

**КЫРГЫЗСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
имени И. К. АХУНБАЕВА**

**КЫРГЫЗСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ
ПЕРЕПОДГОТОВКИ И ПОВЫШЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ
имени С. Б. ДАНИЯРОВА**

Диссертационный совет Д 03.23.685

На правах рукописи
УДК: 579.61: 631. 427. 22 (575.2)

ТОЙЧУЕВА АСЕЛ УЕЗБЕКОВНА

**ФОРМИРОВАНИЕ КОЛОНИЗАЦИОННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ У
НОВОРОЖДЕННЫХ В УСЛОВИЯХ ЮГА КЫРГЫЗСТАНА.**

03.02.03. – микробиология

АВТОРЕФЕРАТ

**Диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

**Научный руководитель
Академик НАН КР, д.м.н., профессор
Адамбеков Д.А.**

Бишкек 2024

Работа выполнена в Кыргызской государственной медицинской академии им. И. К. Ахунбаева

Научный руководитель: **Адамбеков Доктурбек Адамбекович**
академик НАН КР, д.м.н., профессор,
заведующий кафедрой микробиологии,
вирусологии и иммунологии Кыргызской
государственной медицинской академии им.
И. К. Ахунбаева

**Официальные
оппоненты:**

Ведущая организация:

Защита диссертации состоится _____ на заседании диссертационного совета Д 03.23.685 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора (кандидата) биологических наук при Кыргызской государственной медицинской академии им. И. К. Ахунбаева, соучредитель Кыргызский государственный медицинский институт переподготовки и повышения квалификации им. С. Б. Даниярова по адресу: 720020, г. Бишкек, ул. Ахунбаева, 92, конференц-зал №. Ссылка доступа к видеоконференции защиты диссертации: _____

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеках Кыргызской государственной медицинской академии им. И. К. Ахунбаева (720020, г. Бишкек, ул. Ахунбаева, 92) и Кыргызского государственного медицинского института переподготовки и повышения квалификации им. С. Б. Даниярова (720017, г. Бишкек, ул. Боконбаева, 144а) и на сайте <https://www.vak.kg>

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук, доцент

И. Ш. Альджамбаева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации. Кыргызская Республика – это горная страна, где только 6,8 % от общей площади земель используется для возделывания сельскохозяйственных культур и 44 % земель используется в качестве пастбищ для скота. В советский период большие территории южных регионов использовали для выращивания хлопчатника, табака, где применялись хлорпестициды для борьбы с вредителями данных культур. Территории посевов были значительными и обработка полей велась с самолетов, что способствовало распространению пестицидов на большие территории [Отчет о загрязнении окружающей среды Int. 2018 Ноябрь; 25(32): 31836-31847. doi: 10.1007/s11356-017-0001-7. Epub 2017, 6 сентября].

В стране насчитывалось более 45 взлетно-посадочных полос сельскохозяйственного назначения и 183 склада пестицидов. Сегодня Центральная Азия содержит одни из самых больших запасов токсичных и запрещенных пестицидов в мире. Около 60% из них были высокотоксичными хлорорганическими пестицидами (ХОП), которые в настоящее время запрещены, либо их использование строго регулируется на международном уровне. Благодаря Стокгольмской конвенции все ХОП кроме ДДТ, не только были запрещены, но и их производство было закрыто. [Национальный план выполнения Стокгольмской конвенции о стойких органических загрязнителях, Бишкек 2006 г.]. Что касается ДДТ, то многие страны до сих пор используют его против опасных насекомых — переносчиков таких болезней, как малярия и клещевой энцефалит. ДДТ и его метаболиты наносят значительный вред сельскому населению, занимающемуся выращиванием хлопка, парниковых культур, винограда, овощей, табака и др.

В Кыргызстане до сих пор эти ядохимикаты являются основной причиной загрязнения почвы, воды в регионе. Основные остаточные захоронения пестицидов находятся в двух местах: в Сузакском районе Джалал-Абадской области, где имеется 1,8 млн. тонн, в том числе более 1 млн. тонн ХОП. Это также включает 70 тонн высокотоксичного инсектицида альдрина, который более опасен, чем ДДТ. Пестициды смываются в реки со всех этих захоронений во время дождей, распыляются по воздуху. Со склада Таш-Бака отравляющие вещества попадают в реку Кок-Арт; от Ак-Чабыр в реку Кызыл-Ункур. Обе реки впадают в реку Карадарья, а затем в Сырдарью, одну из крупнейших трансграничных рек Средней Азии. [Сводный отчет по инвентаризации запрещенных, просроченных и неизвестных пестицидов по Кыргызской Республике, ДХЗКР, 2017].

Проблемы, обусловленные влиянием пестицидов на здоровье населения, связаны не только с их общетоксическим действием, но и возможными отдаленными последствиями, среди которых особое беспокойство вызывают мутагенные и канцерогенные эффекты [Паизова З.М. 2012].

Все это требует проведения регулярного мониторинга ситуации с распространением содержания ХОП в почве, воде, биологических жидкостях людей, проживающих на экологически неблагоприятных территориях, чтобы оценить степень риска здоровью населения и разработать методы возможной нейтрализации токсического воздействия ХОП на проживающих на этих территориях людей и животных. [Постановление Правительства Кыргызской Республики от 27.07.2001 № 376 "О мерах по охране окружающей среды и здоровья населения от неблагоприятного воздействия отдельных опасных химических веществ и пестицидов" в ред. постановлений Правительства КР от 06.06.2011 N 289, от 28.06.2019 N 328].

Особой проблемой в данном контексте является высокий риск токсического действия ХОП на организм беременных женщин и новорожденных, влияние, оказываемое ХОП на содержание нормальной микрофлоры организма матери и новорожденного. Существуют ли способы коррекции неблагоприятного воздействия ХОП с помощью питания. Все эти вопросы легли в основу данного исследования.

Связь темы диссертации с крупными научными программами, основными научно-исследовательскими работами, проводимыми научными учреждениями.

Работа была выполнена частично в рамках проектов Института медицинских проблем Южного отделения Национальной академии наук Кыргызской Республики «Изучение влияния негативных факторов окружающей и производственной среды на здоровье населения» и проекта «Разработка медико-биологических комплексных мер сохранения здоровья населения экологически неблагоприятных зон», «Использование местных сырьевых ресурсов для профилактики и лечения патологий, обусловленных медико-экологическими факторами, образом жизни и характером питания населения Южного региона Кыргызстана».

Цель исследования. Изучить влияние факторов внешней среды и характера питания на формирование естественной резистентности нормальной микрофлоры организма новорожденных, для оценки степени риска здоровью.

Задачи исследования.

