

СОСТОЯНИЕ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА У СПАСАТЕЛЕЙ МЧС РОССИИ, СТРАДАЮЩИХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ОРГАНОВ ПИЩЕВАРЕНИЯ

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

Изучен состав пристеночной микробиоты кишечника у 60 спасателей МЧС России и 59 гражданских лиц методом хромато-масс-спектрометрии микробных маркеров в крови. Проведена сравнительная оценка микроэкологического статуса у пациентов с функциональными заболеваниями желудочно-кишечного тракта и практически здоровых лиц. Определены количественные показатели микробиоты у сравниваемых групп. Выявлен избыточный рост микробиоты кишечника за счет увеличения количества условно-патогенной флоры на фоне снижения количества нормальной микрофлоры как у спасателей с заболеваниями гастроэнтерологического профиля, так и у практически здоровых спасателей.

Ключевые слова: спасатель, МЧС России, болезни органов пищеварения, микробиота кишечника, микробные маркеры, дисбиоз, дисбактериоз.

Введение

Деятельность человека в экстремальных условиях предъявляет повышенные требования к уровню его профессиональной подготовки и состоянию здоровья [1]. Спасатели, пожарные, сотрудники военизированных горноспасательных частей и др. относятся к основным профессиональным группам в системе МЧС России, деятельность которых реализуется в экстремальных условиях [4].

Профессиональная деятельность спасателей сопряжена с воздействием опасных и подчас непредсказуемых факторов, связанных с угрозой для жизни и здоровья. Такими факторами могут служить: токсические химические компоненты, продукты горения, высокая и низкая температуры воздуха, радиация, замкнутое пространство, высокие физические и эмоциональные нагрузки. Напряжение нервно-психических процессов, возникающее при выполнении задач в экстремальных ситуациях, приводит к изменениям в организме, которые находятся на грани переносимости и могут вызвать дезадаптационные расстройства, предболезнь и даже болезнь.

Одним из последствий стрессовых воздействий на организм человека является изменение общего количества и состава микрофлоры кишечника [7, 9]. Реакция кишечной микробиоты на их последствия заключается в нарушении проницаемости кишечной стен-

ки за счет изменения вегетативной регуляции, что в конечном результате приводит к изменению состава микроорганизмов и дисбалансу продуцируемых ими биологически активных веществ [3, 7, 9, 11]. Эти изменения являются ключевыми звеньями патогенеза целого ряда расстройств, обусловленных нарушением продукции необходимых для человека витаминов, ферментов, сигнальных молекул, медиаторов и других гормоноподобных соединений, необходимых для обеспечения метаболизма и поддержки функционирования различных систем и органов [10, 12, 17]. Доказано, что микроэкологический статус человека поддерживает гомеостаз организма и является необходимым условием его стабильного функционирования [13, 16]. В связи с этим на этапах реабилитации у лиц, подверженных экстремальным ситуациям при выполнении профессиональных задач (спасателей, ликвидаторов последствий аварий, комбатантов и др.), необходимо осуществлять микроэкологический контроль и при необходимости принимать меры к восстановлению микробиоценоза.

Применяемые сегодня в клинической практике методы определения микроэкологического статуса, а также диагностики инфекций имеют определенные ограничения и недостатки. Например, существенным недостатком классического бактериологического исследо-

Бацков Сергей Сергеевич – д-р мед. наук проф., зав. клинич. отд. гастроэнтерологии и гепатологии Всерос. центра экстрен. и радиац. медицины им. А. М. Никифорова МЧС России (Россия, 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 4/2), засл. врач России, гл. гастроэнтеролог МЧС России, e-mail: bs_her@mail.ru;

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

Муллина Екатерина Вячеславовна – аспирант Всерос. центра экстрен. и радиац. медицины им. А. М. Никифорова МЧС России (Россия, 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 4/2), e-mail: katenka79@mail.ru.

вания, 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 не прямым, 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 [5, 10, 14].

Из всего изложенного вытекает очевидная востребованность в надежном количественном экспресс-методе диагностики дисбактериозов и определения возбудителей инфекции. Таким методом является хемодифференциация микроорганизмов с помощью метода газовой хроматографии, основанного на количественном определении маркерных веществ микроорганизмов (жирных кислот, альдегидов, спиртов и стероидов). 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 в биоматериале.

Предлагаемый метод газовой хроматографии, совмещенной с масс-спектрометрией (ГХ–МС), позволяет детектировать в исследуемых образцах маркеры, компоненты клеток широкого спектра микроорганизмов нормальной и патогенной микрофлоры человека. Метод ГХ–МС обеспечивает возможность детектировать одновременно множество маркеров микроорганизмов при проведении анализа одного образца.

