

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ**

ОШСКИЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ им. акад. М.М. АДЫШЕВА

**ИССЫК-КУЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
им. К. ТЫНЫСТАНОВА**

**ЮЖНОЕ ОТДЕЛЕНИЕ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК КЫРГЫЗСКОЙ
РЕСПУБЛИКИ**

МЕЖВЕДОМСТВЕННЫЙ ДИССЕРТАЦИОННЫЙ СОВЕТ К.03.14.492

На правах рукописи
УДК:576.8:582.28 (575.2) (043.3)

Аргынбаева Акмарал Турдалыевна

**НАРУШЕНИЯ МИКРОЭКОЛОГИИ КИШЕЧНИКА
ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ПЕСТИЦИДОВ
И ИХ КОРРЕКЦИЯ ПРОБИОТИКАМИ**

03.02.08 - экология
03.02.03 - микробиология

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Ош – 2015

Работа выполнена в Институте медицинских проблем Южного отделения Национальной академии наук Кыргызской Республики

Научный руководитель: кандидат медицинских наук,
старший научный сотрудник
Тойчуев Рахманбек Маматкадырович

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Джусупова Дария Бекайдаровна

кандидат биологических наук
Тешебаева Зулумкан Абдыманаповна

Ведущая организация: Кыргызско-Российский Славянский университет им. Б.Н. Ельцина, 720000, г. Бишкек, ул. Киевская, 44.

Защита состоится «21» апреля 2015 года в 10:00 часов на заседании Межведомственного диссертационного совета К.03.14.492 при Ошском технологическом университете им. акад. М.М.Адышева МОиН КР (соучредители: Иссык-Кульский государственный университет им. К. Тыныстанова МОиН КР и Институт ореховодства и плодовых культур Южного отделения НАН КР) по адресу: 723503, г. Ош, ул. Н.Исанова, 81.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ОшГУ по адресу: 723503, г. Ош, ул. Н.Исанова, 81.

Автореферат разослан «20» марта 2015 г.

Ученый секретарь Межведомственного
диссертационного совета,
кандидат биологических наук, доцент

Аттокуров А.Т.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Одной из ведущих отраслей сельского хозяйства Кыргызской Республики является хлопководство. Основные работы по посеву, выращиванию и сбору хлопка приходятся на весну, лето и осень. Сельскохозяйственные работы по выращиванию хлопчатника связаны с обработкой хлопковых полей пестицидами (ядохимикатами), что приводит к загрязнению окружающей среды. Ухудшение экологической ситуации в южных районах Кыргызстана, где в основном сосредоточены поля по выращиванию хлопчатника, неизбежно влечет за собой нарушение состояния здоровья как самих хлопкоробов, так и жителей этих районов (Ибраимжанов Б.С., 2006; Паизова З.М., Тойчуев Р.М., 2012).

Известно, что пестициды отрицательно влияют на многие органы человека, вызывая их дисфункции и нарушая микроэкологию. Наиболее подвержена воздействию пестицидов микрофлора желудочно-кишечного тракта (Ревич Б.А., 2004; Черепанова Л.Ю., 2008; Дмитриев Г.А., Глазко И.И., 2008; Гарбузов Г.А., 2010; Дроздов В.В., 2011; Гончарова О.В., 2013; Damankis M.E., Daris V.T., 1981; Eckburg P.V., Vic E.M., Bernstein C.N., et al., 2005; Walter J., 2008). Являясь самым значимым биотопом в макроорганизме и выполняя роль своеобразного биосорбента, он связан как с внешней средой, так и находится во взаимодействии со всеми остальными биотопами.

В свою очередь, нарушения кишечной микрофлоры создают благоприятные условия для возникновения различных заболеваний как инфекционной, так и неинфекционной природы, затрудняют диагностические исследования и лечение (Бондаренко В.М., 2011; Куранова Н.Г., Купатадзе Г.А., 2013; Cummings J.H., Antoine J.M., Azpiroz F., et al., 2004; Fuller R., Eckburg E.M., Bernstein C.N., et al., 2005).

Наиболее интенсивный контакт сельскохозяйственных рабочих с пестицидами наблюдается летом и осенью, во время обработки этими препаратами хлопчатника и сбора хлопка. Можно предположить, что именно в этот период наносится максимальный вред жизненным системам человеческого организма, в том числе, его микроэкологии. Вместе с тем, характер дисбиотических изменений, возникающих под влиянием пестицидов, требует глубокого изучения и разработки системы мер защиты организма людей от действия ядохимикатов (Ревич Б.А., 2000; Ганиев М. М., Недорезков В. Д., 2006; Тойчуев Р.М., 2014).

В то же время в научной литературе мы не встретили работ по изучению микрофлоры кишечника у людей, контактирующих с пестицидами нового поколения, такими как омайт, досмайт, тагмайт, талстар и др., (Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению в Кыргызской Республике на 2011-2019 гг., №704, 2011 г.) с учётом сезонности их применения, а также работ по исследованию влияния остаточных количеств хлорорганических пестицидов на нормобиоценоз кишечника.

Необходимость разработки мероприятий по предупреждению и коррекции развития дисбиоза у хлопкоробов, контактирующих в процессе своей трудовой деятельности с пестицидами, актуальность этой проблемы послужили основой для проведения данного исследования.

Связь темы диссертации с крупными научными программами, основными научно-исследовательскими работами. Настоящее исследование проводилось на основании проекта Института медицинских проблем ЮО НАН КР «Изучение влияния негативных факторов окружающей и производственной среды на здоровье населения» (2001-2005) и проекта «Разработка медико-биологических комплексных мер сохранения здоровья населения экологически неблагоприятных зон» (2009-2011) ГР №0000465.

Цель и задачи исследования. Оценить влияния ядохимикатов на состояние биоценоза кишечного тракта у хлопкоробов в разные периоды года и обосновать тактики профилактики и коррекции дисбактериоза.

