

Голошва Елена Владимировна

**Изменение колонизационной резистентности кишечника
при дисбактериозах, обусловленных антибиотиками
широкого спектра действия.**

03.00.07. - Микробиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук



Ростов-на-Дону
2005

Работа выполнена в Федеральном Государственном Учреждении «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека» (ФГУ РНИИМП)

Научный руководитель: доктор медицинских наук, доцент
Терновская Лариса Николаевна

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор
Васильева Лариса Ивановна

кандидат биологических наук, доцент
Полякова Анна Владимировна

Ведущая организация: Ростовский-на-Дону государственный
научно-исследовательский
противочумный институт

Защита состоится «26» 11. 2005г. в 10⁰⁰ часов на заседании
диссертационного совета КР 208.082.03 при Ростовском государственном медицинском
университете (344022 г.Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., 29).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ростовского государственного
медицинского университета

Автореферат разослан «17» 11. 2005г.

Ученый секретарь
диссертационного совета, доцент Гасретова Татьяна Дмитриевна

Общая характеристика работы.

Актуальность исследования. Дисбактериозы остаются актуальной проблемой здравоохранения. Микрoэкологические изменения в микрофлоре кишечника регистрируются практически у 90% населения нашей страны (А.А. Воробьев с соавт., 1997). Накопленные знания позволяют считать микрофлору организма человека экстракорпоральным органом, выполняющим многообразные функции по поддержанию нормального гомеостаза (Б.А. Шендеров, 1998). Изменения в составе нормальной микрофлоры ведут к развитию процессов, сказывающихся на состоянии здоровья людей (И.Н. Блохина, 1979; Н.Н. Лизько, 1987; Е.М. Горская с соавт., 1992; А.А. Ленцнер, 1996; О.В. Бухарин, 1996; Б.А. Шендеров, 1996, 1998; В.М. Бондаренко с соавт., 2003).

Одной из важнейших функций нормальной микрофлоры является обеспечение колонизационной резистентности. Под колонизационной резистентностью понимают совокупность механизмов, придающих стабильность нормальной микрофлоре, предотвращающих заселение организма хозяина посторонними микроорганизмами (Б.А. Шендеров, 1988; О.В. Бухарин с соавт., 1996; А.А. Воробьев с соавт., 1997; В.М. Бондаренко с соавт., 2003). Снижение колонизационной резистентности, обусловленное различными причинами, приводит к значительному снижению противoinфекционной защиты организма, увеличению численности условно-патогенных микробов, их транслокации из мест первичной локализации с возможным развитием воспалительных заболеваний (В.Г. Петровская, 1982; К.Х. Алмагамбетов с соавт., 1991; В.М. Бондаренко 1996,2003; ОВ. Бухарин, 1999).

Колонизационная резистентность определяется множеством факторов, среди которых важное место занимают адгезивная и антагонистическая активности микробов, составляющих нормальную микрофлору, конкуренция за факторы питания и другие (Ю.В. Езепчук, 1985; В.И. Брилис, 1988; О.В. Бухарин, 1999). По мнению А.А. Воробьева с соавторами (1997), колонизационная резистентность зависит от количества и качества нормальной микрофлоры и условий ее обитания. Колонизационная резистентность также является одним из механизмов местного иммунитета и определяется состоянием иммунной системы. Однако до сих пор нет ясности в вопросе, что является первичным звеном в отношениях нормальной микрофлоры и иммунной системы. Возможно, что изменения в составе нормальной микрофлоры ведут к нарушению иммунного статуса, или, наоборот, изменения в состоянии иммунитета, наступающие под действием различных факторов, приводят к изменению в составе микробиоценозов (А.А. Воробьев с соавт., 1997).

Развитию дисбактериоза кишечника способствуют многие факторы, среди которых значительное место занимает нерациональное применение антибиотических препаратов. В доступной литературе последних лет (Е.М. Горская с соавт., 1995; А.Ю. Барановский с соавт.,

2000; В.М. Бондаренко с соавт., 2003) прослежены изменения показателей общего иммунитета при дисбактериозе, обусловленном антибиотическими препаратами. В то же время, существует мнение (О.Н. Мииушкин с соавт., 1999), что дисбактериоз является процессом, протекающим непосредственно на эпителиальных поверхностях слизистых оболочек, в частности, кишечника.

Поэтому представляло интерес проследить за изменением характера нормальной микрофлоры кишечника в зависимости от активности некоторых показателей местного иммунитета, что позволило бы выявить особенности колонизационной резистентности кишечника при дисбактериозе, обусловленном введением антибиотиков широкого спектра действия.

Цели и задачи. Целью работы явилось изучение некоторых особенностей колонизационной резистентности при дисбактериозах кишечника, обусловленных антибиотическими препаратами. Для реализации цели предстояло решить следующие задачи:

1. Изучить количественный и качественный состав микрофлоры кишечника взрослых людей с дисбактериозом, обусловленным введением антибиотических препаратов.
2. Исследовать биологические свойства представителей резидентной микрофлоры у людей с дисбактериозом.
3. Выявить микрoэкологические изменения характера микрофлоры кишечника мышей в динамике экспериментального дисбактериоза, обусловленного разными антибиотиками широкого спектра действия.
4. Проследить за изменением биологических свойств микроорганизмов, представителей резидентной флоры, при экспериментальном дисбактериозе, обусловленном антибиотиками.
5. Определить изменение некоторых показателей неспецифической резистентности организма в динамике экспериментального дисбактериоза, обусловленного приемом антибиотика.
6. Сопоставить изменения факторов неспецифической резистентности организма с характером микрoэкологических нарушений.

Научная новизна:

- Впервые проведено комплексное исследование изменений микрофлоры кишечника при лекарственном дисбактериозе у людей и экспериментальных животных, получавших антибиотики, одновременно с изучением состояния местной неспецифической резистентности. Установлена тождественность микрoэкологических изменений в микрофлоре кишечника людей и экспериментальных животных. Установлена синхронность изменений полости и мукозной флоры.
- Впервые у представителей нормальной резидентной микрофлоры исследованы биологические свойства, определяющие их участие в поддержании колонизационной

резистентности. Выявлены изменения не только состава популяции эшерихий и лактобактерий, но и значительное снижение их антагонистической активности, адгезии, повышение персистентных характеристик, что свидетельствует об утрате ими функций в поддержании колонизационной резистентности.

- Впервые произведено исследование факторов неспецифической защиты организма на местном уровне. Выявлено, что под действием различных антибиотиков отмечается значительное снижение активности кислородзависимых бактерицидных систем, прежде всего, в местных эпителиоидных клетках кишечника по сравнению с перитонеальными макрофагами. Снижение активности кислородзависимых бактерицидных систем предшествует изменениям в микробиоценозах.

Практическая значимость. Работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ Ростовского НИИ микробиологии и паразитологии по теме «Отношение паразит-хозяин в биотопах кишечника при лекарственном дисбактериозе» в рамках договора № 034/201/003 (2001–2005 гг.).

