью самой современной технологии, поэтому микрoэкологический статус человека, точнее, поддержание его гомеостаза, является необходимым условием стабильного функционирования всех его органов и систем. Соответственно, одним из первых этапов в реабилитации людей, переживающих экстремальные ситуации в силу особенностей своих профессий [спасатели, пожарные, участники боевых действий, ликвидаторы последствий аварий (ЛПА) и чрезвычайных ситуаций и др.], должен быть контроль и восстановление микробиоценоза, если он оказался нарушенным.

Применяемые сегодня в клинической практике методы определения микрoэкологического статуса, а также диагностики инфекций имеют определенные ограничения и недостатки. Например, существенным недостатком классического бактериологического исследования, помимо дороговизны и длительности (7–10 сут), является невозможность оценить роль некультивируемых микроорганизмов в инфекционно-воспалительном процессе, прежде всего – анаэробов. Используемый в качестве дополнительного к классическому иммуносерологический метод является непрямым, поскольку выявляет не возбудителя, а иммунный ответ на него, который может иметь индивидуальные вариации. Известные молекулярно-биологические методы при несомненных преимуществах – прямое определение возбудителя, высокие специфичность и чувствительность, универсальность, скорость, возможность диагностики хронических и латентных инфекций – имеют такие серьезные недостатки, как частые ложноположительные результаты и невозможность адекватной количественной оценки [4, 6, 9].

Из всего изложенного вытекает очевидная востребованность в надежном количественном экспресс-методе диагностики дисбактериозов и определения возбудителей инфекции.

Таким методом является хемодифференциация микроорганизмов с помощью газовой хроматографии, основанная на количе-

ственном определении маркерных веществ микроорганизмов (жирных кислот, альдегидов, спиртов и стерина). Этот метод, как медицинская технология, позволяет не только проводить мониторинг этих соединений в образцах, но также и рассчитывать численность микроорганизмов того или иного таксона в образце. В этом принципиальное отличие метода, придающее ему качественно новое свойство – возможность разложения суперпозиции всего пула микробных маркеров, что позволяет оценить вклад от каждого из сотен видов микроорганизмов, присутствующих, например, в фекалиях [8].

Предлагаемый метод газовой хроматографии, совмещенной с масс-спектрометрией (ГХ–МС), позволяет детектировать в исследуемых образцах маркеры, компоненты клеток широкого спектра микроорганизмов нормальной и патогенной микробиоты человека. Метод ГХ–МС обеспечивает возможность детектировать одновременно множество маркеров микроорганизмов при проведении анализа одного образца. Внедрение ГХ–МС позволяет сократить время и стоимость исследования, минуя стадии повторных пересевов первичных колоний и тестовых ферментаций, которые особенно сложны, трудоемки и длительны для анаэробов. Метод позволяет не только определять маркерные вещества (жирные кислоты, альдегиды, спирты и стерина) в чистых культурах микроорганизмов, выделенных из клинического материала [3], но и выявлять и количественно определять состав микробного сообщества, который кроется за набором маркеров конкретной пробы [5, 11].

В 2010 г. Росздравнадзором разрешено его применение в качестве новой медицинской технологии «Оценки микрoэкологического статуса человека методом хромато-масс-спектрометрии» на территории Российской Федерации (разрешение ФС 2010/038 от 24.02.2010 г.).

Материал и методы

В рамках оказания специализированной медицинской помощи в амбулаторно-поликлинических условиях у 129 ликвидаторов последствий аварии (ЛПА) на ЧАЭС проведен забор 129 проб крови (оценка пристеночной микробиоты) и 30 проб фекалий (оценка просветной микробиоты). Содержание микробных маркеров в указанных пробах осуществляли методом ГХ–МС.

Для анализа цельную кровь в количестве 40 мкл пипеткой переносили в вials (емко-

стью 1,5 мл с закручивающейся крышкой с тефлонированной прокладкой), подсушивали (при снятой крышке) в термостате при 80 °С с добавлением 40 мкл метанола для ускорения сушки. К загустевшей пробе приливали 400 мкл 1М соляной кислоты в метаноле, плотно закручивали крышку и подвергали кислоте метанолизу при 80 °С в течение 1 ч. К охлажденной реакционной среде добавляли 300 нг стандарта (дейтерометилловый эфир тридекановой кислоты), растворенного в гексане. Затем проводили экстракцию двумя порциями по 200 мкл гексана, встряхивая смесь на вортексе и позволяя ей отстояться в течение 5 мин при комнатной температуре. Объединенный экстракт переносили в чистый виал, высушивали 5–7 мин при 80 °С, и сухой остаток обрабатывали 20 мкл N, O-бис(триметилсилил)-трифторацетамида в течение 15 мин при 80 °С при закрытой крышке. К реакционной смеси добавляли 80 мкл гексана, и в таком виде проба пригодна для анализа в течение 1 нед, если она герметично закрыта и не происходит ее испарения.