1. Исследовать степень содержания ХОП в биологическом материале матерей и детей, проживающих в районах с различной степенью экологического благополучия.

2. Проанализировать влияние ХОП на формирование нормобиоты ГМ, кишечника матерей и их детей, проживающих в районах с различной степенью экологического благополучия.

3. Изучить влияние характера питания на формирование естественной резистентности нормальной микрофлоры организма матерей и новорожденных, проживающих в районах с различной степенью экологического благополучия.

Научная новизна полученных результатов.

Впервые был проведен мониторинг экологического благополучия некоторых зон юга КР в отношении наличия остаточного содержания ХОП. В качестве маркера использовали грудное молоко кормящих женщин. Впервые выявлена прямая корреляционная связь между содержанием ХОП в грудном молоке и формированием колонизационной резистентности у новорожденных в зависимости от зон проживания.

Получило дальнейшее развитие изучение влияния применения национальных кисломолочных продуктов для коррекции дисбиозов, связанных с токсическим воздействием ХОП на организм проживающих в экологически неблагоприятных зонах страны.

Практическая значимость полученных результатов.

Полученные результаты работы могут быть использованы для совершенствования микробиологической диагностики дисбиозов у кормящих женщин и детей и способов их коррекции при неблагоприятных условиях проживания.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Ситуация с распространением и высоким содержанием ХОП в грудном молоке в соответствии с показателями биомаркеров женщин и детей, проживающих в экологически неблагоприятных зонах юга Кыргызстана остается напряженной. Причем имеет место статистически значимое различие показателей ХОП, у лиц проживающих в экологически «грязных» и «чистых» зонах юга страны.

2. Показатели содержания нормофлоры ГМ, кала матерей и новорожденных, проживающих в экологических неблагоприятных зонах, статистически значимо отличаются от таковых показателей «чистых» зон.

3. Регулярное употребление национальных кисломолочных продуктов лицами, проживающими в экологически неблагоприятных зонах юга страны способствует улучшению состояния микробиоты организма и это улучшение показателей статистически значимо.

Личный вклад соискателя. Диссертантом в полном объеме проводились бактериологические исследования всего биоматериала. Участвовала в процедуре сбора биоматериала. Весь объем статистической обработки результатов исследования был проведен лично диссертантом.

Апробация результатов диссертации. Все полученные результаты были опубликованы в периодических научных изданиях, рекомендованных Национальной аттестационной комиссией при Президенте Кыргызской Республики, периодических научных изданиях Российской Федерации и научных изданиях, индексируемых системой Scopus.

Полнота отражения результатов диссертации в публикациях. Основные результаты диссертации опубликованы в журналах, вошедших в Перечень рецензируемых научных изданий, утвержденных президиумом ВАК Кыргызской Республики.

Структура и объем диссертации.

Диссертация оформлена в соответствии с требованиями НАК ПКР.

Работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, трех глав собственных исследований, заключения, выводов и списка использованной литературы. Диссертация изложена на 120 страницах, иллюстрирована 12 таблицами, 3 рисунками, 2 диаграммами. Список литературы содержит 151 источник.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обоснована актуальность, определены цели и задачи исследования, изложены научная новизна, научно-практическая значимость, обозначены основные положения, выносимые на защиту.

Глава 1. (обзор литературы).

Глава 2. «Методология и методы исследования»

Объект исследования – процесс эволюции, трансформации микробиоты как экосистемы человеческого организма в зависимости от факторов внешней среды и характера питания.

Предмет исследования – закономерности изменения колонизационной резистентности организма женщин и их детей в зависимости от характера питания и степени загрязнения окружающей среды на примере южных регионов Кыргызстана.

Материал и методы исследования.

Описание групп наблюдения.

Исследования проводились в период с 2013 по 2019 годы в различных экологических зонах Ошской и Джалал-Абадской областях (среди жительниц сельской местности) и в условиях г. Ош.

Для токсикологического исследования ГМ на содержание ХОП применялся метод хроматографического исследования на газо-жидкостном хроматографе фирмы Perkin Elmer. ХОП определяли количественно методом абсолютной калибровки по высотам или площадям пиков. В ходе работы было

проведено изучение микрофлоры грудного молока, в том числе содержания эубиотиков (бифидумбактерина и молочнокислых бактерий). У новорожденных также определяли содержание микрофлоры кишечника.

Все обследуемые были разделены на 2 группы:

I – жительницы сельской местности - 248 женщин и детей. Были обследованы женщины 4 районов: 1) Кара-Кульджинский (чистая зона), 2) Алай (условно чистая зона), 3) район с/у Сакалды (грязная зона), 4) с/у Бүргөндү, (грязная зона) - в прошлом зона выращивания хлопка.

II – жительницы города Ош - 262 женщины и дети.

Возраст обследуемых женщин варьировал от 18 до 45 лет. Все обследованные новорожденные родились в срок, естественным путем, доношенными, без явной патологии. На момент обследования возраст новорожденных составлял от 1 суток до 11 месяцев. Все женщины ранее и на момент обследования, также как и их мужья не имели непосредственного контакта с ХОП.

Подход к формированию группы обследуемых женщин городской среды был аналогичным. Из женщин, проживающих в г.Ош (городская зона) возраст варьировал от 17 до 36 лет, возраст детей составлял также от 1 суток до 11 месяцев. Дети были здоровы, в анамнезе матерей не отмечалось тяжелой патологии беременности и тяжелых заболеваний, в период беременности и во время родов никто из обследованных не получал какие - либо антибиотики, сульфаниламидные препараты.

ГМ исследовали на 2, 3, 4, 5, 6 и 7-10 сутки после родов. Также параллельно был сделан забор кала у матерей и их новорожденных детей на определение содержания эубиотиков. Кроме этого, определялся состав микрофлоры кишечника матерей и новорожденных в зависимости от регулярного и нерегулярного употребления национальных кисломолочных продуктов (КМП).

Для обследования кормящих матерей и новорожденных детей была разработана карта обследования рожениц, кормящих матерей и новорожденных, также детей грудного возраста. В карту вносились полученные данные исследований всех специалистов: акушер-гинекологов, педиатров, терапевтов, неонатологов, эндокринологов, инфекционистов, невропатологов, онкологов, хирургов и др.) и привлеченными медицинскими работниками ГСВ. Все микробиологические и токсикологические исследования проводились диссертантом института медицинских проблем Южного отделения. При сборе анамнеза у обследуемых женщин обращали внимание на предъявляемые жалобы, в частности на проявления дисбактериоза, запоров, расстройства стула. Выясняли особенности питания, происхождение продуктов и т.д. Кроме того, при сборе анамнестических данных учитывалась информация о наличии контакта мужей обследуемых женщин с ядохимикатами.

