

УДК 616.33-002.44-053.2:612.3363-07

СТАН БІОЦЕНОЗУ КИШЕЧНИКУ В ДІТЕЙ З ВИРАЗКОВИМ КОЛІТОМ

Канд. біол. наук Т. О. Лісяна, проф. М. Ф. Денисова,
канд. мед. наук Н. В. Чернега, канд. мед. наук Н. М. Музика,
канд. біол. наук І. Г. Пономарьова, Н. Ю. Букулова, О. О. Дорошенко

**Інститут педіатрії, акушерства та гінекології ім. академіка О. М. Лук'янової
НАМН України, м. Київ**

Подано результати вивчення стану біоценозу кишечника в дітей, хворих на виразковий коліт. Розглядається взаємозв'язок між зміною співвідношення нормальної й умовно-патогенної кишкової мікрофлори залежно від клінічної форми хвороби.

Доведено формування збільшеної кількості асоціації умовно-патогенної мікрофлори кишечника відповідно до тяжкої та середньотяжкої форм виразкового коліту в дітей.

У дітей, хворих на виразковий коліт, виявлено порушення мікроекології кишечника різного ступеня залежно від тяжкості та перебігу захворювання.

Зазначено, що моніторинг значущих штамів мікроорганізмів у дітей з виразковим колітом необхідний для визначення форми захворювання, удосконалення патогенетичної тактики лікування та профілактики формування рецидивного перебігу хвороби.

Результати проведеної роботи засвідчують доцільність та перспективність проведення бактеріологічного контролю за станом мікроекології кишечника в дітей, хворих на виразковий коліт, що дає змогу провести своєчасне лікування дисбіозу кишечника та запобігти ускладненням.

Ключові слова: діти, виразковий коліт, мікрофлора кишечника, діагностика.

Останнім часом значно зросла тенденція до поширення захворюваності дітей на виразковий коліт (ВК). Серед можливих етіологічних чинників розвитку захворювання виділяють генетичні, імунні чинники, чинники зовнішнього середовища, порушення мікробіому кишечника. На підставі аналізу літератури, даних вітчизняних та зарубіжних дослідників можна дійти висновку, що склад мікрофлори кишечника хворих на ВК істотно змінений порівняно зі здоровими, а саме, у переважній більшості пацієнтів виявляються дисбіотичні порушення мікробіоценозу товстої кишки [2, 3, 8].

Так, у процесі вивчення мікробіоти у хворих на ВК виявлено порушення складу кишкової мікрофлори у вигляді переважання *Proteobacteria* на тлі зниження кількості бактерій типу *Firmicutes*. До філуму *Firmicutes* входять грамположитивні анаеробні та факультативно-анаеробні мікроорганізми родів *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium*, *Staphylococcus* та ін. Ці мікроорганізми є основними продуцентами коротколанцюгових жирних кислот, необхідних для формування слизового бар'єру, енергозабезпечення колоноцитів та регуляції імунної відповіді в кишечнику.

До *Proteobacteria* належать грамнегативні патогенні та умовно-патогенні бактерії (*Salmonella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Hafnia*, *Escherichia*, *Proteus* та ін.), котрі, як усі грамнегативні бактерії, мають структурний компонент клітинної стінки ліпополісахарид, що є ендотоксином та одним із потужних індукторів запалення. При перевазі *Proteobacteria* в мікробіомі кишечника в дітей з виразковим колітом спостерігається блокування процесу окиснення жирних кислот, що призводить до енергодефіциту в епітеліоцитах, стимуляції вироблення прозапальних цитокінів, пригнічення фагоцитозу та лізису бактеріальних клітин. Зміна нормального складу біоценозу кишечника сприяє також розвитку гіперчутливості сповільненої дії до умовно-патогенної флори та появи антибактеріальних антитіл, що спричиняють зміни клітин слизової оболонки товстої кишки [23, 27, 32].

За даними літератури, в дітей з ВК відзначається підвищення кількісних показників обсіменіння кишечника цитратасимільюючими ентеробактеріями, стафілококами з гемолітичними та плазмокоагулюючими властивостями, грибами роду *Candida* в діагностично значущих концентраціях. Крім кількісних змін при

дисбактеріозах в облігатній та факультативній мікрофлорі, спостерігаються якісні зміни, що полягають у збільшенні питомої ваги *Escherichia coli* із нехарактерними біологічними властивостями (лактозонегативні, нерухомі, безіндолні) — до 30,8 %. Також з'являються відсутні в нормі гемолізуючі *Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus* з різним ступенем прояву чинників патогенності [19, 25, 28, 30].

Найбільш раннім і достеменним показником порушення біоценозу товстої кишки є поява гемолітично активних мікроорганізмів, особливо бактерій групи кишкової палички. Дослідження, проведені багатьма науковцями, дали змогу констатувати, що у процесі вивчення складу мікробіоти шлунково-кишкового тракту (ШКТ) дітей гемолітичний чинник в нормі не траплявся, при дисфункціях ШКТ він складав 21,6 %, а при тривалих хронічних процесах сягав 33,5 % [31, 34, 35].