В стерильной среде – моче, крови, ликворе, гное, экссудате и других жидкостях, которые имеют развитую антигенную систему, не должно быть жизнеспособных микроорганизмов. А вот молекулярные микробные маркеры присутствовать должны. В процессе есте-

ственного отмирания микробных клеток или фагоцитоза они попадают закономерным физиологическим путем в эти жидкости. По ним можно реконструировать с помощью расчетного механизма метода ГХ–МС микробных маркеров микробную ассоциацию, которая реально действует в виде биопленки в тканях и в мукозном слое слизистых оболочек. Обнаруженный в результате систематических исследований гомеостаз микробных маркеров в крови [2, 8] и адекватность его профиля составу кишечной микрофлоры здорового человека обеспечили уникальную возможность мониторить состояние микрофлоры кишечника неинвазивным экспрессным методом – по анализу крови. Поскольку в кровь попадают также липидные компоненты отмирающих микроорганизмов из других органов, то его можно считать экспрессным методом определения микробиологического статуса организма человека.

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

Цель исследования – с помощью метода ГХ–МС микробных маркеров в крови оценить состояние пристеночной микрофлоры кишечника у спасателей МЧС России, страдающих функциональными заболеваниями органов пищеварения.

Материал и методы

Обследовали 60 спасателей МЧС России, из них 31 пациент с заболеваниями желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и 29 практически здоровых спасателей, а также 59 гражданских лиц, из них 30 пациентов, страдающих заболеваниями органов пищеварения, и 29 практически здоровых лиц одной возрастной категории (табл. 1). Лица 3-й и 4-й группы составили контрольную группу. У всех обследованных получено добровольное согласие, а дизайн обследования одобрен этическим комитетом Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины им. А. М. Никифорова МЧС России (Санкт-Петербург).

У пациентов 1-й и 2-й группы были диагностированы дискинезия желчного пузыря и сфинктера Одди (K82.8, K83.4 по МКБ-10), неязвенная диспепсия (K30 по МКБ-10), а также варианты синдрома раздраженного кишечника (K58 по МКБ-10).

Таблица 1

Распределение обследуемых лиц по группам

Характеристика группы	Номер	Количество	Возраст, года
Спасатели с заболеваниями ЖКТ	1-я	31	41,6 ± 2,7
Гражданские лица с заболеваниями ЖКТ	2-я	30	43,6 ± 4,2
Практически здоровые спасатели	3-я	29	38,5 ± 3,4
Практически здоровые гражданские лица	4-я	29	37,4 ± 4,3

Критериями исключения являлись грубая органическая патология, органическое поражение центральной нервной системы и психические заболевания. За 3 мес до забора крови для исследования пациенты не принимали антибиотики и нестероидные противовоспалительные средства.

Для оценки состояния микробиоты кишечника выполняли исследование микробных маркеров в крови методом ГХ–МС. Данный метод предоставляет возможность разложения суперпозиции всего пула микробных маркеров, что позволяет оценить вклад от каждого из сотен видов микроорганизмов, обитающих в различных системах и органах [6].

Для анализа цельную венозную кровь с гепарином или ЭДТА (этилендиаминтетраацетат) в количестве 40 мкл пипеткой переносили в вил (емкостью 1,5 мл с завинчивающейся 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 завинчивали крышкой и подвергали кислому метанолизу при 80 °С в течение 1 ч. К охлажденной реакционной среде добавляли 300 нг стандарта (дейтерометиловый 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 вил, 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.

Для проведения анализа смесь эфиров в количестве 2 мкл вводили в инжектор газового хроматографа «Agilent 7890» с масс-селективным детектором «Agilent 5975C» («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 («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.

Для отнесения маркеров к конкретным микроорганизмам, наряду с авторскими данными (740 штаммов микроорганизмов), использована база данных (2000 штаммов) прибора Шерлок (MIDI Inc, Delaware, USA) для хроматографической идентификации микроорганизмов по жирным кислотам. Расчет концентрации маркеров и отнесение их к конкретным микроорганизмам проводят по программному продукту, поставляемому разработчиком. Площадь пика маркера пропорциональна его концентрации, а следовательно, концентрации соответствующего микроорганизма, которая определяется как число клеток N_i в единице объема или массы пробы по формуле:

$$N_i = A_i [Mst / (q_2 \cdot Msam \cdot Ast)] / Ri_i,$$

где выражение в квадратных скобках – постоянный коэффициент:

$$k = Mst / q_2 \cdot Msam \cdot Ast = Mst / (5,1 \cdot 10^{-15} \cdot Msam \cdot Ast),$$

A_i – площадь пика маркера;

Mst – количество введенного в пробу стандарта, мг;

$Msam$ – количество пробы, мг;

Ast – площадь пика стандарта;

Ri_i – доля в % маркера с индексом i в профиле жирной кислоты определяемого микроба с номером $1(N_i)$;

q_2 – коэффициент, равный $5,1 \cdot 10^{-15}$, г.

Предполагается, что 1 г микробной биомассы содержит $5,9 \cdot 10^{12}$ клеток бактерий, а содержание жирных кислот в клетке равно в среднем 3 %.

Соответственно число клеток любого следующего микроорганизма можно рассчитать по аналогичной формуле: $N_2 = A_i \cdot k/Ri_2$ и т. д., умножая площади пика A_i маркера, по которому проводятся вычисления, на коэффициент k и деля на содержание маркера (в %) в составе жирных кислот этого микроорганизма.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакетов программ SPSS 11.5 и Statistica 6.0.

