

*М.В.Кшемінська*

## **БАКТЕРІОТЕРАПІЯ ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ З ВРАХУВАННЯМ ЦИРКАДІАННИХ ХРОНОРИТМІВ МІКРОФЛОРИ ПОРОЖНИНИ ТОВСТОЇ КИШКИ**

Кафедра клінічної імунології, алергології та ендокринології (зав. – проф. І.Й. Сидорчук)  
Буковинської державної медичної академії

**Резюме.** У 52 хворих на бронхіальну астму (БА) вивчено видовий склад та популяційний рівень мікрофлори порожнини товстої кишки в певні періоди світлового дня (з 5.00 до 17.00 год). Вивчені циркадіанні хроноритми автохтонних облигатних мікроорганізмів, з яких виготовляють бактерійні препарати для терапії кишкових дисбактеріозів, дозволяють найбільш ефективно проводити комплексну терапію хворих на БА.

**Ключові слова:** бронхіальна астма, мікроекологія товстої кишки, дисбактеріоз, циркадіанні хроноритми.

**Вступ.** Останніми роками в літературі все частіше з'являються дані про поєднання захворювань органів шлунково-кишкового тракту та органів дихання [2,3,8]. Проте багато аспектів цієї складної патології залишаються нев'ясненими, зокрема вплив хронобіологічних ритмів на коливання видового складу та популяційний рівень мікрофлори порожнини товстої кишки у хворих на БА.

Циркадіанні ритми — синхронізовані з обертанням Землі навколо своєї осі, зміною дня і ночі. Оскільки вони є найбільш стійкими і зберігаються упродовж усього життя [6,9], потрібні подальші детальні дослідження.

**Мета дослідження.** Вивчити циркадіанні хроноритми мікрофлори порожнини товстої кишки в певні періоди світлового дня (з 5.00 до 17.00 год) з метою визначення можливих змін видового складу та популяційного рівня, що надасть можливість виробити найбільш раціональні підходи до бактеріотерапії порушень мікробіоценозу кишечнику.

**Матеріали і методи.** Обстежено 52 хворих на БА у період загострення. Крім ретельно вивчених скарг, анамнестичних даних, фізичного та загальноклінічного обстежень, які доповнювались дослідженнями функції зовнішнього дихання, лабораторними та рентгенологічними дослідженнями, проводилося вивчення видового складу та популяційного рівня мікрофлори вмісту товстої кишки в певні періоди світлового дня (5.00-6.50, 7.00-8.50, 9.00-10.50, 11.00-12.50, 13.00-14.50 та з 15.00 до 17.00 год). Проводилися розрахунки частоти виявлення і кількості колонійутворювальних одиниць автохтонних та алохтонних мікроорганізмів у 1 г випорожнень за допомогою модифікованих методик [5,13].

У роботі використовувалися селективні середовища і методи, описані в керівництвах [7,12,14] для виділення та ідентифікації бактерій.

Забір випорожнень з метою вивчення мікрофлори порожнинного вмісту товстої кишки проводився у стерильних умовах. Наважку вносили в стерильну пробірку та додавали десятикратний об'єм стерильного ізотонічного 0,85%-ного розчину хлориду натрію (розведення 1:10), суміш ретельно розтирали скляною паличкою до утворення гомогенної маси. Проводили підготовку серійних десятикратних розведень у стерильному ізотонічному розчині хлориду натрію від  $10^{-2}$  до  $10^{-11}$ . Із кожної пробірки титраційного ряду здійснювали посів 0,1 мл утворе-

ної суміші на щільне живильне середовище. Потім проводилося визначення колонійутворювальних мікроорганізмів у 1г випорожнень у кожному із зазначених розведень і виражалось у IgKYO/г.

Через 5-7, інколи до 14 діб культивування при оптимальній температурі у стаціонарному анаеростаті (CO<sub>2</sub>-incubator T125 ASSAB medicin AB, Sweden) підраховували кількість анаеробних бактерій, які виростили на живильних середовищах. Підрахунок кількості аеробних мікроорганізмів проводили через дві доби. На середовищах Ендо, Левіна та Плоскірева проводили підрахунок зростаючих колоній для визначення кількості ентеробактерій, на молочно-сольовому м'ясопептонному агарі - для визначення кількості стафілококів, на м'ясопептонному агарі - для визначення кількості псевдомонад, на щільному середовищі Сабуро - для визначення кількості дріжджоподібних грибів роду *Candida*.

Визначення бактероїдів, пептококів, пептострептококів, клостридій, протеїв, превотел та лактобактерій проводилося за методом М.Е.Микельсаара, А.А.Ленцера [4] із використанням для культивування стаціонарного анаеростата.

Використовувалося також середовище Бактофок («Гидробиоз», Россия) для культивування і виділення біфідобактерій. У середовище додатково вносили азид натрію з розрахунку 100 мг/л під час виділення біфідобактерій із випорожнень. Ідентифікацію виділених мікроорганізмів здійснювали за морфологічними, тинкторіальними, культуральними та біохімічними властивостями [5], а мікроекологічні показники за методом М.Бигона, Дж.Харпера, К.Таусенда [1].