Відомо, що гемолітичні та лактозонегативні види кишкових паличок продукують екзо- й ендотоксини, які виявляють інвазивні й адгезивні властивості до епітеліальних клітин слизової оболонки кишечника. У цих умовах вони здатні проникати в тканини, розмножуватися, викликати інтоксикацію на тлі хронізації запалення слизової оболонки кишечника, що супроводжується індукцією прозапальних цитокінів, які можуть впливати на експресію генів епітелію слизової оболонки кишечника та викликати зміни в її структурі [20, 22].

Інтоксикація продуктами життєдіяльності бактерій товстого кишечника здатна пригнічувати метаболічну та секреторну активність клітин кишкового епітелію, змінювати метаболізм колоноцитів і гальмувати імунні реакції [11].

Поряд з бактеріями у формуванні запальних процесів у кишечнику беруть участь гриби р. *Candida*. Літературні дані засвідчують, що у хворих на ВК часто виявляються гриби *Candida albicans* (до 91,7 % пацієнтів), які можуть затримувати процес загоєння слизової оболонки кишечника [7, 13].

У розвитку кандидозу кишечника важливими етапами є філаментация й наступна адгезія *Candida* до слизової оболонки кишечника. Основним чинником вірулентності грибів *Candida* є їх генотипічна й фенотипічна нестабільність, а також секреція протеїназ, що сприяє адгезії й інвазії збудника в слизову оболонку. Чинниками, що сприяють активізації адгезивних властивостей грибів *Candida*, є лікарські препарати, які досить часто використовуються

в педіатричній практиці, а саме антибактеріальні препарати збільшують вірулентність грибів за рахунок супресорного впливу на імунологічну реактивність дитини [12, 20].

Літературні дані засвідчують, що при ВК у переважній більшості пацієнтів (96,8 %) виявляється надмірний ріст умовно-патогенних бактерій на тлі пригнічення симбіотної мікрофлори (біфідо- і лактобактерій). Взаємозв'язок мікроорганізмів просвіту кишки та слизової оболонки у хворих на ВК призводять до агресивного впливу продуктів метаболізму на клітини ШКТ. Порушення структури біоплівки просвіту кишки та слизової оболонки у хворих на ВК, що виникає через пригнічення біфідо- і лактофлори, змінює проникність кишкової стінки та викликає ендогенну інтоксикацію. Нормальна мікрофлора в складі біоплівки на слизовій оболонці кишечника виконує бар'єрну, ферментативну функцію, бере участь в обміні речовин; в імунних реакціях організму, стимулюванні захисних механізмів і конкуренції з патогенними та умовно-патогенними мікроорганізмами. Кишкова паличка та біфідобактерії виконують також вітамінотвірну функцію, сприяють синтезу незамінних амінокислот, які беруть безпосередню участь у процесах регенерації слизової кишечника [26, 29].

Між кишковою еубіотичною мікрофлорою і основними функціями ШКТ існує тісний взаємозв'язок: кишкова еубіотична мікрофлора впливає на функції ШКТ, які так само впливають на еубіоз. У цьому взаємозв'язку здійснюється збереження структурної і функціональної цілісності слизової оболонки, моторна активність, трансформація харчових полімерів шляхом ліполізу та гідролізу, захист організму від агресії сторонніх антигенів, підтримання еубіозу та збереження якісних і кількісних констант популяційної рівноваги кишкового мікробіоценозу [14, 16].

Під час змін мікробіоценозу кишечника, які спостерігаються у хворих на ВК, ці функції мікрофлори порушуються. Крім того, при порушенні балансу анаеробно-аеробної флори змінюється енергозабезпечення колоноцитів. При цьому порушується секреторна функція келихоподібних клітин, знижується синтез муцинів, змінюються їх склад і властивості, порушуються співвідношення сульфатованих і нессульфатованих глікозаміногліканів, що призводить до порушення захисних властивостей слизу та підтримує дисбактеріоз. Порушується і білкова структура муцинів, що знижує регенераторні можливості слизової оболонки. Отже, порушення

мікробіоценозу товстого кишечника у хворих на виразковий коліт викликані зміною трофіки колоноцитів, порушенням секреторної функції келихоподібних клітин, процесів проліферації, диференціювання і регенерації клітин кишкового епітелію [20, 21, 31].

У хворих на ВК умовно-патогенні мікроорганізми входять до складу двох-, п'ятикомпонентних асоціацій. Установлено, що мікроорганізми в складі асоціацій характеризуються збільшенням резистентності до дії хіміотерапевтичних препаратів та більш стійкі до таких захисних чинників, як фагоцитоз, лізоцим, комплемент, антитіла та цитокіни [1, 18].

Літературні дані засвідчують, що міжмікробна взаємодія в умовах асоціацій має різні прояви: індіферентна, стимулююча, інгібуюча або інвертуюча. Прояви інверсії означають заміну антагонізму на стимуляцію росту. Відомо, що ефекторами регуляції виступають метаболіти та структури клітинних стінок мікробів-асоціантів [10, 13].

Важливу роль у формуванні асоціацій відіграє здатність бактерій до біологічної адгезії. В основі біологічної адгезії лежать процеси розпізнавання та ліганд-рецепторної взаємодії, які визначають співіснування макроорганізму господаря та мікробних асоціацій [7, 15, 17].