Информированное согласие было получено от всех обследованных.

На данное исследование имеется заключение комиссии по биоэтике.

Микроскопическое исследование производили, с окраской препаратов по Граму и дифференциацию микроорганизмов по морфологическим признакам.

Бактериологическое обследование проводили в соответствии с нормативными документами «Методические указания по бактериологическим методам исследований клинического материала» Приказ МЗ КР №4 от 11.01.2010 г. Дифференциацию выделенных микроорганизмов проводили по биохимическим, антигенным свойствам и

с помощью фаготипирования. В качестве контрольных штаммов основных изучаемых микроорганизмов использовались *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).

Токсикологические исследования. Определения содержания в ГМ хлорорганических пестицидов проводили на газовом хроматографе «Цвет -800 М» 1990 года выпуска, модернизированного, с программным обеспечением производство (Россия). В ГМ определяли содержание следующих пестицидов: гексахлорциклогексан (ГХЦГ) (изомеры α -, β -, γ -, δ -ГХЦГ), дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ) (изомеры дихлордифенилдихлорэтан (ДДД) и дихлордифенилэтилен (ДДЭ), алдрин, дилдрин, гептахлор. Количественный анализ проводили методом абсолютной калибровки по высотам или площадям пиков. Минимально определяемые концентрации для β -ГХЦГ – 2 мкг/л, гептахлора, алдрина – 0,5 мкг/л, ДДЕ и ДДД – 1 мкг/л, ДДТ – 2 мкг/л.

Методы статистической обработки материала. В работе анализировалась выборка объемом 248 и 262 наблюдений. Каждое наблюдение содержало 15 переменных, из которых все признаки являлись количественными. Для проверки нормальности распределения количественных признаков были использованы критерий Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса и критерий Шапиро-Уилка. Сравнения количественных показателей двух групп из совокупностей с нормальным распределением проводили с помощью t-критерия Стьюдента для зависимых или независимых выборок, где определялись $(M) \pm m$. Статистически значимыми считали различия при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$. Анализ данных производился с помощью статистического пакета IBM SPSS 22, Excell.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ

В главе 3.1. Описаны основные характеристики выбранных для обследования территорий.

Таблица 3.1.1.- Наличие ХОП в грудном молоке женщин, проживающих в различных районах Кыргызстана

Группы	Название местности и зоны, где были взяты анализы ГМ	n	n (хоп)	% (хоп)
I	Алайский район, условно экологически чистая зона	72	18	25
а	из них вблизи бывших очагов чумы	18	12	66,7
б.	вдали от бывших очагов чумы	54	6	11,1
II	Кара-Кульжинский район, горная местность, экологически чистая зона	64	8	12,5
а	лица, употреблявшие только местные продукты питания	32	2	6,3
б	группа женщин, часть продуктов питания, покупающих с базара	32	6	18,8
III	с/у Сакалды, хлопкосеющая зона (имеются бывшие агроаэропорт и склад, функционировавшие до 1989 г)	64	48	75
а	из них проживающих в с. Сакалды вблизи бывшего агроаэропорта	30	30	100
б	проживающих в селе Аримжан, на расстоянии 5 км от бывшего агроаэропорта	34	18	52,9
IV	с/у Бүргөндү, хлопкосеющая зона	48	12	25
а	из них проживающие в с. Ууру-Жар вблизи бывшего агроаэропорта	18	6	33,3
б	из других сел, расположенных вдали от бывшего агроаэропорта	30	6	20
	Всего	248	86	

По общей характеристике групп обследованных видно (Табл.3.1.1.), что Кара-Кульджа представляет собой экологически «чистую» зону, где местность в основном – это горы. В данной местности среди обследованных было наименьшее число лиц, у которых были обнаружены ХОП (12,5%). Возможно,

это результат контаминации почвы и воды за счет метеоусловий: температуры воздуха, атмосферного давления, ветра, дождей и туманов. По данным многих исследователей (Волгина Т.Н. и др., 2010) пребывая в атмосфере, пестициды почти не разрушаются, а их попадание в водоемы из воздуха в почву приводит к их накоплению. А это вполне может быть источником контаминации людей и животных.

Алай в целом условно «чистая» зона в отношении содержания ХОП, и наличие контаминации почвы связано, в основном, с наличием многочисленных нор грызунов, среди которых происходит циркуляция возбудителя чумы, и эти норы подвергались интенсивной обработке пестицидами в советский период. Эта территория входит в природный очаг чумы.

В «грязных» зонах (с/у Сакалды и с/у Бүргөндү). Территория с/у Сакалды и с/у Бүргөндү являются бывшей хлопкосеющей зоной, зоной хранения пестицидов и места бывшего агроаэропорта. У жительниц данных территорий в ГМ обнаруживались ХОП в 75% и 25% соответственно.

Из всего спектра ХОП, в основном определялись α -ГХЦГ, γ -ГХЦГ, β -ГХЦГ, ДДЭ. Такие ХОП как α -ГХЦГ, γ -ГХЦГ, β -ГХЦГ не были определены в ГМ ни у одной женщины, проживающей в «чистой» «условно-чистой» зонах, тогда как изомеры ДДЭ определялся во всех четырех зонах.

Таблица 3.1.2. - Количество проб ГМ с выявленными видами ХОП у женщин в зависимости от зоны проживания (сельская местность).

Группы	Число положительных проб	Виды выявленных ХОП			
		α -ГХЦГ	γ -ГХЦГ	β -ГХЦГ	ДДЭ
I	18	-	-	-	18(100%)
II	8	-	-	-	8(100%)
III	48	24 (50%)	18(37,5%)	18(37,5%)	48 (100%)
IV	12	12(100%)	12(100%)	12(100%)	12(100%)
Всего	86	36	30	30	86

Концентрация этих веществ варьировала от $0,0012 \pm 0.00$ мг/л до 0.0334 ± 0.0054 мг/л. Содержание каждого изомера в ГМ была относительно низкой, но

учитывая, что это не один изомер, а все 4 вида ХОП в каждом образце ГМ, то невозможно считать эту ситуацию благополучной.

При обследовании городских жительниц на наличие ХОП в ГМ (на примере г.Ош) было выявлено наибольшее содержание изомеров на 2 сутки лактации. Из 262 обследованных у 173 была обнаружена концентрация ХОП в количестве 0.303 ± 0.242 мг/л. В последующем, на 3, 4 сутки от начала лактации концентрация ХОП в ГМ не уменьшалась значительно ($p \geq 0,05$).