Исходя из этого, перед нами были поставлены следующие задачи:

1. Изучить воздействия вредных экологических факторов окружающей среды на микрофлору кишечника. Оценить глубину дисбиотических нарушений у группы хлопкоробов, контактирующих с различными ядохимикатами (пестицидами), а также у группы лиц, проживающих в районе выращивания хлопчатника, но не занятых в хлопководстве и не подверженных влиянию ядохимикатов (контрольная группа) и провести их сравнение;

2. Изучить количественный и качественный состав микрофлоры кишечника в разные периоды года в зависимости от характера питания;

3. Разработать схемы экологической реабилитации работников в период обработки хлопчатника пестицидами, с включением национальных кисло-молочных продуктов и биопрепаратов, обладающих пробиотическим действием;

4. Определить уровень остаточного содержания хлорорганических пестицидов в окружающей среде и продуктах питания.

Научная новизна полученных результатов.

Впервые изучено влияние загрязнения окружающей среды и биосреды на микрофлору кишечника, на возникновение и развитие дисбиотических состояний.

Впервые проведено углубленное изучение микроэкологического статуса людей, занимающихся хлопководством в Кыргызской Республике и контактирующих с пестицидами. Выявлены нарушения микробиоценозов кишечника у данного контингента людей, характеризующиеся резким снижением аэробных и анаэробных представителей облигатной микрофлоры и повышением в общей сумме условно-патогенных микроорганизмов и дрожжеподобных грибов рода *Candida*. Впервые доказана коррелятивная связь степени дисбиозов с интенсивностью воздействия пестицидов и сезоном года, когда они применяются для обработки хлопка.

Впервые проведен анализ пробиотической активности национальных кисло-молочных продуктов, показавший, что они проявляют наибольшую эффективность при коррекции дисбиозов. Полученные данные явились основанием для разработки методических рекомендаций по профилактике и коррекции дисбиозов у контингентов людей, подверженных влиянию пестицидов.

Практическая значимость полученных результатов. Полученные данные о состоянии микробиоты кишечника у хлопкоробов, контактирующих с различными ядохимикатами (пестицидами) – омайт, досмайт, тагмайт, талстар и др., а также с остаточными количествами хлорорганических пестицидов в различные сезоны года, позволили оценить влияние ядохимикатов на состояние биоценоза кишечника и разработать рекомендации по профилактике и коррекции дисбактериоза у групп людей, по роду своей деятельности контактирующих с пестицидами.

Обоснована целесообразность использования национальных кисло-молочных продуктов для коррекции микрофлоры кишечника у хлопкоробов.

Экономическая значимость полученных результатов заключается в том, что разработанные методы коррекции микробиоценоза кишечника снижают случаи развития дисбактериоза кишечника и заболеваемость у людей, контактирующих с пестицидами, причем со значительной экономией затрат на лечение.

Внедрение результатов исследования в практическую деятельность.

На основании результатов исследований, проведенных в рамках диссертационной работы, разработаны и внедрены в медицинскую практику методические рекомендации «Профилактика и коррекция дисбактериоза кишечника у хлопкоробов, контактирующих с пестицидами (ядохимикатами)», утверждённые главным врачом Государственного санитарно-эпидемиологического надзора при Министерстве здравоохранения Кыргызской Республики 20 февраля 2010 г.

Рекомендации по использованию кисло-молочных продуктов и биопрепаратов внедрены в лечебно-профилактический процесс амбулаторно-поликлинических

учреждений для групп семейных врачей (ГСВ), обследующих хлопкоробов в двух районах (Кара-Сууйский и Араванский) Ошской области Кыргызской Республики, где выращивается хлопчатник (акты внедрения от 30.06.2011 г. и 01.07.2011 г.).

Основные положения диссертации по профилактике дисбактериоза у хлопкоробов используются в учебном процессе в медицинском колледже Ошского государственного университета.

Получено 4 удостоверения на рационализаторские предложения по способам применения кисло-молочных смесей с целью сохранения микробиоты и коррекции дисбиотических явлений желудочно-кишечного тракта, выданные Кыргызской Государственной медицинской академией (КГМА) им. И.К. Ахунбаева:

1. «Способ применения кисло-молочных смесей хлопкоробами для профилактики дисбактериоза» (Удостоверение №38/08 от 04.12.2008).

2. «Способ лечения дисбактериоза у хлопкоробов» (Удостоверение №24/08 от 12.08.2009).

3. «Способ сохранения нормального кишечного биоценоза у хлопкоробов в период контакта с пестицидами» (Удостоверение №27/10 от 30.10.2010).

4. «Способ сохранения нормального кишечного биоценоза у хлопкоробов, контактирующих с остаточными пестицидами». (Удостоверение №28/10 от 12.11.2010).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Воздействие вредных экологических факторов окружающей среды на микрофлору кишечника и оценка глубины дисбиотических нарушений у группы хлопкоробов, контактирующих с пестицидами, а также у проживающих в районе выращивания хлопчатника, но не занятых в хлопководстве.

2. Количественный и качественный состав микрофлоры кишечника в разные периоды года в зависимости от характера питания.

3. Разработанная схема экологической реабилитации работников в период обработки хлопчатника пестицидами, с включением национальных кисло-молочных продуктов и биопрепаратов, обладающих пробиотическим действием.

4. Уровень содержания остаточных количеств хлорорганических пестицидов в окружающей среде и продуктах питания и комплекс рекомендаций, направленный на восстановление нормобиоценоза желудочно-кишечного тракта у людей, занятых в хлопководстве.

Личный вклад соискателя. Автором диссертационного исследования были разработаны специальные карты обследования хлопкоробов, осуществлен сбор анализов и выполнение бактериологического исследования, проведена компьютерная статистическая обработка полученных данных.

Апробация результатов исследования. Основные положения диссертационной работы доложены на международных конференциях: «Актуальные вопросы современной медицины (Самара, 2005 г., Москва, 2011г.); «Актуальные вопросы образования, науки, культуры и роль университетов в устойчивом развитии и расширении международной интеграции» (Ош, 2014 г.); на заседании Учёного Совета Института медицинских проблем ЮО НАН КР (Ош, 2011;2014 г.); ежегодном собрании ЮО НАН Кыргызской Республики (Ош, 2011 г.); на международном симпозиуме «Microbios – 2013» (Бишкек, 2013 г.).

Полнота отражения результатов диссертации в публикациях. По материалам исследования опубликовано 10 научных работ, 1 методическая рекомендация, получено 9 рационализаторских предложений, из них 4 - по теме диссертации, на которые имеются удостоверения, выданные КГМА им. И.К.Ахунбаева.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературных данных, 5 глав, заключения, выводов, списка литературы, включающего 182 наименования, в том числе 52 – зарубежных авторов.

