

Е.С. Михайлова, А.М. Самоукина, В.В. Чернин, В.М. Червинец, Ю.А. Алексеева

МИКРОБИОТА ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА ПОДРОСТКОВ

ГБОУ ВПО Тверская ГМА Минздрава России

Изучены качественные и количественные параметры ротовой жидкости и кала у 74 практически здоровых подростков разных возрастных групп. В большинстве случаев выявлены изменения микроэкологии, характеризующиеся снижением количества индигенной микрофлоры и увеличением условно-патогенных микроорганизмов родов *Staphylococcus*, *Bacillus* и *Candida*, степень выраженности этих изменений достоверно увеличивается с возрастом. Установлено, что микробиота начального и конечного биотопов пищеварительного тракта тесно взаимосвязана и имеет ряд общих особенностей, зависящих от возраста, и отражает состояние микробиоценоза пищеварительного тракта в целом. Характер и степень выраженности изменений микробиоценоза могут быть эффективным диагностическим критерием для комплексной оценки состояния здоровья подростка с последующим формированием групп риска, нуждающихся в определенном объеме коррекционных мероприятий.

Ключевые слова: микробиоценоз, полость рта, кишечник, подросток, оценка состояния здоровья

MICROBIOTA OF DIGESTIVE TRACT IN ADOLESCENTS

E.S. Mikhailova, A.M. Samoukina, V.V. Chernin, V.M. Chervinets, J.A. Alexeeva

Tver State Medical Academy

The qualitative and quantitative parameters of oral fluid and feces in 74 healthy adolescents of different age groups had been studied. In most cases revealed microecology changes characterized by decreasing quantity of indigenous microflora and increasing quantity of opportunistic microorganisms of *Staphylococcus*, *Bacillus* and *Candida* genera, the severity of these changes significantly increases with age. It is established that the microbiota of the initial and final biotopes of the digestive tract are closely interrelated and have a number of common age-dependent features and reflects the microbiocenosis state of digestive tract in general. The nature and extent of the microbiocenosis changes can be effective diagnostic criteria for the integrated assessment of adolescent health with the subsequent formation of risk groups in need of a certain amount of corrective measures.

Key words: microbiocenosis, oral cavity, intestines, adolescents, health assessment.

Введение

В начале прошлого столетия выдающийся отечественный ученый, лауреат Нобелевской премии И.И. Мечников отмечал важную роль многочисленных бактерий кишечника в физическом и духовном здоровье человека. За прошедшие годы было доказано, что микрофлора желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) составляет в среднем 5% массы тела человека (2,5-3,5 кг), включает до 5000 видов микроорганизмов и выполняет ряд важных функций, включая колонизационную резистентность, пищеварительную, синтетическую,

метаболическую, детоксикационную, антихолестеринемическую, антимуtagenную, антиканцерогенную и др.

В последнее время особое внимание уделяется симбионтному бактериальному пищеварению человека, смысл которого заключается в том, что микроорганизмы, заселяющие различные биотопы пищеварительного тракта и обладающие определенным спектром ферментов, участвуют в гидролизе белков, жиров и углеводов, дополняя механизмы собственного пищеварения, и определяя здоровье организма хозяина.

Доказано, что, с одной стороны, дисбиотические изменения в ЖКТ связаны с различными заболеваниями органов и систем, а с другой стороны, и сами могут приводить к возникновению патологических изменений во всех отделах пищеварительного тракта от ротовой полости до кишечника. Следует отметить, что микробное сообщество различных биотопов пищеварительного тракта характеризуется сложной системой взаимосвязей и быстро реагирует на воздействие внешних и внутренних факторов качественными и количественными изменениями даже при отсутствии клинических симптомов и жалоб. Соответственно, состояние микрофлоры пищеварительного тракта может служить одним из интегральных критериев оценки состояния здоровья человека, а изменение численности микроорганизмов или их индикаторных свойств может рассматриваться как показатель индивидуального адаптогенеза и использоваться для оценки уровня здоровья с последующей превентивной коррекцией. В зависимости от степени риска для здоровья она может включать применение рационального питания, физических нагрузок, пребиотиков и пробиотиков.