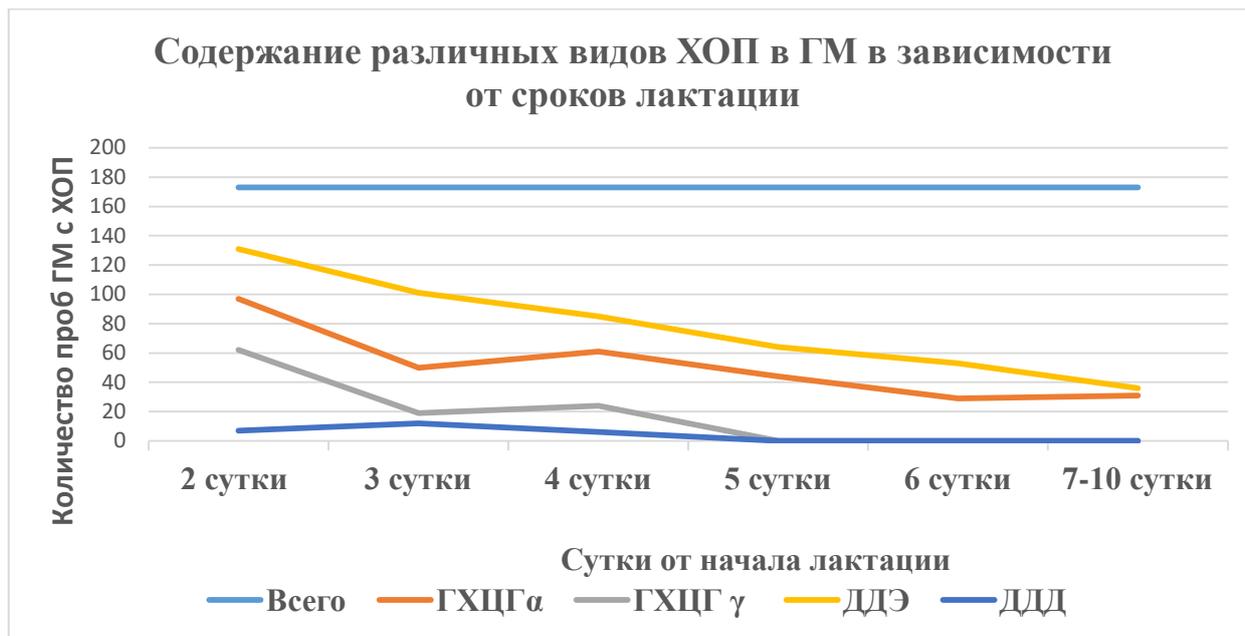


Рисунок 3.1.1. Содержание различных видов ХОП в ГМ в зависимости от сроков лактации (г.Ош)

Статистически значимое уменьшение концентрации ХОП в ГМ обследованных женщин начиналось с 5 суток лактации и продолжалось до 7-10 суток и далее. Кроме этого, количество женщин, у которых были обнаружены изомеры ХОП также уменьшалось, а именно с 173 вначале лактации до 56 женщин к 7-10 дню. Однако позже этих сроков обследования у 49 женщин из 56 определялся изомер ДДТ. Именно у этих женщин были диагностированы различные заболевания.

Таким образом, можно отметить, что несмотря на 30-летний период запрета применения ХОП на территории страны остаточное количество изомеров ХОП определяется в биологических жидкостях организма человека. В качестве биологических жидкостей было обследовано исключительно грудное молоко кормящих женщин, как основной продукт питания новорожденных.

В главе 3.2. были представлены результаты выделения нормофлоры кишечника матерей и новорожденных в зависимости от содержания ХОП в ГМ матери.

Результаты бактериологического исследования перечисленного биоматериала показали, что во всех образцах биоматериала у лиц с ХОП содержание бифидобактерий и лактобактерий было снижено или по сравнению с содержанием нормофлоры у лиц без ХОП, и полученное различие было статистически значимым ($p \leq 0,05$). Такая картина прослеживалась у лиц, проживающих в «чистых» и условно «чистых» зонах (Табл.3.2.2.).

Таблица 3.2.2. – Микробиом ГМ, кала женщин и новорожденных в зависимости от зон проживания (Кара-Кульджа).

Исследуемый материал	с хоп (n=10)	без хоп (n=10)	P
ГМ			
Бифидобактерии	$1,7 \pm 0.12$ $\times 10^{10}$ КОЕ/мл	$4,09 \pm 0.29$ $\times 10^{10}$ КОЕ/мл	≤ 0.0001
Молочнокислые бактерии	3.3 ± 0.13 $\times 10^{12}$ КОЕ/мл	$4,11 \pm 0.32$ $\times 10^{12}$ КОЕ/мл	≤ 0.0001
Кал матерей			
Бифидобактерии	$7,48 \pm 0.01$ $\times 10^{10}$ КОЕ/г	$8,74 \pm 0,9$ $\times 10^{10}$ КОЕ/г	≤ 0.0001
Молочнокислые бактерии	$6,7 \pm 0.11$ $\times 10^{12}$ КОЕ/г	$8,22 \pm 0,7$ $\times 10^{12}$ КОЕ/г	≤ 0.0001
Кал новорожденных			
Бифидобактерии	$6,41 \pm 0.002$ $\times 10^{10}$ КОЕ/г	$8,01 \pm 0.55$ $\times 10^{10}$ КОЕ/г	≤ 0.0001
Молочнокислые бактерии	$6,2 \pm 0.009$ $\times 10^{12}$ КОЕ/г	$8,31 \pm 0.39$ $\times 10^{12}$ КОЕ/г	≤ 0.0001

У жительниц, проживающих в «грязных» зонах, при наличии ХОП в ГМ бифидофлора вообще не высевалась, но у лиц без ХОП из ГМ высевались бифидобактерии, лактобактерии, и их содержание было близким к референсным значениям. Различия значений содержания микрофлоры ГМ, кала новорожденных у лиц с ХОП и без ХОП были статистически значимыми (Табл.3.2.3).

Таблица 3.2.3. – Микробиом ГМ, кала женщин и новорожденных в зависимости от зон проживания (Сакалды).

