

УДК 616.34-008.87

## **ДИСБАКТЕРИОЗ КИШЕЧНИКА И ФЕРМЕНТОВЫДЕЛИТЕЛЬНАЯ ФУНКЦИЯ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИБИОТИКОВ И СПОСОБЫ КОРРЕКЦИИ**

© 2013 г. \*О. А. Точилина, И. А. Частоедова

Кировская государственная медицинская академия Минздрава России,  
\*Московский университет государственного управления  
(Кировский филиал), г. Киров

Изучен микробиоценоз кишечника и активность гидролаз в слюне и кале детей раннего возраста, получавших антибиотикотерапию. Установлено, что 100 % обследованных детей имеют дисбактериоз кишечника различной степени. После проведения курса как традиционных сухих пробиотиков, так и жидких синбиотиков с пектином отмечалась положительная динамика в восстановлении нарушенной микрофлоры. Показано, что при оценке эффективности коррекции дисбактериоза целесообразно проводить анализ ферментативной активности кала, которая отражает динамику восстановления функциональной активности кишечной нормофлоры.

**Ключевые слова:** антибиотики, дети раннего возраста, коррекция дисбактериоза, синбиотики

С открытием в 1929 году пенициллина в медицине началась эра антибиотиков. В настоящее время антибиотики представляют собой самую многочисленную группу лекарственных препаратов. Широкая распространённость данных препаратов приводит иногда к нерациональному их использованию, так, антибиотики применяют при острой респираторной вирусной инфекции с целью предупреждения осложнений [6]. Однако не только необоснованное, но и адекватное назначение антибактериальных препаратов приводит к нежелательным последствиям и побочным эффектам. Не случайно среди причин высокой распространённости дисбактериозов в детской популяции в качестве главной можно выделить применение антибиотиков, прямо подавляющих жизнедеятельность кишечных микроорганизмов и существенно меняющих микробный пейзаж желудочно-кишечного тракта [1, 7, 8–10]. При дисбактериозе кишечника, в свою очередь, нарушаются процессы переваривания и всасывания всех пищевых ингредиентов (белков, жиров, углеводов, витаминов, микроэлементов), что приводит к гиповитаминозам и ферментопатиям, развитию гипотрофии, анемии, синдрому нарушенного всасывания и так далее. Косвенными признаками нарушения микробиоценоза кишечника могут быть и изменения состава выделяемой слюны, сдвиги pH кишечного содержимого и другие изменения химизма [3, 4].

Таким образом, устранение дисбаланса кишечного микробиоценоза является важнейшей терапевтической задачей. В настоящее время наряду с пробиотикотерапией широко применяются синбиотики, действие которых основано на синергизме комбинации «пробиотик — пребиотик», за счёт этого не только повышается эффективность вводимых микроорганизмов-пробиотиков, но и активируется собственная микрофлора кишечного тракта хозяина [2, 5, 11].

Цель работы — изучение состояния кишечного микробиоценоза у детей раннего возраста, получавших в анамнезе антибиотики, и определение эффективного способа коррекции дисбактериоза.

### **Методы**

Под наблюдением находились 60 детей раннего возраста (с 1 года до 3 лет), в анамнезе которых имели место кишечные инфекции, острые респираторные заболевания и назначение по этому поводу антибиотиков. Обследование осуществлялось с соблюдением этических норм, изложенных в Хельсинкской декларации, на базе детского дошкольного учреждения с 24-часовым пребыванием (Дом ребёнка). Данное исследование является открытым когортным проспективным.

Анализ кала на дисбактериоз (выявление аэробных и анаэробных микроорганизмов кишечника) проводилось по общепринятой методике Р. В. Эпштейн-Литвак и Ф. Л. Вильшанской (1977). При обследова-

нии детей руководствовались требованиями ОСТа 91500.11.0004-2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника») [5].