Аналогичную процедуру проводили и с фекалиями (массой 4 мг).

Для проведения анализа смесь эфиров в количестве 2 мкл вводили в инжектор газового хроматографа «Agilent 7890» с масс-селективным детектором «Agilent 5975С» (фирма «Agilent Technologies», США) посредством автоматической системы ввода проб (автосэмплер), которая обеспечивает воспроизводимость времен удерживания хроматографических пиков и повышает точность автоматической обработки данных. Хроматографическое разделение пробы осуществляли на капиллярной колонке с метилсиликоновой привитой фазой HP-5ms (фирма «Agilent Technologies», США) длиной 25 м и внутренним диаметром 0,25 мм, газ-носитель – гелий. Режим анализа – программированный, скорость нагрева термостата колонки 7 °С/мин в диапазоне 135–320 °С. Выдержка при начальной температуре 1,5 мин. Температура испарителя – 250 °С, интерфейса – 250–300 °С.

Статистическую обработку результатов исследования провели с применением однофакторного дисперсионного анализа.

Результаты и их анализ

Результаты исследования микробных маркеров в крови. В норме общее количество микробных маркеров в крови должно находиться в диапазоне от 15 752 до 31 504 клеток/г · 10⁵, в том числе полезной микрофлоры от 9013

до 18 029 клеток/г · 10⁵, условно-патогенной – не более 13 475 клеток/г · 10⁵, коэффициент отношения полезной микрофлоры к условно-патогенной составляет 1,34.

При исследовании пристеночной микробиоты у обследуемых ЛПА обнаружено, что среднее количество микробных маркеров в крови у 129 ликвидаторов находилось на уровне 43 825 клеток/г · 10⁵ (в том числе полезной микрофлоры – до 19 353 клеток/г · 10⁵, условно-патогенной – 24 472 клеток/г · 10⁵, а коэффициент их соотношения составлял 0,79).

Общее количество микробных маркеров в крови у обследуемых ЛПА находилось в пределах нормы (колебания от средних значений ± 20 %) у 39 человек (30,2 %), выше нормы – у 78 человек (60,5 %) и ниже нормы – у 12 человек (9,3 %).

Необходимо отметить, что у ЛПА на ЧАЭС с пониженным общим количеством микробных маркеров в крови наблюдалось двукратное снижение количества микробных маркеров полезной микрофлоры на фоне сходным с нормой количеством условно-патогенной флоры (коэффициент их соотношения был равен 0,48) (рис. 1). Изменился количественный и качественный состав пристеночной микробиоты. Так, по сравнению с нормой отмечалось снижение количества микробных маркеров полезной микрофлоры *Eubacterium/Clostridium Coccoides* и *Bifidobacterium* в 1,8–2,0 раза на фоне некоторого компенсаторного увеличения микробных маркеров *Propionibacterium/Clostridium Subterminale* и *Lactobacillus* на 50 и 70 % соответственно (рис. 2).

Отмечалось увеличение количества микробных маркеров условно-патогенной микробиоты *Streptococcus* (оральные) в 10 раз, *Nocardia 14:1d11* – в 8,5 раза, *Clostridium histolyticum* – в 4 раза, *Streptomyces* – в 3 раза, *Clostridium ramosum* и *Propionibacterium jen-*

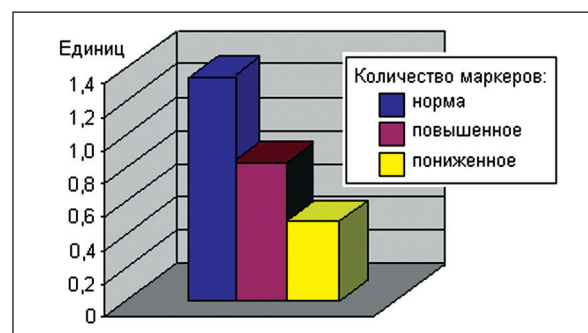


Рис. 1. Величина отношения количества микробных маркеров полезной и условно-патогенной микрофлоры у ЛПА на ЧАЭС в зависимости от общего количества микробных маркеров в крови.