Полученные результаты позволили установить, что одним из механизмов, способствующих развитию микробиологических изменений в кишечнике, является снижение активности местных факторов неспецифической защиты, в частности, активности кислородзависимых систем колоноцитов и энтероцитов.

Проведенные исследования служат теоретическим обоснованием использования препаратов пробиотического действия («Наринэ») для профилактики изменения активности местной неспецифической защиты организма (кислородзависимых бактерицидных систем), что может служить основой разработки новых методов профилактики дисбактериоза.

Материалы диссертации включены в учебные программы и используются в лекционных и практических курсах кафедры биохимии и микробиологии Ростовского Государственного Университета для студентов, специализирующихся по микробиологии, а также Факультета Усовершенствования Врачей Ростовского Государственного Медицинского Университета по курсу микробиологии.

Разработано и внедрено в практику учебно-методическое пособие для студентов биолого-почвенного факультета РГУ «Симбионтная микрофлора желудочно-кишечного тракта человека. Дисбактериоз и его коррекция».

Получен патент на изобретение «Питательная среда для выделения лактобактерий» (№ 2202609 от 20.04.2003г.).

Оформлен и представлен на согласование в ГИСК им. Л.А. Тарасевича Экспериментально-производственный регламент на питательную среду для выделения и культивирования бифидобактерий, жидкую (ГТ-среда). Получено разрешение Комитета медицинских иммунобиологических препаратов на внедрение в практику без проведения Гос.

испытаний питательной среды для выделения и культивирования бифидобактерий, жидкой (ГТ-среда) (Выписка из протокола № 6 от 14.06.2001 г.).

Материалы диссертационной работы использованы при подготовке аналитического обзора «Новые подходы к коррекции и профилактике дисбактериозов», получившего положительную оценку Департамента организации медицинской помощи населению и профилактики неинфекционных заболеваний Минздрава России и рекомендованного для использования практическими врачами.

Положения, выносимые на защиту:

- При дисбактериозе кишечника, обусловленном введением антибиотиков, как у людей, так и в эксперименте на животных, происходят значительные изменения в составе кишечных микробиоценозов. Изменения полостной и мукозной микрофлоры носят синхронный характер и проявляются в изменениях количественного состава и характера популяций эшерихий и лактобактерий, где нарастает численность эшерихий со сниженной ферментативной активностью, гемолитических эшерихий, лактобактерий со сниженной кислотообразующей активностью.
- При дисбактериозе, обусловленном антибиотиками широкого спектра действия, изменяются биологические свойства таких представителей нормальной резидентной флоры, как эшерихий и лактобактерий: существенно снижается их антагонистическая и адгезивная активности, что свидетельствует об утрате ими функции поддержания колонизационной резистентности.
- Под действием антибиотиков существенно изменяются показатели местной неспецифической защиты: снижается активность кислородзависимых бактерицидных систем местных непрофессиональных фагоцитов. Снижение активности кислородзависимых бактерицидных систем предшествует изменениям в составе нормальной микрофлоры. Максимум снижения активности кислородзависимых бактерицидных систем коррелирует с повышением в нормальной микрофлоре количества эшерихий со сниженной ферментативной активностью и условно-патогенных микроорганизмов. Использование «Наринэ» в качестве средства, стимулирующего активность кислородзависимых бактерицидных систем, приводит к уменьшению в кишечной микрофлоре количества эшерихий со сниженной ферментативной активностью и условно-патогенных бактерий.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы доложены на научно-практической конференции «Актуальные вопросы инфекционной патологии», посвященной 90-летию Ростовского НИИ микробиологии и паразитологии (1999), научной конференции «Актуальные вопросы биологии и медицины», посвященной 30-летию кафедры

микробиологии, вирусологии, и иммунологии Кабардино-Балкарского Государственного Университета (г. Нальчик, 1999).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 20 работ, изданы методические рекомендации, получен патент на питательную среду, оформлен экспериментально-производственный регламент, подготовлена рукопись аналитического обзора.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 179 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, 3 глав собственных исследований, заключения и выводов. Список литературы включает 263 источника, в том числе, отечественных 180 и зарубежных 83. Работа иллюстрирована 40 таблицами и 23 рисунками.

Содержание работы.

Материалы, методы и объем исследования. Для выполнения работы были отобраны 600 человек с дисбактериозом кишечника, обусловленным приемом антибиотиков широкого спектра действия и 64 практически здоровых человека, не получавших антибиотики в течение последних двухлет.

При воспроизведении экспериментального дисбактериоза использовано 400 белых беспородных мышей-самцов весом 16-18г., у которых исследован характер полостной и мукозной микрофлоры.

Биологические свойства представителей резидентной флоры исследованы у 300 штаммов эшерихий, 143 штаммов лактобактерий, выделенных от людей с дисбактериозом, 65 штаммов эшерихий, 137 штаммов лактобактерий, полученных от условно-здоровых людей и 96 штаммов эшерихий, 100 штаммов лактобактерий, изолированных от мышей.

Методы исследования:

Микробиологические методы.

Состав микрофлоры кишечника изучали в соответствии с методическими рекомендациями «Бактериологическая диагностика дисбактериоза кишечника» (Москва, 1991).

Для исследования мукозной микрофлоры отрезок кишечника длиной 5-7 см трижды промывали фосфатно-солевым буферным раствором (рН 7,2), отрезок кишечника весом 1 г гомогенизировал в ступке с кварцевым песком в ФБР, переносили в физиологический раствор (рН 7,2-7,4). Характер микрофлоры определяли по той же методике (Москва, 1991).

Выделенные чистые культуры идентифицировали по морфологическим, тинкториальным, биохимическим, культуральным свойствам в соответствии с рекомендациями Берджи (1997).

Определение антилизосимной и антиинтерцидной активностей у выделенных штаммов осуществлялось по методикам О.В. Бухарина с соавторами (1984, 1997) с использованием

типовых штаммов *Micrococcus lysodeikticus* шт.2665 (ГИСК им. Тарасевича) и *Corynebacterium xerosis* шт.181 (ГИСК им. Тарасевича).

Антагонистическую активность штаммов микроорганизмов, выделенных от людей с дисбактериозом кишечника и экспериментальных животных, изучали методом отсроченного антагонизма (P. Fredericq, 1957) с использованием типовых штаммов (*Shigella sonnei*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*).

Определение лизоцимной активности исследуемых штаммов производилось по методике О.В. Бухарина с соавторами (1985) с использованием суточной культуры *Micrococcus lysodeikticus* шт.2665 (ГИСК им. Тарасевича).

Изучение адгезивной активности исследуемых штаммов производилось в соответствии с методикой В.И. Брилис с соавторами (1986).

Биохимические методы.

Определение количества лизоцима в копрофильтратах проводилось в соответствии с методическими рекомендациями «Применение сигнального способа диагностики дизентерии по определению количества лизоцима в копрофильтратах» (Оренбург, 1979).