Формирование здорового поколения является приоритетной задачей современного здравоохранения. Концепция развития здравоохранения РФ до 2020 г. рассматривает обязательства по охране здоровья подрастающего поколения как инвестиции в главный ресурс общественного развития. В связи с этим выявление наиболее часто встречающихся изменений микроэкологии на уровне различных биотопах пищеварительного тракта и выбор доступного для исследования биоматериала у здоровых людей имеет важное практическое значение при проведении диспансеризации.

В настоящее время для детального изучения микрофлоры ЖКТ проводятся сложные микробиологические и молекулярно-генетические исследования, которые занимают достаточно продолжительное время, трудоемки и экономически затратны. Наиболее распространенным методом оценки микробиоты пищеварительного тракта является бактериологическое исследование кала, т.е. определение просветной микрофлоры толстого кишечника. При этом в прикладном здравоохранении микроэкосистема полости рта, являю-

щаяся начальным звеном пищеварительного конвейера и доступная для забора биоматериала, практически не исследуется. Это делает актуальным поиск воспроизводимых, эффективных и экономически выгодных методик исследования микрофлоры пищеварительного тракта как показателя состояния здоровья человека.

Цель исследования – определить у здоровых подростков в возрастном аспекте видовой и количественный состав микрофлоры ротовой полости и кишечника для оценки состояния микробиоценоза пищеварительного тракта как показателя здоровья человека.

Материалы и методы

Исследование осуществлялось в рамках НИР «Проблемы формирования здоровья детей подросткового возраста в современных социально-средовых условиях» на базе научной платформы «Педиатрия», проводимой в порядке выполнения приказа МЗ РФ от 30.04.2013 г. № 281.

Обследовано 74 клинически здоровых подростка, относящихся к I-II группе здоровья, составивших две исследовательских группы. В 1-ю группу вошел 31 учащийся школ в возрасте 12-16 лет (16 девочек и 15 мальчиков). 2-я группа была сформирована из 43 студентов-первокурсников ТГМА в возрасте 17-18 лет (37 девушек и 6 юношей). У всех лиц либо их законных представителей получено информированное согласие на сбор материала и анкетирование. Анкета подтверждала отсутствие хронических заболеваний пищеварительного тракта и других систем органов и содержала сведения семейного анамнеза, в том числе об особенностях питания и др. Обследование проводилось с участием врачей разных специальностей (педиатр, терапевт, стоматолог, оториноларинголог, хирург, эндокринолог) с выполнением ряда функциональных исследований (антропометрия, физиометрия, соматоскопия, кардио-респираторные нагрузочные пробы, спирография, УЗИ щитовидной железы и органов брюшной полости, 12-канальная ЭКГ, энцефалография).

Для изучения микробиоценоза ротовой полости была исследована ротовая жидкость, являющаяся интегральной средой данного биотопа и позволяющая комплексно оценить состояние его микрофлоры. Ротовая жидкость собиралась в стерильные одноразовые пластиковые контейнеры утром натощак перед проведением гигиенического ухода за полостью рта. Бактериологическое исследование кала проводилось с использованием классических методик.

Для оценки соотношения микрофлоры полости рта и кишечника были выбраны такие доминирующие представители облигатной и факультативной микрофлоры, которые встречаются в обоих исследованных биотопах и могут интегрально отражать состояние

микробиологии пищеварительного тракта: лактобациллы, бифидобактерии, стрептококки, стафилококки, кандиды, бациллы.

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с применением пакета компьютерных программ Excel.

Результаты и обсуждение

В исследуемых биотопах пищеварительного тракта определялись микроорганизмы родов *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Candida*, *Micrococcus*, *Neisseria*, *Bifidobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Peptococcus*, *Bacillus*, *Actinomyces*, *Clostridium*, *Veillonella*, *Bacteroides*, *Leptotrichia*, представители семейства *Enterobacteriaceae* и др.