Результаты и их анализ

При исследовании пристеночной микрофлоры в 4-й группе обследуемых среднее количество микробных маркеров в крови находилось на уровне $29489 \text{ клеток/г} \cdot 10^5$, в том числе полезной микрофлоры – до $19189 \text{ клеток/г} \cdot 10^5$, условно-патогенной – $10299 \text{ клеток/г} \cdot 10^5$, а коэффициент отношения полезной микрофлоры к условно-патогенной составлял 1,86.

У обследованных лиц во 2-й группе среднее количество микробных маркеров в крови находилось на уровне $48717 \text{ клеток/г} \cdot 10^5$, в том числе полезной микрофлоры – до $14943 \text{ клеток/г} \cdot 10^5$, условно-патогенной – $33775 \text{ клеток/г} \cdot 10^5$, а коэффициент их соотношения – 0,44. Выявленное повышенное общее количество микробных маркеров в крови у обследуемых 2-й группы в 1,7 раза (в основном за счет увеличения условно-патогенной флоры в 3,3 раза и снижения количества полезной микрофлоры в 1,3 раза) можно интерпретировать как синдром избыточного бактериального роста в кишечнике.

Установлено, что у обследованных спасателей 1-й группы среднее количество микробных маркеров в крови находилось на уровне $91548 \text{ клеток/г} \cdot 10^5$, в том числе полезной микрофлоры – до $14398 \text{ клеток/г} \cdot 10^5$, условно-патогенной – $77151 \text{ клетки/г} \cdot 10^5$, а коэффициент их соотношения – 0,19. У половины обследуемых спасателей 3-й группы среднее количество микробных маркеров в крови находилось на уровне $43615 \text{ клеток/г} \cdot 10^5$, в том числе полезной микрофлоры – до $13222 \text{ клеток/г} \cdot 10^5$, условно-патогенной – $30393 \text{ клеток/г} \cdot 10^5$, а коэффициент их соотношения – 0,44.

Полученные данные в 3-й группе обследуемых спасателей практически совпадают с данными 2-й группы. Что касается 1-й группы обследуемых спасателей, то в этой группе выявлялось выраженное увеличение общего количества микробных маркеров в крови в 3 раза по сравнению с 4-й группой и в 2 раза

по сравнению со 2-й и 3-й группами (за счет увеличения количества условно-патогенной группы в 7,7 раза по сравнению с 4-й группой и в 2 раза по сравнению с другими группами). Об этом свидетельствует и коэффициент отношения полезной микрофлоры к условно-патогенной. Полученные данные у обследуемых спасателей также можно интерпретировать как синдром избыточного бактериального роста в кишечнике, особенно в 1-й группе. При этом изменялся и состав микрофлоры кишечника за счет увеличения условно-патогенной флоры на фоне снижения нормальной микрофлоры в 1,3 раза по сравнению с данными 4-й группы.

Из данных табл. 2 видно, что увеличение количества микробных маркеров условно-патогенной флоры происходило в основном за счет анаэробов (далее – грамположительные палочки и кокки аэробные или факультативные). При этом стоит отметить, что количество микробных маркеров некоторых представителей условно-патогенной микрофлоры увеличивалось более чем в 2 раза [*Streptococcus* (опалыные), *Eubacterium lentum* (группа А), *Clostridium histolyticum*, *Nocardia*, *Streptomyces*, *Clostridium ramosum*, *Nocardia asteroides*, *Butyrivibrio/Clostridium Fimetarum*, *Propionibacterium jensenii*].

Обращало на себя внимание то обстоятельство, что снижение численности микробных маркеров полезной микрофлоры в крови *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* и *Propionibacterium* происходило на фоне компенсаторного увеличения количества микробных маркеров *Eubacterium/Clostridium* *Coocoides* в крови спасателей обеих групп и гражданских лиц с заболеваниями органов пищеварения (табл. 3, 4).

Анализ количественного содержания микробных маркеров в крови различных групп микроорганизмов показал ряд достоверных отличий в группах. У спасателей 1-й группы было обнаружено увеличение количества микробных маркеров аэробных или факультативных грамположительных кокков как относительно больных 2-й группы, так и относительно здоровых спасателей 3-й группы. Необходимо отметить, что у здоровых спасателей наблюдалось достоверное увеличение микробных маркеров аэробных или факультативных грамположительных кокков относительно здоровых гражданских лиц 4-й группы и по некоторым показателям значительное повышение относительно референтных значений (табл. 5).

