

УДК 576. 851

## МІКРОБІОТА КИШКІВНИКА ТА ІМУНОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПРИ ДИСФУНКЦІЯХ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ

Петросова В. І., Петросов К. О.

*Мікробіота кишківника та імунологічні показники при дисфункціях шлунково-кишкового тракту. — В. І. Петросова, К. О. Петросов. — Мікробні біоценози, які утворилися в процесі еволюції підтримують в організмі людини системи нормативних фізіологічних функцій і відіграють важливу роль в імунитеті. При зсуві балансу між біоценозами та суттєвих змінах в самому біоценозі, з'являються сприятливі умови для розвитку дисбактеріозів. Для визначення змін показників якісного і кількісного складу мікрофлори кишківника у дітей дошкільного віку з різними дисфункціями шлунково-кишкового тракту ідентифіковані не тільки найбільш імовірні коливання мікробіоти, але і визначені види умовно патогенних бактерій, які були етіологічним фактором.*

**Ключові слова:** мікробіота, дисбактеріоз, імуноглобуліни, шлунково-кишковий тракт.

**Адреса:** Ужгородський національний університет, вул. Волошина, 32, м. Ужгород, 88000; e-mail: Editsinetar@rambler.ru

*Microflora and its immunological characteristics at gastric and intestinal tract disfunction. — V. Petrosova, K. Petrosov. — Microbial communities developed during evolutionary are able to support normal physiological function in different systems of human body and play important role in immunity. The changes in microbial community in human body could developed macrobiotic in disbacteriosis. For microbial community constitution study we investigated content of the gastic and intestinal tract of healthy human with special attention to enterobacteria and coccae, the etiological agents of disbacteriosis.*

**Key words:** microbial, community, disbacteriosis, immunoglobulin, gastric and intestinal tract.

**Address:** Uzhorod National University, str. A. Voloshina, 32, Uzhgorod, 88000; e-mail, Editsinetar@rambler.ru

### Вступ

Безперечно, певне значення у збільшенні випадків пригнічення гомеостазу здоров'я дітей, особливо першого року життя, на сьогоднішній день суттєво впливають екологічні, санітарно-гігієнічні та, звісно, умови виживання у населених пунктах, психологічні і соціально-побутові чинники, певне значення має також і характер харчування. Під впливом різних факторів довкілля в організмі мешканців відбуваються зміни гомеостазу. Накопичення відповідних змін не дозволяє організму людини адекватно реагувати при дії додаткових чинників і може призводити до формування патологій шлунково-кишкового тракту (ШКТ), а в подальшому й захворювань. Дисбактеріоз є причиною дев'яти з кожних десяти таких патологій і рахується одною з основних соціальних хвороб 21-го сторіччя, який виявляють у 70% дорослого населення та більш ніж у 85% дітей дошкільного віку. Актуальність проблеми дисбактеріозу обумовлює необхідність постійного пошуку нових засобів для його корекції [5,11].

Поліморфізм проявів дисбактеріозу залежить, поперше, від характеру основного захворювання, індивідуальної чутливості макроорганізму до різних видів мікрофлори, ступенів специфічної та неспецифічної резистентності організму і, особливо, від виду мікробних асоціацій, які беруть участь у формуванні дисбіозу [4, 8]. Зміни в співвідношенні між аутохтонною та алохтонною мікрофлорою і призводять до змін кількісного та якісного складу біосинтетичних

ферментів мікробного походження, що в свою чергу, сприяє виникненню порушень травлення. Відповідно спостерігається послаблення імунних захисних реакцій організму, особливо опірність його до колонізації слизових оболонок кишковими умовно-патогенними мікроорганізмами [6, 9,10 ].

Своєчасна діагностика дисбіотичних змін при різних захворюваннях, особливо органів травлення, має важливе практичне значення, бо ефективні заходи щодо відновлення еубіозу товстого кишківника значно покращують прогноз, запобігають ускладненням.

### Матеріали і методи

На протязі останніх п'яти років під нашим доглядом знаходилося 236 дітей дошкільного віку з різними патологіями шлунково-кишкового тракту. Для підтвердження дисбактеріозу кишківнику проводили лабораторну діагностику з використанням бактеріологічного дослідження фекалій з метою ідентифікації мікробіоти ШКТ в нормі і при патологіях. Бактеріологічні дослідження і ідентифікацію до виду бактеріальних копроізолятів здійснювали за загальноприйнятими методиками на базі бактеріологічної кафедри [1, 3, 7, 12 ]. Такі методи дозволяли виявляти від 15 до 50 мікроорганізмів одночасно і оцінювати характер мікрофлори провою товстої кишки. Бактеріологічне дослідження калу дозволяло встановити зниження якісного та кількісного складу мікробіоти, в тому числі і кишкової палички (*E. coli*), що супроводжувалося зниженням кількості біфідобактерій з одночасним зростанням титрів

умовно-патогенних мікроорганізмів (*Bactericides*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Fungi*). На наступному етапі вивчення зсувів показників мікробіоти проведено бактеріологічне дослідження складу мікрофлори кишківника у дітей віком від 1 до 12 місяців та до 6 років в нормі та при патології ШКТ.