За допомогою діагностичних еталонних сироваток у реакції аглютинації проводилася серологічна ідентифікація патогенних ешерихій. За методом W.Ewing [10,11] із використанням 30 основних тестів, рекомендованих Міжнародним підкомітетом з ентеробактерій (1985) ідентифікували ентеробактерії. В окремих випадках використовували також систему API-20E (Франція), мікроентеротест 1 та 2 для диференціації ентеробактерій.

Статистична обробка отриманих результатів здійснювалась за загальноприйнятими методиками із застосуванням критерію відмінності Стьюдента та прикладних програм з пакету Microsoft-Office-97 на персональному комп'ютері AMD-K5-133 MHz.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Результати вивчення популяційного рівня мікрофлори порожнини товстої кишки у хворих на БА в певні періоди світлового дня (з 5.00 до 17.00 год) наведено у таблиці.

Отримані та наведені в таблиці результати свідчать, що популяційний рівень найбільш фізіологічно корисних для людини автохтонних облигатних біфідобактерій та лактобактерій піддається змінам упродовж світлового дня. Їх популяційний рівень значно знижується в період від 7.00 до 9.00 год, а після чого сягає найвищих показників у біфідобактерій ( $8,45 \pm 10,06$  IgKYO/г і  $8,24 \pm 0,24$  IgKYO/г — у період від 9.00 до 13.00 год). Відбувається зменшення, а з 15.00 до 17.00 год — поступове зростання на один порядок і більше. Така ж закономірність спостерігається і в лактобактерій.

Незначні коливання популяційного рівня впродовж світлового дня встановлено у бактероїдів, превотел, пептокока, клостридій та пептострептококів.

Певні зміни популяційного рівня встановлено в аеробних автохтонних облигатних мікроорганізмів.

Популяційний рівень ентерококів майже не змінюється впродовж світлового дня. Популяційний рівень ентеробактерій з 5.00 до 9.00 год порівняно високий, а з 9.00 до 11.00 год він знижується у звичайних ешерихій, гемолі-

Таблиця  
Показники шкідливих хронічних порушень популяційного рівня мікрофлори порожнини товстої кишки у хворих на бронхіальну астму

Мікроорганізм	Стат. і екологічні показники	Період дослідження популяційного рівня мікрофлори (в Ig КУО/г)											
		5.00-6.50	7.00-8.50	9.00-10.50	11.00-12.50	13.00-14.50	15.00-17.00	Р	Р	Р	Р	Р	Р
<b>I. Анаеробні бактерії</b>													
Біфідобактерії	M±m	6,69±0,20	4,23±0,03	8,45±0,06	8,24±0,24	6,63±0,19	7,97±0,15	<0,001	>0,05	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	n	9	3	6	4	8	7	7					
	C	11,21	3,52	11,43	6,26	9,87	10,75	10,75					
Лактобактерії	M±m	6,17±0,14	5,36±0,18	6,25±0,15	6,70±0,23	6,07±0,17	7,37±0,11	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	
	n	9	7	8	7	9	9	9					
	C	10,34	10,34	11,25	8,82	10,17	12,81	12,81					
Бактероїди	M±m	9,52±0,07	9,37±0,08	9,56±0,02	9,21±0,10	9,39±0,17	9,58±0,05	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	
	n	9	8	8	9	9	9	9					
	C	15,95	20,72	17,21	15,62	15,73	16,65	16,65					
Превотели	M±m	9,07±0,21	9,11±0,27	9,06±0,19	9,18±0,17	9,03±0,16	9,16±0,17	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	
	n	3	3	4	4	3	4	4					
	C	5,84	7,57	8,21	6,97	5,08	7,13	7,13					
Пептострептококи	M±m	8,66±0,14	9,26	9,05±0,07	9,09±0,04	9,11±0,03	9,52±0,06	—	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	
	n	4	1	4	7	6	6	6					
	C	7,31	2,61	8,21	11,97	10,14	11,11	11,11					
Лактобацили	M±m	51,59	15,30	61,30	89,50	81,42	82,32	—	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	
	n	51,59	15,30	61,30	89,50	81,42	82,32	89,50					
	C	51,59	15,30	61,30	89,50	81,42	82,32	89,50					