Исследуемый материал	с хоп (n=20)	без хоп (n=20)	P
ГМ			
Бифидобактерии	0	1,19 ±0.22 ×10 ¹⁰ КОЕ/мл	≤0.0001
Молочнокислые бактерии	2.5± 0.1 ×10 ¹⁰ КОЕ/мл	3,01±0.21 ×10 ¹⁰ КОЕ/мл	≤0.05
Кал матерей			
Бифидобактерии	5,05±0,1 ×10 ¹⁰ КОЕ/мл	5,61±0,24 ×10 ¹⁰ КОЕ/мл	≥0.05
Молочнокислые бактерии	5,03±0,22 ×10 ¹² КОЕ/г	5,22±0,25 ×10 ¹² КОЕ/г	≥0.05
Кал новорожденных			
Бифидобактерии	3,68±0,42 ×10 ¹⁰ КОЕ/г	5.91±0.4 ×10 ¹⁰ КОЕ/г	≤0.0001
Молочнокислые бактерии	3,97±0,22 ×10 ¹⁰ КОЕ/г	6,21±0.28 ×10 ¹⁰ КОЕ/г	≤0.0001

В условиях городской среды на примере г.Ош были определены содержание бифидофлоры, КМБ в ГМ, кале матерей и их новорожденных детей в зависимости от суток от начала лактации. По описанной ранее динамике снижения ХОП в ГМ, в зависимости от суток лактации, а именно при выявленном снижении концентрации ХОП в пробах ГМ с 5 дня лактации, которое было статистически значимым по сравнению с концентрацией ХОП на 2 сутки лактации. По данным результатам прослеживается увеличение содержания нормофлоры кишечника ребенка после 5 суток от начала лактации.

Таблица 3.2.5. – Микробиом ГМ, кала женщин и новорожденных в условиях городской среды (г. Ош).

Сутки лакт	Исслед. материал N=	Бифидобактерии, $\times 10^{10}$ КОЕ/мл/г	КМБ, $\times 10^{10}$ КОЕ/мл/г
2	ГМ		
	С хоп	1,667 \pm 0,541	2,474 \pm 0,522
	Без хоп	3,5 \pm 0,162	4,533 \pm 0,216
P		≤ 0.0001	≤ 0.05
	Кал новорожд.		
	С хоп	2,11 \pm 0,108	2,608 \pm 0,511
	Без хоп	3,92 \pm 0,433	4,067 \pm 0,325
P		≤ 0.05	≤ 0.05
3	ГМ		
	С хоп	2.40 \pm 0,433	2,425 \pm 0,433
	Без хоп	3,23 \pm 0,649	4,114 \pm 0,649
P		≤ 0.05	≤ 0.05
	Кал новорожд.		
	С хоп	1,897 \pm 0,210	2,222 \pm 0,333
	Без хоп	5,861 \pm 0,974	4,403 \pm 0,866
P		≤ 0.05	≤ 0.05
5	ГМ		
	С хоп	3,332 \pm 0,108	3,727 \pm 0.432
	Без хоп	3,286 \pm 0,649	4,040 \pm 0,649
P		≥ 0.05	≥ 0.05
	Кал новорожд.		
	С хоп	4,612 \pm 0,64	5,929 \pm 0,649
	Без хоп	6,224 \pm 0.974	6,417 \pm 0,866
P		≥ 0.05	≥ 0.05
7-10	ГМ		
	С хоп	1,9 \pm 0,6	5,826 \pm 0,433
	Без хоп	3,4 \pm 0,97	6,461 \pm 0,758
P		≥ 0.05	≥ 0.05
	Кал новорожд.		
	С хоп	5,143 \pm 0,649	5,375 \pm 0,433
	Без хоп	8,192 \pm 0,944	7,308 \pm 0,748
P		≤ 0.05	≤ 0.05

Статистически значимо увеличивается содержание бифидобактерий и КМБ к 7-10 дням после начала грудного вскармливания.

Таким образом, по представленным данным необходимо отметить, что выявлена обратно пропорциональная зависимость концентрации ХОП в биоматериале женщин (ГМ) и содержания нормофлоры в биотопах организма. Также наблюдается прямая зависимость содержания эубиотиков в ГМ кормящих матерей и в кале новорожденных.

В главе 3.3. было изучено влияние национальных кисломолочных продуктов и напитков на состав и содержание микрофлоры кишечника новорожденных. Для этого кормящие женщины в соответствии с результатами анкетирования были разделены на группы, кто употреблял КМН регулярно и женщины, которые не употребляли КМН регулярно или вообще не употребляли (айран, кымыс, кефир и др).

Были обследованы женщины из наиболее экологически неблагоприятной зоны с/у Сакалды и г.Ош (Табл.3.3.1., Табл. 3.3.2.)

Результаты исследования показали, что у женщин, регулярно употреблявших КМН на протяжении всей беременности и ранее, несмотря на то, что они проживали в экологически неблагоприятной зоне, и имели в ГМ все изомеры ХОП, содержание нормальной микрофлоры в ГМ было практически близким аналогичным показателям женщин, у которых в ГМ не были обнаружены ХОП. Женщины, которые не употребляли КМН или употребляли их крайне редко показатели содержания микрофлоры ГМ были снижены. Эти различия показателей были статистически значимы.

Таблица 3.3.1. – Влияние характера питания на количественное содержание микробиоты матерей и новорожденных, проживающих в экологически проблемных зонах (Сакалды)

Исследуемый материал	с хоп не регулярное употребление КМН n=18	с хоп регулярное употребление КМН n=30	p
ГМ			
бифидофлора	0	0	
молочнокислые бактерии	$2,9 \pm 0,25 \times 10^{10}$ КОЕ/мл.	$3,88 \pm 0,41 \times 10^{10}$ КОЕ/мл.	$\leq 0,05$
кал матерей			
бифидофлора	$4,9 \pm 0,3 \times 10^{10}$ КОЕ/г	$5,91 \pm 0,34 \times 10^{10}$ КОЕ/г	$\leq 0,0001$
молочнокислые бактерии	$4,3 \pm 0,31 \times 10^{12}$ КОЕ/г	$5,5 \pm 0,22 \times 10^{12}$ КОЕ/г	$\leq 0,0001$
кал новорожденных			
бифидофлора	$2,21 \pm 0,2 \times 10^9$ КОЕ/г	$4,94 \pm 0,35 \times 10^{10}$ КОЕ/г	$\leq 0,0001$

Из полученных данных видно, что при наличии ХОП в ГМ страдают прежде всего бифидобактерии, нижней допустимой границей их наличия является разведение ГМ $\times 10^8$, из которого высевается 2-3 КОЕ/мл.

Бифидобактерии, высеянные из ГМ, кала новорожденных и кала матерей в данном исследовании отличались морфологически от бифидобактерий, используемых в качестве контроля. Это были микробные клетки маленького размера, с нарушенными тинкториальными свойствами, биохимическая активность была слабо выражена и проявлялась в более поздний период или была изменена. При снижении количества бифидобактерий в ГМ параллельно снижается содержание бифидобактерий у новорожденных. В зависимости от регулярности употребления КМП более выраженное снижение количества бифидобактерий в кале новорожденных касается тех, матери которых не употребляли КМП. Тогда как при регулярном употреблении женщинами КМП содержание бифидофлоры у младенцев было выше, и эти различия были статистически значимы.