Механізми, які змінюють співвідношення між захисною та транзитornoю мікрофлорою кишечника або регулюють процес формування та склад бактеріальних асоціацій донині вивчені недостатньо. Існують теорії про вплив на спектр мікробних асоціантів гормонального дисбалансу, змін у системі імунітету, застосування нераціональної терапії та екологічних чинників [5, 9].

Отже, під впливом чисельних ендогенних та/або екзогенних чинників склад кишкової мікрофлори може змінюватися, порушуючи нормальний перебіг фізіологічних процесів, що може призводити до суттєвих патологічних змін. Порушення складу кишкової мікрофлори впливає на внутрішнє середовище, зумовлюючи пошкодження ентероцитів і зміну процесів кишкового травлення та всмоктування, підвищує проникність кишкової стінки для макромолекул, впливає на моторику, створює умови для проліферації патогенних грибів та бактерій, знижує захисні властивості слизового бар'єру ШКТ.

Усе зазначене засвідчує значну участь дисбіозу кишечника в патогенезі ВК.

Мета роботи — вивчення стану біоценозу кишечника у дітей, хворих на ВК, залежно від клінічної форми захворювання.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

З метою вирішення поставлених у роботі завдань нами було обстежено 55 дітей віком від 6 до 11 років, із них 30 хворих дітей на ВК, які були розподілені на групи залежно від клінічної форми захворювання: I група — тяжкий ступінь тяжкості ВК (14 хворих), II група — середній ступінь тяжкості ВК (16 хворих). Як групи порівняння було обстежено 25 здорових дітей.

Вивчення мікробіоценозу кишечника включало в себе визначення видового та кількісного складу мікрофлори. Ступінь порушень біоценозу кишечника оцінювали згідно з методичними рекомендаціями [4, 5, 10].

Для кількісного аналізу мікрофлори кишечника з 1 г фекалій, доставлених без консервантів, готували робоче розведення (1:10), з якого робили ряд серійних розведень (10^3 – 10^{11}). Кількісні показники мікрофлори кишечника вивчали шляхом висіву 1 мл з кожного розведення на диференційно-діагностичні середовища: Ендо, Плоскірева, ВСА (вісмут-сульфіт агар) — для виявлення патогенних ентеробактерій; ЖСА (жовтково-сольовий агар) — для визначення стафілококів та середовище Сабуро для ідентифікації грибів; Ендо та цитрат Сімонса — для визначення кишкової палички та умовно-патогенних ентеробактерій; середовище ЕДДС (мікробіологічна діагностика стрептококових захворювань) — для визначення ентерококів. Для вивчення гемолітичної активності бактерій використовували агар з 5 % вмістом еритроцитів барана. Наявність у досліджуваному матеріалі біфідобактерій вивчали на середовищі Блаурока, а лактобактерій — на середовищі MRS (DE MAN, ROGOSA and SHARPE).

Ідентифікацію виявлених мікроорганізмів проводили на автоматичному мікробіологічному аналізаторі BD BBL Crystal (Becton Dickinson, США).

Для ідентифікації виділених дріжджоподібних грибів використовували набори МІКРОЛА-ТЕСТ «Кандідатест 21» (Erba Lachema s.r.o. (Чехія).

Для оцінювання ступеня дисбактеріозу кишечника проводили кількісний облік колоній, що вирости на щільних поживних середовищах.

Кількісний склад усіх видів мікроорганізмів в 1 г фекалій визначали за допомогою формули:

$$S = n \times a \times b, \text{ де}$$

S — кількість мікроорганізмів у 1 г фекалій;

n — кількість колоній, що вирости на чашці;

a — коефіцієнт посівної дози (при посіві 1,0 мл — 1; 0,1 мл — 10; 0,05 мл — 20);

b — ступінь розведення матеріалу.

Кількісний вміст біфідобактерій та лактобактерій визначали кратністю розведення фекалій, за якої виявлено ріст зазначених мікроорганізмів. Під час проведення ідентифікації виділених мікроорганізмів дотримувалися класифікації Берджі [20, 21].

Вміст умовно-патогенних мікроорганізмів у досліджуваному матеріалі визначали кількістю колонієутворюючих одиниць у 1 г (КУО/г) біологічного матеріалу.

Статистичну обробку отриманих результатів досліджень проводили за допомогою стандартних комп'ютерних пакетів «Аналіз даних» Microsoft Excel для Windows 2002. Обчислено значення середнього арифметичного (M), середня похибка середньої величини (m), рівня вірогідності розбіжностей (p). Оцінку достовірності отриманих даних проводили загальноприйнятим методом за допомогою критерію Стьюдента. Достовірність вважалася встановленою, якщо її вірогідність дорівнювала не менше 95 % ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Із загального числа обстежених хворих на ВК дисбіоз кишечника виявлено в 100 % випадків. У процесі обстеження виявлено порушення мікроекології кишечника, що переважно відповідають II–III ступеню дисбіозу.

Дані, отримані в процесі дослідження, вказують на те, що в дітей з ВК мікробіота є дисбіотичною, характеризується зниженням бактерій філуму *Firmicutes* та підвищенням кількості умовно-патогенної мікрофлори, яка належить до *Proteobacteria*.