З метою отримання більш інформативних даних та розширення картини патологій ШКТ нами додатково вивчені та проаналізовані показники імунограм хворих та здорових дітей ( контрольна група). Імунологічні показники крові визначали за рахунок використання, при дослідженні титрів імуноглобулінів (Ig), методики радіальної імунодифузії по Manhini [12]. В якості діагностикумів використовували готові комерційні системи. Матеріалом для визначення Ig слугувала сироватка крові в кількості 2 мл.

### Результати дослідження і їх обговорення

Головним “полігоном” для мікробів є товста кишка. За сучасними уявленнями серед великого розмаїття мікроорганізмів товстої кишки слід розрізняти захисну, сапрофітну, умовно-патогенну та патогенну флору. До захисної мікрофлори належать біфідобактерії, лактобацили, повноцінні кишкові палички. Сапрофітна флора представлена переважно ентерококами, дріжджами, сапрофітними і епідермальними стафілококами. До умовно-патогенних мікроорганізмів відносять коагулазопозитивні стафілококи, деякі варіанти ентеробактерій, дріжджеподібні гриби кандиди, споруутворюючі анаероби, тощо. До патогенної флори – збудники гострих кишкових інфекцій, сальмонели, шигели, ентеропатогенні *Escherichia coli* та ті умовно-патогенні мікроби, які набули комплексу факторів агресії та патогенності за рахунок кон’югативних плазмід. Захисну корисну мікрофлору називають нормальною [11]. Значення нормальної мікрофлори для дитячого організму надзвичайно велике – в нормальній мікрофлорі ШКТ переважають корисні мікроби (96–99 % від загальної кількості), а мікроорганізми, що здатні викликати різні захворювання, знаходяться в абсолютній меншості і такий стан називається нормобіоценозом. Склад мікрофлори при дисбактеріозі більш різноманітний і поєднує багато видів, які не характерні для нормального біоценозу кишківника [2].

Найбільш раннім і достеменним показником дисбактеріозу товстої кишки є поява гемолітично активних мікроорганізмів, особливо бактерій групи кишкової палички (БГКП). Проведені нами обстеження складу мікробіоти ШКТ дітей молодшого віку дозволили констатувати, що в нормі гемолітичний фактор не зустрічався, при дисфункціях шлунково кишкового тракту він складав 21,6 %, а при тривалих хронічних процесах досягав 43,5%. Крім кількісних змін при дисбактеріозах, в облігатній та факультативній мікрофлорі спостерігалися і якісні зміни, які полягали в збільшенні питомої ваги *Escherichia coli* із нехарактерними біологіч-

ними властивостями (лактозонегативні, не рухомі, безіндольні) – до 30,8%, крім того з’являлися, відсутні в нормі, гемолізуючі *Escherichia coli* і *Staphylococcus aureus* (12,2% та 17,6% відповідно). Додатково, з товстого кишківника дітей з патологією ШКТ було виділено ряд копрокультур *Staphylococcus aureus* з різним ступенем прояву факторів патогенності.