Таблица 3.3.2. – Изменение содержания нормофлоры в зависимости от употребления кисломолочных продуктов в условиях городской среды (г.Ош)

Сутки лактации	С ХОП	Исс. материал/ употребление КМН	Бифидобактерии $\times 10^{10}$ КОЕ/мл/г	Кисломолочные бактерии $\times 10^{10}$ КОЕ/мл/г
2		ГМ		
	n=51	не регулярное	1,89 \pm 0,55	2,59 \pm 0,50
	n=122	регулярное	4,00 \pm 0,16	4,533 \pm 0,423
			p \leq 0.0001	p \leq 0.001
		Кал новорожд.		
	n=51	не регулярное	2,53 \pm 0,42	2,78 \pm 0,490
	n=122	регулярное	4,523 \pm 0,34	4,464 \pm 0,325
			p \leq 0.01	p \leq 0.001
3		ГМ		
	n=51	не регулярное	2.65 \pm 0,38	2,93 \pm 0,44
	n=100	регулярное	4,4 \pm 0,65	4,42 \pm 0,55
			p \leq 0.05	p \leq 0.05

		Кал новорожд.		
	n=51	не регулярное	2,63 ±0,35	2,53±0,53
	n=100	регулярное	4,92±0,44	4,87±0,65
			p≤0.0001	p≤0.001
5		ГМ		
	50	не регулярное	3,333±0,50	3,727 ±0.432
	31	регулярное	5,101±0,522	5,115±0,4
			p≤0.01	p≤0.01
		Кал новорожд.		
	50	не регулярное	4,61±0,64	5,13±0,349
	31	регулярное	6,56±0,505	6,37±0,433
			p≤0.01	p ≤0.05
7-10		ГМ		
	n =49	не регулярное	3,1±0,62	5,83± 0,41
	n =7	регулярное	4.98±0,52	5,118±0,31
			p≤0.05	P ≥0.05
		Кал новорожд.		
	n =49	не регулярное	6,12±0,64	6,39±0,43
	n =7	регулярное	7,28±0,52	7,62±0,31
		p≤0.001	P ≥0.05	

Аналогичными были изменения показателей содержания лактобактерий у новорожденных. В кале новорожденных, матери которых употребляли КМН на постоянной основе, содержание данных микробов было близким к референсным значениям. У младенцев, матери которых не употребляли КМН, показатели содержания нормофлоры кишечника были снижены, что было статистически значимо.

При сравнении результатов бактериологического обследования биоматериала у жительниц городской среды и детей, была выявлена картина значимой разницы в содержании нормофлоры ГМ, кала новорожденных. У лиц

с выявленной концентрацией изомеров ХОП в ГМ имело место снижение содержания нормальной микрофлоры. У лиц с отсутствием в ГМ изомеров ХОП содержание нормофлоры было на уровне референсных значений.

К пятым суткам лактации количество выделенных микроорганизмов из биотопов матерей и детей увеличивается. Наблюдается обратно пропорциональная направленность по содержанию нормальной микрофлоры в биоматериале обследуемых и содержанию изомеров ХОП в организме.

Полученные результаты по содержанию нормобиоты в биоматериале обследованных показали, что чем выше концентрация ХОП в ГМ у кормящих матерей, тем меньше в нем содержание бифидобактерий и, соответственно, не происходит формирование колонизационной резистентности кишечника у новорожденных. При анкетировании обследованных женщин было выяснено, что городские жительницы в основном питаются продуктами, купленными на базаре, особенно это касалось тех женщин, у которых были выявлены ХОП в ГМ. По всей вероятности, эти продукты, были привезены из экологически неблагоприятных регионов.

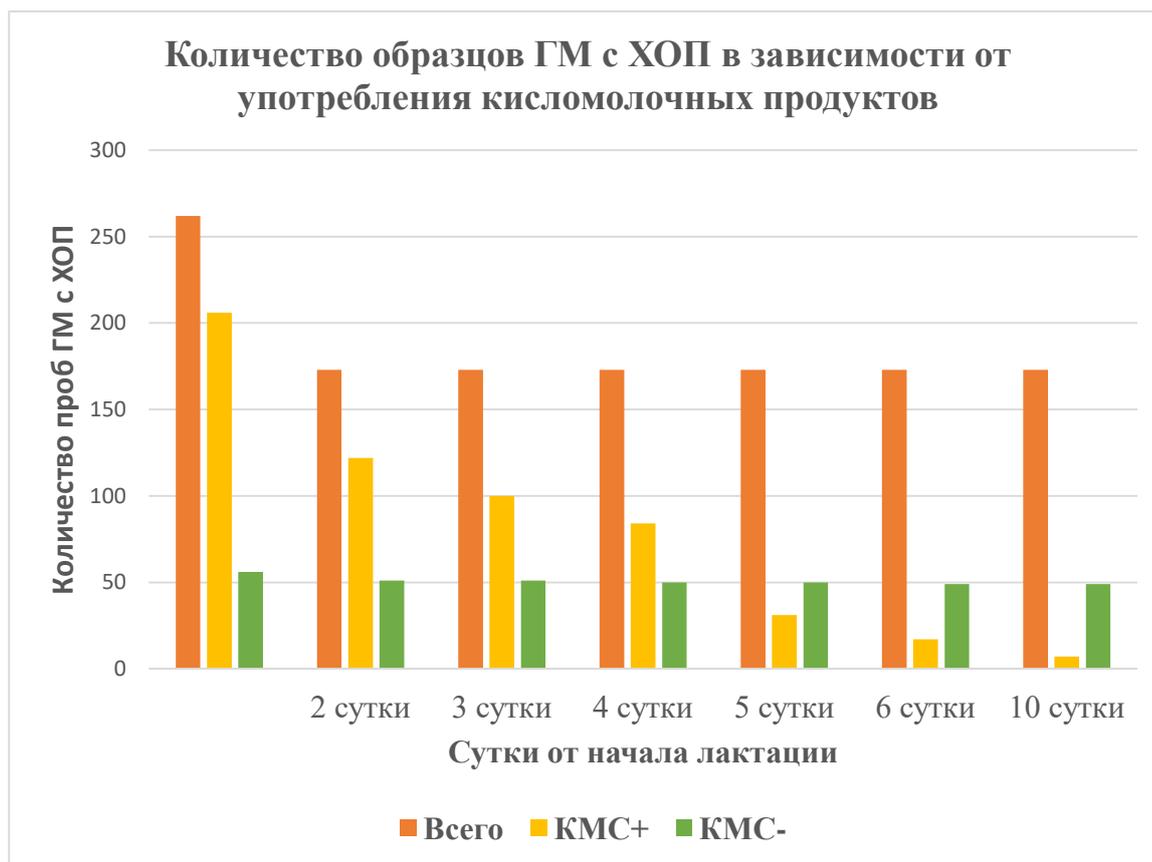


Рис. 3.3.1. Количество образцов ГМ обследованных женщин с ХОП в зависимости от употребления кисломолочных продуктов в условиях г. Ош.