Для оценки ферментовыведительной функции у всех наблюдавшихся исследовали содержание амилазы и щелочной фосфатазы в слюне и копрофильtrate с использованием биохимического анализатора «Cobas Mira Plus» фирмы «Roche». Активность щелочной фосфатазы определяли колориметрическим тестом с использованием р-нитрофенилфосфата в качестве субстрата в глициновом буфере (Бессей, Лоури, Брок, 1946). Активность  $\alpha$ -амилазы определялась ферментативным колориметрическим тестом с использованием 4,6-этилен (G<sub>7</sub>)-р-нитрофенилом (G<sub>1</sub>)- $\alpha$ , D-мальтогептозидом (этилен-G<sub>7</sub>ПНФ) в качестве субстрата (реактив фирмы «Bioscop»).

Для коррекции дисбактериоза нами были использованы традиционные сухие препараты «Бифидумбактерин», «Аципол», а также новые жидкие синбиотики с пектином из отечественного сырья и материалов «Бифидофлорин» и «Лактофлорин». Активной основой бифидосодержащего синбиотика являются штаммы *Bifidobacterium longum* В 379 М, лактосодержащего — *Lactobacillus acidophilus* КЗ III 24 ВКПМБ 3190 из селекции МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского, депонированных во ВНИИ генетики и ГИИСК им. Л. А. Тарасевича. Данные штаммы устойчивы к действию желудочного сока и желчи. Содержание указанных бактерий на конец срока годности не менее 10<sup>8</sup> микробных тел в 1 мл. Помимо пробиотических бактерий жидкие синбиотические препараты включают продукты жизнедеятельности этих микроорганизмов: органические кислоты, витамины, микроэлементы, ферменты (лизоцим, лактаза), аминокислоты и другие метаболиты с высокой функциональной активностью, а также факторы роста и размножения микрофлоры — яблочный пектин и лактит в концентрации до 2 %. Жидкие синбиотические препараты с пектином производятся в ООО Межотраслевой научно-производственный комплекс «Вяткабиопром», г. Киров.

Все препараты назначались врачом согласно инструкции в возрастных дозировках (жидкие синбиотики принимались в дозе 5–7 мл 2 раза в сутки в течение двух недель). Обследованные дети были однородны по полу, возрасту, длительности применения препарата и не имели различий в питании. Исследование проведено в два этапа: исходное (снялся фон микробной структуры кала) и через 2 недели после окончания приёма препаратов.

Анализ результатов исследования осуществлялся с помощью статистического пакета Statistika. Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез принимался за 0,05. Проверка на нормальность распределения измеренных переменных проводилась по критерию Shapiro-Wilk. В случае нормального распределения переменных применялся параметрический метод по Стьюденту для зависимых и независимых выборок, при ненормальном

распределении — непараметрический метод по Вилкоксоу. Показатели концентрации микроорганизмов представляли в lg числа КОЕ на 1 г исследуемого материала (КОЕ/г).

### Результаты

Для оценки эффективности, переносимости и влияния на микрофлору кишечника пробиотических препаратов и жидких синбиотических препаратов с пектином все дети были разделены на две группы: 1 группа — 14 человек, принимавшие традиционные сухие препараты «Бифидумбактерин», «Аципол», и 2 группа — 46 человек, принимавшие жидкие синбиотические препараты с пектином «Лактофлорин» и «Бифидофлорин».

Первичное исследование кала детей раннего возраста на дисбактериоз после применения антибиотикотерапии выявило нарушения микробиоценоза кишечника различной степени у 100 % обследованных. Состояние микробиоценоза кишечника детей, вошедших в обследованные группы, оценивалось как дисбактериоз I и II степени (табл. 1).