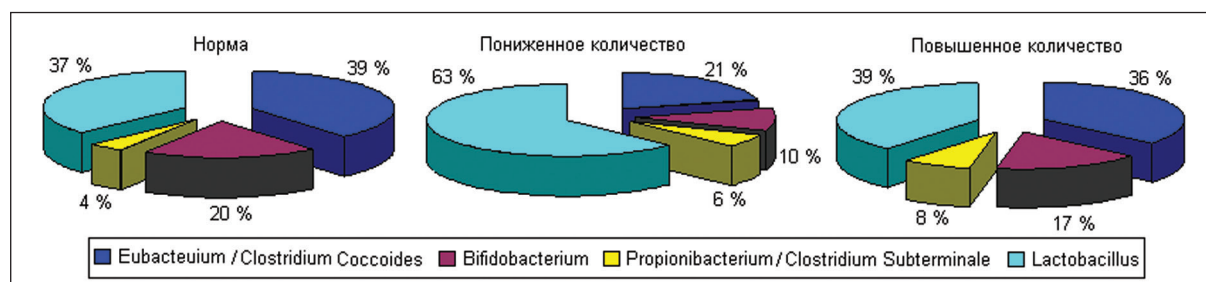


Рис. 2. Структура микробных маркеров полезной микрофлоры в норме с пониженным и повышенным общим количеством микробных маркеров в крови и у ЛПА на ЧАЭС.

senii – в 2 раза, *Nocardia asteroides* – в 1,5 раза при сниженном количестве микробных маркеров *Actinomyces viscosus* – в 4 раза, *Herpes* – в 2 раза и остальных представителей условно-патогенной флоры – в 4 раза (табл. 1).

Необходимо отметить, что у ЛПА на ЧАЭС с повышенным общим количеством микробных маркеров в крови выявлялось двукратное повышение количества микробных маркеров условно-патогенной флоры на фоне умеренного повышения на 34 % количества микробных маркеров полезной микрофлоры (коэффициент их соотношения был равен 0,83) (см. рис. 1). Изменился количественный и качественный состав пристеночной микробиоты. Так, на фоне незначительного снижения микробных маркеров полезной микрофлоры *Eubacterium*/Cl. *Coccoides* и *Bifidobacterium*

на 8–15 % выявлялось увеличение в 2 раза микробных маркеров *Propionibacterium*/Cl. *Subterminale* (см. рис. 2).

Отмечалось увеличение количества микробных маркеров условно-патогенной микробиоты *Nocardia* 14:1d11 в 8 раз, *Streptococcus* (оральные) – в 6 раз, *Clostridium histolyticum* – в 5 раз, *Streptomyces* и *Propionibacterium jensenii* – в 3 раза, *Clostridium ramosum* – в 1,7 раза, *Nocardia asteroides* – в 1,5 раза при сниженном количестве микробных маркеров микроскопических грибов, продуцирующих кампестерол, в 21 раз и ситостерол – в 14 раз, *Actinomyces viscosus* – в 2 раза, *Staphylococcus intermedius*, *Streptococcus mutans* и *Herpes* – в 1,2 раза и остальных представителей условно-патогенной флоры – в 3 раза (см. табл. 1).

Таблица 1

Микробные маркеры условно-патогенной и патогенной микрофлоры в крови у ЛПА на ЧАЭС