Мікрофлора кишківника виробляє вітаміни і підтримує імунітет. Якщо зібрати всі мікроорганізми нормофлори кишківнику до купи, то їх загальна маса складати близько трьох кілограмів. У новонародженого шлунково-кишковий тракт стерильний, і, звісно, протягом декількох годин після народження його починають колонізувати мікроорганізми [5]. Динаміка заселення кишечника представниками нормальної мікрофлори у немовлят в цілому спостерігалась з тенденцією у бік збільшення до 14 дня життя. Але значні коливання кількості окремих видів мікроорганізмів свідчили, що під впливом різних чинників спостерігалась лабільність процесів формування мікробіоценозу. Так, лактозопозитивна *Escherichia coli*, поступово здатна до колонізації на слизовій оболонці ШКТ немовлят майже відразу після народження, однак при дисфункціях кишківника питома вага лактозопозитивних *Escherichia coli* на 10–14 день не досягала нормативних чисел у порівнянні з титрами мікрокопропоказників здорових дітей того ж віку. Первинна локалізація біфідобактерій та молочнокислих мікроорганізмів визначалась нами вже наприкінці першої доби життя у достатньо високій кількості, а на 14 день титр досягав нормативних чисел. Особливо стрімко молочнокисла мікрофлора товстого кишківника формувалася при грудному вигодовуванні немовлят. Поступово на 72 годину після народження була встановлена колонізація слизової оболонки ШКТ *Staphylococcus aureus*. Подальше вивчення складу мікробіоти товстого кишківника у дітей віком до першого року життя виявило присутність динамічних коливань щодо питомої ваги різних представників кишкової мікробіоти: у 36,2% дітей відмічено підвищений рівень атипичних *Escherichia coli*, у 21,6% зареєстровано зниження кількості *Bifidobacterium*, а у 26,8% дітей визначено підвищений рівень *Bacterium coli commune*. При дисфункціях шлунково кишкового тракту поряд із суттєвими змінами бактеріальної флори в товстій кишці значно підвищувалося загальне число бактерій у тонкій кишці з такими ж показниками мікробного складу. Питома вага *Bifidobacterium* у стулі знижувалася більш ніж вдвічі (86–97мг/г), зменшувалася також і кількість *Lactobacterium*. Відповідно змінювалися і тестові характеристики *E. coli*, переважали лактозонегативні гемолітичні штами, а також нами відмічено появу нових видів мікроорганізмів – дріжджеподібних грибів роду *Candida*. При останніх патологіях, дослідження мікрофлори товстої кишки довело майже повну відсутність *Bifidobacterium*, різке

зниження молочнокислих бактерій на фоні значного зростання кількості *Escherichia coli* з патогенними фенотипами, а також інших мікроорганізмів патогенної групи. Особливо часто при ідентифікації ко-прокультур виявлялися *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Candida*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*.

В шпитальних закладах як амбулаторно, так і у стаціонарі, проходили лікування діти з різними кишковими патологіями, які представляли собою широкий спектр різних поліморфних захворювань. Ці патології були як основними – сальмонельоз, дизентерія, так і залишковими, наприклад дисбактеріоз, частота випадків якого зростає з року в рік. Як показує порівняльний аналіз, приріст кількості патологій ШКТ у дітей дошкільного віку за останні п'ять років набув загрозливої тенденції. Проведені бактеріологічні дослідження патологічного матеріалу виявили розмаїття мікроорганізмів, що стали причиною кишкових патологій у дітей: *Salmonella spp.* – 5,5%, *Shigella spp.* – 4,3%, *Staphylococcus aureus* 22.6%, *Candida*– 19,3%.

Доведено, що при патології ШКТ активність функціонування імунної системи різко зростає, однак співвідношення і зв'язки між біосинтетичними процесами різко змінюються. При повноцінній роботі імунної системи навіть найбільш великі зміни її параметрів у здорових дітей характеризували не патологічні зміни в імунній системі, а перехід її на новий, активний режим роботи. Наявність змін імунологічних показників досить часто характеризувало стадію, тяжкість і характер перебігу патологічного процесу. Ці зміни мали чіткі закономірності, що на сьогодні може стати підґрунтям для використання імунологічних параметрів крові з метою визначення перебігу патологічного процесу – генералізованого або місцевого. Згідно нормативним показником для дітей 7–12 місячного віку, норми вмісту імуноглобуліна (*Ig*) А коливалися в межах від 0,37 – 1,61, при ентероколітах кількість *IgA<sub>s</sub>* становила – 0,148, для 6 місяців – 0,33–1,51 мг/мл. Новонародженим, в перші доби життя *IgA* надходив з молоком матері і захищав шлунково-кишковий тракт до того часу, поки сформувався власний механізм утворення *IgA<sub>s</sub>* та власна мікрофлора. В молозиві жінки концентрація *IgA<sub>s</sub>* – 16 мг/мл. Починаючи з 2–3 доби лактації, рівень *IgA<sub>s</sub>* знижувався, з шостої доби він стабілізувався і на протязі наступних 8–9 місяців лактації концентрація *IgA* в молоці досягала 1 мг/мл. В перші дні природного годування у кишківник дитини потрапляло за добу до 1000 мг *IgA<sub>s</sub>*. Далі, хоча його концентрація в секреті молочної залози знижувалася, добова доза в кишківнику не змінювалася. Це пояснюється зростанням частоти годування і збільшенням секреції молока залозою. При годуванні груддю 5–6 разів на добу слизова оболонка кишківника дітей перших місяців життя постійно вкривається шаром *IgA<sub>s</sub>*. Окрім цього в жіночому молоці наявні *IgG*, *IgM*, та *IgD*, хоча їх концентрація менша ніж концентрація *IgA<sub>s</sub>*. Секрет молочної залози містить антитіла до різноманітних антигенів: ентеробактерій, стрептококів, стафілоко-

