

Шейна Н.И.¹, Буданова Е.В.², Колесникова В.В.¹, Мялина Л.И.¹, Сазонова Л.П.¹

Микробиота кишечника крыс при воздействии биотехнологических микроорганизмов различного таксономического положения

¹ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, Москва, Россия;²ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)», 119991 Москва, Россия

Введение. Профилактика здоровья работающих на предприятиях биотехнологической промышленности базируется на соблюдении гигиенических нормативов, разработка которых включает также изучение влияния биотехнологических штаммов микроорганизмов на микробиоценоз кишечника крыс в эксперименте.

Материалы и методы. Проведён анализ характера и степени выраженности изменений микробиоты кишечника крыс при воздействии 52 биотехнологических штаммов микроорганизмов, принадлежащих к различным таксономическим группам: грамположительные и грамотрицательные бактерии, актиномицеты, дрожжеподобные и плесневые грибы. Эксперименты выполнялись на белых беспородных крысах при ингаляционном воздействии суспензии микроорганизмов в минимально эффективных концентрациях 10^3 – 10^8 КОЕ/м³ в течение 1 мес. Бактериологическое исследование осуществляли путём посева фекалий после приготовления серии десятикратных разведений на набор питательных сред для последующего культивирования. После инкубации производили подсчёт колоний выросших микроорганизмов и идентификацию до рода. Количество микроорганизмов выражали в виде десятичного логарифма колониобразующих единиц (lg КОЕ/г фекалий). Статистическую обработку результатов исследования проводили в программах Statistica 6.0 (StatSoft, USA) и Microsoft Office Excel 2007. Результаты были статистически достоверными при $p < 0,05$.

Результаты. Наиболее заметные изменения в составе кишечной микробиоты были отмечены при ингаляционном воздействии дрожжеподобных грибов рода *Candida* на уровне 10^3 – 10^4 КОЕ/м³, при воздействии плесневых грибов (*Aspergillus awamori*, *Penicillium funiculosum* и *Tolyposcladium cylindrosporium*) на уровне $2 \cdot 10^4$ КОЕ/м³ и грамотрицательных палочек родов *Pseudomonas* и *Alcaligenes* при ингаляционном заражении в концентрации $5 \cdot 10^5$ КОЕ/м³. Выявлено снижение содержания кишечных палочек, увеличение представителей грамположительной микрофлоры (стафилококки, энтерококки), для отдельных родов показано существенное снижение содержания лактобацилл. Родоккокки (*Rh. corallinus*, *Rh. erythropolis*, *Rh. jianlingiae*) не вызывали подобных нарушений даже при их высокой концентрации (10^6 – 10^7 КОЕ/м³) во вдыхаемом воздухе.

Заключение. Полученные данные на модели животных использованы для обоснования ПДК биотехнологических штаммов микроорганизмов в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе населённых мест, согласно существующим методическим указаниям.

Ключевые слова: биотехнологические микроорганизмы; микробиота кишечника; гигиеническое нормирование; воздух рабочей зоны и атмосферы

Для цитирования: Шейна Н.И., Буданова Е.В., Колесникова В.В., Мялина Л.И., Сазонова Л.П. Микробиота кишечника крыс при воздействии биотехнологических микроорганизмов различного таксономического положения. *Гигиена и санитария*. 2021; 100 (3): 234–239. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-3-234-239>

Для корреспонденции: Шейна Наталья Ивановна, доктор биол. наук, профессор, профессор кафедры гигиены ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997 Москва. E-mail: ni_sheina@mail.ru

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Благодарность. Исследование не имело спонсорской поддержки. Инициативная научно-исследовательская работа.

Участие авторов: Шейна Н.И., Буданова Е.В. – концепция и дизайн исследования, статистическая обработка, написание текста, редактирование; Колесникова В.В., Мялина Л.И., Сазонова Л.П. – сбор и обработка материала. Все соавторы – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Поступила 13.05.2020 / Принята к печати 10.03.2021 / Опубликована 16.04.2021

Natalia I. Sheina¹, Elena V. Budanova², Valentina V. Kolesnikova¹, Lyubov I. Mjalina¹,
Lyubov I. Sazonova¹

The intestinal microbiota of rats under the influence of biotechnological strains of microorganisms from various taxonomic groups

¹Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997, Russian Federation;²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, 119991, Russian Federation

Introduction. The microbiota of the gastrointestinal tract (GIT) plays an essential role in maintaining human health. Many factors, including industrial pollutions with biotechnological strains of microbes, can affect the normal balance of intestinal microbiota. The biotechnological industry nowadays produces a wide range of products for medical and veterinary use, agriculture, food, chemical industries, etc. To develop hygienic standards that regulate the possible adverse effect of biotechnological strains of microorganisms on workers' health, the intestinal microflora of rats in the experiment can be studied. The data obtained were used as the basic concept in elaborating state sanitary standards for limitations of the concentrations of biotechnological strains of microorganisms in the ambient air of the working area and settlements' atmosphere.