Условно-патогенная и патогенная микрофлора	Показатель микробных маркеров, п (%), г · 10 ⁵			p < 0,05
	низкий (1)	нормальный (2)	высокий (3)	
Грамположительные кокки аэробные или факультативные				
Streptococcus (опальные)	2522 (17,0)	249 (1,8)	3154 (10,8)	1/2; 2/3
Staphylococcus intermedius	791 (5,3)	756 (5,6)	1389 (4,8)	2/3
Streptococcus mutans	177 (1,2)	229 (1,7)	367 (1,3)	1/2; 2/3
Анаэробы				
Clostridium histolyticum	396 (2,7)	95 (0,7)	1080 (3,7)	1/2; 2/3
Clostridium ramosum	4197 (28,4)	2000 (14,8)	7262 (24,9)	1/2; 2/3
Propionibacterium jensenii	431 (2,9)	185 (1,4)	1113 (3,8)	1/2; 2/3
Propionibacterium acnes	84 (0,6)	0,0	155 (0,5)	1/2; 2/3
Actinomyces viscosus	305 (2,1)	1190 (8,8)	1221 (4,2)	1/2
Грамположительные палочки аэробные или факультативные				
Nocardia, 14:1d11	2376 (16,1)	262 (1,9)	4393 (15,1)	1/2; 2/3
Nocardia asteroides	731 (4,9)	448 (3,3)	1457 (5)	1/2; 2/3
Грибы, вирусы и прочие				
Streptomyces	190 (1,3)	62 (0,5)	343 (1,2)	1/2; 2/3
Herpes	797 (5,4)	1648 (12,2)	2929 (10,1)	1/2; 2/3
Микроскопические грибы, кампестерол	0,0	842 (6,2)	82 (0,3)	1/2; 2/3
Микроскопические грибы, ситостерол	0,0	384 (2,8)	61 (0,2)	1/2; 2/3
Остальные				
Остальные	1762 (12,1)	4835 (38,0)	4123 (14,1)	1/2; 2/3
Общее количество	14 792 (100,0)	13 765 (100,0)	29 129 (100,0)	2/3

Обращают на себя внимание кардинальные различия в составе и количестве отдельных микробных маркеров в крови у ЛПА на ЧАЭС с различным общим количеством микробных маркеров. У ЛПА на ЧАЭС с пониженным общим количеством микробных маркеров обнаруживалось снижение маркеров *Eubacterium/Clostridium Coccoides*, *Bifidobacterium* в 2 раза и *Nocardia asteroides* – в 4 раза. В то же время, у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС с повышенным общим количеством микробных маркеров выявлялось увеличение маркеров *Propionibacterium/Clostridium Subterminale* в 2 раза и *Nocardia asteroides* в 1,5 раза и снижение маркеров микроскопических грибов, продуцирующих кампестерол, в 21 раз и ситостерол – в 14 раз.

Результаты исследования микробных маркеров в крови и фекалиях. Общее количество микробных маркеров в крови у обследуемых ЛПА находилось в пределах нормы (колебания от средних значений $\pm 20\%$) у 14 (47%) человек и выше нормы – у 16 (53%) человек. Общее количество микробных маркеров

в фекалиях у обследуемых ЛПА находилось в пределах нормы (колебания от средних значений $\pm 20\%$) у 10 (33%) человек и ниже нормы – у 20 (67%) человек (табл. 2).

В процессе исследования микробных маркеров установлено, что если у обследуемых ЛПА обнаруживалось повышенное общее количество микробных маркеров в крови, то, как правило, в фекалиях наблюдалось снижение их общего количества.

У ЛПА на ЧАЭС в крови с повышенным общим количеством микробных маркеров выявлялось двукратное повышение количества микробных маркеров *Propionibacterium/Clostridium Subterminale* на фоне снижения *Lactobacillus* на 14% (рис. 3). В то же время, в фекалиях с пониженным общим количеством микробных маркеров обнаруживалось повышение микробных маркеров *Eubacterium/Clostridium Coccoides* на 71% и снижение маркеров *Lactobacillus* – на 24%.

В крови обнаруживалось увеличение количества микробных маркеров условно-патогенной микрофлоры *Nocardia* 14:1d11

Таблица 2

Микробные маркеры условно-патогенной и патогенной микрофлоры в крови с повышенным общим количеством микробных маркеров и фекалиях с пониженным общим количеством микробных маркеров у ЛПА на ЧАЭС