Для определения активности кислородзависимых бактерицидных систем фагоцитирующих клеток перитонеальные макрофаги выделяли из брюшной полости мышей по методу Дж. Уосли (1976), без предварительной стимуляции. Концентрацию клеток доводили до 1×10^6 /мл. Энтероциты и колоноциты выделяли из соответствующих отделов кишечника по следующей методике: отрезки кишечника длиной 5 см, трижды промывали стерильным 0,85% раствором хлорида натрия. Кишечник вскрывали продольно, с внутренней поверхности делался соскоб отшлифованным предметным стеклом для отделения клеток кишечного эпителия. Клетки переносили в фосфатно-буферный раствор (ФБР) (рН 7,2). Концентрацию клеток доводили до 1×10^6 /мл.

Состояние кислородзависимых бактерицидных систем перитонеальных макрофагов и эпителиоидных клеток кишечника определяли при помощи НСТ-теста (Н.П. Грачева, 1984). Использовали следующие реактивы: фосфатный буфер (рН 7,2), кристаллический нитросиний тетразолий (НСТ) фирмы «Chemapol» (Чехия), раствор 1 нормальной раствор соляной кислоты, диметилсульфоксид (ДМСО). Для проведения спонтанной реакции восстановления НСТ культуру клеток в количестве 1×10^6 /мл инкубировали с 0,2% раствором НСТ в течение 1 часа при $37 \pm 1^\circ\text{C}$. После инкубации осадок промывали в 1-нормальной НС1. Для растворения осадка использовали ДМСО. Объем исследуемого образца доводили до 3 мл ФБР. Оптическую плотность формазана в образцах определяли на ФЭК в кюветках размером 1×1 см при $\lambda=492$ нм. Контролем служил раствор ДМСО с ФБР (рН 7,2). Показатели оптической плотности умножали на 1000 и получали количество формазана на 1×10^6 клеток, выраженное в единицах оптической плотности (Ед).

Активность КЗБС изучали в динамике, начиная с 3 суток после окончания введения антибиотика.

Биологические методы.

Экспериментальный дисбактериоз воспроизводился на белых беспородных мышках-самцах весом 16-18 г. Лекарственный дисбактериоз вызывали введением антибиотиков (гентамицина, цефазолина, ципрофлоксацина). Антибиотики вводили терапевтическими дозами (80 мкг/мл) в пересчете на массу животного в объеме 0,2 мл, внутривентриально в течение 5 суток. Контрольной группе мышам вводили 0,85% раствор хлорида натрия в том же объеме.

Статистические методы.

Обработка результатов проводилась средствами MS Excel методом вариационной статистики с вычислением критериев « $X \pm m$ », « t », « p » и по общепринятым методикам (И.А. Овсиевич, 1986; Ю.И.Иванов, О.Н. Погорелок, 1990).

Результаты исследования и их обсуждение.

Так как колонизационная резистентность определяется составом нормальной микрофлоры (А.А. Воробьев с соавт., 1997), первым этапом исследования явилось изучение характера микробиологических нарушений в составе микрофлоры кишечника людей, получавших антибиотические препараты широкого спектра действия.

Анализ полученных данных позволил заключить, что применение антибиотических препаратов приводит к существенным изменениям в составе микробиоценоза кишечника. При этом в результате антибиотикотерапии изменяется состав постоянных представителей, как анаэробной, так и факультативно-анаэробной микрофлоры. Достоверно снижается количество бифидобактерий ($\lg 6,2 \pm 0,5$ КОЕ/г по сравнению с $\lg 8,4 \pm 0,6$ КОЕ/г в группе лиц не получавших антибиотики, $t = 2,75$; $p < 0,01$). Отмечаются изменения в составе популяции эшерихий и лактобактерий: увеличивается содержание эшерихий со сниженной ферментативной активностью ($\lg 4,2 \pm 0,4$ КОЕ/г против $\lg 1,6 \pm 0,4$ КОЕ/г в группе лиц, не получавших антибиотики), гемолитических эшерихий ($\lg 1,03 \pm 0,8$ против $\lg 0,3 \pm 0,03$ КОЕ/г соответственно), лактобактерий со сниженной кислотообразующей способностью (в 3,6 раза по сравнению с людьми, не получавшими антибиотики).

В кишечной микрофлоре людей, получавших антибиотики, по сравнению с условно-здоровыми людьми, увеличивается количество условно-патогенных бактерий: лактозонегативных энтеробактерий ($\lg 2,45 \pm 0,35$ против $\lg 1,4 \pm 0,3$ КОЕ/г), бактерий рода *Proteus* ($\lg 1,3 \pm 0,06$ против $\lg 0,3 \pm 0,03$ КОЕ/г), гемолитических кокковых форм ($\lg 1,0 \pm 0,05$ против $\lg 0,5 \pm 0,02$ КОЕ/г), золотистых стафилококков ($\lg 0,5 \pm 0,01$ против $\lg 0,3 \pm 0,03$ КОЕ/г), грибов рода *Candida* ($\lg 0,95 \pm 0,06$ против $\lg 0,7 \pm 0,08$ КОЕ/г)

В группе лиц, получавших антибиотики, достоверно чаще по сравнению с группой условно-здоровых людей встречаются случаи низкого содержания представителей резидентной микрофлоры. Особенно четко это выражено в популяциях эшерихий и лактобактерий. Случаи содержания эшерихий ниже 10^7 в группе лиц, получавших антибиотики, выявлены в $55,3 \pm 2,0$ % случаев, тогда как в группе условно-здоровых лиц - в $17,2 \pm 4,7\%$ ($t = 6,6$; $p < 0,001$). Сниженное содержание лактобактерий обнаружено в $69,5 \pm 1,9\%$ случаев против $42,2 \pm 6,2\%$ ($t = 4,3$; $p < 0,01$). Сниженное количество бифидо- и лактобактерий сочеталось со снижением количества эшерихий с нормальной ферментативной активностью, что является характерной особенностью дисбиотических расстройств.

Анализ содержания в составе кишечной микрофлоры количества эшерихий со сниженной ферментативной активностью и гемолитических эшерихий в зависимости от количества присутствующих в кишечном микробиоценозе бифидо- и лактобактерий обнаружил отсутствие какой-либо связи. Гемолитические эшерихий и эшерихий со сниженной ферментативной активностью обнаруживались с одинаковой частотой как у людей с содержанием бифидо- и лактобактерий в пределах нормы, так и при их сниженном количестве ($70,1 \pm 2,7\%$ и $66,7 \pm 5,9\%$ соответственно, $t < 2$; $p > 0,05$).

Не удалось выявить какой-либо зависимости между содержанием бифидо- и лактобактерий в нормальном и сниженном количестве в составе микрофлоры и повышением численности лактозонегативных энтеробактерий. Видимо, как полагает В.Г. Лиходед с соавторами (1999), увеличение содержания в микробиоценозах гемолитических эшерихий и лактозонегативных энтеробактерий, определяется какими-то другими механизмами.