Materials and methods. We have tested 52 strains of microorganisms applied in biotechnology as producers of a variety of biological substances. They included members of different taxonomic groups: gram-positive and gram-negative bacteria, actinomycetes, molds, and yeasts. The experiments were carried out on conventional male and female white rats (290–320 g, body weight). Each test and control group of animals included eight animals. The strains of microorganisms mentioned above were given to animals by inhalation of minimal effective doses of microbes in the concentrations of 10^3 – 10^8 CFU/m³ during one month. To demonstrate possible adverse effects to gut microflora, the routine bacteriological examination of animal feces was performed. To do this, after the priming, the 10-fold dilutions of animal feces in sterile saline were inoculated onto a set of general-purpose and selective culture media for Enterobacteriaceae members, staphylococci, enterococci, clostridia, bifidobacteria, lactobacilli, and fungi, with subsequent identification of the genus of the isolated microorganism. After that, the concentrations of microorganisms were calculated and measured in lg of CFU/g of feces. The Institutional Ethical Committee of Animal Care and Use of the Pirogov Russian National Research Medical University approved all procedures involving animals. The results of experiments were analyzed with a simple t-test using Statistica (v.6.0, Stat Soft, USA) and Microsoft Office Excel 2007. Results were considered statistically significant when $p < 0.05$.

Results. The most notable changes in the composition of the intestinal microbiota were observed after inhaling of yeasts of genus *Candida* at the level of 10^3 – 10^4 CFU/m³ and in cases of exposure to molds (*Aspergillus awamori*, *Penicillium funiculosum*, and *Tolypocladium cylindrosporium*) in the concentration of $2 \cdot 10^4$ CFU/m³, and gram-negative bacteria of the genus *Alcaligenes* and genus *Pseudomonas* at $5 \cdot 10^5$ CFU/m³. We observed a dramatic decrease of *Escherichia coli* and the increase of gram-positive bacteria (staphylococci, enterococci). For some genera of biotechnological strains, a significant decline in the content of lactobacilli was also shown. On the other hand, *Rhodococcus* did not cause any disturbances even at high concentrations in the ambient air.

Conclusion. The obtained data can be used to develop biosafety and hygienic standards for industrial microbes to help decrease or minimize the occupational risk of infection or undesirable allergic effect when working with biotechnological strains of microbes in the ambient air of residential areas.

Keywords: biotechnological (industrial) microorganisms; intestinal microbiota; hygiene regulations; biosafety standards; ambient air, the air of the working area

For citation: Sheina N.I., Budanova E.V., Kolesnikova V.V., Mjalina L.I., Sazonova L.P. The intestinal microbiota of rats under the influence of biotechnological strains of microorganisms from various taxonomic groups. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian Journal)* 2021; 100 (3): 234–239. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-3-234-239> (In Russ.)

For correspondence: Natalia I. Sheina, MD, Ph.D., DSci., Professor, professor of hygiene department of the Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, 117997, Russian Federation. E-mail: ni_sheina@mail.ru

Information about the authors:

Sheina N.I., <https://orcid.org/0000-0002-2314-183X>; Budanova E.V., <https://orcid.org/0000-0003-1864-5635>; Kolesnikova V.V., <https://orcid.org/0000-0001-8844-4906>; Mjalina L.I., <https://orcid.org/0000-0002-8136-8549>; Sazonova L.P., <https://orcid.org/0000-0001-9312-996X>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Contribution of the authors: Sheina N.I., Budanova E.V. – the concept and design of the study, statistical analysis, writing the text, editing; Kolesnikova V.V., Myalina L.I., Sazonova L.P. – the collection and processing of the material. All co-authors – approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article.

Received: May 13, 2021 / Accepted: March 10, 2021 / Published: April 16, 2021

Введение

Микробиота желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) представляет собой сложную экологическую систему, которая играет существенную роль в обеспечении нормальной жизнедеятельности организма человека: она выполняет иммуномодулирующую, детоксикационную, антимутагенную и антиканцерогенную функции. Представители нормальной микрофлоры обеспечивают колонизационную резистентность, подавляя рост патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Продукты ферментации углеводов бактериями кишечной микробиоты служат основным источником энергии для эпителия пищеварительного тракта. Эти микроорганизмы также осуществляют процессы всасывания питательных веществ, участвуют в переваривании клетчатки, синтезе витаминов, снижают содержание холестерина в крови, нормализуют метаболизм, предупреждая развитие ожирения и сахарного диабета. Кроме того, микробиота кишечника способна модулировать поведение человека, так как производит около половины серотонина и дофамина организма [1–4].

В современных условиях имеется широкий спектр социально-экономических, санитарно-эпидемиологических, медицинских и производственных воздействий, которые могут обуславливать микробиологические нарушения как в организме человека в целом, так и в его пищеварительном тракте. При этом наиболее частыми проявлениями нарушений кишечной микробиоты являются снижение концентрации основных бактерий-симбионтов – бифидобактерий, лактобацилл, энтерококков и появление условно-патогенных штаммов микроорганизмов [5, 6].