Условно-патогенная и патогенная микрофлора	Показатель микробных маркеров, %					
	в крови		р <	в фекалиях		р <
	ЛПА	норма		ЛПА	норма	
Грамположительные кокки аэробные или факультативные						
Streptococcus гр. А	9,0	1,8	0,05	5,0	0,8	0,05
Staphylococcus intermedius	4,4	5,6	0,05	5,0	1,0	0,05
Streptococcus mutans	1,4	1,7		1,0	0,3	0,05
Анаэробы						
Clostridium histolyticum	3	0,7	0,05	0,0	0,2	
Clostridium ramosum	24,8	14,8		2,0	0,1	0,05
Clostridium propionicum	0,0	2,1	0,05	0,0	6,5	0,05
Clostridium perfringens	0,0	0,1		4,0	20,9	0,05
Peptostreptococcus anaerobius гр.1	0,0	0,0		9,0	7,1	0,05
Eubacterium (метаболизм)	0,0	0,4		35,0	43,6	0,05
Propionibacterium jensenii	5,7	1,4	0,05	4,0	4,5	
Actinomyces viscosus	5,0	8,8		1,0	1,3	0,05
Грамположительные палочки аэробные или факультативные						
Nocardia, 14:1d11	14,0	1,9	0,05	8,0	0,1	0,05
Nocardia asteroides	3,5	3,3		1,0	0,1	0,05
Bacillus megaterium	0,0	0,0		3,5	0,1	0,05
Грибы, вирусы и прочие						
Streptomyces	0,8	0,5		4,0	0,7	0,05
Herpes	11,1	12,2		0,0	0,0	
Микроскопические грибы, кампестерол	0,9	6,2	0,05	0,0	0,7	0,05
Микроскопические грибы, ситостерол	0,6	2,8	0,05	0,0	0,4	
Остальные						
Остальные	15,8	35,7	0,05	17,5	11,6	
Общее количество	100,0	100,0		100,0	100,0	

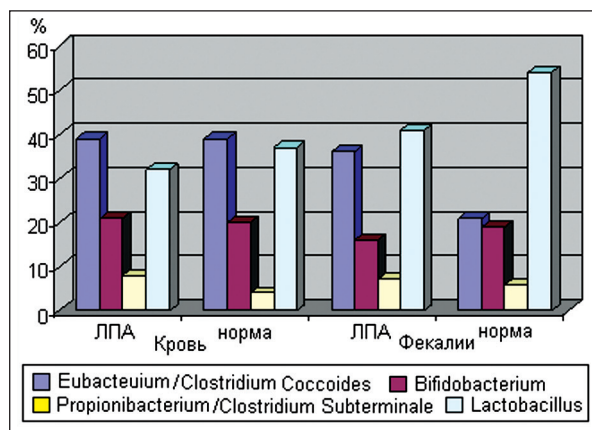


Рис. 3. Микробные маркеры полезной микрофлоры у ЛПА на ЧАЭС с повышенным общим количеством микробных маркеров в крови и пониженным общим количеством микробных маркеров в фекалиях.

в 7,4 раза, *Streptococcus* гр. А – в 5 раз, *Clostridium histolyticum* и *Propionibacterium jensenii* – в 4 раза, *Clostridium ramosum* и *Streptomyces* – в 1,7 раза. При этом выявлялось и снижение количества микробных маркеров *Actinomyces viscosus* в 1,8 раза, микрогрибов (кампестерол) – в 7 раз, микрогрибов (ситостерол) – в 5 раз, остальных маркеров условно-патогенной флоры – в 2,3 раза (см. табл. 2).

В то же время, в фекалиях обнаруживалось увеличение количества микробных маркеров условно-патогенной микробиоты: грамположительные кокки аэробные или факультативные (*Streptococcus* гр. А, *Staphylococcus intermedius*, *Streptococcus mutans*) – в 3–6 раз, *Streptomyces* – в 6 раз, остальных маркеров условно-патогенной флоры – в 1,5 раза. Отмечалось выраженное увеличение микробных маркеров *Nocardia 14:1d11* в 80 раз, *Clostridium ramosum* – в 20 раз, *Bacillus megaterium* – в 35 раз. Было обнаружено и снижение количества микробных маркеров *Clostridium perfringens* в 5 раз и *Eubacterium* (метаболизм) – в 1,2 раза (см. табл. 2).

Обращает на себя внимание увеличение количества микробных маркеров условно-патогенной микробиоты *Streptococcus* гр.А, *Clostridium ramosum*, *Nocardia 14:1d11*, *Streptomyces* как в крови, так и в фекалиях.

Заключение

Проведенное исследование микробиоты кишечника методом хромато-масс-спектрометрии микробных маркеров свидетельствует о наличии у обследуемых ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС

выраженного дисбиоза, который проявляется в следующем изменении микробиоты.

Общее количество микробных маркеров в крови у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС находилось выше нормы у 60,5% и ниже нормы – у 9,3%.

У ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС с пониженным общим количеством микробных маркеров в крови наблюдалось двукратное снижение количества полезной микрофлоры на фоне нормального количества условно-патогенной флоры с изменением ее качественного состава.

У обследованных лиц с повышенным общим количеством микробных маркеров в крови выявлялось двукратное повышение количества условно-патогенной флоры на фоне умеренного повышения количества полезной микрофлоры с изменением ее качественного состава.

При сопоставлении микробных маркеров в крови и фекалиях выявлено:

- увеличение общего количества микробных маркеров в крови при их снижении в фекалиях;
- двукратное повышение в крови количества микробных маркеров *Propionibacterium/Clostridium Subterminale* на фоне снижения *Lactobacillus*, при этом в фекалиях – повышение *Eubacterium/Clostridium Coccoides* и снижение *Lactobacillus*;
- увеличение количества микробных маркеров условно-патогенной микрофлоры как в крови, так и в фекалиях.

Полученные индивидуальные профили микробиоты послужили основой для целенаправленной коррекции выявленных нарушений, основными принципами которой являются: диета, деконтаминация условно-патогенной микрофлоры, восстановление эубиоза, лечение патологии, приведшей к дисбиозу.

Литература

1. Астафьев О.М., Макарова Н.В., Французова М.Н. [и др.]. Эпидемиологическая характеристика состояния здоровья ликвидаторов аварии на ЧАЭС в отдаленном периоде // 25 лет после Чернобыля: состояние здоровья, патогенетические механизмы. Опыт медицинского сопровождения ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской атомной электростанции (руководство для врачей). СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2011. С. 15–55.
2. Бацков С.С., Старосельская Н.А., Пронина Г.А. Диагностика и лечение заболеваний кишечника у ликвидаторов аварии на ЧАЭС // Там же. С. 324–329.

3. Вейант Р., Мосс У., Холлис Д. [и др.]. Определитель нетривиальных патогенных грамотрицательных бактерий. М.: Мир, 1999. 792 с.
4. Михайлова Д. О., Бобылева З. Д., Базарный В. В. [и др.]. Диагностическое значение различных иммунологических методов лабораторной диагностики легионеллеза // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2008. № 2. С. 51–53.
5. Осипов Г. А., Демина А. М. Хромато-масс-спектрометрическое обнаружение микроорганизмов в анаэробных инфекционных процессах // Вестн. РАМН. 1996. Т. 13, № 2. С. 52–59.
6. Fenollar F., Roux V., Stein A. [et al.]. Analysis of 525 samples to determine the usefulness of PCR amplification and sequencing of the 16S rRNA gene for diagnosis of bone and joint infections // J. Clin. Microbiol. 2006. Vol. 44, N 3. P. 1018–1028.
7. Jantzen E., Bryn K. Whole-cell and lipopolysaccharide fatty acids and sugars of gram-negative bacteria // Chem. methods in bacterial systematics. London: Acad. Press, 1985. P. 145–172.
8. Luckey T. D. Overview of gastrointestinal microecology // Nahrung. 1987. Vol. 31, N 5/6. P. 359–364.
9. Persing D. H. Polymerase chain reaction: trenches to benches // J. Clin. Microbiol. 1991. Vol. 29, N 7. P. 1281–1285.
10. Suau A., Bonnet R., Sutren M. [et al.]. Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut // Appl. Environ. Microbiol. 1999. Vol. 65, N 11. P. 4799–4807.
11. White D. C. Validation of quantitative analysis for microbial biomass, community structure, and metabolic activity // Adv. Limnol. 1988. N 31. P. 1–18.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией статьи.

Status of intestinal microbiota in liquidators of the Chernobyl accident aftermath

Rodionov G.G., Ushal I.E., Kolobova E.A., Svetkina E.V., Pavlova E.I.