Приведенные результаты (Рис. 3.3.1.) свидетельствуют об уменьшении количества проб ГМ с ХОП среди женщин регулярно употребляющих КМП., тогда как среди женщин не регулярно употреблявших КМП количество проб ГМ с ХОП практически не менялось.

Таким образом, можно обобщить полученные данные о том, что КМП не только способствуют формированию колонизационной резистентности кишечника новорожденных, но и снижают содержание ХОП в биологических жидкостях организма человека.

ВЫВОДЫ

1. При изучении экологической ситуации юга Кыргызстана спустя 30-летний период после массивного применения ХОП установлено, что ситуация остается неблагоприятной в связи с присутствием в биомаркерах (ГМ) жительниц этих зон ХОП.

В ГМ обследованных женщин обнаружено присутствие таких ХОП, как дихлородифенилэтилен (ДДЭ) и три изомера гексахлорциклогексана – α -ГХЦГ, β -ГХЦГ и γ -ГХЦГ в концентрациях: от $0,0003 \pm 0,00$ до $0,0073 \pm 0,0012$ в чистых зонах и до $0,0334 \pm 0,0054$ в грязных зонах, различия концентраций были статистически значимы ($P \leq 0,05$).

2. При изучении экологической ситуации в условиях городской среды на примере г.Ош установлено, что ситуация остается неблагоприятной, в связи с наличием ХОП в ГМ обследованных женщин. Наибольшая концентрация ХОП была обнаружена в молозиве и с 5 суток от начала лактации концентрация снижалась.

3. Состояние микробиоты организма матерей и новорожденных неблагоприятных и «чистых» зон проживания имели значительные различия ($p \leq 0,05$). У жительниц «грязных» зон нормофлора практически не определялась или была измененной, тогда как содержание нормальной флоры кишечника матерей и новорожденных «чистых» зон соответствовало референсным значениям. Процесс начала формирования колонизационной резистентности происходит с 5 дня от начала грудного вскармливания.

4. Регулярное присутствие национальных кисломолочных продуктов в рационе лиц, проживающих в экологически неблагоприятных зонах юга страны и городских жителей на примере г.Ош, способствует улучшению состояния микробиоты организма матерей, формированию колонизационной резистентности у новорожденных ($p \leq 0,05$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Всем беременным женщинам рекомендуется регулярно употреблять национальные кисломолочные продукты
2. Всем кормящим женщинам, не употреблявшим национальные кисломолочные продукты, рекомендуется исследовать ГМ на содержание бифидофлоры и молочно-кислых бактерий
3. Всем беременным женщинам, проживающим вблизи бывших складов ядохимикатов, агро- и агроплощадок, рекомендуется исследовать ГМ на содержание ХОП.
4. Кормящих женщин, у которых из ГМ были выявлены ХОП в концентрации свыше 0,08 мг/л, провести профилактическое лечение.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Тойчуева А.У.** Мониторинг хлорорганических пестицидов в грудном молоке женщин Кыргызстана [Текст] / Р. М. Тойчуев // Химическая безопасность. - 2019. -Т. 3, №2. - С. 94-109.
2. **Тойчуева А.У.** Хлорорганические пестициды в грудном молоке городских жительниц Кыргызстана [Текст] / Р. М. Тойчуев, Л.В. Жилова, Т.Р. Пайзилдаев // Химическая безопасность. - 2020. -Т. 4, №1. - С. 197-215.
3. **Тойчуева А.У.** Грудное молоко как биологический маркер для определения загрязнения окружающей среды хлорорганическими пестицидами в условиях юга Кыргызстана [Текст] / К.Ш. Сакибаев, Т.Р. Пайзилдаев, Л.В. Жилова // Химическая безопасность. - 2021. -Т. 5, №5. - С. 215-236.
4. **Тойчуева А.У.** Сравнительные данные о формировании микрофлоры кишечника у новорожденных, проживающих в горных и городских условиях [Текст] / А.Т. Аргынбаева, К.Г. Маматжан, А.Ж. Токторов // Медицина Кыргызстана. - 2018. - Б., №2. - С. 92-96.
5. **Тойчуева А.У.** Микробиома грудного молока у женщин, проживающих в хлопкосеющих зонах юга Кыргызстана [Текст] / Д.А. Адамбеков, А.Т. Аргынбаева, А.Н. Насиров // Медицина Кыргызстана. - 2020. – Б., № 4. - С. 46-49.
6. **Toichueva A.U.** Determination of organochlorine pesticides and microflora in the breast milk for prevention of immunological disorders [Текст] / D.A. Adambekov, Zh.D. Abdullaeva // Alatoo Academic Studies. - 2020. – Б., № 2 (2). - С. 259-263.
7. **Toichueva A.U.** Organochlorine pesticides in placenta in Kyrgyzstan and the effect on pregnancy, childbirth, and newborn health [Текст] / R.M. Toichuev, L.V.

Zhilova, T.R. Paizildaev // Environmental Science and Pollution Research. - 2018. - Vol. 25, №32. - С. 31885-31894.

8. **Тойчуева А.У.** Загрязнение овощей и бахчевых культур пестицидами в условиях юга Кыргызстана [Текст] / Р.М. Тойчуев, К.Т. Турдубаев, М.И. Аширбекова // Химическая безопасность. - 2024. – Т. 8, №1. - С. 164-180.

9. **Тойчуева А.У.** Влияние загрязнения грудного молока хлорорганическими пестицидами на формирование колонизационной резистентности микрофлоры кишечника новорожденных в условиях города Ош [Текст] / Д.А. Адамбеков // Бюллетень науки и практики. - 2024. – Т. 10, №7. - С. 236-242.

Тойчуева Асель Уезбекованын “Кыргызстандын түштүгүнүн шартында жаңы төрөлгөн ымыркайларда микробдук колонизациялык туруктуулуктун калыптанышы” деген темадагы 03.02.03. – микробиология адистиги боюнча биология илимдеринин кандидаты илимий даражасын алуу үчүн диссертациясынын

РЕЗЮМЕСИ

Негизги сөздөр: хлор камтыган пестициддер, микробдук колонизациялык туруктуулук, жаңы төрөлгөн балдар, бифидобактериялар, лактобактериялар.

Изилдөөнүн объектиси: экологиялык факторлорго жана тамактануу мүнөзүнө жараша адаморганизминин экосистемасы катары микробиотанын эволюциясы, трансформациясы саналат.