У дітей I групи з тяжкою формою ВК дисбіоз кишечника II ступеня виявлено в 35,7 % випадків, дисбіоз III ступеня — в 64,3 % випадків.

Якісні показники обсіменіння кишечника дітей даної групи засвідчували високу частоту висівання стафілококів з патогенними властивостями (*S. aureus* — 28,6 %, *S. epidermidis* із гемолізом — 21,4 %). З високою частотою висівалися *E. coli* (гем+) — 28,6 %, а також окремі умовно-патогенні ентеробактерії *Klebsiella spp.* — 35,7 %, *Proteus spp.* — 21,4 %, *Citrobacter spp.* — 28,6 % (табл. 1).

Вивчення кількісного рівня умовно-патогенної мікрофлори в пацієнтів у I групі зазначало активну контамінацію кишечника різними видами *Proteobacteria*, концентрація

яких перевищувала діагностичний рівень $\lg > 0^6$ КУО/г. Так, *Klebsiella spp.* висівалась у концентрації $\lg 6,8$ КУО/г, *Citrobacter spp.* $\lg 7,5$ КУО/г, *Proteus spp.* $\lg 7,0$ КУО/г. Ці показники значно переважали дані, отримані у процесі обстеження дітей 2 групи, а також здорових дітей.

Також у дітей, хворих на ВК з тяжким ступенем тяжкості, спостерігається збільшення концентрації *E. coli* зі зміненими ферментативними властивостями ($\lg 7,1$ КУО/г) та *E. coli* з гемолітичними властивостями ($\lg 7,3$ КУО/г). Якщо враховувати, що штами *E. coli* зі зміненими біологічними властивостями містять широкий набір чинників патогенності — ендо-, екзо- та цитотоксини, чинники адгезії тощо, не можна не дооцінювати їх роль у розвитку патологічного процесу.

Кількісні показники контамінації кишечника грибами роду *Candida* у дітей I групи становили — $\lg 5,8$ КУО/г і значно перевищували діагностичний рівень. Доведено, що гриби р. *Candida* продукують чинники агресії (ендотоксини, глюкостатини), здатні виробляти протеолітичні та ліполітичні ферменти і таким чином сприяють значним патологічним змінам в тканинах кишечника.

Проведені нами дослідження показали, що в дітей, хворих на ВК з тяжкою формою, висівались із високою частотою стафілококи з патогенними властивостями, умовно-патогенні ентеробактерії та гриби р. *Candida* в концентраціях, що значно перевищували діагностичний рівень. Також встановлено, яке місце має зниження показників висіву індигенної мікрофлори на тлі підвищення контамінації кишечника умовно-патогенними бактеріями. У бактеріальному спектрі філуму *Firmicutes* встановлено дисбаланс між видами стабілізуючої мікрофлори та грам-позитивних коків з гемолітичними властивостями.

Аналіз кількісних показників (табл. 1) висіву індигенної мікрофлори кишечника дав змогу констатувати істотне зниження концентрації — *Biphidobacterium spp.* $\lg 5,6$ КУО/г, *Lactobacillus spp.* — $\lg 5,1$ КУО/г.

Представники нормальної мікрофлори виявлялися здебільшого в дітей I групи: *Lactobacillus spp.* контамінували кишечник дітей у 78,6 % випадків, а *Biphidobacterium spp.* — у 85,7 % дітей.

Зниження ферментативної активності *Biphidobacterium* та *Lactobacillus* зумовлює гальмування процесів утилізації організмом дитини біологічно активних речовин, посилення

Таблиця 1

Якісні та кількісні показники біоценозу кишечника в дітей, хворих на виразковий коліт, залежно від ступеня тяжкості (% , IgKYU/г)

Мікроорганізми	Діти, хворі на виразковий коліт				Здорові пацієнти, n = 25	
	з тяжкою формою захворювання, n = 14		із середньотяжкою формою захворювання, n = 16			
	%	IgKYU/г IgKYU KYU/г	%	IgKYU/г IgKYU KYU/г	%	IgKYU/г
<i>E. coli</i>	92,9	5,6 ± 0,4*	93,8	6,1 ± 0,4*	100	8,0 ± 0,6
<i>E. coli</i> зі зміненими ферментативними властивостями	21,4	7,1 ± 0,2*#	18,8	5,7 ± 0,2*	8	4,5 ± 0,4
<i>E. coli</i> лактозонегативна	14,3	6,5 ± 0,3*#	6,3	5,2 ± 0,3*	8	3,0 ± 0,4
<i>E. coli</i> (гем+)	28,6	7,3 ± 0,2#	18,8	6,2 ± 0,2	-	-
<i>Klebsiella spp.</i>	35,7	6,8 ± 0,2*#	25	5,7 ± 0,3*	12	4,0 ± 0,2
<i>Citrobacter spp.</i>	28,6	7,5 ± 0,2*#	18,8	6,0 ± 0,2*	4	3,0 ± 0,2
<i>Proteus spp.</i>	21,4	7,0 ± 0,4#	12,5	6,0 ± 0,4	-	-
<i>Enterobacter spp.</i>	14,3	6,9 ± 0,3*#	6,3	5,7 ± 0,3*	8	3,0 ± 0,2
<i>S. aureus</i>	28,6	5,8 ± 0,2*#	18,8	4,6 ± 0,2*	8	3,0 ± 0,4
<i>S. epidermidis</i> (гем+)	21,4	4,8 ± 0,4*	12,5	4,0 ± 0,4*	4	3,0 ± 0,5
<i>S. saprophyticus</i>	7,1	3,0 ± 0,2	6,3	3,3 ± 0,2	8	3,4 ± 0,4
<i>S. faecalis</i>	21,4	5,0 ± 0,3*	37,5	5,3 ± 0,3	8	6,1 ± 0,3
Гриби роду <i>Candida</i>	42,9	5,8 ± 0,4*#	31,3	4,7 ± 0,4*	2	3,1 ± 0,2
<i>Bifidobacterium spp.</i>	85,7	5,6 ± 0,4*#	93,8	6,8 ± 0,4*	100	10,2 ± 0,3
<i>Lactobacillus spp.</i>	78,6	5,1 ± 0,2*#	87,5	6,2 ± 0,2*	100	8,0 ± 0,4