The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia
(Russia, 194044, Saint-Petersburg, Academica Lebedeva Str., 4/2)

✉ Gennadii Georgievich Rodionov – Dr. Med. Sci. Associate Prof., Head of Research Laboratory of Toxicology and Drug Monitoring, the Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia (Russia, 194044, Saint-Petersburg, Academica Lebedeva Str., 4/2); e-mail: rodgengeor@yandex.ru;

Inna Edvardovna Ushal – PhD Biol. Sci., Senior Research Associate, Research Laboratory of Toxicology and Drug Monitoring, the Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia (Russia, 194044, Saint-Petersburg, Academica Lebedeva Str., 4/2); e-mail: innaushal@mail.ru;

Ekaterina Alekseevna Kolobova – chemist-expert, Research Laboratory of Toxicology and Drug Monitoring, the Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia (Russia, 194044, Saint-Petersburg, Academica Lebedeva Str., 4/2); e-mail: ekatderyabina@mail.ru;

Ekaterina Vladimirovna Svetkina – resident doctor, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, the Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia (Russia, 194044, Saint-Petersburg, Academica Lebedeva Str., 4/2); e-mail: moerabo4eemilo@gmail.com;

Elena Ivanovna Pavlova – PhD Student, Department of Clinical Laboratory Diagnostics, the Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia (Russia, 194044, Saint-Petersburg, Academica Lebedeva Str., 4/2) (Россия, 190044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 4/2); e-mail: lena19828@mail.ru.

Abstract. Results of mass spectrometry analysis of microbial markers in whole blood of 129 liquidators of the accident at the Chernobyl nuclear power plant are presented to study the wall (blood samples) and luminal (feces) intestinal microbiota. The method provides a new version of molecular microbiological study due to possible simultaneous quantitative determination of more than hundreds of microbial markers directly in biological samples without culturing the microorganisms, biochemical test materials or genetic primers. The study of blood and feces microbiota via gas chromatography-mass spectrometry of microbial markers suggests that examined liquidators of the accident at the Chernobyl nuclear power station have expressed intestinal dysbiosis: the total number of microbial markers are increased in the blood and decreased in the feces; in blood, the microbial markers of *Propionibacterium* / *Clostridium subterminale* are two-fold increased with decreased *Lactobacillus* markers, and in feces microbial markers *Eubacterium* / *Clostridium coccoides* are increased with decreased *Lactobacillus* markers; increased microbial markers of opportunistic microbiota in blood and feces). These individual profiles of microbiome served as the basis for targeted correction.

Keywords: emergency situation, accident, Chernobyl nuclear power station, liquidator of accident aftermath, mass spectrometry, microbial marker, microbiota, microorganism, microecological status.

References

1. Astaf'ev O.M., Makarova N.V., Frantsuzova M.N. [et al.]. Epidemiologicheskaya kharakteristika sostoyaniya zdorov'ya likvidatorov avarii na ChAES v otдалennom periode [Epidemiological characteristics of health of the Chernobyl liquidators of the accident at the Chernobyl nuclear power station in remote period]. 25 let posle chernobylya: sostoyanie zdorov'ya, patogeneticheskie mekhanizmy. Opyt meditsinskogo soprovozhdeniya likvidatorov posledstviy avarii na Chernobyl'skoi atomnoi elektrostantsii [25 years after Chernobyl: health, pathogenic mechanisms. The experience of medical support of the liquidators of consequences of the accident at the Chernobyl nuclear power station]. Sankt-Peterburg. 2011. Pp. 15–55. (In Russ.)

2. Batskov S.S., Starosel'skaya N.A., Pronina G.A. Diagnostika i lechenie zabolevanii kishechnika u likvidatorov avarii na ChAES [Diagnostics and treatment of intestinal disease of the liquidators of the accident at the Chernobyl nuclear power station]. 25 let posle chernobylya: sostoyanie zdorov'ya, patogeneticheskie mekhanizmy. Opyt meditsinskogo soprovozhdeniya likvidatorov posledstviy avarii na Chernobyl'skoi atomnoi elektrostantsii [25 years after Chernobyl: health, pathogenic mechanisms. The experience of medical support of the liquidators of consequences of the accident at the Chernobyl nuclear power station]. Sankt-Peterburg. 2011. Pp. 324–329. (In Russ.)

3. Weyant R.S., Moss W., Weaver R.E. [et al.]. Opredelitel' netrivial'nykh patogennykh gramotritsatel'nykh bakterii: transl. English. [Identification of unusual pathogenic gram-negative aerobic and facultatively anaerobic bacteria]. Moskva. 1999. 792 p. (In Russ.)

4. Mikhailova D.O., Bobyleva Z.D., Bazarnyi V.V. [et al.]. Diagnosticheskoe znachenie razlichnykh immunologicheskikh metodov laboratornoi diagnostiki legionelleza [Diagnostic role of different immunological methods for laboratory diagnostics of legionellosis]. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* [J. of Epidemiology and Microbiology, Immunology]. 2008. N 2. Pp. 51–53. (In Russ.)