Изилдөөнүн предмети: Кыргызстандын түштүк аймактарынын мисалында тамактануунун мүнөзүнө жана айлана-чөйрөнүн икробулгануу даражасына жараша аялдардын жана алардын балдарынын организминин микробдордун колонизацияга туруктуулугунун өзгөрүү мыйзам ченемдүүдүүлүгүнүн болуп саналат.

Изилдөөнүн максаты: Жаңы төрөлгөн ымыркайлардын организминин нормалдуу микрофлорасынын табигый туруктуулугун калыптандырууга экологиялык факторлордун жана тамактануу схемаларынын таасирин изилдөө, ден соолук үчүн коркунучтун деңгээлин балоо.

Изилдөөнүн ыкмалары: аткарылган жумуштун темасы боюнча адабий булактарын изилдөө жана талдоо ыкмалары, изоляцияланган микробдорду морфологиялык жана биохимиялык идентификациялоо менен бактериологиялык изилдөө. Perkin Elmer газ-суюктук хроматографында хроматография ыкмасы менен эмчек сүтүндөгү пестициддердин бар экендигин аныктоо.

Алынган натыйжалар жана жаңылыктар:30-жылдык эски үлгүдөгү пестициддерди колдонууга тыйуу салынгандан кийин биринчи жолу Кыргыз Республикасынын түштүгүндөгү айрым зоналардын экологиялык абалына мониторинг жүргүзүлдү. Эмгизген аялдардын эмчек сүтүндөгү хлор камтыгын пестициддерин анализ кылынган жана жашаган аймагына жараша жаңы төрөлгөн ымыркайлардын ортосунда түздөн-түз байланышы аныкталган. Улуттук кычкыл сүт азыктарынын дисбиозду оңдоого жана организмге хлор камтыган пестициддер уулуу таасирин төмөндөтүүгө тийгизген таасирин изилдөө мындан аркы өнүүгүүгө ээ болду.

Колдонуу боюнча сунуштар: Экологиялык жактан жагымсыз аймактарда жашаган адамдарга улуттук кычкыл сүт азыктарын дайыма колдонуу сунушталат. Эмчек эмгизген аялдар үчүн, эгерде хлор камтыган пестициддер 0,08 мг/лден жогору концентрацияда аныкталса, эмчек сүтүн текшерилиши керек. Экологиялык жактан жагымсыз аймактарда жашаган эмчек эмгизген аялдарга андан ары коррекциялоо максаттында эмчек сүтүндөгү курамынын бифид флоранын жана сүт кислотасынын бактерияларын аныктоо жана изилдөө сунушталат.

Колдонуу тармагы: микробиология.

РЕЗЮМЕ

диссертации Тойчуевой Асел Уезбековны на тему: «Формирование колонизационной резистентности у новорожденных в условиях юга Кыргызстана» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология

Ключевые слова: хлорсодержащие пестициды, колонизационная резистентность, новорожденные, бифидобактерии, лактобактерии.

Объект исследования – процесс эволюции, трансформации микробиоты как экосистемы человеческого организма в зависимости от факторов внешней среды и характера питания.

Предмет исследования – закономерности изменения колонизационной резистентности организма женщин и их детей в зависимости от характера питания и степени загрязнения окружающей среды на примере южных регионов Кыргызстана.

Цель исследования. Изучить влияние факторов внешней среды и характера питания на формирование естественной резистентности нормальной микрофлоры организма новорожденных, для оценки степени риска здоровью.

Методы исследования: в работе использовались методы поиска и анализа литературных источников по теме работы, бактериологического исследования с морфологической и биохимической идентификацией выделенных микробов, метод хроматографии на газо-жидкостном хроматографе фирмы Perkin Elmer для

определения наличия пестицидов в ГМ, корреляционного и статистического анализа полученных данных.

Полученные результаты и новизна: впервые, спустя 30 - летний период запрещения использования пестицидов старого образца, проведен мониторинг экологического благополучия некоторых зон юга КР в отношении наличия остаточного содержания ХОП в грудном молоке кормящих женщин. Впервые выявлена прямая корреляционная связь между содержанием ХОП в грудном молоке и формированием колонизационной резистентности у новорожденных в зависимости от зон проживания. Получило дальнейшее развитие изучение влияния национальных кисломолочных продуктов для коррекции дисбиозов и снижения токсического влияния ХОП на организм.

Рекомендации по применению: лицам, проживающим в экологически неблагополучных регионах, рекомендуется регулярно употреблять национальные кисломолочные продукты. Кормящим женщинам исследовать ГМ на содержание ХОП, в случае выявления ХОП в концентрации выше 0,08 мг/л, провести профилактическое лечение.

Кормящим женщинам, проживающим в экологически неблагополучных регионах рекомендуется исследовать ГМ на содержание бифидофлоры и молочнокислых бактерий.

Область применения: микробиология.

RESUME

Dissertation by Toychueva Asel Uezbekovna on the topic: "Formation of Colonization Resistance in Newborns in the Conditions of Southern Kyrgyzstan" for the degree of Candidate of Biological Sciences in the specialty 03.02.03 – Microbiology

Keywords: chlorinated pesticides, colonization resistance, newborns, bifidobacteria, lactobacilli.

Object of research: The process of evolution and transformation of microbiota as an ecosystem of the human body, depending on environmental factors and the nature of nutrition.

Subject of research: Patterns of changes in colonization resistance of women and their children depending on the nature of nutrition and the level of environmental pollution, based on the example of southern regions of Kyrgyzstan.

Research aim: To study the influence of environmental factors and the nature of nutrition on the formation of natural resistance of normal microflora in newborns to assess the health risk level.

Research methods: The study used methods of literature review and analysis on the topic, bacteriological research with morphological and biochemical identification of isolated microbes, gas-liquid chromatography using a Perkin Elmer chromatograph to detect pesticides in breast milk, and correlation and statistical analysis of the obtained data.

Results and novelty: For the first time in 30 years since the prohibition of old-style pesticides, monitoring was conducted on the ecological state of certain areas in southern Kyrgyzstan for residual levels of persistent organic pollutants (POPs) in the breast milk of nursing women. A direct correlation was identified between POP levels in breast milk and the formation of colonization resistance in newborns, depending on the area of residence. Further development was achieved in studying the effects of national fermented dairy products for correcting dysbiosis and reducing the toxic impact of POPs on the body.

Recommendations for use: People living in environmentally unfavorable regions are advised to regularly consume national fermented dairy products. Nursing women are recommended to test breast milk for POPs. If POP levels exceed 0.08 mg/l, preventive treatment is advised.

Nursing women in ecologically unfavorable regions are also recommended to test breast milk for the presence of bifidobacteria and lactobacilli for further correction.

Field of application: microbiology.