Примітка: * — різниця статистично вірогідна між показниками біоценозу кишечника хворих з ВК та здорових пацієнтів ($p < 0,05$); # — різниця статистично вірогідна між показниками хворих з ВК тяжким та середнім ступенем тяжкості захворювання ($p < 0,05$).

бродильних та гнильних процесів, які спостерігаються при дисбіозі кишечника в дітей з ВК.

У всіх (100 %) хворих 1 групи виявлено асоціативні форми бактеріальної контамінації кишечника. Зареєстровано різні варіанти асоціацій, які формувалися на тлі дефіциту або відсутності нормальної мікрофлори. Переважно реєструвалися три-, чотирикомпонентні асоціації стафілококів зі слабкоферментуючою кишковою паличкою та грибами р. *Candida* або асоціації гемолітичних біоварів кишкової палички з різними видами ентеробактерій та грибів р. *Candida*. Частота виявлення три-, чотирикомпонентних асоціацій в дітей з тяжкою формою ВК становила 64,3 % (рис. 1).

Мікробні асоціації можуть мати високу токсигенність, тоді, як окремі види мікробів, що входять до складу цих асоціацій, самі по собі таких властивостей не мають. Доведено, що *Proteus spp.* в асоціації з іншими мікробами посилює патогенні та токсичні властивості симбіонтів: стафілококів, ентерококів. Дріжджоподібні гриби сприяють розмноженню стафілококів та посиленню їх патогенних властивостей, унаслідок чого

можуть спостерігатися тяжкі форми ураження кишечника, що супроводжуються некротичними змінами.

Результати мікробіологічного обстеження дітей з тяжкою формою ВК вказують на те, що на тлі зниження показників висіву індигенної мікрофлори спостерігається підвищення контамінації кишечника умовно-патогенними бактеріями та грибами р. *Candida*, які входили до складу три-, чотирикомпонентних асоціацій.

Це може засвідчувати більш суттєві порушення балансу між представниками умовно-патогенної та нормальної мікрофлори в пацієнтів 1 групи та залежність дисбіотичних змін від форми захворювання.

У процесі обстеження дітей, хворих на ВК із середньотяжкою формою (2 група), було встановлено, що частота реєстрації дисбактеріозу III ступеня складала 43,8 %, II ступеня — 56,3 %.

Порушення мікробіозу кишечника в хворих 2 групи виявлялися в менш суттєвому, ніж у дітей 1 групи, підвищенні частоти висіву мікроорганізмів з гемолітичними властивостями: плазмкоагулюючих стафілококів (*S. aureus* — 18,8 %) та

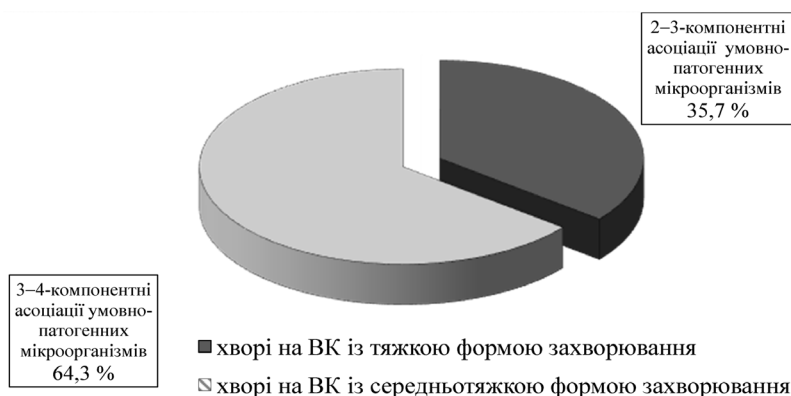


Рис. 1. Частота реєстрації асоціацій умовно-патогенної мікрофлори в дітей з виразковим колітом залежно від форми захворювання умовно-патогенними бактеріями та грибами р. *Candida*, які входили до складу три-, чотирик компонентних асоціацій, %

гемолітичних кишкових паличок (*E. coli* (гем+) — 18,8 %), а також окремих видів ентеробактерій (*Klebsiella spp.* — 25 %, *Proteus spp.* — 12,5 %, *Citrobacter spp.* 18,8 %) (табл. 1).