Так как в популяции эшерихий у людей, получавших антибиотики, существенно увеличивается количество эшерихий со сниженной ферментативной активностью, были изучены основные биологические свойства этих бактерий: антагонистическая, адгезивная активности, наличие персистентных характеристик. Обнаружено, что эшерихий со сниженной ферментативной активностью, по сравнению с эшерихиями с нормальной ферментативной активностью, обладают сниженной антагонистической, адгезивной, антилизосимной активностью.

Антагонистическая активность эшерихий со сниженной ферментативной активностью сохраняется в отношении патогенных энтеробактерий. $75,3 \pm 3,5\%$ штаммов имели низкую, $24,6 \pm 3,5\%$ - среднюю и высокую степень активности в отношении шигелл; среди эшерихий с нормальной ферментативной активностью - $68,0 \pm 6,6\%$ и $32,0 \pm 6,6\%$ соответственно ($t < 2$; $p > 0,05$). Существенно снижается антагонистическая активность по отношению к условно-патогенным энтеробактериям, имеющим большое значение при дисбактериозах кишечника. Так в отношении клебсиелл $90,0 \pm 2,4\%$, в отношении двух видов протеев $98,7 \pm 0,9\%$ и 100% штаммов эшерихий со сниженной ферментативной активностью обладали низкой степенью

антагонистической активности (в случае эшерихий с нормальной ферментативной активностью – $64,0 \pm 6,7\%$, $86,0 \pm 4,9\%$ и $76,0 \pm 6,0\%$; $t_1 = 3,7$; $p_1 < 0,001$; $t_2 = 4$, $p_2 < 0,001$; $t_3 = 2,5$; $p_3 < 0,05$ соответственно). В отношении протеев не выявлялись высокоактивные штаммы эшерихий со сниженной ферментативной активностью.

Низкий уровень среднего показателя адгезии обнаруживался у $56,0 \pm 7,0\%$ эшерихий со сниженной ферментативной активностью против $38,0 \pm 6,8\%$ эшерихий с нормальной активностью ($t = 2$; $p < 0,05$). Среднеадгезивных и высокоадгезивных эшерихий со сниженной ферментативной активностью было зафиксировано соответственно $34,0 \pm 6,7\%$ и $10,0 \pm 4,2\%$ соответственно против $44,0 \pm 7,0\%$ и $18,0 \pm 5,4\%$ штаммов с нормальной ферментативной активностью ($t = 3$; $p < 0,01$).

Изменения биологических свойств эшерихий со сниженной ферментативной активностью свидетельствует об утрате ими своей роли в обеспечении колонизационной резистентности.

Изучение лактобактерий, выделенных от людей, получавших антибиотики, показало, что существенно меняется их видовой состав. Так снижается число видов в популяции (у условно-здоровых - 14, у получавших антибиотики - 9), снижается численность *Lb.acidophilus* (с 12,0% в группе условно-здоровых до 1,4% в группе лиц, получавших антибиотики), появляются виды более свойственные другим отделам, в частности *Lb.salivarius* (12,0% против 1,0% у условно-здоровых людей), возрастает роль *Lb.bulgaricus* (1,4% против 1,0% соответственно).

Как известно, антагонистическая активность лактобактерий в отношении патогенной и условно-патогенной флоры складывается из их способности синтезировать биологически активные вещества. Изучение лизоцимной активности лактобактерий показало, что у людей, получавших антибиотики, достоверно реже обнаруживались штаммы, способные к синтезу лизоцима: $24,5 \pm 4,3\%$ против $37,6 \pm 4,6\%$ у условно-здоровых людей ($t = 2,1$; $p < 0,05$).

Использование разработанной питательной среды для выделения лактобактерий позволило выявить неоднородность популяции лактобактерий по признаку кислотообразования. У людей, получавших антибиотики, увеличивается количество лактобактерий со сниженной кислотообразующей активностью ($51,4 \pm 3,8\%$ против $14,1 \pm 4,3\%$ в группе условно-здоровых людей, $t = 6,7$; $p < 0,001$).

Большинство штаммов лактобактерий, выделенных от людей, получавших антибиотики, обладало низкой степенью антагонистической активности в отношении шигелл ($55,5 \pm 4,4\%$ против $9,0 \pm 2,8\%$ в группе условно-здоровых лиц, $t = 9,3$; $p < 0,001$), клебсиелл ($77,4 \pm 3,7\%$ против $35,0 \pm 4,8\%$, $t = 7,1$; $p < 0,001$), двух видов протеев ($76,6 \pm 3,7\%$ и $75,8 \pm 3,8\%$ против $21,0 \pm 4,0\%$ и $18,0 \pm 3,8\%$, $t_1 = 10,3$; $p_1 < 0,001$; $t_2 = 10,9$; $p_2 < 0,001$ соответственно). В группе лиц,

получавших антибиотики, не обнаруживалось высокоактивных штаммов в отношении клебсиелл и протеев.

Полученные данные об изменении биологических свойств лактобактерий свидетельствуют о частичной утрате ими способности к поддержанию колонизационной резистентности.

Обнаружение существенных качественных и количественных изменений в составе микробиоценозов кишечника людей, получавших антибиотики, и изменений биологических свойств основных представителей резидентной микрофлоры послужило основанием для проведения второго этапа исследования - экспериментального - воспроизведения дисбактериоза, обусловленного антибиотиками широкого спектра действия. Использование экспериментальной биологической модели позволило проследить не только за изменениями в составе полостной, но и пристеночной микрофлоры, а также показателей местной неспецифической резистентности организма.

Характер микрофлоры животных, получавших антибиотики, был сопоставлен с характером микрофлоры животных, не получавших антибиотики. Анализ полученных данных свидетельствует, что введение терапевтических доз антибиотиков привело к изменению характера полостного микробиоценоза.

Обращает на себя внимание, что количество бифидобактерий в результате антибиотикотерапии снизилось незначительно ($\lg 7,7 \pm 0,2$ КОЕ/г против $\lg 8,0 \pm 0,6$ КОЕ/г в группе контрольных животных), в то время как снижение количества лактобактерий было более выраженным ($\lg 6,3 \pm 0,2$ против $\lg 7,1 \pm 0,5$ КОЕ/г соответственно, $t = 1,6$; $p > 0,05$). В составе полостной микрофлоры мышей достоверно снизилось количество эшерихий ($\lg 5,4 \pm 0,3$ против $\lg 7,4 \pm 0,4$ в группе интактных животных, $t = 4$; $p < 0,001$). Существенно возросло количество условно-патогенных микроорганизмов, в том числе, лактозонегативных энтеробактерий ($\lg 2,5 \pm 0,2$ против $\lg 1,9 \pm 0,6$ КОЕ/г в контроле), бактерий рода *Proteus* ($\lg 2,8 \pm 0,1$ против $\lg 2,1 \pm 0,1$ КОЕ/г), гемолитических форм в основном за счет кокковых видов ($\lg 2,3 + 0,1$ против $\lg 0,4 \pm 0,07$ КОЕ/г), стафилококков, в том числе, золотистых ($\lg 1,6 \pm 0,2$ против $\lg 1,0 \pm 0,3$ КОЕ/г).