В настоящее время биотехнологическая промышленность является одной из наиболее активно развивающихся перспективных отраслей народного хозяйства, поскольку на основе управления жизнедеятельностью микроорганизмов можно получать широкий ассортимент продукции, используемой в медицине, ветеринарии, сельском хозяйстве, пищевой, химической промышленности. Однако изучение здоровья работающих на предприятиях биотехнологической промышленности, исследование характера действия микроорганизмов-продуцентов в эксперименте свидетельствуют о возможном неблагоприятном влиянии их на организм. Было отмечено, например, что нарушения здоровья работающих и населения, проживающего недалеко от указанных предприятий, наблюдались в виде перестройки иммунологической реактивности организма с признаками аллергического поражения органов респираторного тракта, слизистых верхних дыхательных путей, кожных покровов, желудочно-кишечного тракта и микробиоты кишечника [7–14]. Важным

профилактическим решением проблемы биобезопасности является разработка и обоснование гигиенических нормативов (ПДК) микроорганизмов-продуцентов в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе населённых мест^{1,2}.

Цель исследования – выявить закономерности нарушения микробиоценоза кишечника крыс в эксперименте при воздействии биотехнологических штаммов микроорганизмов, принадлежащих к различным таксономическим группам.

Материалы и методы

Проведена оценка характера микробиологических изменений микробиоты кишечника крыс при воздействии 52 биотехнологических штаммов микроорганизмов, принадлежащих к различным таксономическим группам: грамположительные и грамотрицательные бактерии, актиномицеты, дрожжеподобные и плесневые грибы (табл. 1).

Дизайн экспериментального исследования одобрен Этическим комитетом по работе с животными РНИМУ им. Н.И. Пирогова. Эксперименты выполнялись на белых беспородных крысах обоего пола с массой тела 290–320 г, которые содержались в виварии барьерного типа. Основные условия содержания и ухода соответствовали правилам лабораторной практики (GLP) и Приказу Минздрава России от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Каждая группа (опытные и контрольные) включала 8 животных. Оценка характера вредного действия штаммов биотехнологических микроорганизмов проводили при интраназальном введении суспензии микроорганизмов животным в течение 1 мес. По окончании экспериментов крыс подвергли гуманной эвтаназии с использованием летальной дозы пентотала натрия в соответствии с принципами, изложенными в Рекомендациях Европейской комиссии по эвтаназии экспериментальных животных, также закрепленными ГОСТ 33215-2014 и одобренными Этическим комитетом РНИМУ им. Н.И. Пирогова. Дозы микроорганизмов, вводимые животным интраназально, соответствовали расчётно-поглощённым концентрациям 10^3 – 10^8 КОЕ/м³ при ингаляционном воздействии³ [16].

¹ ГН 2.1.6.3537-18 Предельно допустимые концентрации (ПДК) микроорганизмов-продуцентов, бактериальных препаратов и их компонентов в атмосферном воздухе городских и сельских поселений.

² ГН 2.2.6.3538-18 Предельно допустимые концентрации (ПДК) микроорганизмов-продуцентов, бактериальных препаратов и их компонентов в воздухе рабочей зоны.

³ Методические указания по экспериментальному обоснованию ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах производственной и окружающей среды. № 5789/1-91 от 11.06.1991 г. М.: МЗ СССР; 1991: 22 с.

Таблица 1 / Table 1

Таксономическое положение изучавшихся биотехнологических микроорганизмов [15]

Taxonomy of the studied biotechnological microorganisms [15]

Бактерии <i>Bacteria</i>	Актиномицеты <i>Actinomycetes</i>	Микромицеты <i>Micromycetes</i>
Грамотрицательные палочки: Gram-negative rods: <i>Alcaligenes denitrificans</i> <i>Azotobacter chroococcum</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aureofaciens</i> <i>Pseudomonas caryophyllii</i>	Собственно актиномицеты: <i>Actinomycetes</i> : <i>Streptomyces aureofaciens</i> <i>Streptomyces avermitilis</i> <i>Streptomyces fradiae</i> <i>Streptomyces griseus</i>	Аскомицеты: <i>Ascomycetes</i> : Сахаромицеты (порядок): Order <i>Sachcaromycetales</i> : <i>Candida tropicalis</i> <i>Candida utilis</i> <i>Kluyveromyces maxianus</i> <i>Yarrowia lipolytica</i>
Грамположительные палочки, не образующие споры, и кокки: Gram-positive non-endospore-forming rods and cocci:	Нокардиоформные актиномицеты: <i>Nocardioform bacteria</i> : <i>Rhodococcus corallinus</i> <i>Rhodococcus erythropolis</i> <i>Rhodococcus jianlingiae</i>	Эуроциевые: Order <i>Euroitiales</i> : <i>Aspergillus terreus</i> <i>Aspergillus awamori</i> <i>Penicillium funiculosum</i> <i>Penicillium canescens</i>
Грамположительные палочки, образующие споры: Gram-positive endospore-forming rods:	Коринеформные бактерии: <i>Coryneform bacteria</i> : <i>Corynebacterium glutamicum</i> <i>Brevibacterium flavum</i>	Гипокрейнные (порядок): Order <i>Hypocreales</i> : <i>Trichoderma asperellum</i> <i>Trichoderma longibrachiatum</i> <i>Trichoderma reesei</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Tolyposcladium cylindrosporium</i>
Грамвариабельные бактерии: Gram-variable bacteria:		Базидиомицеты: <i>Basidiomycetes</i> : Order <i>Leucosporidiales</i> <i>Leucosporidium scotti</i>

Бактериологическое исследование фекалий крыс для определения характера и выраженности микробиологических изменений просветной микрофлоры кишечника проводили сразу после окончания введения штамма и спустя 2 нед (восстановительный период), согласно методике, разработанной во Всесоюзном НИИ антибиотиков, в собственной модификации [17]. С этой целью после приготовления серии десятикратных разведений фекалий крыс осуществляли посев на набор питательных сред для последующего культивирования.