5. Osipov G.A., Demina A.M. Khromato-mass-spektrometricheskoe obnaruzhenie mikroorganizmov v anaerobnykh infektsionnykh protsessakh [Recovering of microorganisms in anaerobic infections by Gas Chromatography-Mass Spectrometry]. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk* [Annals of the Russian Academy of Medical Sciences]. 1996. Vol. 13, N 2. Pp. 52–59. (In Russ.)

6. Fenollar F., Roux V., Stein A. [et al.]. Analysis of 525 samples to determine the usefulness of PCR amplification and sequencing of the 16S rRNA gene for diagnosis of bone and joint infections. *J. Clin. Microbiol.* 2006. Vol. 44, N 3. Pp. 1018–1028.

7. Jantzen E., Bryn K. Whole-cell and lipopolysaccharide fatty acids and sugars of gram-negative bacteria. Chem. methods in bacterial systematics. London: Acad. Press, 1985. Pp. 145–172.

8. Luckey T.D. Overview of gastrointestinal microecology. *Nahrung*. 1987. Vol. 31, N 5/6. Pp. 359–364.

9. Persing D.H. Polymerase chain reaction: trenches to benches. *J. Clin. Microbiol.* 1991. Vol. 29, N 7. Pp. 1281–1285.

10. Suau A., Bonnet R., Sutren M. [et al.]. Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. *Appl. Environ. Microbiol.* 1999. Vol. 65, N 11. Pp. 4799–4807.

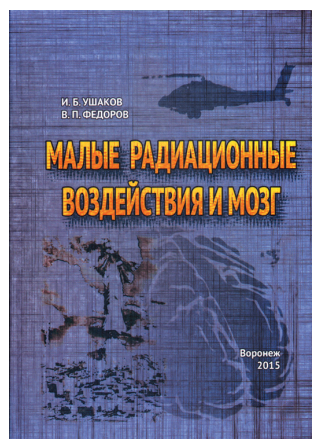
11. White D.C. Validation of quantitative analysis for microbial biomass, community structure, and metabolic activity. *Adv. Limnol.* 1988. N 31. Pp. 1–18.

Received 01.03.2016

For citing. Rodionov G.G., Ushal I.E., Kolobova E.A., Svetkina E.V., Pavlova E.I. Sostoyanie mikrobioty kishechnika u likvidatorov posledstviy avarii na Chernobyl'skoi AES. *Mediko-biologicheskoe i sotsial'no-psikhologicheskoe problemy bezopasnosti v chrezvychaynykh situatsiyakh*. 2016. N 1. Pp. 56–63. (In Russ.)

Rodionov G.G., Ushal I.E., Kolobova E.A., Svetkina E.V., Pavlova E.I. Status of intestinal microbiota in liquidators of the Chernobyl accident aftermath. *Medico-Biological and Socio-Psychological Problems of Safety in Emergency Situations*. 2016. N 1. Pp. 56–63. DOI 10.25016/2541-7487-2016-0-1-56-63

Вышла в свет монография



Ушаков И.Б., Федоров В.П. Малые радиационные воздействия и мозг : монография / [под ред. А.С. Штемберга]. – Воронеж : Научная книга, 2015. – 536 с.

ISBN 978-5-4446-0723-7. Ил. 251, табл. 127, библиогр. 757 названий. Тираж 1000 экз.

Представлены ретроспективный анализ состояния здоровья ликвидаторов, оценка профессионального долголетия, причин дисквалификации, качества жизни и изучение морфологических механизмов радиационных нарушений функций мозга в эксперименте на животных с последующим математическим моделированием наблюдаемых эффектов, составлением прогноза их развития и доза-временной экстраполяцией на человека. Это позволило считать, что эффекты внешних воздействий малых доз ионизирующего излучения при всех изученных режимах облучения имеют нелинейный стохастический характер, не оказывают существенного влияния на головной мозг и не являются, видимо, ведущей причиной нарушений психоневрологического статуса ликвидаторов радиационных аварий.

Издание адресовано научным работникам по радиобиологии, нейрофизиологии, радиационной неврологии, психиатрии, нейроморфологии и специалистам по радиационной гигиене и радиационной безопасности.