Таблица 2

Распространенность повышенного количества микробных маркеров условно-патогенной микрофлоры в крови (%)

Показатель	Группа			
	1-я	2-я	3-я	4-я
Грамположительные кокки аэробные или факультативные				
<i>Staphylococcus intermedius</i>	61	34	22	16
<i>Streptococcus</i> (оральные)	72	37	29	18
<i>Streptococcus mutans</i>	58	49	31	14
Анаэробы				
<i>Butyrivibrio/Clostridium fimetarium</i>	48	23	19	0
<i>Clostridium histolyticum</i>	71	16	32	0
<i>Clostridium ramosum</i>	67	45	42	12
<i>Eubacterium lentum</i> (группа A)	52	26	28	9
<i>Prevotella</i>	43	21	24	5
<i>Propionibacterium acnes</i>	59	0	0	0
<i>Propionibacterium jensenii</i>	61	37	43	16
<i>Propionibacterium</i> spp. (<i>P. freuden</i>)	44	21	18	14
<i>Ruminococcus</i>	56	27	12	9
Грамположительные палочки аэробные или факультативные				
<i>Bacillus megaterium</i>	79	28	27	4
<i>Nocardia</i> (14:1d11)	86	23	26	6
<i>Nocardia asteroides</i>	83	47	45	18
Грибы, вирусы и прочие				
<i>Streptomyces</i>	85	17	28	7
<i>Mycobacterium/Candida</i>	37	22	0	0
Herpes	53	37	42	26
<i>Pseudonocardia</i>	48	26	18	9

Таблица 3

Распространенность пониженного содержания микробных маркеров нормальной микрофлоры (%)

Показатель	Группа			
	1-я	2-я	3-я	4-я
Анаэробы				
<i>Bifidobacterium</i>	57	23	7	0
<i>Propionibacterium</i>	49	18	21	7
<i>Eubacterium/Clostridium Coocoides</i>	12	10	14	6
Грамположительные палочки аэробные или факультативные				
<i>Lactobacillus</i>	71	44	53	4

Таблица 4

Распространенность повышенного содержания микробных маркеров нормальной микрофлоры (%)

Показатель	Группа			
	1-я	2-я	3-я	4-я
Анаэробы				
<i>Bifidobacterium</i>	12	19	17	36
<i>Propionibacterium</i>	14	12	15	17
<i>Eubacterium/Clostridium Coocoides</i>	48	52	46	18
Грамположительные палочки аэробные или факультативные				
<i>Lactobacillus</i>	6	14	12	19

Таблица 5

Содержание микробных маркеров аэробных или факультативных грамположительных кокков, ($M \pm m$) клеток/г · 10⁵

Показатель	Группа				p < 0,05
	1-я	2-я	3-я	4-я	
<i>Streptococcus</i> (оральные)	487,0 ± 52,9	176,0 ± 43,1	129,4 ± 26,5	32,4 ± 15,3	1–2, 3–4, 1–3, 2–4
<i>Staphylococcus intermedius</i>	3863,2 ± 568,1	1184,3 ± 352,4	896,4 ± 123,6	418,4 ± 97,6	1–2, 3–4, 1–3, 2–4
<i>Enterococcus</i>	218,3 ± 15,9	123,4 ± 12,6	93,5 ± 24,7	45,8 ± 12,5	1–2, 3–4, 1–3, 2–4
<i>Streptococcus mutans</i>	4643,0 ± 294,5	1083,0 ± 378,7	1832,0 ± 216,5	256,2 ± 24,3	1–2, 3–4, 1–3, 2–4

Из данных, представленных в табл. 6, следует, что увеличение количества микробных маркеров условно-патогенной флоры происходило в основном за счет анаэробных микроорганизмов. Также отмечали достоверное повышение по ряду показателей условно-патогенной микрофлоры у спасателей 1-й группы относительно больных 2-й группы.

Было выявлено достоверное снижение уровня микробных маркеров *Bifidobacterium* у больных 1-й группы относительно пациентов 2-й группы, а также практически здоровых спасателей 3-й группы. Также прослеживалась тенденция к снижению микробных маркеров *Bifidobacterium* у здоровых спасателей 3-й группы относительно лиц 4-й группы (см. табл. 6).

Результаты оценки содержания микробных маркеров аэробных или факультативных грамположительных палочек свидетельствовали о том, что у спасателей 1-й группы имело место достоверное увеличение микробных маркеров аэробных или факультативных грамположительных палочек как относительно больных 2-й группы, так и относительно здоровых спасателей 3-й группы. Обращало

на себя внимание достоверное снижение микробных маркеров *Lactobacillus* во всех группах спасателей относительно аналогичных групп гражданских лиц (табл. 7).

Оценка содержания микробных маркеров аэробных или факультативных грамотрицательных палочек показала достоверное повышение маркеров некоторых микроорганизмов [*Helicobacter pylori*, h. 18, Enterobacteriaceae (*E. coli*)] у спасателей 1-й группы относительно больных 2-й группы и повышение маркеров некоторых микроорганизмов [*Helicobacter pylori*, h18, *Achromobacter*, Enterobacteriaceae (*E. coli*)] относительно здоровых спасателей 3-й группы (табл. 8).