После инкубации производили подсчет колоний выросших микроорганизмов. Количество микроорганизмов в 1 г фекалий выражали в виде десятичного логарифма колониеобразующих единиц (КОЕ).

Статистическую обработку результатов исследования проводили в программах Statistica 6.0 (StatSoft, USA) и Microsoft Office Excel 2007. Результаты были статистически достоверными при $p < 0,05$ [18].

Результаты

Анализ полученных данных позволил определить характер и степень нарушений микробиологии кишечника при воздействии непатогенных штаммов микроорганизмов различных таксонов, используемых в биотехнологии, на минимально эффективных уровнях воздействия (табл. 2).

Наиболее заметные изменения в составе кишечной микробиоты были отмечены при ингаляционном воздействии дрожжеподобных грибов рода *Candida* на уровне 10^3 – 10^4 КОЕ/м³. Выявлено снижение содержания кишечных палочек, увеличение численности стафилококков и энтерококков, существенное снижение содержания лактобацилл.

Воздействие остальных представителей микромицетов, включая плесневые грибы, в целом характеризовалось нарушением баланса ассоциаций нормофлоры, которое выражалось в изменении качественно-количественных соотношений

эшерихий, энтеробактерий, кластридий, дрожжеподобных грибов, для некоторых штаммов – лактобацилл и бифидобактерий. У отдельных представителей эти изменения отмечались уже через 2 нед от воздействия. Выявленные изменения, соответствующие 1–2-й степени дисбактериоза, наблюдали при воздействии *Aspergillus awamori*, *Penicillium funiculosum* и *Tolyposcladium cylindrosporium* на уровне $2 \cdot 10^4$ КОЕ/м³ (увеличение условно-патогенной микрофлоры, включая энтеробактерии, увеличение численности кластридий и снижение содержания представителей облигатной микрофлоры) (рис. 1) [19].

Среди бактерий потенциально опасной группой в плане развития нарушений микробиологического равновесия являлась группа грамотрицательных палочек родов *Pseudomonas* и *Alcaligenes*. Отмечено снижение количества лактозопозитивных и увеличение численности лактозонегативных *E. coli* наряду с возрастанием представителей грамположительной микрофлоры (стафилококки, энтерококки, кластридии), дрожжеподобных грибов рода *Candida* (рис. 2). Для отдельных видов было показано увеличение лактобацилл в фекалиях крыс, что, возможно, связано с миграцией их из пристеночного слоя муцина кишечника [5, 20]. Подобные изменения наблюдались при воздействии биотехнологических микроорганизмов на уровне $5 \cdot 10^4$ КОЕ/м³.

Среди биотехнологических штаммов наиболее широко представлена и хорошо изучена группа актиномицетов, поскольку многие представители её являются продуцентами различных антибиотиков. В целом группа существенным образом не изменяла микробного пейзажа кишечника на минимально эффективных уровнях воздействия. В то же время показано, что отдельные представители (*Streptomyces aureofaciens*, *Streptomyces avermitilis*, *Streptomyces fradiae*) способны вызывать умеренно выраженный дисбаланс в содержании эшерихий и стафилококков; в отдельных случаях мы отмечали снижение численности лактобацилл при ингаляционном воздействии в концентрации 10^4 КОЕ/м³.

Таблица 2 / Table 2

Характеристика микрoэкологических изменений кишечника крыс при воздействии микроорганизмов, используемых в биотехнологиях
The microecological changes of intestinal microbiota of rats under the influence of biotechnological microorganisms

Группа микроорганизмов Microorganisms	Минимально эффективные уровни воздействия, КОЕ/м ³ Minimum effective dose, CFU/m ³	Степень выраженности микрoэкологических изменений Degree of changes	Особенности изменений микрофлоры Representative changes
Дрожжеподобные грибы <i>Candida</i> Yeasts of genus <i>Candida</i> spp.	10 ³ –10 ⁴	Выраженные Prominent	↓ лактозоположительные <i>E. coli</i> / ↓ lactose-positive <i>E. coli</i> ↑ стафилококки / ↑ staphylococci ↑ энтерококки / ↑ enterococci ↓ лактобациллы / ↓ lactobacilli
Плесневые грибы Molds	10 ⁴	Умеренно выраженные Moderate	↓ <i>E. coli</i> ↑ условно-патогенные энтеробактерии / ↑ opportunistic enterobacteria ↑ кандиды / ↑ <i>Candida</i> spp. ↑ клостридии / ↑ clostridia ↓ ↑ лактобациллы / ↓ ↑ lactobacilli ↓ ↑ бифидобактерии / ↓ ↑ bifidobacteria
Грамотрицательные бактерии Gram-negative bacteria	10 ⁴	Умеренно выраженные Moderate	↓ лактозоположительные <i>E. coli</i> / ↓ lactose-positive <i>E. coli</i> ↑ лактозонегативные <i>E. coli</i> / ↑ lactose-negative <i>E. coli</i> ↑ условно-патогенные энтеробактерии / ↑ opportunistic enterobacteria ↑ стафилококки / ↑ staphylococci ↑ энтерококки / ↑ enterococci ↑ кандиды / ↑ <i>Candida</i> spp.
Азотобактеры и азоспириллумы, грамположительные палочки и кокки <i>Azotobacter</i> spp., <i>Azospirillum</i> spp.; Gram-positive rods and cocci	10 ⁵	Начальные признаки Mild	↓ лактозоположительные <i>E. coli</i> / ↓ lactose-positive <i>E. coli</i> ↑ лактозонегативные <i>E. coli</i> / ↑ lactose-negative <i>E. coli</i>
Собственно актиномицеты <i>Actinomyces</i>	10 ⁴	Отсутствуют или умеренно выраженные Absent of moderate	↓ лактозоположительные <i>E. coli</i> / ↓ lactose-positive <i>E. coli</i> ↑ стафилококки / ↑ staphylococci ↓ лактобациллы / ↓ lactobacilli
Коринеформные бактерии Coryneform bacteria	10 ⁵	Слабо выраженные Mild	↓ лактозоположительные <i>E. coli</i> / ↓ lactose-positive <i>E. coli</i> ↑ условно-патогенные энтеробактерии / ↑ opportunistic enterobacteria
Родококки <i>Rhodococcus</i> spp.	10 ⁴ –10 ⁸	Отсутствуют Absent	Нормофлора / No visible changes