При исследовании микробиоценоза ротовой полости существенного различия качественных параметров в обеих возрастных группах не выявлено, что соответствует данным литературы. Однако частота встречаемости и количество выделенных микроорганизмов в возрастном аспекте имели ряд особенностей (табл. 1).

Таблица 1

Микробиоценоз полости рта у подростков разного возраста

Микроорганизмы	Особенности микробиоценоза			
	Частота выделения, %		Количество, lg КОЕ/мл	
	1-я группа n=31	2-я группа n=43	1-я группа n=31	2-я группа n=43
<i>Streptococcus</i> spp.	100	100	7,37±0,63	7,8±0,91
<i>Staphylococcus</i> spp.	64,5	95,3*	3,12±1,07	5,29±1,9*
- <i>S. aureus</i>	61,3	62,8	2,59±0,71	3,57±0,99
- <i>S. epidermidis</i> и др.	66,7	86*	2,19±0,54	3,35±0,84*
<i>Candida</i>	32,3	67,4*	1,79±0,64	3,64±1,06*
<i>Lactobacillus</i>	29,03	55,8*	1,95±0,7	3,79±0,72*
<i>Bacillus</i>	25,8	79,1*	2,14±0,37	3,98±0,78*
<i>Bifidobacterium</i> spp.	13,6	16,3	3,4±0,97	2,6±0,62

Примечание: * отмечена достоверность различий между показателями 1-й и 2-й группы ($p \leq 0,05$).

Так если, микроорганизмы рода *Streptococcus*, не обладающие гемолитической активностью, встречались в 100% случаев, то *Staphylococcus* spp. во 2-й группе обследованных были выделены достоверно чаще и в большем количестве. При этом частота выделения *S. aureus* была достаточно высокой и практически не имела различий в возрастном ас-

пекте, а количественно с возрастом выявлялась тенденция к увеличению. Что касается *S. epidermidis* и других коагулазоотрицательных стафилококков, то они достоверно чаще и в большем количестве определялись во 2-й группе. Качественные и количественные параметры дрожжеподобных грибов рода *Candida* были достоверно выше во 2-й группе обследованных, причем в обеих группах более чем в половине положительных образцов была идентифицирована *C. albicans*.

Представители облигатной микрофлоры – бактерии рода *Lactobacillus* и факультативной микрофлоры – рода *Bacillus* также достоверно чаще и в большем количестве были выделены в старшей возрастной группе. Достоверных различий по частоте встречаемости и количеству бифидобактерий в возрастном аспекте не выявлено. Низкая частота выделения бифидобактерий из ротовой жидкости в обеих группах соответствует данным литературы, в которых сообщается, что эти микроорганизмы преобладают в зубодесневом желобке. Учитывая имеющиеся в литературе сведения и результаты исследования, увеличение частоты встречаемости и количества представителей условно-патогенной микрофлоры (УПМ) родов *Staphylococcus*, *Candida* и *Bacillus* во 2-й группе можно объяснить действием целого ряда экзогенных и эндогенных факторов: особенностями питания, учебной нагрузки, психоэмоционального воздействия, малоподвижным образом жизни, нарушением местного иммунологического баланса и др.

На основании выявленных различий и имеющихся в литературе данных о типах дисбиоза полости рта нами были выделены три варианта микробиоценоза ротовой полости у здоровых людей (табл. 2).

Таблица 2

**Качественно-количественные характеристики
вариантов микробиоценоза полости рта у подростков**

Микроорганизмы	Варианты микробиоценоза		
	Первый	Второй	Третий
<i>Streptococcus</i> spp., 1g КОЕ/мл	5-6	6-7	6-7
<i>Lactobacillus</i> spp., 1g КОЕ/мл	3-4	2-3	0-2
УПМ (<i>Staphylococcus</i> spp., <i>Candida</i> spp., <i>Bacillus</i> spp.), 1g КОЕ/мл	0	3-4	4-5

Для первого его варианта характерно присутствие *Streptococcus* spp., не обладающего гемолитической активностью, в количестве 5-6 1g и *Lactobacillus* spp. (3-4 1g КОЕ/мл). Второй вариант характеризуется увеличением количества негемолитических