Таблица 1

**Показатели степени дисбактериоза кишечника детей раннего возраста, получавших различные препараты при первичном и повторном исследовании, абс. число (%)**

Степень дисбактериоза кишечника	1 группа (n = 14)	2 группа (n = 46)
Первичное исследование		
I степень	8 (57,1)	2 (4,4)
II степень	5 (35,7)	41 (89,1)
III степень	1 (7,2)	3 (6,5)
Вторичное исследование		
Дисбактериоз не выявлен	10 (71,4)	27 (58,7)
I степень	2 (14,3)	12 (26,1)
II степень	2 (14,3)	7 (15,2)
III степень	—	—

Структура дисбиотических изменений у обследованных детей представлена в табл. 2.

Анализ структуры дисбиотических изменений у обследованных показал, что нарушения микробиоценоза после антибиотикотерапии выражаются в снижении уровня нормальных симбионтов. На фоне снижения бифидо- и лактофлоры отмечалось увеличение количества и изменение видового соотношения условно-патогенных бактерий. Ведущее место в изменении структуры кишечного микробиоценоза принадлежало бактериям рода *Clostridium* и *S. aureus*. Кроме того, отмечался рост количества *E. coli* с измененными ферментативными свойствами (гемолизирующая кишечная палочка), а также обнаружены высокие титры грамотрицательных представителей условно-патогенной флоры (*Proteus*, *Citrobacter*, *Enterobacter* и др.)

Функциональное состояние пищеварительных желез непосредственно связано с процессами мета-

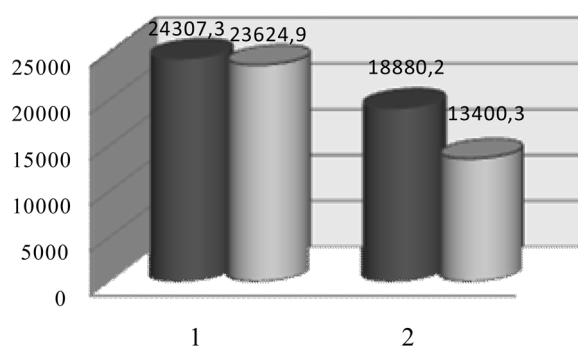
Таблица 2  
Состав микробиоценоза кишечника у детей, получавших различные препараты, до и после коррекции дисбактериоза, lg КОЕ/г ( $M \pm m$ )

Название и уровень микро-организмов	1 группа (n=14)	2 группа (n=46)	p	p*
Lactobacillus	6,0 ± 0,4 7,7 ± 0,12	7,5 ± 0,16 7,99 ± 0,002	1 группа <0,001 2 группа 0,003	<0,001 <0,001
Bifidobacterium	7,64 ± 0,25 8,98 ± 0,009	8,1 ± 0,21 8,9 ± 0,06	1 группа <0,001 2 группа <0,001	0,267 0,502
Clostridium	3,7 ± 0,34 3,6 ± 0,25	5,4 ± 0,29 3,3 ± 0,2	1 группа 0,335 2 группа <0,001	0,003 0,467
Staphylococcus	0,6 ± 0,46 0,07 ± 0,07	0,9 ± 0,25 0,15 ± 0,09	1 группа 0,179 2 группа 0,003	0,601 0,625
% обнаружения				
Escherichia coli с измененными ферментативными свойствами (гемолизирующая) 20 % и более	28,6 14,3	78,3 45,6	1 группа (0,165) 2 группа (<0,001)	<0,001 0,035
Условно-патогенная микрофлора (Proteus, Citrobacter, Enterobacter и др.) >10 <sup>4</sup>	35,7 14,3	54,3 10,9	1 группа (0,082) 2 группа (<0,001)	0,229 0,733

Примечание. Различия достоверны: p – при сравнении результатов до и после коррекции дисбактериоза; p\* – при сравнении результатов 1 и 2 групп до и после лечения.

болизма, нарушение которых имеет особое значение в генезе любого заболевания. Мы провели исследование содержания гидролаз в слюне и кале при дисбактериозе у детей после антибиотикотерапии в динамике наблюдения за энтеральным гомеостазом ферментов.