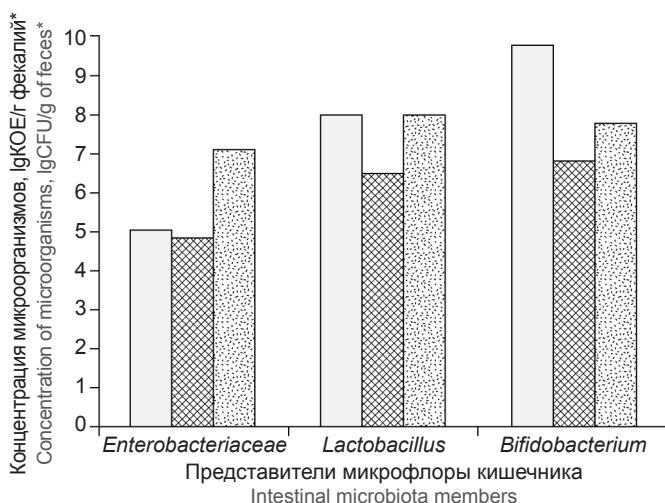


Рис. 1. Концентрация (lgKOE/г) представителей микробиоты кишечника крыс при воздействии плесневых грибов на минимально эффективных уровнях.

Fig. 1. The concentration (lg CFU/g) of some members of gut microbiota of rats under the inhaling of Molds (lg CFU/g).

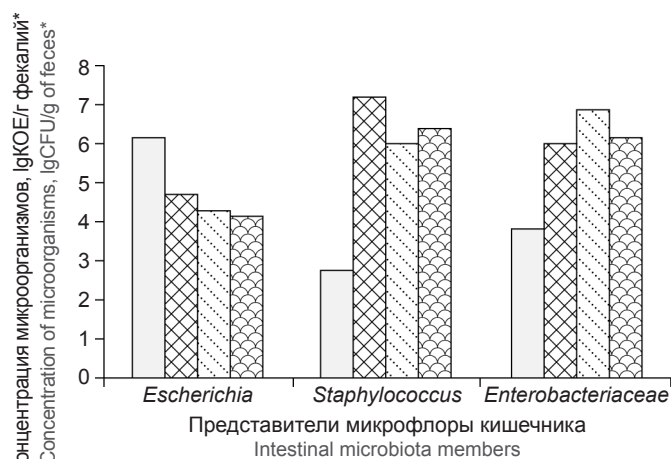


Рис. 2. Концентрация (lgKOE/г) условно-патогенной микрофлоры при воздействии грамотрицательных бактерий.

Fig. 2. The concentration of opportunistic members of gut microbiota of rats exposed to gram-negative bacteria (lg CFU/g).

Микроорганизмы-продуценты различных биологически активных веществ, принадлежащие к коринеформным бактериям, при воздействии на уровне $5 \cdot 10^5$ КОЕ/м³ оказывали слабый эффект на микробиоту кишечника: снижение эшерихий, увеличение высеваемости и количества условно-патогенных энтеробактерий, в редких случаях — увеличение численности грибов рода *Candida* по сравнению с контролем.

Родококки (*Rhodococcus erythropolis* и другие виды этого рода) не вызывали изменений микрофлоры даже на высоких уровнях воздействия (10^6 – 10^7 КОЕ/м³).

Остальные изученные бактерии-продуценты, относящиеся к другим таксонам (грамположительные кокки, спорообразующие и неспорообразующие палочки), как правило, вызывали минимальные изменения микробного пейзажа (снижение содержания *E. coli*) даже на уровне $5 \cdot 10^5$ КОЕ/м³ и выше [21, 22].