Streptococcus spp. (до 6-7 lg КОЕ/мл), снижением количества *Lactobacillus* spp. (до 2-3 lg КОЕ/мл) и появлением УПМ (*Staphylococcus* spp., *Candida* spp., *Bacillus* spp.) в количестве не выше 3-4 lg КОЕ/мл. У лиц с третьим вариантом микробиоценоза полости рта наблюдалось повышение количества негемолитических *Streptococcus* spp. до 6-7 lg КОЕ/мл, снижение количества *Lactobacillus* spp. до 1-2 lg КОЕ/мл или их полное отсутствие, повышение уровня УПМ, обладающей ферментативной активностью, коррелирующей с патогенностью до 4-5 lg КОЕ/мл.

При сравнении частоты встречаемости каждого варианта в возрастном аспекте, было выявлено, что в 1-й группе обследованных они были выявлены соответственно в 25,8%, 38,7% и 35,5% случаев, а во 2-й группе – 13,9%, 25,6% и 60,5% случаев. Это свидетельствует, что с возрастом происходит увеличение доли лиц с третьим вариантом, преимущественно за счет уменьшения присутствия лиц с первым вариантом микробиоценоза, т.е. есть имеется тенденция к нарастанию выраженности микробиологических изменений ротовой полости.

При изучении микробиоценоза кишечника в возрастном аспекте установлено, что у здоровых людей обеих групп параметры микробиоценоза по спектру и количеству соответствовали возрастной норме. В обеих группах наиболее часто встречались представители родов *Enterococcus* spp., *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp., достоверно чаще они выделялись у обследованных 1-й группы (табл. 3). У подростков 2-й возрастной группы в 100% случаев количество лактобацилл и бифидобактерий было ниже общепринятой возрастной нормы в среднем на $2,7 \pm 0,82$ lg КОЕ/г, а частота встречаемости и количество *S. aureus*, дрожжеподобных грибов рода *Candida* и *Bacillus* spp. с возрастом достоверно увеличивалось.

Таблица 3

Микробиоценоз кишечника у подростков разного возраста

Микроорганизмы	Особенности микробиоценоза			
	Частота выделения, %		Количество, lg КОЕ/мл	
	1-я группа n=31	2-я группа n=43	1-я группа n=31	2-я группа n=43
<i>Enterococcus</i> spp.	68,3	52,3	$7,47 \pm 0,63$	$6,82 \pm 0,91$
<i>Lactobacillus</i>	64,1*	49,2	$6,25 \pm 0,37$	$5,79 \pm 0,72$
<i>Bifidobacterium</i> spp.	53,5*	31,3	$7,72 \pm 0,45$	$5,94 \pm 0,41^*$
<i>S. aureus</i>	27,7	57,1*	$3,8 \pm 0,40$	$4,7 \pm 0,82^*$

Candida	22,3	47,6*	3,7±0,66	4,4±0,92 *
Bacillus	47,8	68,3*	3,14±0,46	4,98±0,78*

Примечание: * отмечена достоверность различий между показателями 1-й и 2-й группы ($p \leq 0,05$).

При анализе качественных и количественных параметров микробиоценоза кишечника у подростков, как и в полости рта, было выделено три варианта (табл. 4).

Таблица 4

Качественно-количественные характеристики вариантов микробиоценоза кишечника подростков

Микроорганизмы	Варианты микробиоценоза		
	Первый	Второй	Третий
Эшерихии с нормальной ферментативной активностью, lg КОЕ/г	≥ 8	≤ 8	≤ 7
Лактозонегативные и гемолитические эшерихии, lg КОЕ/г	0	0	≥ 3
Лактобациллы, lg КОЕ/г	≥ 7	≤ 6	≤ 6
Бифидобактерии, lg КОЕ/г	≥ 8	≤ 8	≤ 7
УПМ (Staphylococcus spp., Candida spp., Bacillus spp.), lg КОЕ/г	0	2-3	3-4

У лиц с первым вариантом микробиоценоза показатели полностью соответствовали возрастной норме биоценоза кишечника. Для второго варианта было характерно снижение уровня индигенной микрофлоры (эшерихий, лактобацилл, и бифидобактерий) на 1-2 порядка и наличие УПМ в количестве 2-3 lg КОЕ/г, а для третьего варианта – увеличение количества УПМ, обладающей факторами, коррелирующими с патогенностью, в допустимом для возрастной нормы количестве на фоне снижения уровня индигенной микрофлоры.