Работа изложена на 129 страницах компьютерного текста, в структуру диссертации вошли 11 рисунков и 16 таблиц.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы исследования, освещены задачи работы, научная новизна, практическая значимость и изложены основные положения диссертации, выносимые на защиту.

В первой главе «Экологические факторы, влияющие на возникновение дисбактериоза кишечного тракта» автором обобщены данные научной литературы о влиянии хлорорганических пестицидов на организм человека, а также научные и организационные основы медико-экологического обеспечения населения в хлопкосеющих зонах Кыргызстана.

Во второй главе «Материалы и методы исследования» описаны методы и очерчен объект исследования.

Настоящая работа основана на материалах исследования, полученных в период с 2007 по 2011 годы на территории Кара-Сууйского района Ошской области Кыргызской Республики, где основная площадь выращиваемого хлопка составляет более 10 тысяч га.

В ходе работы было проведено изучение микрофлоры желудочно-кишечного тракта 297 человек. Материалом для исследования служили фекалии. Общее количество проведенных микробиологических анализов составило 14423. Кроме того, 2168 проб исследовалось на содержание остаточных количеств хлорорганических пестицидов. Степень загрязнения окружающей среды оценивалась по показателям загрязнения почвы, воды и продуктов питания хлорсодержащими органическими соединениями: ГХЦГ, ДДТ и их метаболитами ДДД, ДДЭ; альдрин и дильдрин.

В работе по проведению испытаний на пестициды использовался метод газофлюидной хроматографии, замеры на хлорорганические соединения проводились на детекторе ДПР «Цвет-164» в соответствии с методикой, изложенной в рекомендациях «Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде» (Москва, «Колос», 1977), дополненных инструкцией №1112-73 («Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде» - М., 1992).

Микробиологические исследования с целью выявления и определения степени выраженности дисбиотических нарушений проводили по схеме, предложенной В.М. Бондаренко, В.Г. Лиходед (2007).

Обследуемые лица были разделены на две группы:

1) Первую группу составили 140 человек обоего пола в возрасте от 18 до 55 лет, занятых в работе на хлопковых плантациях и по роду своей деятельности контактирующих с пестицидами (ядохимикатами). Из них со стажем работы от 5 до 10 лет было 49 человек (35%), от 10 до 20 лет – 91 человек (65%). 32 человека из группы составляли мужчины (22,85) и 108 - женщины (77,14%).

2) Вторая (контрольная) группа была представлена 157 лицами того же возраста, что и первая, которые проживали на той же территории, но не были заняты в работе на хлопковых полях и не контактировали с пестицидами. Из них было 69 мужчин (43,9%) и 88 женщин (56,1%).

Чтобы получить детальный анализ полученных данных в зависимости от характера питания, группа в 140 хлопкоробов была распределена на три подгруппы. Из них 48 человек (1-я подгруппа) регулярно включали кисло-молочные смеси (КМС) в свой домашний рацион, а 42 человека (2-я подгруппа), не регулярно употреблявшие таковые. К 3-й подгруппе отнесены 50 хлопкоробов с теми или иными нарушениями здоровья, обнаруженными в результате предварительного медицинского обследования и бактериологического анализа микробиоценоза кишечника.

В период каждого сельскохозяйственного сезона все испытуемые проходили комплексный медицинский осмотр специалистами Института медицинских проблем ЮО НАН КР (терапевтом, эндокринологом, гастроэнтерологом, гепатологом,

инфекционистом, аллергологом, кардиологом, невропатологом, отоларингологом, онкологом). Оценивалось общее физическое состояние обследуемых лиц и наличие признаков возможной интоксикации: функциональное состояние кишечника, характер стула, физическая активность, аппетит, психическое состояние. При необходимости проводились лабораторные исследования, и, в случае выявления заболеваний, назначалось соответствующее лечение.

Нами были разработаны карты обследования хлопкоробов, которые заполнялись в ходе обследования. При опросе хлопкоробов обращали внимание на предъявляемые жалобы, в частности, на проявления дисбактериоза.

Для разработки схем коррекции дисбиотических нарушений микробиоценоза кишечника, выявленных у данного контингента лиц, были выбраны национальные кисло-молочные продукты, обладающие пробиотическими свойствами, концентраты, богатые витаминами, биологически активными веществами, микроэлементами, обладающие сорбентными, слабо желче- и мочегонными свойствами, жидкий бифидумбактерин производства Института медицинских проблем ЮО НАН КР, разрешенный Министерством здравоохранения Кыргызской Республики (Методические рекомендации «Применение жидких биопрепаратов при острых хирургических патологиях органов брюшной полости у детей», утвержденные Министерством здравоохранения Кыргызской Республики, 2005 г.). Препарат разработан на основе двух штаммов *Bifidobacterium longum* B379M и *Bifidobacterium bifidum* 791. Штаммы выделены из содержимого кишечника здоровых людей, изучены и депонированы в Государственной коллекции микроорганизмов нормальной микрофлоры МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора РФ (№№ депозитов 79 и 80).

Бактериологические исследования проведены нами совместно со старшим научным сотрудником, врачом-бактериологом высшей категории Насириным А.Н. в лаборатории микробиологии и иммунологии Института медицинских проблем Южного отделения Национальной академии наук КР (заведующий - д.м.н., проф. Тайчиев И.Т.).

Статистическую обработку полученных результатов проводили в рамках базовой программы статистики (Microsoft Excel), показатели представлены в виде средней арифметической вариационного ряда и её стандартной ошибки ($M \pm m$). Достоверность различий средних величин оценивалась с использованием t-критерия Стьюдента. Для всех видов анализа достоверным считали значение $P < 0,05 = 5\%$, $P < 0,01 = 1\%$, $P < 0,001 = 0,01\%$.

В третьей главе «Результаты собственных исследований и их обсуждение» освещены результаты бактериологического исследования хлопкоробов, а также клинические проявления дисбактериоза, исследования на содержания остаточных количеств хлороорганических пестицидов в окружающей среде и продуктах питания.

Проведенные в начале 2007 г. исследования позволили выявить различия в составе микрофлоры, глубине и характере дисбиотических нарушений кишечного биоценоза у обследованных, относящихся к различным группам (табл. 1).

Таблица 1 - Состояние кишечного биоценоза основной и контрольной группы в весеннее время года.