Частота виявлення *Lactobacillus spp.* в дітей із середньотяжкою формою ВК становила 87,5 %, а *Biphidobacterium spp.* — 93,8 %. Кількісні показники висіву з випорожнень *Lactobacillus spp.* складала $lg\ 6,2$ КУО/г ($p < 0,05$), *Biphidobacterium spp.* $lg\ 6,8 \pm 0,4$ КУО/г ($p < 0,05$). Ці показники статистично вірогідно відрізнялися від даних, одержаних при обстеженні групи контролю та групи дітей з тяжкою формою ВК.

Гриби р. *Candida* в 2 групі обстежених висівалися з меншою частотою (31,3 %), ніж у хворих 1 групи.

Також у дітей 2 групи встановлено підвищення кількісних показників висіву *S. aureus* ($lg\ 4,6$ КУО/мл ($p < 0,05$)), *E. coli* (гем+) ($lg\ 6,2$ КУО/мл) та *Klebsiella spp.* ($lg\ 5,7$ КУО/л ($p < 0,05$)), *Proteus spp.* та *Citrobacter spp.* ($lg\ 6,0$ КУО/мл ($p < 0,05$)).

У дітей із середньотяжкою формою ВК кишкова мікрофлора знаходилася в дво-, трикомпонентних асоціаціях, до складу яких переважно входили стафілококи, ентеробактерії та/або гриби р. *Candida*. Частота виявлення дво-, трикомпонентних асоціацій складала 43,8 %.

Отримані дані дають змогу припустити, що основними ознаками порушення кишкової мікрофлори при ВК в дітей є суттєве зниження рівня облігатної мікрофлори, існування якої залежить від стану та функціональних властивостей слизової оболонки товстої кишки.

Через дефект популяцій біфідо-, лактобактерій, що належать до *Firmicutes*, порушується цілісність мікробної біоплівки на слизовій оболонці товстої кишки. При цьому формується

патологічний мікробіоценоз кишечника, що так само запускає та підтримує каскад запальних реакцій в стінці товстої і тонкої кишки. Внаслідок продукції біологічно активних речовин кишкові умовно-патогенні мікроорганізми негативно впливають на різні функції кишечника та підтримують неспецифічний запальний процес у товстому кишечнику.

У результаті проведених досліджень виявлені значні порушення мікробіому кишечника в дітей, хворих на ВК. Контроль за зміною рівня контамінації кишечника бактеріями *Firmicutes*, а також мікроорганізмами, що належать до *Proteobacteria*, має практичне значення та може бути використаний для оцінки клінічного перебігу ВК, подальшого прогнозування захворювання, а також для вдосконалення існуючих схем терапії.

ВИСНОВКИ

1. У 100 % дітей, хворих на ВК, виявлено порушення мікроекології кишечника різного ступеня залежно від тяжкості перебігу захворювання. У дітей 1 групи з тяжкою формою ВК дисбіоз III ступеня діагностовано в 64,3 % випадків, дисбіоз II ступеня виявлено в 35,7 % випадків. У дітей 2 групи із середньотяжкою формою ВК виявлено дисбіоз II ступеня у 43,8 % дітей, III ступеня — у 56,3 % дітей.

2. У 100 % обстежених дітей мікробіота кишечника характеризується зниженням показників нормофлори, що належать до філуму *Firmicutes*, та підвищенням кількості умовно-патогенної мікрофлори, яка належить до *Proteobacteria*. Найтяжчі дисбіотичні процеси діагностувалися у хворих з тяжкою формою ВК за рахунок підвищення частоти виявлення та концентрації гемолізуючих ешерихій, умовно-патогенних ентеробактерій, кокової мікрофлори, яка має патогенні властивості грибів р. *Candida*.

3. Дисбіотичні зміни в біоценозі кишечника у дітей із ВК виявляються формуванням асоціацій умовно-патогенної мікрофлори. У хворих з тяжкою формою ВК виявлено три-, чотирикомпонентні асоціації умовно-патогенних мікроорганізмів (64,3 %), у пацієнтів 2 групи із середньотяжкою формою ВК частота виявлення

дво-, трикомпонентних асоціацій складала 43,8 %.