При сравнении частоты встречаемости каждого варианта в возрастном аспекте было выявлено, что в 1-й группе обследованных первый, второй и третий варианты встречались соответственно в 22,6%, 54,8% и 25,8% случаев, а во 2-й группе – в 9,3%, 34,9% и 55,8% случаев. Это свидетельствует, что в кишечнике, как и в ротовой полости, у здоровых подростков более старшего возраста наблюдается нарастание микрoэкологических изменений с преобладанием третьего варианта микробиоты.

Заключение

Сопоставляя полученные данные, можно констатировать, что микрофлора полости рта и кишечника подростков имеет ряд общих взаимосвязанных характеристик, определяющих состояние микробиоты всего пищеварительного тракта и здоровья человека.

Анализ качественных и количественных параметров микробиоценоза в изучаемых отделах позволил выявить три варианта микробиоты пищеварительного тракта, которые проявляются особенностями сочетания доминирующей облигатной и факультативной микрофлоры, связанных с возрастными индивидуальными особенностями организма человека.

Изложенное позволило считать, что изучение микрофлоры ротовой жидкости и кала может быть использовано для оценки состояния микробиоты всего пищеварительного тракта, а при наличии дисбиотических явлений у подростков служить «маркерами» состояний, требующих коррекции, в том числе путем изменения рациона питания, назначения пре- и пробиотиков.

Литература / References

1. Чернин В.В., Парфенов А.И., Бондаренко В.М. и др. Симбионтное пищеварение человека. Физиология. Клиника, диагностика и лечение его нарушений. Издание 2-е, перераб. и доп. – Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2013. – 232 с.
2. Чернин В.В., Бондаренко В.М., Червинец В.М., Базлов С.Н. Дисбактериоз мукозной микрофлоры эзофагогастродуоденальной зоны, его диагностика и лечение. – М.: МИА, 2011. – 144 с.
3. Червинец В.М., Червинец Ю.В., Михайлова Е.С. и др. Микробиоценоз кишечника и иммунный статус у детей младшего школьного возраста //Клин. лабораторная диагностика. – 2013. – № 2. – С. 49-51.
4. Гаврилова О.А., Червинец Ю.В., Бондаренко В.М., Червинец В.М., Самоукина А.М., Лебедев Д.В. Микробный пейзаж полости рта у здоровых подростков и больных хроническим гастродуоденитом // Журн. микробиол. – 2008. – № 6. – С. 59-63.
5. Соболева Ю.В., Усвяцов Б.Я., Хлопко Ю.А., Бухарин О.В. Динамика микросимбиозов верхних дыхательных путей в норме и при патологии //Журн. микробиол. – 2012. – № 3. – С. 55-61.
6. Покровский В.И., Акимкин В.Г., Брико Н.И. и др. // Национальная концепция профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, и информации