В результате антибиотикотерапии произошли изменения в составе мукозной микрофлоры. Мало изменилось количество бифидо- и лактобактерий, ассоциированных с поверхностью крипт. В составе эшерихий произошло значительное увеличение их количества ($\lg 4,5 \pm 0,2$ против $\lg 2,2 \pm 0,1$ КОЕ/г в контрольной группе мышей), главным образом за счет эшерихий со сниженной ферментативной активностью, доля которых в популяции достигла 90%. В мукозной микрофлоре мышей, подвергшихся антибиотикотерапии, резко увеличилось содержание условно-патогенных бактерий. Количество гемолитических кокковых форм выросло в 18 раз (с $\lg 0,2 \pm 0,01$ в контрольной группе до $\lg 3,6 \pm 0,1$ КОЕ/г у мышей с

лекарственным дисбактериозом), лактозонегативных энтеробактерий - в 3,6 раза (с $\lg 1,2 \pm 0,1$ до $\lg 4,3 \pm 0,1$ КОЕ/г соответственно), бактерий рода *Proteus* - в 9,25 раза (с $\lg 0,4 \pm 0,02$ до $\lg 3,7 \pm 0,2$ КОЕ/г соответственно), стафилококков, в том числе, золотистых и грибов рода *Candida*.

Поскольку мукозная микрофлора вносит основной вклад в обеспечение колонизационной резистентности (ОБ. Чахава, 1982; Б.В. Пинегин с соавт., 1984; Д. Ван-дер-Ваай, 1992; M.J. Oghage et al., 1994), изменение ее состава служит свидетельством нарушения колонизационной резистентности кишечника.

Использование различных антибиотиков для создания экспериментального лекарственного дисбактериоза позволило сопоставить характер изменений в микробиоценозах кишечника. Было обнаружено, что при сохранении основных тенденций, характеризующих нарушения состава кишечной микрофлоры, степень выраженности этих нарушений зависела от выбранного антибиотика. Отмечено, что из трех использованных антибиотиков наибольшее действие на состав микрофлоры оказывал гентамицин, в меньшей степени цефазолин, наиболее шадящим было действие ципрофлоксацина

Был прослежен характер изменений состава кишечной микрофлоры мышей в динамике экспериментального лекарственного дисбактериоза.

Проведенные исследования количественного состава полостной и мукозной микрофлоры показали, что бифидо- и лактобактерии подвергались незначительным изменениям. Численность их популяций на протяжении всего срока наблюдений в среднем оставалась на уровне значений контрольной группы.

В динамике дисбактериоза обнаруживались значительные изменения количества эшерихий. Так, наблюдавшееся на 3-5 сутки некоторое увеличение общего количества эшерихий ($\lg 7,8 \pm 0,1$ против $\lg 7,4 \pm 0,4$ КОЕ/г у контрольных животных) в полостном микробиоценозе, сменялось резким падением их количества после 5-х суток (на 10-е сутки - $\lg 6,0 \pm 0,2$ КОЕ/г, к концу срока наблюдения - $\lg 4,0 \pm 0,3$ КОЕ/г). С 5-х суток наблюдений начинался рост численности эшерихий со сниженной ферментативной активностью. К 17-му дню их доля в популяции кишечных палочек приближалась к 100%.

В мукозной микрофлоре, начиная с 3-5 суток наблюдений, зафиксирован рост общего количества эшерихий и одновременное увеличение доли эшерихий со сниженной ферментативной активностью в структуре популяции, достигающей к 17-му дню 100%.

Численность условно-патогенных бактерий, как в полостном, так и мукозном микробиоценозе, увеличивалась уже к 5-м суткам наблюдений, в несколько раз превышая значения контрольной группы мышей. К концу срока наблюдений обнаруживалась тенденция к снижению количества условно-патогенных микроорганизмов, особенно четко выраженная в полостном биотопе.

Таким образом, изменения, отмеченные при экспериментальном дисбактериозе у животных, в определенной степени соответствуют изменениям, отмеченным в микробиоценозе кишечника людей, получавших антибиотики: изменяется структура популяции эшерихий в сторону нарастания численности эшерихий со сниженной ферментативной активностью; нарастает количество и частота высева условно-патогенных микроорганизмов, в частности, лактозонегативных энтеробактерий, протеев, стафилококков, гемолитических кокковых форм; несколько снижается количество лактобактерий. Изменения в составе полостной и мукозной микрофлоры носят в основном синхронный характер.

Изучение биологических свойств эшерихий со сниженной ферментативной активностью, преобладающих в кишечнике мышей с экспериментальным лекарственным дисбактериозом, показало, что степень их антагонистической и адгезивной активности была низкой. Большинство штаммов обладало низкой антагонистической активностью в отношении *P.mirabilis* ($66,7 \pm 4,8\%$), *P.vulgaris* ($63,6 \pm 4,9\%$), *S.aureus* ($62,5 \pm 4,9\%$). В отношении шигелл и клебсиелл $42,7 \pm 5,0\%$ и $45,8 \pm 5,1\%$ штаммов были низко активными. Высокая степень антагонистической активности среди всех изученных штаммов встречалась в единичных случаях ($2,1 \pm 1,4 - 9,4 \pm 3,0\%$). $90,0 \pm 4,2\%$ выделенных от мышей эшерихий со сниженной ферментативной активностью имели низкий уровень среднего показателя адгезии. Высокоадгезивных штаммов не обнаруживалось.

В то же время для эшерихий со сниженной ферментативной активностью, выделенных из кишечника мышей, была характерна высокая частота встречаемости антилизосимного признака ($98,4 \pm 1,1\%$ исследованных штаммов). Степень выраженности способности к инактивации лизоцима была также высока и приближалась к уровню условно-патогенных энтеробактерий ($5,6$ мкг лизоцима/мл среды и $5,4$ мкг/мл соответственно). Данное обстоятельство свидетельствует о нарастании патогенных свойств в популяции эшерихий, вегетирующих в кишечнике мышей с экспериментальным лекарственным дисбактериозом, и утрате ими места нормальных зубионтов.

В ходе изучения биологических свойств лактобактерий, выделенных от мышей в динамике экспериментального лекарственного дисбактериоза, было отмечено снижение их колонизирующей способности. Способностью к синтезу лизоцима в незначительной степени обладали только $15,0 \pm 3,5\%$ лактобактерий. Большинство изученных штаммов обладало низкой антагонистической активностью в отношении *K1.pneumonia* ($75,0 \pm 4,3\%$), *P.vulgaris* ($72,0 \pm 4,5\%$), *P.mirabilis* ($70,0 \pm 4,6\%$), *S.aureus* ($87,0 \pm 3,4\%$). В отношении шигелл $49,0 \pm 5,0\%$ штаммов лактобактерий были низко активными. Высокая антагонистическая активность в отношении указанных штаммов встречалась в единичных случаях ($1,0 \pm 0,9 - 5,0 \pm 2,0\%$). Подавляющее большинство штаммов лактобактерий, выделенных от мышей, были неадгезивными ($84,0 \pm 5,2\%$ по СПА и $64,0 \pm 6,8\%$ по НАМ)

Так как существенную роль в поддержании колонизационной резистентности™ организма играет местный иммунитет (Г.И. Подопригора, 1990), представляло интерес выяснить, как изменяется активность показателей местной неспецифической резистентности в динамике экспериментального дисбактериоза. К числу местных неспецифических факторов противoinфекционной защиты относится фагоцитарная активность местных макрофагов, а также антибактериальные и противовирусные субстанции (лизоцим, интерферон) (Я.С. Шварцман, Л.Б. Хазенсон, 1978; Л.Б. Хазенсон, 1984).