■ до коррекции микроценоза ■ после коррекции микроценоза



1 – дети с дисбактериозом, принимавшие жидкие синбиотические препараты (n = 19)  
2 – дети с дисбактериозом, принимавшие пробиотические препараты (n = 12)

Рис. 1. Активность амилазы слюны (Ед/л) у детей с дисбактериозом в динамике коррекции дисбактериоза

Из первично обследованных детей методом случайной выборки были сформированы две группы: 1 группа – 19 человек, принимавшие жидкие синбиотические препараты с пектином и 2 группа – 12 человек, принимавшие пробиотические препараты, у которых параллельно с анализом кала на дисбактериоз определялась активность пищеварительных ферментов.

Проведённые исследования показали, что у детей с дисбактериозом после биокоррекции сохраняется высокий уровень амилазы в слюне и копрофильtrate (рис. 1 и 2).

У обследованных детей отмечена высокая активность щелочной фосфатазы, это подтверждает, что данная гидролаза может являться биохимическим маркером дисбактериоза (рис. 3, 4). При этом все рассмотренные методы коррекции дисбактериоза не изменили постоянно высокого выделения энзима кишечником, это может являться косвенным признаком более позднего восстановления функциональной активности микрофлоры относительно нормализации её количественного состава.

### Обсуждение результатов

Первичное исследование кала детей раннего возраста на дисбактериоз после антибиотикотерапии выявило нарушения микробиоценоза кишечника различной степени у 100 % обследованных. При этом выявленные нарушения микробиоценоза кишечника могут быть скорректированы при использовании бифидо- и лактосодержащих жидких синбиотиков с пектином.

После проведения курса как традиционных сухих пробиотиков, так и жидких синбиотиков с пектином отмечалась положительная динамика: у большинства обследованных детей (71,4 % в 1 группе и 58,7 % во 2 группе) при повторном исследовании не было выявлено нарушений биоценоза кишечника, у остальных детей зарегистрирован дисбактериоз меньшей степени проявления, отсутствовали клинические проявления желудочно-кишечных расстройств (см. табл. 1).

Анализ результатов бактериологического исследования фекалий после проведения курса коррекции

■ до коррекции микроценоза ■ после коррекции микроценоза

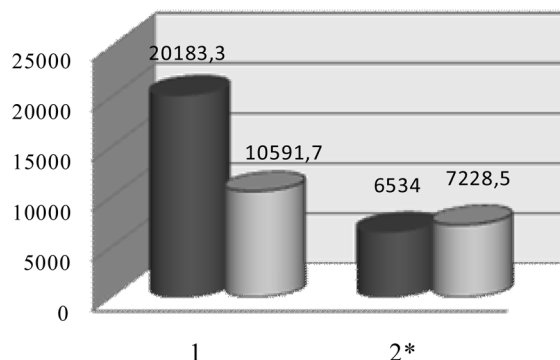


Рис. 2. Активность амилазы копрофильtrата (Ед/л) у детей с дисбактериозом в динамике коррекции дисбактериоза



1 — дети с дисбактериозом, принимавшие жидкие синбиотические препараты (n = 19)  
2 — дети с дисбактериозом, принимавшие пробиотические препараты (n = 12)

Примечание. \*  $p \leq 0,05$  при сравнении результатов до и после коррекции.