4. Результати роботи засвідчують доцільність і перспективність проведення бактеріологічного контролю за станом мікроекології кишечника у дітей, хворих на ВК, що дає змогу провести своєчасне лікування дисбіозу кишечника.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Бабяк А. С. Резистентность микроорганизмов к противомикробным препаратам / А. С. Бабяк, А. В. Полина // Международный студенческий научный вестник. — 2017. — № 6. — С. 23–27.
2. Белоусова Е. А. Лечение язвенного колита легкого и среднетяжелого течения / Е. А. Белоусова, Н. В. Никитина, О. М. Цодикова // Фарматека. — 2013. — № 2 (255). — С. 42–46.
3. Бондаренко В. М. Микробиологическая диагностика дисбактериоза кишечника : методические рекомендации / В. М. Бондаренко, В. Г. Лиходед. — М. : ГУ НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН, 2007. — 70 с.
4. Бондаренко В. М. Дисбактериоз кишечника как клинико-лабораторный синдром: современное состояние проблемы / В. М. Бондаренко, Т. В. Мацулевич. — М. : ГЭОТ АР-Медиа, 2007. — 304 с.
5. Бухарин О. В. Симбиоз — биологическая основа инфекции / О. В. Бухарин // Вестник Московского Университета. СЕР. 16. БИОЛОГИЯ. — 2011. — № 1. — С. 7–14.
6. Диагностика, сучасна фармакотерапія та профілактика кишкового дисбактеріозу у дітей : методичні рекомендації / В. В. Бережний, Н. К. Уніч, І. Б. Орлюк, Л. В. Куріло [та ін.]. — Київ, 2000. — 35 с.
7. Дорофеева А. А. Оценка изменений кишечного микробиома при позднем дебюте неспецифического язвенного колита / А. А. Дорофеева // Scientific Journal «Science Rise: Biological Science». — 2018. — № 4 (13). — С. 19–24.
8. Дорофеев А. Э. Эпидемиология и факторы риска воспалительных заболеваний кишечника / А. Э. Дорофеев, О. В. Швец // Лікарська справа. — 2014. — № 11. — С. 22–29.
9. Мікрофлора кишечника хворих на неспецифічний виразковий коліт та хворобу Крона / В. І. Русин, Г. М. Коваль, Ю. С. Лозінський, О. В. Леошик // Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина». — 2017. — Вип. 1 (55). — С. 98–101.
10. Наказ Міністерства охорони здоров'я України № 90 від 11.02.2016 р. — Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги «Запальні захворювання кишечника (хвороба Крона, виразковий коліт)».
11. Недашківська В. В. Біоплівки та їх роль в інфекційних захворюваннях / В. В. Недашківська, М. Л. Дронова, Н. О. Вринчану // Український науково-медичний молодіжний журнал. — 2016. — № 4. — С. 10–19.
12. Окулич В. К. Микробные биопленки в клинической микробиологии и антибактериальной терапии / В. К. Окулич, А. А. Кабанова, Ф. В. Плотников. — Витебск : ВГМУ. — 2017. — 300 с.
13. Петрина В. О. Вивчення ролі маркерів активності запального процесу при неспецифічному виразковому коліті / В. О. Петрина // Галицький лікарський вісник. — 2015. — Т. 22. — Ч. 4. — С. 51–54.
14. Популярно-генетичні аспекти мікробіологічного фенотипу кишечника здорової людини / А. А. Воробйов, Ю. В. Несвижський, Є. В. Буданова, Л. О. Іноземцева // Журн. мікробіол. епідеміол. імунол. — 2015. — Вип. 4. — С. 30–35.
15. Синетар Е. О. Формування біоплівки мікроорганізмами та їх значення у медицині / Е. О. Синетар // Вісник проблем біології і медицини. — 2018. — Вип. 2 (144). — С. 59–63.
16. Скрипник І. Н. Функциональная роль микробиоты кишечника и дифференцированные подходы к коррекции нарушенной микробиоценоза / И. Н. Скрипник // Здоров'я України. — 2009. — № 6 (1). — С. 51–53.
17. Урсова Н. И. Иммунологическая функция интестинальной микрофлоры, ее нарушения и возможности коррекции / Н. И. Урсова // Альманах клинической медицины. — 2015. — № 40. — С. 35–46.
18. Хурса Р. В. Кишечная микрофлора: роль в поддержании здоровья и развитии патологии, возможности коррекции : учеб.-метод. пособие / Р. В. Хурса, И. Л. Месникова, Я. С. Микша. — Минск : БГМУ, 2017. — 36 с.
19. Assa L. Vitamin D deficiency predisposes to adherent-invasive Escherichia coli induced barrier dysfunction and experimental colonic injury / L. Assa, L. Vong, J. Pinnell // Inflamm. Bowel. Dis. — 2015. — Vol. 21. — P. 297–306. — DOI: 10.1097/mib.0000000000000282.
20. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Book Review // Int. J. of Syst. Bact. — July 1985. — 408 p.
21. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology / P. Vos, G. Garrity, Jones Dorothy [et al.]. — Sprin-ger. — 2009. — Vol. 3. — 1450 p.
22. Becker C. The Intestinal Microbiota in Inflammatory Bowel Disease / C. Becker, M. F. Neurath, S. Wirtz // IJAR J. — 2015. — Vol. 56, № 2. — P. 192–204.
23. Ding T. Dynamics and associations of microbial community types across the human body / T. Ding, P. D. Schloss // Nature. — 2014. — Vol. 509. — P. 357–360. — DOI: 10.1038/nature13178.
24. Souza HSP. Etiopathogenesis of inflammatory bowel disease: today and tomorrow. / De Souza HSP // Curr. Opin Gastroenterol. — 2017, Jul. — Vol. 33 (4). — P. 222–229. — DOI:10.1097/mog.0000000000000364.