№	Микрофлора кишечного биоценоза	Основная группа n=140		Контрольная группа n=157	
		К-во	В%	К-во	В%
1	Патогенные микробы семейства кишечных	4	2,85	-	-
2	<i>E. Coli</i> типичные ниже 10^7	97	69,2	55	35,0

3	Энтерококки ниже 10^5	82	57,8	55	35,0
4	E.Coli лактозонегативные $>10^5$	83	59,2	50	31,8
5	E. Coli гемолитические (при норме 0%)	6	4,2	-	
6	Бактероиды ниже 10^7	68	54,2	42	26,7
7	St. epidermidis	35	25	30	19,1
8	St.aureus	7	5	-	-
9	Бифидобактерии ниже 10^9	74	52,8	40	25,4
10	Лактобактерии ниже 10^7	60	42,8	35	22,2
11	Proteus mirabilis	4	2,85	-	-
12	Proteus vulgaris	3	2,14		
13	Дрожжевые грибы рода Candida	27	19,2	-	-

Как видно из данных, представленных в таблице 1, в основной группе по всем показателям отмечались более существенные отклонения от нормы, чем в контрольной группе.

Таблица 2 - Среднее содержание основных видов кишечной микрофлоры у хлопкоробов основной группы по сезонам года

Микроорганизмы	Уровень микроорганизмов Ig КОЕ/г (M±m)				период с пестицидами (зима)
	Основная группа				
	Показатель нормы (кл./г)	Обнаружено весной	Обнаружено летом	Обнаружено осенью	
Бифидобактерии	10^9	6,90±0,30 *	6,79±0,30 *	6,94±0,90 **	8,23±0,4
Лактобактерии	10^7	5,90±0,20 ***	5,13±0,70	5,52±0,70 ***	6,49±0,4
Энтерококки	10^5	4,0±0,57*	3,57±0,59 *	3,76±0,66 **	5,6±0,5
E. coli с нормальной ферментативной активностью	10^7	7,4±0,25* **	5,53±0,20 ***	3,52±0,94 ***	7,7±0,3
Микробы рода Proteus	$\leq 10^4$	1,5±0,2	2,43±0,50	4,1±0,50	2,5±0,20
Staphylococcus aureus	0	1,5±0,30	1,85±0,70	3,7±0,50	0,0
Дрожжевые грибы рода Candida	$\leq 10^4$	1,61±0,50	4,61±0,70	6,2±0,24* **	3,26±0,27

Примечание: показатели группы сравнения достоверно отличаются от нормальных показателей (*- $P < 0,05$; **- $P < 0,01$; ***- $P < 0,001$)

Из таблицы следует, что весной количество микроорганизмов рода Proteus выявлялось при разведении $10^{1,5 \pm 0,2}$, дрожжеподобные грибы рода Candida – при

разведении $10^{1,61 \pm 0,50}$, бифидобактерии обнаруживались в среднем в разведении $10^{6,9 \pm 0,30}$, лактобактерии – в $10^{5,90 \pm 0,20}$, а также некоторые другие микроорганизмы (таблица 2).

Лица, вошедшие в контрольную группу, также наблюдались нами во все периоды года. В таблице 3 отражены результаты исследований лиц контрольной группы.

В отличие от основной группы, у лиц контрольной группы патогенные микробы семейства кишечных, микробы рода протей, а также гемолизирующая кишечная палочка и гемолизирующий стафилококк не выявлялись.

Таблица 3 - Среднее содержание основных видов кишечной микрофлоры у лиц контрольной группы по периодам года

Микроорганизмы	Уровень микроорганизмов lg КОЕ/г (M±m)				
	Показатель нормы (кл/г)	Обнаружено весной	Обнаружено летом	Обнаружено осенью	Обнаружено зимой
Бифидобактерии	10^9	7,32±0,30	9,14±0,30	9,33±0,30	8,65±0,30
Лактобактерии	10^7	6,98±0,20	7,28±0,20	7,39±0,30	7,12±0,20
Энтерококки	10^5	4,0±1,57*	5,57±1,59*	5,76±0,26**	5,6±0,5
Е. coli с нормальной ферментативной активностью	10^7	7,4±0,25**	7,55±0,30***	7,52±0,94***	7,7±0,3
Микробы рода Proteus	$\leq 10^4$	0	0	0	0
Staphylococcus aureus	0	0	0	0	0
Дрожжевые грибы рода Candida	$\leq 10^4$	1,17±0,40	2,13±0,34	3,1±0,13**	1,8±0,5

Примечание: показатели группы сравнения достоверно отличаются от показателей, соответствующим норме (*- $P < 0,05$; **- $P < 0,01$; ***- $P < 0,001$)

Микробиологические нарушения в толстой кишке, регистрируемые при бактериологическом исследовании фекалий, в основной группе у большинства сопровождались характерными различными клиническими симптомами (тошнота, боли в желудке, изжога, головокружение, аллергия, анемия, боль в горле, слабость, повышение А/Д, тахикардия).

В зимний период работа на хлопковых плантациях не ведётся и хлопкоробы контакта с пестицидами не имеют. Поэтому резко уменьшается количество клинических проявлений дисбактериоза.

Среди наблюдаемого контингента контрольной группы в весеннее и зимнее время жалоб на состояние здоровья не было, тогда как в летнее время среди них жалобы, свидетельствующие о нарушении нормальной функции организма, предъявляли 7,6%, в осеннее время - 14,0%.

Совместно с Кара-Сууйским районным центром Госсанэпиднадзора (КРЦГСЭН) с «Функцией координации деятельности служб Ошской области (ФКДСОО)», и в лаборатории токсикологии, морфологии радиологии и экологии ИМП ЮОНАНКР были проведены лабораторные исследования пищевых продуктов на содержание в них остаточных количеств пестицидов.

При разработке плана учитывалась обязательная номенклатура санитарно-гигиенических исследований, утверждённых приказом МЗ КР № 188 от 24. 04. 2004 года.

При лабораторных исследованиях на содержание ядохимикатов в овощах, фруктах, бахчевых и других культурах, выращенных на территориях, прилегающих к хлопковым плантациям, подвергающихся обработке пестицидами, выявлены положительные результаты. Более подробные данные приведены ниже на рисунке 1.