Результаты оценки содержания микробных маркеров грибов, вирусов и других микроорганизмов свидетельствовали о достоверном повышении микробных маркеров *Mycobacterium/Candida* у спасателей 1-й группы относительно больных гражданских лиц 2-й группы. При этом показатели содержания микробных маркеров *Streptomyces* и микроскопических грибов (ситостерол) у здоровых спасателей 3-й группы были достоверно выше, чем у здоровых гражданских

Таблица 6

Содержание микробных маркеров анаэробных микроорганизмов, ($M \pm m$) клеток/г $\cdot 10^5$

Показатель	Группа				p < 0,05
	1-я	2-я	3-я	4-я	
<i>Actinomyces viscosus</i>	3628,7 $\pm$ 258,4	2016,3 $\pm$ 376,5	2426,5 $\pm$ 282,3	480,4 $\pm$ 141,6	1-2, 1-3, 2-4, 3-4
<i>Bacteroides fragilis</i>	901,0 $\pm$ 48,4	136,8 $\pm$ 27,2	362,1 $\pm$ 31,3	0,0	1-2, 1-3, 2-4, 3-4
<i>Bacteroides hypermegas</i>	239,2 $\pm$ 59,2	154,4 $\pm$ 23,8	37,5 $\pm$ 16,1	0,0	1-2, 3-4, 1-3, 2-4
<i>Bifidobacterium</i>	1619,3 $\pm$ 237,5	2110,2 $\pm$ 351,4	3159,1 $\pm$ 452,3	4437,5 $\pm$ 224,5	1-2, 1-3, 2-4
<i>Butyrivibrio/Clostridium fimetarium</i>	2384,1 $\pm$ 1351,3	1294,6 $\pm$ 978,5	2251,0 $\pm$ 1232,4	0,0	1-2, 2-4, 3-4
<i>Clostridium Difficile</i>	782,4 $\pm$ 36,7	580,0 $\pm$ 79,8	324,7 $\pm$ 61,4	142,7 $\pm$ 89,5	1-3, 2-4
<i>Clostridium histolyticum</i>	1147,5 $\pm$ 221,3	76,2 $\pm$ 24,6	452,4 $\pm$ 131,8	0,0	1-2, 1-3, 2-4, 3-4
<i>Clostridium perfringens</i>	918,2 $\pm$ 126,2	614,0 $\pm$ 82,3	158,4 $\pm$ 34,3	0,0	1-2, 1-3, 2-4, 3-4
<i>Clostridium ramosum</i>	8253,4 $\pm$ 1126,2	3527,0 $\pm$ 682,7	3414,0 $\pm$ 432,3	986,4 $\pm$ 41,9	1-2, 1-3, 3-4, 2-4
<i>Eubacterium</i>	359,7 $\pm$ 37,2	68,9 $\pm$ 20,5	164,3 $\pm$ 28,2	52,5 $\pm$ 21,7	1-3, 3-4, 1-2
<i>Eubacterium lentum</i> (rp. A)	675,4 $\pm$ 82,3	324,2 $\pm$ 41,6	387,7 $\pm$ 41,6	134,3 $\pm$ 62,1	1-2, 1-3, 3-4
<i>Eubacterium/Cl. Coocoides</i>	6105,0 $\pm$ 141,6	6232,5 $\pm$ 182,7	5782,3 $\pm$ 163,4	6935,6 $\pm$ 124,5	
<i>Fusobacterium/ Haemophilus</i>	195,4 $\pm$ 53,7	176,8 $\pm$ 45,4	31,2 $\pm$ 21,3	0,0	3-4, 1-3, 2-4
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> (rp. 1)	866,2 $\pm$ 237,4	557,0 $\pm$ 162,5	345,4 $\pm$ 134,1	0,0	1-3, 2-4
<i>Porphyromonas</i>	206,4 $\pm$ 38,5	477,7 $\pm$ 42,6	56,3 $\pm$ 27,5	32,3 $\pm$ 19,4	1-2, 1-3, 2-4
<i>Prevotella</i>	97,3 $\pm$ 35,2	39,6 $\pm$ 31,4	41,4 $\pm$ 19,6	18,3 $\pm$ 14,2	
<i>Propionibacterium</i>	1642,0 $\pm$ 424,7	291,0 $\pm$ 138,4	822,0 $\pm$ 257,5	81,7 $\pm$ 74,2	3-4, 1-2, 2-4
<i>Propionibacterium acnes</i>	179,0 $\pm$ 37,2	0,0	0,0	0,0	1-2, 1-3
<i>Propionibacterium jensenii</i>	976,6 $\pm$ 152,4	403,9 $\pm$ 138,6	608,3 $\pm$ 382,3	121,4 $\pm$ 42,5	3-4, 2-4
<i>Propionibacterium spp. (P. freuden)</i>	4252,6 $\pm$ 246,1	1956,3 $\pm$ 168,3	925,4 $\pm$ 124,5	869,8 $\pm$ 324,5	1-2, 1-3, 2-4
<i>Ruminococcus</i>	2895,3 $\pm$ 964,3	1342,0 $\pm$ 572,5	319,5 $\pm$ 211,6	163,4 $\pm$ 124,6	1-2, 1-3, 2-4
Актиномицеты	232,1 $\pm$ 31,7	182,4 $\pm$ 44,2	193,4 $\pm$ 72,6	66,3 $\pm$ 42,3	1-2, 3-4, 2-4

Таблица 7

Содержание микробных маркеров аэробных или факультативных грамположительных палочек, ($M \pm m$) клеток/г $\cdot 10^5$