Обсуждение

Наши исследования показали, что воздействие штаммов микроорганизмов, применяемых в биотехнологии, отличалось от эффектов химических соединений, включая антибиотики, вызывающих микробиологические нарушения кишечника, и имели свои характерные особенности:

- не наблюдалось значительных нарушений микробного пейзажа кишечника даже при длительном ингаляционном/интраназальном воздействии. Бактериологические исследования, проведённые в восстановительном периоде, показали, что все изменения микробиоты кишечника, как правило, возвращались к норме через 2 нед после прекращения воздействия, что свидетельствует о компенсаторных изменениях в пределах физиологических колебаний. В этом случае организм животных сам уравновешивал возникшие нарушения качественного и количественного состава нормальной микрофлоры при воздействии биологических загрязнителей в отсутствие клинической симптоматики;
- значимыми признаками микробиологических нарушений при воздействии микроорганизмов-продуцентов являлись содержание кишечных палочек и их изменчивость, а также структура ассоциаций условно-патогенной микрофлоры. С современных позиций микробиологическое рассматривают как состояние морфофункционального равновесия взаимосвязанных микроорганизмов-симбионтов, сформировавших стабильную структуру микробного пейзажа [23]. Поэтому изменения отдельных показателей микробного пейзажа не являются специфичными для воздействия определённых таксономических групп микроорганизмов-продуцентов. Изменения качественных и количественных соотношений условно-патогенных бактерий, входящих в состав микробных ассоциаций в целом, служат показателем характера и степени нарушения биологического равновесия в кишечной микрофлоре;

- снижение анаэробной и микроаэрофильной микрофлоры наблюдалось не часто, как правило, при воздействии дрожжеподобных и плесневых грибов. В связи с этим мы полагаем, что соотношение анаэробы/аэробы как показатель микробиологических нарушений кишечника при воздействии биотехнологических микроорганизмов использовать затруднительно;
- обоснованно можно утверждать, что микробиологические нарушения в кишечнике развиваются, как правило, на фоне какого-либо заболевания или состояния, то есть являются вторичными [23, 24]. Результаты наших исследований подтверждают, что выраженные микробиологические нарушения кишечника наблюдались при воздействии микроорганизмов определённых таксономических групп, обладающих потенциальными аллергизирующими свойствами. Было установлено, что наиболее аллергеноопасными являются микроспеты родов *Candida*, *Aspergillus*, *Penicillium* и грамтрицательные бактерии родов *Pseudomonas*, *Alcaligenes* [25, 26].

Заключение

Таким образом, анализ полученных данных свидетельствует о наличии взаимосвязи между таксономией штамма-продуцента и микробиологическими изменениями кишечника, обусловленными аллергенными свойствами штамма, а также о целесообразности и необходимости бактериологических исследований при гигиеническом нормировании (обосновании ПДК) биотехнологических штаммов микроорганизмов в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе населённых мест.

Следует отметить, что узконаправленные исследования микрофлоры кишечника животных с целью разработки гигиенических нормативов для биотехнологических производств, подобные нашим, очень немногочисленны. Это в первую очередь обусловлено тем, что данные отечественной и зарубежной литературы сосредоточены главным образом на современных генетических методах исследования микробиома человека с целью определения его роли при различных патологических состояниях инфекционной и неинфекционной природы. К сожалению, среди имеющихся данных отечественной и зарубежной литературы имеется довольно ограниченное число исследований на эту тему, да и те опубликованы в ближнем зарубежье — Белоруссии и Украине. Однако мы считаем, что, поскольку микробиота желудочно-кишечного тракта играет важную роль в обеспечении нормальной жизнедеятельности организма, её нарушения различного генеза могут иметь неблагоприятные последствия для здоровья человека в целом. Поэтому, являясь «пионерами» в этой области, мы продолжаем работу в данном направлении, разрабатываем новые гигиенические нормативы для обоснования ПДК в воздухе рабочей зоны и населённых мест для новых штаммов микробов-продуцентов, в том числе генетически изменённых.

Литература

(п.п. 18, 25, 26 см. References)

1. Шендеров Б.А. Нормальная микрофлора и ее роль в поддержании здоровья человека. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 1998; (1): 61–5.
2. Бондаренко В.М., Лиходед В.Г. Распознавание комменсальной микрофлоры образ-распознающими рецепторами в физиологии и патологии человека. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2012; 89(3): 82–9.
3. Шендеров Б.А., Юдин С.М., Загайнова А.В., Шевырева М.П. *Akkermansia muciniphila* — новый универсальный пробиотик на основе живых комменсальных бактерий кишечника человека: действительность или легенда? *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2019; 96(4): 105–15. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-4-105-115>
4. Бухарин О.В., Иванова Е.В., Перунова Н.Б., Никифоров И.А. Функциональные группы бифидобактерий кишечной микробиоты в ассоциативном симбиозе человека. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2018; 95(1): 3–9.
5. Грачева Н.М., Партин О.С., Шербаков И.Т. Дисбактериоз кишечника у взрослых. *Инфекционные болезни*. 2003; 1(1): 34–8.
6. Алешукина А.В. Патогенез дисбактериоза кишечника. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2012; 89(3): 74–8.
7. Осипова И.Н., Ваганова О.А., Саканян Е.И. Актуальные вопросы стандартизации в РФ биотехнологических лекарственных препаратов на основе моноклональных антител. *Биотехнология*. 2017; 33(1): 80–90. <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2017-33-1-80-90>
8. Каминская Л.П., Кондратова Т.П., Поберезкина Д.Я. Влияние кормовых антибиотиков на рабочих, занятых в их производстве. В кн.: *Тезисы докладов Всесоюзной конференции «Биологический фактор — производственная и окружающая среда — здоровье человека»*. М.; 1987: 61–3.
9. Квятковская И.Я. Показатели количественного состава микрофлоры кишечника — один из критериев гигиенического нормирования препаратов биологического происхождения. *Гигиена труда и профзаболевание*. 1984; (5): 37–8.