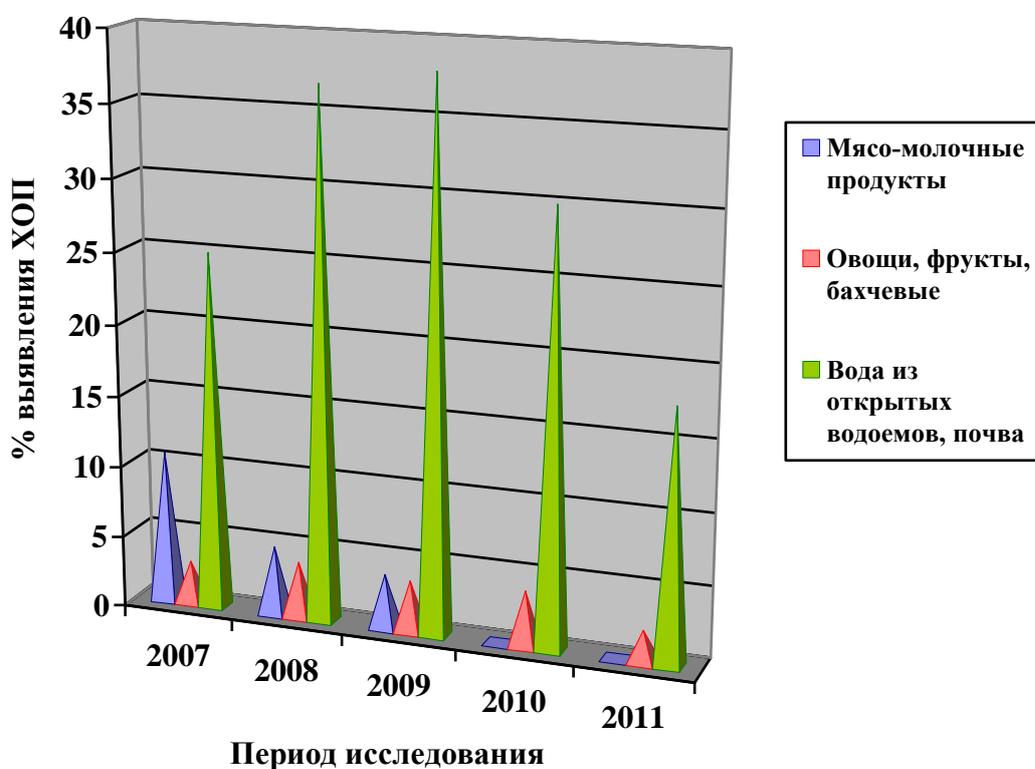


Рис. 1. Загрязнения остаточными количествами хлорорганических пестицидов пищевых продуктов

*Примечание: *в водопроводной воде остаточные количества хлорорганических пестицидов не выявлено*

Как видно из рис. 1. остаточные количества хлорорганических пестицидов в мясо-молочных продуктах в 2007 г. выше ПДК выявлены в 7 из 65 проб, что составило 10,7%, в 2008 г. - из 41 пробы в (2) 4,8%, в 2009 г. – из 52 в (2) 3,8%, в 2010 и 2011 гг. не обнаружены. В растительных продуктах, овощах, фруктах и бахчевых культурах 2007 г. пестициды выявлены в 5 из 168 проб, что составило 3%; в 2008 году - из 231 пробы в (9) 3,9%; в 2009 году из 383 проб с превышением ПДК в (14) 3,6%; в 2010 - из 102 проб в (4) 3,9%; в 2011 г. - из 310 проб выше ПДК выявлено 7, что составило 2,2%. В почве и воде из открытых водоемов в 2007 г. ядохимикаты обнаружены в 4 из 16 проб, что составило 25%, в 2008 г. - из 19 в (7) 36,8%, в 2009 г. - из 21 в (8) - 38,0%. В 2010 г. было взяты 20 проб, из них положительных было (6) 30%, в 2011 г. - из 24 проб в (6) 17,6%. В водопроводной воде остаточные количества хлорорганических пестицидов ни в одном случае не выявлены.

Средние арифметические сравнения по годам показали, что загрязнение мясо-молочных продуктов составляет 5,04%, овощей, фруктов и бахчевых - 3,2%, воды в открытых водоемах и почвы - 14,9%.

В четвертой главе «Нарушение микрофлоры кишечника хлопкоробов в разные периоды года в зависимости от характера питания» представлены результаты бактериологического исследования в зависимости от характера питания.

В группе хлопкоробов, регулярно употреблявших кисло-молочные смеси, нарушения биоценоза кишечника в весеннее время составили 39,5%, в летнее время - 41,6%, в осеннее время - 58,3%, ($P < 0,001$), в зимнее время - 31,2%, тогда как среди нерегулярно употреблявших кисло-молочные продукты такие изменения отмечались значительно чаще: в весеннее время в 66,0% случаев, в летнее время – в 69,0%, в осеннее время – в 88,0%, в зимнее время – в 59,5% ($P < 0,001$).

Таким образом, значительно лучшие показатели микробиоценоза кишечника выявлены в первой подгруппе, где хлопкоробы принимали КМС, по сравнению со второй группой, нерегулярно употреблявших КМС. Данные результаты свидетельствуют о том, что у хлопкоробов, принимающих регулярно КМС, отмечается более выраженный положительный эффект нормализации микробиоты кишечника. Результаты исследований показали, что эффективность действия КМС на микрофлору кишечника на 27,9% выше в 1 подгруппе по сравнению с группой хлопкоробов, не употреблявших эти смеси.

Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что кисло-молочные смеси создают условия для сохранения эубиоза. С другой стороны, одной из главных причин развития дисбактериоза у проживающих в хлопкосеющих районах является нерегулярное употребление кисло-молочных продуктов.

В соответствии с задачами исследования, в зависимости от степени нарушения кишечной микроэкологии, нами разработаны соответствующие коррекционные и профилактические мероприятия. Более подробные данные приведены ниже в табл. 4.

Учитывая, что у хлопкоробов происходит снижение содержания бифидобактерий, применяли жидкий живой бифидумбактерин, изготавливаемый ИМП ЮО НАН КР.