Считается, что снижение содержания лизоцима ведет к ослаблению колонизационной резистентности слизистой оболочки кишечника (Э.Г. Щербакова с соавт., 1999, 2000), поэтому была изучена частота встречаемости различных концентраций лизоцима в копрофильтратах людей, получавших и не получавших антибиотики.

Анализ полученных данных показал, что в копрофильтратах лиц, получавших антибиотики, достоверно чаще обнаруживались высокие концентрации лизоцима ($79,3 \pm 1,2\%$ против $31,2 \pm 5,8\%$ в группе условно-здоровых лиц, $t = 8,2$; $p < 0,001$). Однако О.В. Бухарин с соавторами (1979) указывали, что высокий уровень лизоцима в копрофильтратах сопровождается параллельным снижением лизоцима в слизистой дистального отдела толстой кишки и свидетельствует о наличии воспалительного процесса в слизистой.

Так как содержание лизоцима в кишечнике складывается из лизоцима, секретируемого слизистой оболочкой, и микробного лизоцима (О.В. Бухарин с соавт., 1985), была проанализирована зависимость между содержанием лизоцима в копрофильтратах и изменениями в составе микрофлоры кишечника людей, получавших антибиотики.

Установлена четкая зависимость между содержанием лизоцима в копрофильтратах и содержанием бифидо- и лактобактерий в составе кишечной микрофлоры людей с дисбактериозом, обусловленным антибиотическими препаратами. Снижение содержания бифидо- и лактобактерий сопровождалось достоверным снижением частоты обнаружения лизоцима в копрофильтратах ($t = 2,1$; $p < 0,05$). Количественные значения лизоцима в копрофильтратах таких людей были также ниже, чем у людей с нормальным содержанием бифидо- и лактофлоры (2,45 мкг/мл и 3,25 мкг/мл соответственно).

Не обнаружено достоверных отличий ($t = 0,4$; $p > 0,05$) в частоте выявления и количестве лизоцима в копрофильтратах в зависимости от преобладания в составе кишечной микрофлоры людей с лекарственным дисбактериозом эшерихий с нормальной либо сниженной ферментативной активностью.

Наличие в составе микрофлоры кишечника высоких количеств условно-патогенных микроорганизмов, для которых лизоцим служит фактором межмикробного взаимодействия, сопровождалось частым обнаружением высоких концентраций лизоцима в копрофильтратах. Тем не менее, не обнаружено достоверного различия в частоте обнаружения высоких

концентраций лизоцима в копрофильтратах и увеличением количества лактозонегативных энтеробактерий в кишечной микрофлоре.

Изучение содержания лизоцима в копрофильтратах мышей в динамике экспериментального дисбактериоза показало, что в результате введения антибиотиков у мышей происходило нарастание частоты обнаружения и количества лизоцима в копрофильтратах. В случае применения гентамицина частота обнаружения лизоцима увеличилась с $46,0 \pm 9,7\%$ у контрольных животных до $67,0 \pm 5,0\%$ у опытных животных, $t = 1,9$; $p > 0,05$, цефазолина - до $83,3 \pm 5,4\%$, $t = 3,3$; $p < 0,01$, ципрофлоксацина - до $97,9 \pm 2,1\%$, $t = 5,2$; $p < 0,001$. Средние значения лизоцима в копрофильтратах превысили уровень контрольной группы мышей ($1,23$ мкг/мл) в случае гентамицина в среднем в 1,6 раза, цефазолина - в 1,7 раза, ципрофлоксацина - более чем в 4,3 раза. Сопоставление содержания лизоцима в копрофильтратах с характером микрофлоры кишечника экспериментальных животных показало наличие зависимости между существенным увеличением количества гемолитических кокковых форм (стафилококки, в том числе золотистые) и нарастанием количества лизоцима

Складывается впечатление, что содержание лизоцима в копрофильтратах людей с дисбактериозом, обусловленным антибиотиками и экспериментальных животных, зависит от состояния слизистой оболочки кишечника, что согласуется с точкой зрения В М Бондаренко с соавторами (2003) об измененном морфологическом статусе слизистой оболочки толстого кишечника при дисбактериозе.

Развитие микробиологических нарушений при дисбактериозах кишечника связывают с изменениями в системе местного противоифекционного иммунитета, одним из важных звеньев которого является фагоцитарная реакция, осуществляемая профессиональными и непрофессиональными фагоцитами (К.П. Кашкин, З.О. Караев, 1984) ОН. Минушкин с соавторами (1999), В.М. Бондаренко с соавторами (2003) предлагают рассматривать развитие микробиологических нарушений как патологический процесс, протекающий непосредственно на поверхности эпителиоидных клеток кишечника - энтероцитах и колоноцитах. Однако механизмы, обуславливающие снижение местного иммунитета и его связь с изменениями характера микрофлоры при дисбактериозах не до конца ясны.

Так как исход фагоцитарной реакции определяется состоянием бактерицидных систем фагоцитирующих клеток, была исследована активность кислородзависимых бактерицидных систем в непрофессиональных фагоцитах кишечника (энтероцитах и колоноцитах) и перитонеальных макрофагах в динамике экспериментального дисбактериоза, обусловленного антибиотиками широкого спектра действия.

Было выявлено, что активность кислородзависимых бактерицидных систем (КЗБС) эпителиоидных клеток кишечника интактных мышей определялась на сравнительно высоком

уровне ($142,3 \pm 11,4$ Ед. в энтероцитах, $156,5 \pm 12,6$ Ед. в колоноцитах), превышая значения активности КЗБС перитонеальных макрофагов ($117,8 \pm 9,4$ Ед.).

Все взятые в опыт антибиотики значительно снижали активность КЗБС, но в разной степени. Наиболее значительно активность КЗБС снижалась под действием цефазолина: в колоноцитах - в 4,4 раза, энтероцитах - в 3,6 раза, перитонеальных макрофагах - в 3,2 раза. Более умеренно снижалась активность под действием гентамицина' в колоноцитах- в 2,14 раза, энтероцитах - 1,9 раза, перитонеальных макрофагах - 1,7 раза. Самое низкое снижение активности кислородзависимых . бактерицидных систем отмечалось при введении ципрофлоксацина: в колоноцитах - в 2 раза, в энтероцитах и перитонеальных макрофагах - в 1,4 раза.