- онный материал по ее положениям. – Н. Новгород: Издательство «Ремедиум Приволжье», 2012. – 84 с.
7. Чичерин Л.П., Согияйнен А.А. Состояние здоровья подростков как индикатор эффективности системы медицинского обеспечения призыва на военную службу // Российский педиатрический журнал. – 2013. – № 4 – С. 58–60.
 8. Chiappin S., Antonelli G., Gatti R., De Palo E.F. Saliva specimen: a new laboratory tool for diagnostic and basic investigation // Clin. Chim. Acta. – Aug 2007. – 383(1-2). – P. 30-40.
 9. Koni A.C., Scott R.A., Wang G. et al. DNA yield and quality of saliva samples and suitability for large-scale epidemiological studies in children. //Int. J. Obes (Lond). – Apr 2011. – 35. – Suppl (1). – S 113-118.
 10. Жмакин И.А., Кушнир С.М. Охрана здоровья детей Тверской области в условиях реализации научной платформы медицинской науки «Педиатрия» //Верхневолжский медицинский журнал. – 2013. – Т.11., № 4. – С. 12-15.
 11. Беляева Е.А., Червинец В.М., Червинец Ю.В., Самоукина А.М., Михайлова Е.С., Пятова А.И., Миронов А.Ю. Дисбиотические изменения микрофлоры кишечника у здоровых людей // Клиническая лабораторная диагностика. - 2013. - № 3. - С. 45-47.
 12. Червинец В.М., Червинец Ю.В., Михайлова Е.С., Самоукина А.М., Беляева Е.А., Миронов А.Ю. Микробиоценоз кишечника и иммунный статус у детей младшего школьного возраста // Клиническая лабораторная диагностика. - 2013. - № 1. - С. 49-51.
 13. Червинец Ю.В., Беляева Е.А., Червинец В.М., Самоукина А.М., Михайлова Е.С., Пятова А.И., Червинец А.В. Нарушения микробиоты желудочно-кишечного тракта здоровых людей // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. - 2013. - № 3. - С. 55-58.
 14. Червинец В.М., Червинец Ю.В., Самоукина А.М., Михайлова Е.С., Гаврилова О.А. Формирование биопленок антагонистическими штаммами лактобацилл полости рта // Стоматология. - 2012. - Т. 91. № 1. - С. 16-19.
 15. Червинец Ю.В., Ботина С.Г., Глазова А.А., Коробан Н.В., Червинец В.М., Самоукина А.М., Гаврилова О.А., Лебедев Д.В., Миронов А.Ю. Генетическая паспортизация и изучение способности к формированию биопленок лактобациллами, выделенными из полости рта здоровых людей // Клиническая лабораторная диагностика. - 2011. - № 2. - С. 44-46.

16. Червинец Ю.В., Червинец В.М., Самоукина А.М., Михайлова Е.С., Владимирова Л.А. Активность пробиотических штаммов лактобацилл в отношении полиовирусов // Современные наукоемкие технологии. - 2011. - № 1. - С. 65-66.
17. Червинец Ю.В., Лебедев Д.В., Червинец В.М., Гаврилова О.А., Самоукина А.М., Михайлова Е.С. Колонизационная и патогенетическая способность микрофлоры пародонтального кармана больных с воспалением пародонта // Успехи современного естествознания. - 2009. - № 7. - С. 111.
18. Михайлова Е.С., Червинец В.М., Червинец Ю.В., Самоукина А.М. Дисбиозы эзофагогастродуоденальной зоны у больных хроническим бескаменным холециститом и желчнокаменной болезнью // Успехи современного естествознания. - 2009. - № 2. - С. 51.
19. Червинец Ю.В., Червинец В.М., Самоукина А.М., Михайлова Е.С. Антагонистическая активность пробиотических штаммов // Успехи современного естествознания. - 2009. № 2. - С. 73.
20. Червинец В.М., Гаврилова О.А., Червинец Ю.В., Самоукина А.М., Михайлова Е.С., Лебедев Д.В. Микрофлора полости рта детей 7-11 лет // Успехи современного естествознания. - 2009. - № 2. - С. 73а-73.
21. Михайлова Е.С., Червинец Ю.В., Червинец В.М., Гаврилова О.А., Самоукина А.М. Способность к формированию биопленок у микроорганизмов, выделенных из верхних отделов ЖКТ больных хроническим холециститом и ЖКБ // Успехи современного естествознания. - 2009. - № 7. - С. 76-77.
22. Гаврилова О.А., Червинец Ю.В., Бондаренко В.М., Червинец В.М., Самоукина А.М., Лебедев Д.В. Микробный пейзаж полости рта у здоровых подростков и больных хроническим гастродуоденитом // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 2008. - № 6. - С. 59-63.