Original article

10. Квятковская И.Я. Влияние микробных препаратов, применяемых в сельском хозяйстве, на микрофлору кишечника. *Гигиена и санитария*. 1981; 70(6): 82–3.
11. Поберезкина Д.Я., Петриченко Л.Н., Бублий Г.Ф. Влияние условий производства кормогризина и биовита на состояние микрофлоры работающих. В кн.: *Тезисы докладов Всесоюзной конференции «Биологический фактор – производственная и окружающая среда – здоровье человека»*. М.; 1987: 77–8.
12. Масыагутова Л.М., Бакиров А.Б. Иммунологические показатели у работников различных животноводческих производств. *Гигиена и санитария*. 2019; 98(9): 972–7. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-9-972-977>
13. Масыагутова Л.М., Бадамшина Г.Г., Бакиров А.Б. Оценка микробиологического риска для работников агропромышленного комплекса. *Медицина труда и экология человека*. 2015; (1): 34–9.
14. Мельниченко П.И., Большаков А.М., Мелешко В.Д., Остапович И.К., Ходыкина Т.М. Экология и профилактическая медицина: проблемы взаимодействия. *Гигиена и санитария*. 2019; 98(4): 353–8. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-4-353-358>
15. Быков А.С., Зверев В.В., ред. *Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии*. М.: МИА; 2018.
16. Сергеук Н.П., Супрун И.П., Буянов В.В. *Санитарно-эпидемиологическое нормирование промышленных микроорганизмов*. Черногловка; 2003.
17. Воробьев А.А., Быков А.С., Бойченко М.Н., Несвижский Ю.В., Пашков Е.П., Миронов А.Ю. и соавт. Исследования по микроэкологии человека на кафедре микробиологии с вирусологией и иммунологией. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2001; (1): 27–30.
19. Шеина Н.И., Буданова Е.В. Оценка микроэкологического дисбаланса кишечника животных при воздействии промышленных микроорганизмов в токсиколого-гигиенических исследованиях. *Токсикологический вестник*. 2005; (5): 23–7.
20. Лобзин Ю.В., Макарова В.Г., Корвякова Е.Р., Захаренко С.М. *Дисбактериоз кишечника (клиника, диагностика, лечение). Руководство для врачей*. СПб.: Фолиант; 2003.
21. Шеина Н.И., Скрябина Э.Г., Буданова Е.В. *Bacillus subtilis* 65, штамм-продуцент нейтральной протениназы и амилазы. *Токсикологический вестник*. 2004; (1): 39–41.
22. Шеина Н.И., Скрябина Э.Г., Буданова Е.В. *Bacillus subtilis* 72, штамм-продуцент щелочной протеазы. *Токсикологический вестник*. 2004; (1): 41–2.
23. Загородняя Е.Ф. Дисбактериоз кишечника (обзор). *Дальневосточный журнал инфекционной патологии*. 2010; (16): 131–41.
24. Ракитянская Т.П., Антипова А.Ф., Варфоломеева В.Н., Тюнева Н.И., Антонова В.С., Манушина Т.И. Обнаружение факультативной микрофлоры при исследованиях на кишечный дисбактериоз. *Инфекция и иммунитет*. 2016; 6(3): 102.