ків, бактеріальних токсинів, ентеровірусів, ротавірусів. Антитіла класу *IgA<sub>s</sub>*, завдяки стійкості до протеолітичних ферментів, зберігають активність у всіх відділах кишкового тракту. Таким чином, наявність в жіночому молоці антитіл до БГКП і вірусів веде до формування в кишечнику дитини місцевого пасивного імунітету, що має першочергове значення у несприйнятливості дітей, особливо до року, до більшості збудників кишкових інфекцій. Слід зауважити, що секреторний компонент *IgA<sub>s</sub>* активно утворюється в епітелії у новонароджених і знаходиться на поверхні епітеліальних клітин в якості рецептора.

Згідно результатам проведеного дослідження по вивченню імунологічних показників крові у дітей з різними патологіями ШКТ з'ясовано, що ступінь зниження рівня *IgA* прямо пропорційна гостроті захворювання, а концентрація його збільшується в період реконвалесценції. Зниження *IgG* в сироватці крові, виявлене у 40,7% хворих із хронічною патологією органів травлення і, можливо, пов'язане з виснаженням функціональної активності плазматичних клітин під впливом осередків хронізації патологічного процесу. Відмічена також і тенденція до підвищення рівня сироваткового *IgA* у частини хворих і це явище було характерно для дітей грудного віку які мали одночасно прояви харчової сенсibiliзації до 2–3 алергенів. Вміст *IgM* у більшості дітей знаходився у межах вікової норми. У той же час, підвищення титрів *IgM* відмічено у немовлят з гострою фазою захворювання (до 6 місяців) і відповідало фізіологічно закономірній ранній імунній відповіді на антигенний подразник. Звертає на себе увагу той факт, що нами не встановлено прямо пропорційної залежності титрів *Ig* різних класів відповідно до віку дитини. У хворих дітей до 6 місяців при ентеритах спостерігалось поступове збільшення концентрацій *Ig G* (12,32) і *IgA* (2,82). Подібні результати були отримані нами і при розшифруванні імунограм дітей хворих на кишкові інфекції різної етіології, додатково виявлено зменшення кількості і *IgG*. При аналізі даних імунологічних показників сироватки крові дітей старших п'ятирічного віку нами не відмічалось підвищення питомої ваги ні одного із видів *Ig*, навпаки, встановлено різке зменшення їх титрів і, особливо, це стосувалось імуноглобуліну класу А (0,38 і 039 мг).

У хворих дітей до 6 місяців при ентеритах спостерігалось поступове збільшення концентрацій *IgG* і *IgA*. Подібні результати ми отримали і при розшифруванні імунограм дітей хворих на кишкові інфекції різної етіології, додатково виявлено зменшення кількості і *IgG*. Високу питому вагу має оцінка вмісту імуноглобулінів для визначення осередку вогнищового ураження, тобто поверхневих ділянок або глибоких шарів тканин. Запальні процеси на слизових оболонках часто характеризувалися зниженням опірності організму – збільшенням вмісту *IgA* та зменшенням концентрацій *IgM* і *IgG*. При всіх гострих запальних процесах, пов'язаних з слизовою оболонкою, в крові із всіх *Ig* підвищується в основному рівень *IgA*. При хронічних процесах в слизових оболонках, особливо в стадії ремісії, рівень *IgA* знижується. При погіршенні умов

(збільшення поступлення мікроорганізмів, подразнення хімічними речовинами, переохолодження, недостатність харчування, авітаміноз) на ушкоджених ділянках слизової оболонки може розпочатися запальний

процес, як наслідок незакінченої регенерації після первинного запалення з характерними імунологічними змінами в крові.

**Таблиця.** Показники вмісту імуноглобулінів при кишкових патологіях

**Table.** Immunoglobulines content at intestinal tract disorders

Кількість дослідів	Патологія	Вік	IgA	IgG	IgM
20	Інфекційний ентерит	6 міс.	2,76↑	12,32↑	1,17
20	Ентеровірусна інфекція	6 років	0,38↓	4,9↓	0,71
20	Дисбактеріоз	6 міс.	0,67	4,2	1,2
20	Ентеровірусна інфекція	6 міс.	0,02↓	3,32	0,38↓
20	Ентерит	12 міс.	0,56	6,12	0,92
20	Ентерит	17 міс.	0,31↓	4,5	0,96
20	Ферментопатія	6 міс.	0,17↓	16,39	0,91
20	Ентеровірусна інфекція	5 років	0,88	9,0	0,84
20	Ентерит	6 років	0,39↓	7,2	1,66
20	Кишкова інфекція	6 міс.	1,28	4,79	0,32↓

Примітка: ↑ та ↓ – підвищення або зменшення вмісту Ig

Значення імунологічних показників не однакові і у здорових людей. Вони характеризуються індивідуальністю значень, віковими змінами, впливом біологічних ритмів і навантажуючих факторів. Даніми змінами характеризувалися і імунологічні показники хворих людей. Без глибокого аналізу клінічної картини не є можливим надати кваліфіковане заключення про норму або патологію по даній імунограмі конкретної людини.