Была изучена динамика изменений активности КЗБС при экспериментальном дисбактериозе, обусловленном гентамицином. Анализ полученных результатов показал, что падение активности КЗБС во всех исследованных клетках происходит с одинаковой закономерностью: наиболее четко снижалась активность КЗБС колоноцитов, в меньшей степени энтероцитов и перитонеальных макрофагах. Достоверное снижение активности КЗБС фиксировалось уже на 3-5 сутки после отмены антибиотика: в колоноцитах она падала до $46,0 \pm 3,06$ Ед., энтероцитах - $62,0 \pm 5,5$ Ед., перитонеальных макрофагах - до $45,0 \pm 2,8$ Ед ($t = 6,9; p < 0,001$ во всех случаях). Начиная с 10-х суток после отмены гентамицина активность КЗБС фагоцитирующих клеток несколько повышалась, но и к концу срока наблюдений (31 сутки) оставалась в несколько раз ниже (колоноцитов - в 3 раза, энтероцитов - в 2 раза, перитонеальных макрофагов - в 2,3 раза) показателей контрольной группы мышей.

Сопоставление результатов изучения активности КЗБС фагоцитов в динамике экспериментального дисбактерита, обусловленного цефазолином и ципрофлоксацином, позволило выявить наличие той же закономерности, что и при введении гентамицина: активность КЗБС снижается более значительно в колоноцитах, чем энтероцитах, снижение активности отмечается с 3 дня после отмены антибиотиков, максимум падения активности приходится на 3-10 сутки. В отличие от гентамицина активность КЗБС при введении цефазолина и ципрофлоксацина восстанавливалась более быстро и приближалась к показателям контрольной группы животных уже к 18 дню наблюдений.

Так как активность кислородзависимых бактерицидных систем отражает состояние местного иммунитета, представляло интерес сопоставить данные об изменении активности КЗБС и микробиоценозах кишечника.

Была обнаружена прямая четко выраженная зависимость между изменениями активности КЗБС непрофессиональных фагоцитов кишечника и изменениями характера кишечной микрофлоры. Снижение активности КЗБС приводит к увеличению содержания

эшерихий со сниженной ферментативной активностью, лактозонегативных энтеробактерий, протеев, гемолитических кокшвых форм.

Наиболее низкие значения активности КЗБС сочетались со снижением количества нормальных эубионтов в микрофлоре кишечника (бифидобактерий до $\lg 6,0 \pm 0,4$, лактобактерий до $\lg 6,0 \pm 0,3$, эшерихий до $\lg 4,5 \pm 0,4$) и нарастанием в популяции эшерихий штаммов со сниженной ферментативной активностью, которые с 17-х суток и до конца срока наблюдений составляли более 90% популяции.

Падение активности КЗБС фагоцитирующих клеток на 3-5 сутки после отмены антибиотика сочеталось с достоверным увеличением количества условно-патогенных микроорганизмов. На протяжении практически всего срока наблюдения низким значениям активности КЗБС соответствовали высокие количества лактозонегативных энтеробактерий, протеев, стафилококков, в том числе золотистых, гемолитических кокковых форм. Отмеченная к концу эксперимента тенденция к росту активности КЗБС колоноцитов и энтероцитов сочеталась с уменьшением численности условно-патогенных бактерий, высеваемых из кишечника мышей.

В настоящее время основным средством коррекции микрoэкологических сдвигов в кишечном биоценозе являются эубиотические препараты, одним из свойств которых является иммуномоделирующая активность (В.М. Коршунов с соавт., 1997,1999; Е.В. Патрушева, 2000; И.Б. Куваева, 2001; В.А. Доценко, 2001; А.А. Воробьев, 2002). Поэтому была проведена коррекция экспериментального лекарственного дисбактериоза кисломолочным препаратом «Наринэ», представляющим собой штамм ацидофильных лактобактерий (АД Амбарцумян, 1983; Г.Б. Гукасян с соавт., 2002).

Проведенные исследования показали, что под влиянием препарата «Наринэ» наблюдалось достоверное повышение активности фагоцитирующих клеток. При сопоставлении показателей активности КЗБС эпителиоидных клеток кишечника и перитонеальных макрофагов обнаружено, что более выраженный подъем активности наблюдался в колоноцитах и энтероцитах, чем в макрофагах. Так активность колоноцитов при коррекции «Наринэ» выросла в среднем в 2,5 - 2,8 раза, энтероцитов - в 2,4-3 раза, перitoneальных макрофагов - в 2 раза.

Сопоставление характера микрофлоры кишечника животных, получавших «Наринэ», и изменений активности КЗБС фагоцитов при коррекции дисбактериоза позволило установить, что повышение активности КЗБС профессиональных и непрофессиональных фагоцитов приводит к снижению численности лактозонегативных энтеробактерий, протеев и гемолитических форм.

Полученные результаты позволяют считать, что активность кислородзависимых бактерицидных систем эпителиоидных клеток кишечника и перитонеальных макрофагов

является одним из факторов, способствующих изменению характера микрофлоры кишечника при дисбактериозе, обусловленном применением антибиотических препаратов.

Сопоставление результатов проведенных исследований позволило заключить, что при дисбактериозе, обусловленном применением антибиотических препаратов, наблюдается снижение колонизационной резистентности кишечника, связанное с нарушением защитной функции нормальной микрофлоры и нарушением механизмов местной неспецифической резистентности организма.

Выводы.

1. При дисбактериозе кишечника, обусловленном применением антибиотиков широкого спектра действия, происходят значительные изменения в составе кишечной микрофлоры, снижение показателей местной неспецифической защиты, что свидетельствует о нарушении колонизационной резистентности.

2. Изменение состава кишечной микрофлоры характеризуется уменьшением количества постоянных (резидентных) представителей микрофлоры (бифидобактерий, лактобактерий, эшерихий), увеличением частоты находок и количества эшерихий со сниженной ферментативной активностью, гемолитических эшерихий, изменением видового состава лактобактерий в сторону уменьшения содержания *Lactobacillus acidophilus*, нарастанием количества лактобактерий со сниженной кислотообразующей активностью.

3. Эшерихий со сниженной ферментативной активностью и лактобактерии, выделенные как от людей, получавших антибиотики, так и от животных с экспериментальным лекарственным дисбактериозом, обладают низкой антагонистической активностью в отношении условно-патогенных бактерий (протеи, клебсиеллы), низкой адгезивной активностью, а также приобретают персистентные характеристики, что указывает на увеличение их агрессивности, и снижение их роли в поддержании колонизационной резистентности кишечника.

4. Обнаружено что содержание лизоцима в копрофильтратах людей, получавших антибиотики широкого спектра действия, зависит от количества бифидо- и лактобактерий в составе кишечной микрофлоры: снижение содержания данных зубионтов сопровождается достоверным снижением частоты обнаружения и количества лизоцима в копрофильтратах.

5. Установлено, что при экспериментальном дисбактериозе, обусловленном использованием антибиотиков широкого спектра действия, происходит снижение активности кислородзависимых бактерицидных систем профессиональных (перитонеальные макрофаги) и непрофессиональных (энтероциты и колоноциты) фагоцитов, наиболее значительное в колоноцитах и энтероцитах по сравнению с перитонеальными макрофагами, что указывает на преимущественное снижение местной неспецифической резистентности.