References

1. Shenderov B.A. Normal microflora and its role in maintaining human health. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 1998; (1): 61–5. (in Russian)
2. Bondarenko V.M., Likhoded V.G. Recognition of commensal microflora by image-recognizing receptors in human physiology and pathology. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 89(3): 82–9. (in Russian)
3. Shenderov B.A., Yudin S.M., Zagaynova A.V., Shevyreva M.P. Akkermansia muciniphila is a new universal probiotic on the basis of live human commensal gut bacteria: the reality or legend? *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2019; 96(4): 105–15. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-4-105-115> (in Russian)
4. Bukharin O.V., Ivanova E.V., Perunova N.B., Nikiforov I.A. Functional groups of bifidobacteria of the intestinal microbiota in human associative symbiosis. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2018; 95(1): 3–9. (in Russian)
5. Gracheva N. M., Partin O.S., Shcherbakov I.T. Intestinal dysbiosis in adults. *Infektsionnye bolezni*. 2003; 1(1): 34–8. (in Russian)
6. Aleshukina A.V. The pathogenesis of intestinal dysbiosis. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2012; 89(3): 74–8. (in Russian)
7. Osipova I.N., Vaganova O.A., Sakanyan E.I. Actual problems in standardization in RF of biotechnological medicinal products on the basis of monoclonal antibodies. *Biotehnologiya*. 2017; 33(1): 80–90. <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2017-33-1-80-90> (in Russian)
8. Kaminskaya L.P., Kondratova T.P., Poberezkina D.Ya. The effect of feed antibiotics on workers employed in their production. In: *Abstracts of the All-Union Conference «Biological Factor – Production and Environment – Human Health» [Tезисы докладов Vsesoyuznoy konferentsii «Biologicheskii faktor – proizvodstvennaya i okruzhayushchaya sreda – zdorov'e cheloveka»]*. Moscow; 1987: 61–3. (in Russian)
9. Kvyatkovskaya I.Ya. Indicators of the quantitative composition of intestinal microflora is one of the criteria for hygienic regulation of drugs of biological origin. *Gigiena truda i profzabolevaniya*. 1984; (5): 37–8. (in Russian)
10. Kvyatkovskaya I.Ya. The effect of microbial preparations used in agriculture on the intestinal microflora. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 1981; 70(6): 82–3. (in Russian)
11. Poberezkina D.Ya., Petrichenko L.N., Bublik G.F. Influence of production conditions of fodder grisin and biovit on the state of microflora of workers. In: *Abstracts of the All-Union Conference «Biological Factor – Production and Environment – Human Health» [Tезисы докладов Vsesoyuznoy konferentsii «Biologicheskii faktor – proizvodstvennaya i okruzhayushchaya sreda – zdorov'e cheloveka»]*. Moscow; 1987: 77–8. (in Russian)
12. Masyagutova L.M., Bakirov A.B. Immunological indices in workers of various livestock productions. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2019; 98(9): 972–7. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-9-972-977> (in Russian)
13. Masyagutova L.M., Badamshina G.G., Bakirov A.B. Microbiological risk assessment among agroindustrial workers. *Meditsina truda i ekologiya cheloveka*. 2015; (1): 34–9. (in Russian)
14. Mel'nichenko P.I., Bol'shakov A.M., Meleshko V.D., Ostapovich I.K., Khodykina T.M. Ecology and preventive medicine: problems of interaction. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2019; 98(4): 353–8. <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-4-353-358> (in Russian)
15. Bykov A.S., Zverev V.V., eds. *Atlas of Medical Microbiology, Virology and Immunology [Atlas po meditsinskoj mikrobiologii, virusologii i immunologii]*. Moscow: MIA; 2018. (in Russian)
16. Sergejuk N.P., Suprun I.P., Buyanov V.V. *Sanitary and Epidemiological Regulation of Industrial Microorganisms [Sanitarно-epidemiologicheskoe normirovanie promyshlennykh mikroorganizmov]*. Chernogolovka; 2003. (in Russian)
17. Vorob'ev A.A., Bykov A.S., Boychenko M.N., Nesvizhskiy Yu.V., Pashkov E.P., Mironov A.Yu., et al. A study on human microecology at the department of microbiology with virusology and immunology. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2001; (1): 27–30. (in Russian)
18. Kirkwood B.R., Sterne J.A.C. *Essential Medical Statistics*. Oxford: Blackwell Publishing; 2003.
19. Sheina N.I., Budanova E.V. Assessment of microecological imbalance of the intestines of animals under the influence of industrial microorganisms in toxicological and hygienic studies. *Toksikologicheskii vestnik*. 2005; (5): 23–7. (in Russian)
20. Lobzin Yu.V., Makarova V.G., Korvyakova E.R., Zakharenko S.M. *Intestinal Dysbiosis (Clinic, Diagnosis, Treatment). Handbook for Doctors [Disbakterioz kishchechnika (klinika, diagnostika, lechenie). Rukovodstvo dlya vrachej]*. St. Petersburg: Foliant; 2003. (in Russian)
21. Sheina N.I., Skryabina E.G., Budanova E.V. *Bacillus subtilis* 65, a producer strain of neutral proteinase and amylase. *Toksikologicheskii vestnik*. 2004; (1): 39–41. (in Russian)
22. Sheina N.I., Skryabina E.G., Budanova E.V. *Bacillus subtilis* 72, an alkaline protease producing strain. *Toksikologicheskii vestnik*. 2004; (1): 41–2. (in Russian)
23. Zavgorodnyaya E.F. Intestinal dysbiosis (review). *Dal'nevostochnyy zhurnal infektsionnoy patologii*. 2010; (16): 131–41. (in Russian)
24. Rakityanskaya T.P., Antipova A.F., Varfolomeeva V.N., Tyuneva N.I., Antonova V.S., Manushina T.I. Detection of optional microflora in studies on intestinal dysbiosis. *Infektsiya i immunitet*. 2016; 6(3): 102. (in Russian)
25. Sheina N.I., Budanova E.V., Mjalina L.I., Pivovarov Yu.P., Sazonova L.P. Biosafety assessment of microbial strains used in biotechnology according to their taxonomy. *Int. J. Biomed*. 2017; 7(1): 51–6. [https://doi.org/10.21103/Article7\(1\)_OA6](https://doi.org/10.21103/Article7(1)_OA6)
26. Sheina N.I., Budanova E.V., Mjalina L.I., Pivovarov Yu.P., Korolik V.V., Sazonova L.P., et al. A quantitative assessment of the morphofunctional activity of the population of mast cells exposed to biotechnological strains of microorganisms. *Int. J. Biomed*. 2018; 8(2): 150–4. [https://doi.org/10.21103/Article8\(2\)_OA9](https://doi.org/10.21103/Article8(2)_OA9)