Жидкий бифидумбактерин, по сравнению с колибактерином и сухим биопрепаратом, обладает высокой устойчивостью к различным ксенобиотикам, включая антибиотики, оказывающие воздействие на микрофлору кишечника с момента поступления в желудочно-кишечный тракт. Жидкий живой бифидумбактерин применяли по следующей схеме: по 10 доз (40 мл) 3 раза в день до еды (в одной дозе препарата содержится $1:10^8$ живых пробиомикроорганизмов) в течение от 2 недель до 1 месяца, или до нормализации кишечного биоценоза.

Таблица 4 - Схема применения диетотерапии при дисбактериозе хлопкоробов

Наименование	Доза на 1 прием	Время приема	Длительность приема
КМС (3р в день)	200 мл	После еды	Не ограничена
Бифидумбактерин	10 доз (40 мл)	До еды за 40 мин	От 2 недель до 1 месяца
Концентраты лечебных трав и плодов	по 2 чайные ложки на 300 мл кипятка	В течение дня	Не ограничена

Кроме того, применяли концентраты, изготавливаемые Институтом медицинских проблем ЮО НАН КР из лекарственных трав и плодов, разрешённых к применению в Кыргызстане. Концентраты богаты витаминами, биологически активными веществами, микроэлементами, обладающими сорбентными, слабо желче- и мочегонными свойствами, заваривали по 2 чайные ложки на 300 мл кипятка и употребляли в течение дня, длительность применения не ограничена.

В пятой главе «Обоснование комплекса мер профилактики дисбиоза у хлопкоробов» приведены результаты эффективности применения КМС и живых биопрепаратов, а также концентратов, полученных из местных лечебных трав и плодов.

Диетотерапия и употребление концентратов лечебных растений и плодов хлопкоробам проводились в течение всего периода работы на хлопковых плантациях. Микрофлора кишечника в случаях применения коррекционных мероприятий приобретала тенденцию к нормализации. Более подробные данные приведены ниже в табл. 5.

Положительная динамика наблюдалась в количественных и качественных показателях облигатной микрофлоры кишечника. Частота обнаружения бифидобактерий у хлопкоробов 3-й подгруппы до коррекции составляла 28%, лактобактерий – 38% ($P < 0,005$). На фоне проводимой коррекции уровень этих показателей повысился до 80 % ($P < 0,001$). Кроме того, происходило увеличение количественного уровня бифидобактерий до 10^9 и лактобактерий до 10^7 КОЕ/г проб фекалий ($P < 0,005$).

Таблица 5 - Сравнительные данные изменения микрофлоры кишечника хлопкоробов до и после проведенной коррекции биоценоза по сезонам года (в %)

№	Микроорганизмы	Хлопкоробы 3 подгруппы (50 чел.)					
		До коррекции кишечной микрофлоры		с проведенной коррекцией микрофлоры кишечника по сезонам			
		К-во	В%	Весна в%	Лето в%	Осень в%	Зима в%
1	Патогенные микробы семейства кишечных	4	8,0	-	-	-	-
2	Е.Coli типичные ниже 10^7	50	100,0	46,0	34,0	38,0	28,0
3	Энтерококки ниже 10^5	38	76,0	44,0	28,0	36,0	32,0
4	Е.Coli лактозонегативные $>10^5$	37	74,0	40,0	32,0	34,0	28,0
5	Е.Coli гемолитические (при норме 0%)	4	8,0	4,0	0	0	0
6	Бактероиды ниже 10^7	28	56,2	36,0	28,0	28,0	32,0
7	St.epidermidis	15	30,2	20,0	26,0	28,0	32,0
8	St.aureus	5	10,0	6,0	-	-	-
9	Бифидобактерии ниже 10^9	36	72,3	40,0	32,0	30	24,0
10	Лактобактерии ниже 10^7	30	60,2	40,0	32,0	24,0	20,0
11	Proteus mirabilis	2	4,0	-	-	-	-
12	Proteus vulgaris	1	2,0	-	-	-	-
13	Дрожжеподобные грибы рода Candida	18	36,2	16,0	10,0	6	-

Общее содержание кишечной палочки ниже 10^7 /г до начала проведения коррекции отмечалось у всех хлопкоробов (100% случаев). В результате мероприятий по коррекции

микрофлоры ЖКТ у работников хлопковых плантаций общее количество кишечной палочки повысилось до 10^7 КОЕ/г у 72% хлопкоробов ($P < 0,001$). При этом выделялась только E.coli с полноценной ферментативной активностью, полностью перестали обнаруживаться лактозонегативные и гемолитические формы. В исследуемых пробах не высевался золотистый стафилококк, а находки дрожжеподобных грибов рода Candida снизились с 36,2% до 16% в весеннее время ($P < 0,005$), при этом отмечалось снижение их количественного содержания до 10^3 КОЕ/г.

Таблица 6 - Сравнительные данные достоверности показателей микрофлоры 3-й подгруппы обследуемых хлопкоробов, среди которых проводилась коррекция микрофлоры кишечника в разные периоды года

Микроорганизмы	Уровень микроорганизмов lg КОЕ/г (M±m)				Бесконтактный период с пестицидами (зима) (M±m)
	Основная группа				
	Показатель нормы (кл./г)	Обследованные весной	Обследованные летом	Обследованные осенью	
Бифидобактерии	10^9	7,98±0,32*	8,73±0,36*	8,08±0,42**	8,93±0,54***
Лактобактерии	10^7	6,38±0,12***	7,19±0,32	7,42±0,32***	7,49±0,24***
Энтерококки	10^5	4,0±0,25*	4,57±0,59*	5,76±0,26**	5,61±0,15
E. coli с нормальной ферментативной активностью	10^7	7,4±0,25***	7,53±0,20***	7,52±0,94***	7,7±0,43
Микробы рода Proteus	$\leq 10^4$	0,0	0,0	0,0	0,0
Staphylococcus aureus	0	2,34±0,50	0	0	0
Дрожжеподобные грибы рода Candida	$\leq 10^4$	4,48±0,30	1,49±0,30	2,71±0,50***	2,26±0,70

Примечание: показатели группы сравнения достоверно отличаются от нормальных показателей (*- $P < 0,05$; **- $P < 0,01$; ***- $P < 0,001$)

Таким образом, проведенные с помощью диетотерапии КМС, биопрепаратов и лечебных концентратов профилактика и коррекция дисбиоза кишечного тракта у хлопкоробов, контактирующих с пестицидами в течение всего сезона года, более чем в 3 раза снижают развитие дисбиоза - в среднем со 100% до 32%. У 50 обследованных человек наблюдалось восстановление микробиоты кишечника. Общее количество кишечной палочки составляло в среднем 10^7 ($P < 0,001$); рост бифидобактерий в среднем - по арифметическим данным - составил $10^{8,93 \pm 0,54}$ ($P < 0,001$); рост лактобактерии - $10^{7,49 \pm 0,24}$ ($P < 0,001$).