6. Выявлена четко выраженная зависимость характера изменений микрофлоры кишечника от состояния активности кислородзависимых бактерицидных систем колоноцитов и энтероцитов: наибольшему снижению активности кислородзависимых бактерицидных систем соответствует максимальное количество эшерихий со сниженной ферментативной активностью, гемолитических эшерихий и условно-патогенных микроорганизмов в составе микрофлоры.

7. Использование "Нарине" с целью коррекции микрофлоры приводит к повышению активности кислородзависимых бактерицидных систем местных фагоцитов и снижению количества условно-патогенных микроорганизмов.

Публикации.

1) Алешукина А.В., Голошва Е.В. Адгезивная активность эритроцитов мышей в динамике экспериментального дисбактериоза. // Сб. «Актуальные вопросы биологии и медицины». - Нальчик, 1999.- С. 6.

2) Голошва Е.В., Алешукина А.В., Терновская Л.Н. Антагонистическая и адгезивная активности лактобактерий, выделенных от людей с дисбактериозом кишечника. // Сб. «Актуальные вопросы биологии и медицины». - Нальчик, 1999.- С. 34-36.

3) Голошва Е.В., Терновская Л.Н., Алешукина А.В. Некоторые особенности состава микрофлоры кишечника при дисбактериозах у взрослых людей. // Сб. «Актуальные вопросы биологии и медицины». - Нальчик, 1999.- С. 36-37.

4) Патрушева Е.В., Алешукина А.В., Голошва Е.В., Морозова Н.Е., Терновская Л.Н. Изменения аутофлоры мышей при экспериментальном дисбактериозе и коррекции иммунобиологическими препаратами. // Сб. «Актуальные вопросы биологии и медицины». - Нальчик, 1999.-С. 87-89.

5) Голошва Е.В., Алешукина А.В., Терновская Л.Н. Адгезивная активность эшерихий, выделенных от людей с дисбактериозом кишечника. // Сб. «Актуальные вопросы инфекционной патологии». - Ростов-на-Дону, 1999.-С. 19.

6) Голошва Е.В., Терновская Л.Н., Алешукина А.В. Персистентные характеристики эшерихий, выделенных от людей с дисбактериозом кишечника// Сб. «Актуальные вопросы инфекционной патологии». - Ростов-на-Дону, 1999. - С. 20.

7) Терновская Л.Н., Голошва Е.В., Алешукина А.В. Антагонистическая активность эшерихий, выделенных от людей с дисбактериозом кишечника. // Сб. «Актуальные вопросы инфекционной патологии». - Ростов-на-Дону, 1999. - С. 21.

8) Алешукина А.В., Патрушева Е.В., Голошва Е.В., Черкашина Н.Е. Персистентные характеристики условно-патогенных энтеробактерий, выделенных из различных эпителиев при экспериментальном дисбактериозе кишечника // Материалы Конф. «Современные проблемы эпидемиологии, диагностики и лечения инфекционных и аллергических заболеваний». - Казань, 2000.-С. 12-13.

9) Алешукина А.В., Патрушева Е.В., Голошва Е.В., Морозова Н.Е., Терновская Л.Н. Показатели аутоенсибилизации при экспериментальном дисбактериозе и его коррекции иммунобиологическими препаратами // Материалы Конф. «Актуальные вопросы разработки, производства, и применения иммунобиологических и фармацевтических препаратов». - Уфа, 2000.-С. 209-211.

- 10) Голошва Е.В., Алешукина А.В., Терновская Л.Н. Влияние иммунобиологических препаратов на персистентные характеристики представителей нормальной микрофлоры при дисбактериозе у людей. // *Материалы Конф. «Актуальные вопросы разработки, производства, и применения иммунобиологических и фармацевтических препаратов»*. - Уфа, 2000. - С. 211-213.
- 11) Алешукина А.В., Патрушева Е.В., Голошва Е.В. Симбионтная микрофлора желудочно-кишечного тракта человека. Дисбактериоз и его коррекция. Методические рекомендации. - Ростов-на-Дону: Изд-во РГУ, 2000. - 22с.
- 12) Алешукина А.В., Голошва Е.В., Тришина А.А., Гапон М.Н. Модификация среды для выделения лактобактерий. // *Сб. «Новые технологии в медицине»*. - Саратов, 2001. - С. 19-20.
- 13) Алешукина А.В., Голошва Е.В., Тришина А.А., Терновская Л.Н. и др. Питательная среда для выращивания и дифференциации лактобактерий. // *Материалы 3-й Международной научно-практ. Конф. «Актуальные вопросы разработки и производства диагностических питательных сред и тест-систем»*. - Махачкала, 2001. - С. 19-20.
- 14) Голошва Е.В., Алешукина А.В. Роль кислородзависимых бактерицидных систем фагоцитов в поддержании колонизационной резистентности организма // *Материалы VIII съезда Всероссийского общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов* - М., 2002. - С. 160-161.
- 15) Голошва Е.В., Алешукина А.В., Терновская Л.Н. Персистентные характеристики энтеробактерий, выделенных в динамике экспериментального дисбактериоза. // *Материалы VIII съезда Всероссийского общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов* - М., 2002. - С. 161-162.
- 16) Терновская Л.Н., Алешукина А.В., Патрушева Е.В., Голошва Е.В. Влияние эубиотических препаратов на активность кислородзависимых бактерицидных систем профессиональных и непрофессиональных фагоцитов. // *Материалы Международной научно-практ. Конф. «Пробиотические микроорганизмы - современное состояние вопроса и перспективы использования»*. - М, 2002. - С. 29.
- 17) Голошва Е.В. Влияние антибиотиков на активность кислородзависимых бактерицидных систем профессиональных и непрофессиональных фагоцитов. // *Материалы 68-й итоговой научной конференции сотрудников КГМУ.*-Курск, 2002.—ЧЛ, С 80-81.
- 18) Алешукина А.В., Голошва Е.В. Колонизирующая способность лактобактерий, выделенных от людей с дисбактериозом кишечника. // *Журн. Известия ВУЗов, Северо-Кавказский регион.* - 2003, № 1. - С. 97-99.
- 19) Голошва Е.В. Микрoэкологические нарушения в составе нормальной микрофлоры кишечника у людей с лекарственным дисбактериозом. // *Журн. Известия ВУЗов, Северо-Кавказский регион.* - 2003, № 2. - С. 87-89.
- 20) Терновская Л.Н., Алешукина А.В., Голошва Е.В., Черкашина Н.Е., Калинина Т.Э., Гапон М.Н. Патент на изобретение «Питательная среда для выделения лактобактерий» № 2202609 от 20.04.2003 г.

Подписано в печать 15.03.2005 г.

**Объем 1.0 п.л. Формат 60 x 84 / 16
Печать офсетная. Бумага офсетная
Заказ № 777 Тираж 100 экз.
Отпечатано в РЦИО, Б. Садовая, 55 тел. 240-81-24**

22 MAP 2005