Рис. 3. Активность щелочной фосфатазы слюны (Ед/л) у детей с дисбактериозом в динамике коррекции дисбактериоза

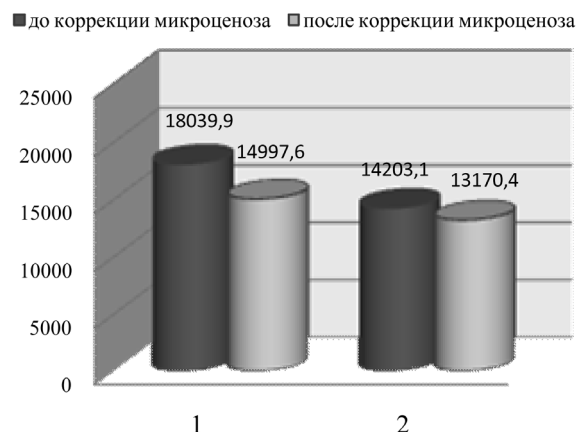


Рис. 4. Активность щелочной фосфатазы копрофильтрата (Ед/л) у детей с дисбактериозом в динамике коррекции дисбактериоза

показал, что все исследуемые препараты способствуют формированию нормального кишечного микроценоза и восстанавливают нормальный уровень популяции лактобактерий (7–8 lg) и бифидобактерий (9 lg) у детей раннего возраста.

Одновременно констатировалось значительное снижение количества условно-патогенной микрофлоры за счёт элиминации бактерий рода *Clostridium* и *S. aureus*. Кроме того, у обследованных детей уменьшалась концентрация других представителей условно-патогенной флоры (*Proteus*, *Citrobacter*, *Enterobacter* и др.).

Таким образом, к группе риска по формированию дисбактериоза кишечника относятся дети раннего возраста, имеющие в анамнезе лечение антибактериальными препаратами. Жидкие синбиотические препараты с пектином «Бифидофлорин» и «Лактофлорин» являются эффективными в коррекции кишечного дисбактериоза у детей раннего возраста, способствуют купированию его клинических проявлений. У наблюдавшихся отмечен высокий процент нормализации микроценоза кишечника и уменьшение степени дисбиотических нарушений, элиминация условно-патогенной микрофлоры, что обеспечивает многофакторное регулирующее и стимулирующее воздействие.

Дисбактериоз кишечника у детей сопровождается выраженными и стойкими изменениями ферментного гомеостаза. Определение щелочной фосфатазы может быть использовано как неинвазивный скрининг, позволяющий получить дополнительную информацию о состоянии ферментовыделительной функции нормофлоры и оценить результаты биокоррекции микроценоза.

#### Список литературы

1. Бельмер С. В., Малкоч А. В. Дисбактериоз кишечника и роль пробиотиков в его коррекции // *Лечащий врач*. 2006. № 6. С. 18–23.
2. Гриневич В. Б., Захаренко С. М., Осипов Г. А.

Принципы коррекции дисбиозов кишечника // *Лечащий врач*. 2008. № 6. С. 6–9.

3. Кодиров Ш. К. Механизмы трансформации ферментов и пептидного спектра слюны и роль слюнных желёз в ферментном гомеостазе: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Томск, 1993. 37 с.

4. Мубаракишина О. А. Нарушения микроценоза кишечника и их коррекция // *Медицинский вестник*. 2008. № 33. С. 18.

5. Отраслевой стандарт «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» (ОСТ 91500.11.0004-2003). Приказ Минздрава России от 09.06.2003 г. № 231. М., 2003. 112 с.

6. Токаев Э. С., Максимов А. А. Разработка нового синбиотического пищевого продукта с высоким содержанием бифидобактерий // *Вопросы питания*. 2009. Т. 78, № 2. С. 39–41.

7. Хавкин А. И., Жихарева Н. С. Терапия антибиотикассоциированного дисбактериоза // *Гастроэнтерология. Приложение к журналу Consilium medicum*. 2006. Т. 8, № 2. С. 72–74.

8. Шевяков М. А. Коррекция дисбиоза кишечника: современные подходы // *Лечащий врач*. 2007. № 6. С. 92–95.

9. Jernberg C., Lufmark S., Edlund C., Jansson J. K. Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota // *The ISME Journal*. 2007. N. 1. P. 56–66.

10. Sullivan A., Edlund C., Nord C. E. Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora // *Lancet Infect. Dis.* 2001. Vol. 1, N 2. P. 101–114.