Показатель	Группа				p < 0,05
	1-я	2-я	3-я	4-я	
Bacillus cereus	1857,2 $\pm$ 125,7	461,4 $\pm$ 56,5	453,9 $\pm$ 49,4	31,8 $\pm$ 26,7	1-2, 1-3, 2-4, 3-4
Nocardia (14:1d11)	9439,2 $\pm$ 3231,5	1272,1 $\pm$ 789,3	1184,0 $\pm$ 986,7	311,4 $\pm$ 124,2	1-2, 1-3, 2-4, 3-4
Nocardia asteroides	2162,8 $\pm$ 553,9	1847,6 $\pm$ 284,3	1049,8 $\pm$ 254,6	479,5 $\pm$ 98,3	1-2, 2-4, 3-4
Lactobacillus	2420,6 $\pm$ 482,7	4643,5 $\pm$ 562,2	3354,8 $\pm$ 872,4	6946,7 $\pm$ 537,6	1-2, 3-4
Rhodococcus	1711,3 $\pm$ 362,7	839,5 $\pm$ 128,1	847,4 $\pm$ 216,3	625,4 $\pm$ 134,8	1-2, 1-3
Corineform CDC-group XX	1178,3 $\pm$ 285,5	745,4 $\pm$ 235,6	505,8 $\pm$ 324,8	331,2 $\pm$ 232,7	1-2
Bacillus megaterium	8448,5 $\pm$ 3243,6	6021,4 $\pm$ 2578,4	2317,6 $\pm$ 918,1	2450,4 $\pm$ 136,4	1-2, 1-3

Таблица 8

Содержание микробных маркеров аэробных или факультативных грамотрицательных палочек, ($M \pm m$) клеток/г $\cdot 10^5$

Показатель	Группа				p < 0,05
	1-я	2-я	3-я	4-я	
Achromobacter	142,4 $\pm$ 63,4	201,5 $\pm$ 51,7	0,0	0,0	1-3
Helicobacter pylori, h 18	1346,4 $\pm$ 182,5	478,2 $\pm$ 262,7	491,8 $\pm$ 154,5	62,5 $\pm$ 54,1	1-2, 1-3, 3-4
Семейство Enterobacteriaceae (E. coli)	1358,4 $\pm$ 1124,3	895,2 $\pm$ 351,4	325,7 $\pm$ 267,5	45,3 $\pm$ 21,6	1-2, 1-3, 3-4

Таблица 9

Содержание микробных маркеров грибов, вирусов и прочих микроорганизмов, ($M \pm m$) клеток/г $\cdot 10^5$

Показатель	Группа				p < 0,05
	1-я	2-я	3-я	4-я	
Микроскопические грибы (кампестерол)	1442,6 $\pm$ 1276,4	637,0 $\pm$ 372,5	927,8 $\pm$ 324,6	482,3 $\pm$ 133,7	2-4, 3-4
Микроскопические грибы (ситостерол)	824,3 $\pm$ 254,3	618,4 $\pm$ 332,7	518,5 $\pm$ 211,4	126,3 $\pm$ 98,4	
Mycobacterium/Candida	704,5 $\pm$ 282,7	411,7 $\pm$ 354,6	0,0	0,0	1-2, 2-4
Streptomyces	5330,8 $\pm$ 3829,6	1026,6 $\pm$ 562,3	1731,5 $\pm$ 781,4	154,8 $\pm$ 62,7	2-4, 3-4
Herpes	5412,6 $\pm$ 2511,7	3265,4 $\pm$ 2186,4	4548,7 $\pm$ 2754,9	2106,4 $\pm$ 1942,6	
Pseudonocardia	769,5 $\pm$ 682,3	224,5 $\pm$ 118,6	143,2 $\pm$ 134,5	59,6 $\pm$ 47,8	

лиц 4-й группы. Также обращало на себя внимание повышение маркеров вируса Herpes у спасателей 1-й группы (табл. 9).

Заключение

Проведенное исследование микробиоты кишечника методом хромато-масс-спектрометрии микробных маркеров в крови свидетельствует о наличии у спасателей дисбиоза кишечника, который в большей степени был выражен у спасателей, страдающих заболеваниями желудочно-кишечного тракта, и проявлялся увеличением общего количества микробных маркеров в крови, увеличением количества микробных маркеров условно-патогенной флоры, а также снижением количества микробных маркеров одного или двух представителей нормальной микрофлоры в крови (Bifidobacterium, Lactobacillus и Propionibacterium) на фоне повышения микробных маркеров другого представителя комменсальной микрофлоры (Eubacterium/Clostridium Coocoides).

Наличие выраженного дисбиоза кишечника, характерного для спасателей с патологией пищеварительного тракта, может значитель-

но осложнять течение заболевания. Проявления дисбиоза, выявленные у здоровых спасателей, могут служить предикторами развития патологии пищеварительной системы, что обуславливает необходимость контроля и целенаправленной коррекции их соматического состояния и микробиологического статуса.