## Висновки

**1.** Кишкові патології, можуть бути як основними – сальмонельоз, дизентерія, так і залишковими, наприклад дисбактеріоз, частота випадків якого зростає з року в рік. Порівняльний аналіз кількості щорічних випадків дисфункцій ШКТ у дітей дошкільного віку показав, що приріст їх за останні п'ять років набув загрозливої тенденції. Бактеріологічні дослідження копровиділень виявили розмаїття мікроорганізмів, що стали причиною киш-

кових патологій у дітей: *Salmonella spp.* позитивних було 5,5%, *Shigella spp.* – 4,3%, *Staphylococcus aureus* 22,6%, *Candida*– 19,3%.

**2.** Основним механізмом, який має дуже важливе значення в елімінації збудника і формуванні повноцінного імунітету є утворення антитіл до антигенів збудника і опосередкований ними специфічний імунний цитоліз збудника.

**3.** Результати досліджень по вивченню імунологічних показників крові у дітей з різними дисфункціями ШКТ свідчать, що ступінь зниження рівня IgA прямо пропорційна гостроті захворювання, а концентрація його збільшується в період реконвалісценції.

**4.** При аналізі даних імунологічних показників сироватки крові дітей старших за п'ятирічний вік не відмічалось підвищення питомої ваги ні одного із видів Ig, навпаки, встановлено різке зменшення їх титрів і, особливо, це стосувалося імуноглобуліну класу А.

1. Биргер М. О. и др. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследований. – М. «Медицина». – 1982. – С. 95 – 126.  
 2. Ваулина О. В., Холодова И. Н. Биофитокоррекция дисбактериоза у детей грудного возраста/ Тезисы докладов научно-практического семинара "Индивидуальные подходы к проблеме дисбактериоза". – М. – 2003. – С.34 – 41.  
 3. Климяк С. І., Ситнік І. О., Широбоков В. П. Практична мікробіологія. – Тернопіль. – Укрмедкнига. – 2004. – С.125 – 157.  
 4. Копанев Ю. А., Соколов А. Л. Дисбактериоз кишечника: микробиологические, иммунологические и клинические аспекты микробиологических нарушений у детей. – М. – Мир. – 2002. 152 с.  
 5. Кузнецова Г. Г. Оценка дисбиотических отклонений в кишечной микрофлоре/ Тезисы докладов научно-практического семинара "Индивидуальные подходы к проблеме дисбактериоза". – М – 2003. – С.19 – 25.  
 6. Никитенко В. И., Ткаченко Е. И., Стадников А. А. и др. Транслокация бактерий из желудочно-кишечного тракта – естественный защитный механизм// Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология – 2004. – №1 – С.48 – 52.

7. *Определитель бактерий Берджи* / под ред. акад. РАН – Г.А.Заварзина. – Москва. – Мир. – 1997. – 798 с.  
 8. Петросова В. І. Етіологічне значення епідермальних стафілококів при кишкових інфекціях// Науковий вісник УжДУ. – Серія. – Медицина. – №7. – 1999. – С. 38 – 41.  
 9. Петросова В. І. До питання про розповсюдження кишкових інфекцій на Закарпатті// Науковий вісник. Чернівці, №6. – 2000. – С. 36 – 39.  
 10. Урсова Н. И. Микробиоценоз открытых биологических систем организма в процессе адаптации к окружающей среде// РМЖ. – Детская гастроэнтерология. – 2004. – №12. – С. 957 – 962.  
 11. Самсыгина Г. А., Савельева Г. М., Конопляников А. Г. и др. Характеристика иммунного ответа плода в перинатальном периоде жизни в норме и при патологии/ Материалы конгресса "Современные технологии в педиатрии и детской хирургии". М. – 2002. – С. 78 – 92.  
 12. Унифицированные иммунологические методы обследования больных на стационарном и амбулаторном этапе лечения / Методические рекомендации. К., – 198 с.

Отримано: 10 грудня 2009 р.

Прийнято до друку: 4 лютого 2010 р.