11. Vitali B. et al. Impact of a synbiotic food on the gut microbial ecology and metabolic profiles // *Biomed. Chromatogr. Microbiol.* 2010. Vol. 10. P. 4.

#### References

1. Belmer S. V., Malkoch A. V. *Lechashchiy vrach* [Attending physician]. 2006, no. 6, pp. 18–23. [in Russian]
2. Grinevich V. B., Zakharenko S. M., Osipov G. A. *Lechashchiy vrach* [Attending physician]. 2008, no. 6, pp. 6–9. [in Russian]
3. Kodirov Sh. K. *Mekhanizmy transformatsii fermentov i peptidnogo spektra slyuny i rol' slyunnykh zhelez v fermentnom gomeostaze (avtoref. dok. dis.)* [Technology

of ferments transformation and the salivary peptide spectrum and the role of salivary glands in enzymatic homeostasis (Author's Abstract of Doctoral Thesis)]. Tomsk, 1993, 37 p. [in Russian]

4. Mubarakshina O. A. *Meditsinskii vestnik* [Medical Reporter]. 2008, no. 33, pp. 18. [in Russian]

5. Otravleniya standart «Protokol vedeniya bol'nykh. Disbakterioz kishchnika» (OST 91500.11.0004-2003) [The Branch Standard «Patient Management Protocol. Intestinal Dysbacteriosis» (OST 91500.11.0004-2003)]. Prikaz Minzdrava Rossii ot 09.06.2003 g. no. 231. Moscow, 2003. 112 p. [in Russian]

6. Tokaev E. S., Maksimov A. A. *Voprosy pitaniya* [Nutrition problems]. 2009, vol. 78, no. 2, pp. 39-41. [in Russian]

7. Khavkin A. I., Zhikhareva N. S. *Gastroenterologiya. Prilozhenie Consilium medicum* [Gastroenterology. Appendix Consilium medicum]. 2006, vol. 8, no. 2, pp. 72-74. [in Russian]

8. Shevyakov M. A. *Lechashchii vrach* [Attending medical doctor]. 2007, no. 6, pp. 92-95. [in Russian]

9. Jernberg C., Lufmark S., Edlund C., Jansson J. K. Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. *The ISME Journal*. 2007, no. 1, pp. 56-66.

10. Sullivan A., Edlund C., Nord C. E. Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora. *Lancet Infect. Dis.* 2001, vol. 1, no. 2, pp. 101-114.

11. Vitali B. et al. Impact of a synbiotic food on the gut microbial ecology and metabolic profiles. *Biomed. Chromatogr. Microbiol.* 2010, vol. 10, p. 4.

## INTESTINAL DYSBACTERIOSIS AND ENZYME SECRETORY FUNCTION IN INFANTS AFTER USE OF ANTIBIOTICS AND METHODS OF CORRECTION

\*O. A. Tochilina, I. A. Chastoedova

*Kirov State Medical Academy*

*\*Moscow State University of Management (Kirov Branch), Kirov, Russia*

Microbiocenosis of the intestine and activity of hydrolytic enzymes in saliva and feces of infants treated with antibiotics have been studied. It has been established that 100 % of the examined children had intestinal dysbacteriosis of different degrees. After a course of treatment with traditional dry probiotics and liquid synbiotics with pectin, positive dynamics in restoration of the disturbed microflora was observed. It has been shown that during an analysis of dysbacteriosis correction effectiveness, it is desirable to carry out enzymological assessment of feces, which presents dynamics of restoration of functional activity of the intestinal normal flora.

**Keywords:** antibiotics, infants, dysbacteriosis correction, synbiotics

### Контактная информация:

Точилина Ольга Александровна — старший преподаватель кафедры биотехнологии Московского университета государственного управления (Кировский филиал)

Адрес: 610000, г. Киров, ул. Ленина, 104

E-mail: olga.tochilina2011@yandex.ru