Выводы

1. Установлено, что пестициды влияют на состояние кишечного микробиоценоза, чем длительнее контакт хлопкоробов с ядохимикатами, тем глубже микробиологические нарушения и наиболее выражены в осенний период года т.е. имеет сезонный характер. Проникновение пестицидов в организм человека происходит через кожные покровы, дыхательные пути, с пищей через желудочно-кишечный тракт.

2. Наряду с качественными и количественными изменениями кишечной микрофлоры прослеживается увеличение числа лиц со сниженным содержанием полезной кишечной микрофлоры (лактобактерий и бифидобактерий ниже 10^7) и повышение условно-патогенных и патогенных микробов в титре 10^5 в микрофлоре кишечника. Наибольшее количество (до 80%) людей, страдающих дисбиотическим состоянием, выявляется при обработке и сборе хлопка в летне-осеннем периоде т.е. в зависимости от пестицидной нагрузки.

3. Проведение коррекции микрофлоры кишечника комплексно с помощью диетотерапии с применением кисло-молочных смесей, биопрепаратов – жидкого живого бифидумбактрина и концентратов, полученных из местных лечебных трав и плодов, более чем в 3 раза снижает долю хлопкоробов с выраженными дисбиотическими явлениями (от 100% до 32%); другими словами, отмечается восстановление микробиоты ЖКТ.

4. Исследования загрязнения окружающей среды и продуктов питания на содержание остаточных количеств хлороорганических пестицидов показали, что процент загрязнения мясо-молочных продуктов составляет 5,04%, овощей, фруктов и бахчевых - 3,2%, воды в открытых водоемах и почвы - 14,9%.

Практические рекомендации

1. Полученные результаты позволяют рекомендовать внедрение в практику положения об обязательном исследовании микробиоценоза кишечника с целью снижения вероятности развития дисбактериоза в хлопкосеющей зоне. Всех хлопкоробов, работающих на хлопковых плантациях и не регулярно употребляющих кисло-молочные смеси, необходимо обследовать на дисбактериоз и отнести к группе риска.

2. Профилактику и коррекцию нарушенного биоценоза кишечника необходимо проводить с использованием диетотерапии кисло-молочными смесями, а также бифидумбактрина, препаратов и концентратов, полученных из местных лечебных трав и плодов, богатых витаминами, биологически активными веществами, сорбентами, микроэлементами.

3. Хлопкоробам профилактику и коррекцию микробиоты желудочно-кишечного тракта необходимо начинать весной до начала обработки хлопка пестицидами, а также проводить в период обработки хлопка и повторять осенью. Диетотерапию и концентраты желательно применять регулярно в течение всего периода контакта с пестицидами.

4. Необходимо постоянное проведение мониторинга загрязнения окружающей среды ХОП в хлопкосеющих зонах и продуктов питания.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. **Аргынбаева, А.Т.** Табачная среда для определения резистентности бифидобактерий [Текст] /Р.М. Тойчуев, А.Т. Аргынбаева, А.Н. Насиров // Актуальные проблемы современной науки: Тр. 1-го Междунар. форума 6-й Междунар. конф. молодых ученых. Естеств. науки.- Самара, 2005.- Ч.27: Мед. науки.- С. 166-168.
2. **Аргынбаева, А.Т.** Биоценоз желудочно-кишечного тракта у детей, проживающих в условиях среднегорья [Текст] / А.Т.Аргынбаева // ЦАМЖ.- Ош, 2010.- №3 .- С. 49-53.
3. **Аргынбаева, А.Т.** Состояние биоценоза желудочно-кишечного тракта у детей в зависимости от характера питания, проживающих в экологически чистых зонах [Текст] /А.Т.Аргынбаева, А.А.Жумабаева, У.Бердыева // Вестн. Ош. гос. ун-та.- Ош, 2010.- №2 .- С. 1-4.
4. **Аргынбаева, А.Т.** Сезонные колебания биоценоза желудочно-кишечного тракта у жителей хлопкосеющей зоны [Текст] /А.Т.Аргынбаева // Сб. научн. тр. / Рос. мед. акад.

- последиплом. образования; под ред. проф. А.А. Шапошникова. – Москва, 2010. – Вып.10.- С.149-154.
5. **Аргынбаева, А.Т.** Сезонные колебания биоценоза кишечного тракта в зависимости от характера питания жителей хлопкосеющей зоны [Текст] /А.Т.Аргынбаева // Сб. науч. тр. / Рос. мед. акад. последиплом. образования; под. ред. проф. А.А. Шапошникова. – Москва, 2010. – Вып.10.- С. 851-857.
 6. **Аргынбаева, А.Т.** Микроэкология кишечника человека при контакте с ядохимикатами (пестицидами), её нарушения и коррекция с помощью пробиотических препаратов, сохранение и лечение изменённого биоценоза кишечного тракта [Текст] /А.Т.Аргынбаева, Р.М.Тойчуев // Здоровье населения и среда обитания.- Москва, 2011.- № 5.- С. 41-45.
 7. **Аргынбаева, А.Т.** Состояние кишечного биоценоза у населения, проживающего вблизи устаревших ядохимикатных складов [Текст] / Р.М. Тойчуев, А.Т. Аргынбаева // Вестн. Юж. отд. Нац. акад. наук.- Ош, 2011.- №1.- С. 87-89.
 8. **Аргынбаева, А.Т.** Влияние ядохимикатных могильников Ак-Чабыр и Таш-Бака Базар-Коргонского и Сузакского районов на состояние здоровья населения, флору и фауну (окружающей среды) местности [Текст] / Р.М. Тойчуев, А.Т. Аргынбаева // Вестн. Юж. отд. Нац. акад. наук.- Ош, 2011.- №1.- С. 90-91.
 9. **Аргынбаева, А.Т.** Влияние загрязнения окружающей среды и пищевых продуктов, контаминированных пестицидами на состояние кишечного биоценоза [Текст] / А.Т. Аргынбаева, Р.М. Тойчуев, М.Ш. Хаметова, А.Р. Рахматиллаев // Вестн. Ош. гос. ун-та.- Ош, 2013.- №3.- С. 3-7.
 10. **Аргынбаева, А.Т.** Поддержания иммунологического статуса человека путем сохранения микробиоценоза кишечника в условиях воздействия пестицидов [Текст] / А.Т.Аргынбаева // Вестн. Кырг. нац. агр. ун-та.- Бишкек, 2013.-№2 .- С. 61-63.