Литература

- Алексанин С.С., Астафьев О.М., Санников М.В. Совершенствование системы медицинских обследований спасателей и пожарных МЧС России // Медицина катастроф. 2010. Т. 71, № 3. С. 8–12.
- Белобородова Н.В., Осипов Г.А. Гомеостаз малых молекул микробного происхождения и его роль во взаимоотношениях микроорганизмов с хозяином // Вестник РАМН. 1999. Т. 16, № 7. С. 25–31.
- Вейант Р., Мосс У., Уивер Р. [и др.]. Определитель нетривиальных патогенных грамотрицательных бактерий. М.: Мир, 1999. 790 с.
- Евдокимов В.И. Рискметрические показатели чрезвычайных ситуаций в Российской Федерации в 2004–2013 гг. // Медицина катастроф. 2015. № 1. С. 11–14.
- Михайлова Д.О., Бобылева З.Д., Базарный В.В. [и др.]. Диагностическое значение различных иммунологических методов лабораторной диагно-

стики легионеллеза // Журн. микробиол., эпидемиол. иммунобиол. 2008. № 2. С. 51–53.

6. Осипов Г.А. Демина А.М. Хромато-масс-спектрометрическое обнаружение микроорганизмов в анаэробных инфекционных процессах // Вестн. РАМН. 1996. Т. 3, № 2. С. 52–59.

7. Barbara G., Stanghellini V., Brandi G. [et al.]. Interactions between commensal bacteria and gut sensorimotor function in health and disease // Am. J. Gastroenterol. 2005. Vol. 100. P. 2560–2568.

8. Beloborodova N.V., Osipov G.A. Small molecules originating from microbes (SMOM) and their role in microbes-host relationship // Microb. Ecol. Heal. Dis., SCUP. 2000. Vol. 12. P. 12–21.

9. Codling C., O'Mahony L., Shanahan F. [et al.]. A molecular analysis of fecal and mucosal bacterial communities in irritable bowel syndrome // Dig. Dis. Sci. 2010. Vol. 55. P. 392–397.

10. 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.

11. Hattori M., Taylor T. The human intestinal microbiome: a new frontier of human biology // DNA Res. 2009. N 16. P. 1–12.

12. Kassinen A., Krogius-Kurikka L., Makivuokko H. [et al.]. The fecal microbiota of irritable bowel syndrome patients differs significantly from that of healthy subjects // Gastroenterology. 2007. Vol. 133. P. 24–33.

13. Khan W., Collins S. Gut motor function: immunological control in enteric infection and inflammation // Clin. Exp. Immunol. 2006. N 143. P. 389–397.

14. Persing D.H. Polymerase chain reaction: trenches to benches // J. Clin. Microbiol. 1991 Vol. 29, N 7. P. 1281–1285.

15. Spiller R. Role of nerves in enteric infection // Gut. 2002. N 51. P. 759–762.

16. Thompson J., Quigley E., Adrian T. Qualitative changes in enteric flora and short-chain fatty acids after intestinal resection // Dig. Dis. Sci. 1998. Vol. 43. P. 624–631.

17. Uribe A., Alam M., Johansson O. [et al.]. Microflora modulates endocrine cells in the gastrointestinal mucosa of the rat // Gastroenterology. 1994. Vol. 107. P. 1259–1269.

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

Поступила 21.06.2016

Для цитирования. Бацков С.С., Родионов Г.Г., Муллина Е.В. Состояние микробиоты кишечника у спасателей МЧС России, страдающих функциональными заболеваниями органов пищеварения // Мед.-биол. и соц.-психол. пробл. безопасности в чрезв. ситуациях. 2016. № 3. С. 27–35. DOI 10.25016/2541-7487-2016-0-3-27-35

The status of the intestinal microbiota in rescue workers of Russia EMERCOM suffering from functional diseases of the digestive system

Batskov S. S., Rodionov G. G., Mullina E. V.

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

Sergei Sergeevich Batskov – Dr. Med. Sci. Prof., Head of Gastroenterology and Hepatology Department, The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia (Russia, 194044, Saint Petersburg, Academica Lebedeva Str., 4/2); e-mail: medicine@arterm.spb.ru;

Gennadii Georgievich Rodionov – Dr. Med. Sci. Doc., Head of research laboratory of toxicology and drug monitoring of the research Department of bioindication, 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;

Ekaterina Vyacheslavovna Mullina – PhD Student, The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia (Russia, 194044, Saint Petersburg, Academica Lebedeva Str., 4/2), e-mail: katenka79@mail.ru.

Abstract. The composition of microbial markers was studied in the blood of 60 rescue workers of Russia EMERCOM and 59 civilians. Microecological status was comparatively assessed in patients with functional diseases of the gastrointestinal tract vs apparently healthy individuals. Microbiota parameters were quantified in comparison groups. Overgrowth of the gut microbiota, in particular conditionally pathogenic flora, was revealed while normal microflora reduced both in apparently healthy rescue workers and those with gastroenterological diseases.

Keywords: rescuer, EMERCOM of Russia, diseases of the digestive system, gut microbiota, microbial markers, dysbiosis, dysbacteriosis.