25. Effect of *Candida* colonization on human ulcerative colitis and the healing of inflammatory changes of the colon in the experimental model of colitis ulcerosa / M. Zwolinska-Wcislo, T. Brzozowski, A. Budak [et al.] // J. Physiol. Pharmacol. — 2009. — Vol. 60. — P. 107–118.
26. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America / P. G. Pappas, C. A. Kauffman, D. R. Andes [et al.] // Clin Infect Dis. — 2016, Feb 15. — Vol. 62 (4) — e1-50. — DOI: 10.1093/cid/civ933. Epub 2015 Dec 16.
27. Fecal microbiota in pouchitis and ulcerative colitis. / K. Y. Li, J. L. Wang, J. P. Wei [et al.] // World J. Gastroenterol. — 2016. — Vol. 22. — P. 8929–8939. — DOI: 10.3748/wjg.v22.i40.8929.
28. Hollister E. B. Compositional and functional features of the gastrointestinal microbiome and their effects on human health / E. B. Hollister, C. Gao, J. Versalovic // Gastroenterology. — 2014. — Vol. 46. — P. 1449–1458. — DOI: 10.1053/j.gastro.2014.01.052.
29. Hooper L. V. Interactions between the microbiota and the immune system / L. V. Hooper, D. R. Littman, A. J. Macpherson // Science. — 2012. — Vol. 336. — P. 1268–1273. — DOI: 10.1126/science.1223490.
30. The association between the gut microbiota and the inflammatory bowel disease activity: a systematic review and meta-analysis / M. Prossberg, F. Bendtsen, I. Vind, A. M. Petersen, L. L. Gluud // Scand. J. Gastroenterol. — 2016. — Vol. 51. — P. 1407–1415. — DOI: 10.1080/00365521.2016.1216587.
31. The central role of the gut microbiota in chronic inflammatory diseases/ C. M. Ferreira, A. T. Vieira, M. A. Vinolo [et al.] // J. Immunol. Res. — 2014, Sep 18. — № 2014. — Article ID 689492 — 12 p. — Doi: 10.1155/2014/689492.
32. The influence of *Candida albicans* on the course of ulcerative colitis / M. Zwolinska-Wcislo, A. Budak, D. Trojanowska [et al.] // Przegl. Lek. — 2006. — Vol. 63. — P. 533–538.
33. Ulcerative colitis / R. Ungaro, S. Mehandru, P. B. Allen [et al.] // Lancet. — 2017. — P. 1756–1770. — DOI: 10.1016/s0140-736(16)32126.
34. Update by the Infectious Diseases Society of America / J. N. Galgiani, N. M. Ampel, J. E. Blair // Clin. Infect. Dis. — 2016, Feb 15. — Vol. 62 (4). — P. 409–417.
35. Qin X. Etiology of inflammatory bowel disease: a unified hypothesis / X. Qin // World J. Gastroenterol. — 2012. — Vol. 18. — P. 1708–1722. — DOI: 10.3748/wjg.v18.i15.1708.

СОСТОЯНИЕ БИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА У ДЕТЕЙ С ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ

Канд. биол. наук Т. О. Лисяна, проф. М. Ф. Денисова, канд. мед. наук Н. В. Чернега,
канд. мед. наук Н. М. Музыка, канд. биол. наук И. Г. Пономарева, Н. Ю. Букчулова, О. О. Дорошенко

Представлены результаты изучения состояния биоценоза кишечника у детей с язвенным колитом. Рассматривается взаимосвязь между изменением соотношения нормальной и условно-патогенной кишечной микрофлоры в зависимости от клинической формы болезни.

Доказано формирование увеличенного количества ассоциаций условно-патогенной микрофлоры кишечника в соответствии с тяжелой и среднетяжелой формами язвенного колита у детей.

У детей с язвенным колитом установлены нарушения микроэкологии кишечника разной степени в зависимости от тяжести и течения заболевания.

Отмечено, что мониторинг значимых штаммов микроорганизмов у детей с язвенным колитом необходим для определения формы заболеваний, усовершенствования патогенетической тактики лечения и формирования рецидивирующего течения болезни.

Результаты проведенной работы свидетельствуют о целесообразности и перспективности проведения бактериологического контроля состояния микроэкологии кишечника у детей с язвенным колитом. Это дает возможность провести своевременное лечение дисбиоза кишечника и предотвратить осложнения.

Ключевые слова: дети, язвенный колит, микрофлора кишечника, диагностика.

STATE OF BIOCECENOSIS OF INTESTINES IN CHILDREN WITH ULCERATIVE COLITIS

T. O. Lysana, M. F. Denisova, N. V. Chernega, N. M. Muzyka, I. G. Ponomariova, N. Yu. Bukulova, O. O. Doroshenko

The results of study of the state of intestinal biocenosis in children with ulcerative colitis are presented. Relationship between the change in the ratio of normal and pathogenic intestinal bacteria depend on the clinical form of the disease is considered.

The formation of an increased number of associations of conditionally pathogenic intestinal microflora with the difficult and moderate forms of ulcerative colitis in children has been proved.

This allows timely correct intestinal dysbiosis and prognos of ulcerative coliti children.

It is determined that children suffering from ulcerative colitis have disorders of intestine microecology of different level depending on difficulty and development of the disease.

It is noted that monitoring of significant strains of microorganisms in children with ulcerative colitis is necessary to determine the form of the disease, improve the pathogenetic tactics of treatment, and form a recurrent course of the disease.

Work results indicate reasonability and availability of bacteriological control for intestine microecology in children suffering from ulcerative colitis. It allows taking timely treatment of intestine disbiosis and preventing complications.

Keywords: children, ulcerative colitis, intestinal microflora, diagnostics.