РЕЗЮМЕ

диссертации Аргынбаевой Акмарал Турдалыевны на тему «Нарушение микроэкологии кишечника под воздействием пестицидов и их коррекция пробиотиками», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 03.02.08-экология, 03.02.03- микробиология.

Ключевые слова: хлопкоробы, микрофлора, коррекция, дисбактериоз, хлорорганические соединения.

Объект исследования: микрофлора желудочно-кишечного тракта на материале фекалий (297 человек). Установление степени загрязнения окружающей среды по показателям загрязненности почвы, воды и продуктов питания остаточными количествами хлорорганических пестицидов: ГХЦГ, ДДТ и его аналогами, альдрином и дильдрином.

Цель исследования: влияние ядохимикатов на состояние биоценоза кишечного тракта у хлопкоробов в разные периоды года и обоснование тактики профилактики и коррекции дисбактериоза.

Методы исследования и аппаратура: метод газожидкостной хроматографии, замеры на хлорорганические соединения проводились на детекторе ДПР .

Микробиологические исследования с целью выявления и определения степени выраженности дисбиотических нарушений проводили по схеме, предложенной Бондаренко В.М., Лиходед В.Г. (ГУ НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи РАМН) в методических рекомендациях «Микробиологическая диагностика дисбактериоза» (Москва, 2007).

Научная новизна работы:

- изучено влияние загрязнения окружающей среды и биосреды на микрофлору кишечника, на возникновение и развитие дисбиотических состояний;

- проведено углубленное изучение микрoэкологического статуса людей, занимающихся хлопководством в Кыргызской Республике и контактирующих с пестицидами;

- исследована степень пробиотической активности национальных кисло-молочных продуктов, показавших наибольшую результативность при коррекции дисбиозов.

Библиография включает 182 источника, из них 130 отечественных и из стран ближнего зарубежья, 52 – дальнего зарубежья.

Область применения: экология, микробиология, сельское хозяйство, медицина.

Кыргызстан Республикасында «Пестициддердин таасирин тындыгы ичигил рдин микрoэкологиясынын бозлш жн лрды прбиктир мнн жонгөл» дгнтмд 03.02.08-экология, 03.02.03-микробиология дитиги бюнч билгия илиминин кндид ты кмшт лкдржын изднүү үчүн жзылгн дитциясынын кыкч

К У У Д У У

гизги өздөр

Изилдөөнүн бьктилри

ң

Изилдөөнүн мкты

Изилдөө ыкмлары жн пп р т р

Илимий иштин жңычылдыгы

Библиография

Клднтрмгы

SUMMARY

of Akmaral Argynbaeva's thesis "Pesticide-induced disorders of the intestinal microbiota and their correction by probiotics" submitted for the Ph.D. degree in Biology (03.02.08 - Ecology, 03.02.03 – Microbiology)

Keywords: cotton growers, microflora, correction, dysbacteriosis, organochlorine compound.

The target of research: Intestinal microflora of 297 subjects was examined. Stool samples collected from a total of 297 subjects were analyzed.

Assessment of the degree of environmental pollution considering contamination of soil, water and foodstuffs by the residues of organochlorine pesticides: HCH, DDT and its analogues –aldrin and dieldrin.

The purpose of research: To assess the impact of pesticides on the intestinal biocenosis in cotton growers in different seasons and substantiate the tactics for the prevention and correction of dysbacteriosis.

Research techniques and equipment: The method of gas-liquid chromatography was mainly used during the research work, organochlorine pesticides concentrations were measured by DPR (constant recombination rate detector).

Microbiological studies on the identification and determination of dysbiotic disorders rates were performed in accordance with the scheme suggested by Bondarenko V.M., Likhoded V.G. (N.F. Gamaleya RAMS) Methodological recommendations on microbiological diagnosis of dysbacteriosis (Moscow, 2007).

Scientific novelty:

The impact of environmental pollution and biological media on intestinal microflora, emergence and development of dysbiotic states has been studied;

Microecological status of people involved in cotton production in the Kyrgyz Republic and people who contact with pesticides has been studied;

Probiotic activities of the national fermented milk products have been analyzed. These products were shown the most effective in correcting dysbiosis.

The reference list includes 182 entries with 130 domestic and 52 international entries.

Application area: ecology, microbiology, agriculture, medicine.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВВП – внутренний валовый продукт
ГСВ – группа семейных врачей
ГХЦГ – гексахлорциклогексан
ДОК - допустимая концентрация
ДДТ – 1,1,1 – трихлор – 2,2 –ди(4 – хлорфенил)этан
ДДЕ – 1,1 – дихлор – 2,2 –ди(4 – хлорфенил)этилен
ДДД – 1,1 – дихлор – 2,2 –ди(4 – хлорфенил)этан
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
КГМА – Кыргызская Государственная медицинская академия
КР – Кыргызская Республика
КМС – кисло-молочные смеси
КЖК – короткоцепочечные жирные кислоты
КРГСЦЭН - Кара-Сууйский районный центр Госсанэпиднадзора
НАН – Национальная академия наук
ПДК - предельно допустимая концентрация
ИМП – Институт медицинских проблем
СГМ – социально-гигиенический мониторинг
СОС – стойкие органические соединения
СОЗ – стойкие органические загрязнители
ТП - технологический процесс
ХОП – хлорорганические пестициды
ЮО НАН КР – Южное отделение Национальной академии наук Кыргызской Республики

Подписано в печать 16.03.2015
Формат 60/84 1/16. Объем 1,5 усл.п.л.
Заказ № 17/04-14 Тираж 100 экз.

Отпечатано в ИМП ЮО НАН КР
723504, г.Ош, ул.Узгенская 130А