References

1. Aleksanin S.S., Astaf'ev O.M., Sannikov M.V. Sovershenstvovanie sistemy meditsinskikh obsledovaniy spasatelei i pozharnykh MChS Rossii [Improvement of System of Medical Examination of Rescuers and Firemen of Ministry of Emercom of Russia]. *Meditsina katastrof* [Disaster medicine]. 2010. N3. Pp. 8–12. (In Russ.)

2. Beloborodova N.V., Osipov G.A. Gomeostaz malykh molekul mikrobnogo proiskhozhdeniya i ego rol' vo vzaimootnosheniyakh mikroorganizmov s khozyainom [Перевод на англ]. *Vestnik RAMN* [Annals of the Russian Academy of Medical Sciences]. 1999. Vol. 16, N7. Pp. 25–31. (In Russ.)
3. Weyant R.S., Moss C.W., Weaver R.E. [et al.]. Opredelitel' netrivial'nykh patogennykh gramotritsatel'nykh bakterii [Identification of unusual pathogenic gram-negative bacteria]. Moskva. 1999. 790 p. (In Russ.)
4. Evdokimov V.I. Riskometricheskie pokazateli chrezvychaynykh situatsii v Rossiiskoi Federatsii v 2004–2013 gg. [Risk Indices of Emergency Situations in the Russian Federation in 2004–2013]. *Meditsina katastrof* [Disaster medicine]. 2015. N1. Pp. 11–14. (In Russ.)
5. Mikhailova D.O., Bobyleva Z.D., Bazarny V.V. [et al.]. Diagnosticheskoe znachenie razlichnykh immunologicheskikh metodov laboratornoj diagnostiki legionelleza [Diagnostic role of different immunologic methods for laboratory diagnostics of legionellosis]. *Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunobiologii* [Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology]. 2008. N2. Pp. 51–53.
6. Osipov G.A. Demina A.M. Khromato-mass-spektrometricheskoe obnaruzhenie mikroorganizmov v anaerobnykh infektsionnykh protsessakh [Chromato-mass-spectrometric detection of microorganisms in anaerobic infectious processes]. *Vestnik RAMN* [Annals of the Russian Academy of Medical Sciences]. 1996. Vol. 3, N2. Pp. 52–59. (In Russ.)
7. Barbara G., Stanghellini V., Brandi G. [et al.]. Interactions between commensal bacteria and gut sensorimotor function in health and disease. *Am. J. Gastroenterol.* 2005. Vol. 100. Pp. 2560–2568.
8. Beloborodova N.V., Osipov G.A. // Small molecules originating from microbes (SMOM) and their role in microbes-host relationship. *Microb. Ecol. Heal. Dis., SCUP*. 2000. Vol. 12. Pp. 12–21.
9. Codling C., O'Mahony L., Shanahan F. [et al.]. A molecular analysis of fecal and mucosal bacterial communities in irritable bowel syndrome. *Dig. Dis. Sci.* 2010. Vol. 55. P. 392–397.
10. 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, N3. Pp. 1018–1028.
11. Hattori M., Taylor T. The human intestinal microbiome: a new frontier of human biology. *DNA Res.* 2009. N16. Pp. 1–12.
12. Kassinen A., Krogius-Kurikka L., Makivuokko H. [et al.]. The fecal microbiota of irritable bowel syndrome patients differs significantly from that of healthy subjects. *Gastroenterology*. 2007. Vol. 133. Pp. 24–33.
13. Khan W., Collins S. Gut motor function: immunological control in enteric infection and inflammation. *Clin. Exp. Immunol.* 2006. N143. Pp. 389–397.
14. Persing D.H. Polymerase chain reaction: trenches to benches. *J. Clin. Microbiol.* 1991. Vol. 29, N7. Pp. 1281–1285.
15. Spiller R. Role of nerves in enteric infection. *Gut*. 2002. N51. Pp. 759–762.
16. Thompson J., Quigley E., Adrian T. Qualitative changes in enteric flora and short-chain fatty acids after intestinal resection. *Dig. Dis. Sci.* 1998. Vol. 43. Pp. 624–631.
17. Uribe A., Alam M., Johansson O. [et al.]. Microflora modulates endocrine cells in the gastrointestinal mucosa of the rat. *Gastroenterology*. 1994. Vol. 107. Pp. 1259–1269.

Received 21.06.2016.

For citing: Batskov S. S., Rodionov G. G., Mullina E. V. Sostoyanie mikrobioty kishechnika u spasatelei MChS Rossii, stradayushchikh funktsionalnymi zabolevaniyami organov pishchevareniya. *Mediko-biologicheskie i sotsial'no-psikhologicheskie problemy bezopasnosti v chrezvychaynykh situatsiyakh*. 2016. N 3. Pp. 27–35. **(In Russ.)**

Batskov S.S., Rodionov G.G., Mullina E.V. The status of the intestinal microbiota in rescue workers of Russia EMERCOM suffering from functional diseases of the digestive system. *Medico-Biological and Socio-Psychological Problems of Safety in Emergency Situations*. 2016. N 3. Pp. 27–35. DOI 10.25016/2541-7487-2016-0-3-27-35