Продовження таблиці

Цитробактер	M±m n С КД	6,00 1 1,29 8,94	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—
Ентерококи	M±m	8,65±0,21	8,54±0,17	—	8,58±0,17	—	8,80±0,10	—	8,13±0,19	—	8,13±0,19	—
	n	5	2	—	2	—	3	—	5	—	5	—
	С	9,16	4,69	>0,05	3,26	—	4,95	>0,05	7,91	>0,05	7,91	<0,05
Стафілококи	M±m	5,82±0,04	6,87±0,41	—	5,93±0,06	—	5,83±0,02	—	5,31±0,13	—	5,31±0,13	—
	n	3	4	<0,05	5	<0,05	5	<0,05	4	>0,05	4	<0,05
	С	3,74	7,55	<0,05	5,63	<0,05	5,39	<0,05	4,13	>0,05	4,13	<0,05
Дріжджоподібні гриби роду Candida	M±m	5,69±0,03	5,78±0,13	—	5,80±0,03	—	5,73±0,04	—	5,09±0,19	—	5,09±0,19	—
	n	2	2	>0,05	5	>0,05	3	>0,05	3	>0,05	3	<0,05
	С	2,44	3,18	>0,05	5,51	>0,05	3,23	>0,05	2,97	>0,05	2,97	<0,05
Середній популяційний рівень	M±m	7,46±0,13	7,20±0,15	>0,05	7,90±0,13	>0,05	7,46±0,10	<0,05	7,71±0,17	<0,05	7,71±0,17	>0,05
	КД	16,95	20,35	>0,05	40,79	>0,05	25,60	<0,05	22,00	<0,05	22,00	>0,05

тичних, ентеропатогенних і ентеротоксигенних кишкових паличок. Популяційний рівень протейів навпаки - з 5.00 до 9.00 год - низький, а починаючи з 9.00 год він зростає і на такому рівні зберігається до 17.00 год.

Популяційний рівень стафілококів також залежить від хроноритмів. Його максимум досягається в період з 7.00 до 9.00 год, а в інші періоди відбуваються незначні коливання популяційного рівня мікроорганізмів.

Кількість дріжджоподібних грибів роду *Candida* не змінюється впродовж світлового дня. Лише наприкінці доби (з 15.00 до 17.00 год) їх кількість у порожнині товстої кишки помітно зменшується.

Розглядаючи роль кожного представника кишкового мікробіоценозу за екологічними показниками значущості його в асоціації мікроорганізмів, а також кількісного домінування в кишковій мікрофлорі слід зауважити, що ці показники демонструють залежність від хроноритмів світлового дня. Особливо це стосується показника кількісного домінування (КД).

За показниками значущості (С) та кількісного домінування біфідобактерій найбільшу роль у мікробіозі відіграють з 5.00 до 7.00 год, а після цього часу до 9.00 год їх роль у мікроекології порожнини кишечника незначна. Починаючи з 9.00 до 11.00 год, їх кількісний показник практично вирівнюється, але з 11.00 до 13.00 год знову знижується, проте не так різко, як у період з 7.00 до 9.00 год. Починаючи з 13.00 до 17.00 год, екологічні показники біфідобактерій залишаються на рівні ранніх годин дня.

Аналогічні зміни екологічних показників залежно від циркадіанних хроноритмів встановлено й у лактобактерій.

Екологічні показники знижуються в період від 11.00 до 14.00 год у бактероїдів та превотел.

Зростання екологічних показників у пептокока настає з 11.00 год і на такому рівні вони зберігаються до кінця світлового дня, а в період з 7.00 до 9.00 год вони стають мінімальними.

Не встановлено чіткої закономірності циркадіанних хроноритмів у пептострептококів та клостридій. Екологічні показники ентеробактерій (ешерихій, гемолітичних, ентеропатогенних, ентеротоксигенних ешерихій, протейів, ентеробактера і цитробактера) змінюються упродовж світлового дня незначно.

Важливим є встановлення циркадіанних хроноритмів облигатних аеробних представників, особливо ентерококів. За результатами, наведеними в таблиці, екологічні показники, що характеризують роль у мікробіоценозі ентерококів, різко знижуються з 7.00 год ранку і на низькому рівні зберігаються до 15.00 год.

Поступово їх роль у мікроекології кишечника зростає і майже досягає періоду з 5.00 до 7.00 год.

У період з 5.00 до 7.00 год низькі показники встановлено у стафілококів та дріжджоподібних грибів роду *Candida*. Починаючи з 7.00 год, їх величини зростають і утримуються на такому рівні до кінця дня.

Таким чином, у хворих на БА автохтонні облигатні (біфідобактерії, лактобактерії, ешерихії, ентерококи) та факультативні (бактероїди, превотели, пептокок, пептострептококи, клостридії, ентеробактерії, стафілококи і дріжджоподібні гриби роду *Candida*) мікроорганізми, що персистують у порожнині товстої кишки, піддаються впливу циркадіанних хроноритмів упродовж світлового дня (з 5.00 до 17.00 год). Змінам піддаються популяційний рівень і мікроекологічні показники, що характеризують відповідну роль кожного виду або родини мікро-

організмів у мікробіоценозі порожнини товстої кишки. Вивчення цих змін дає можливість раціональному призначенню в певні години бактерійних препаратів.

Циркадіанні хроноритми біфідобактерій у хворих на БА характеризуються різким зменшенням популяційного рівня і мікроекологічних показників цих бактерій у період з 7.00 до 9.00 год, що є прямим протипоказом вживання біфідумбактерину, оскільки в ці години в організмі створюються умови, що перешкоджають розмноженню біфідобактерій. Недоцільним є призначення біфідумбактерину і в період з 13.00-14.00 год, а лише після 15.00 год. За даними таблиці найбільш раціональним періодом вживання бактерійного препарату, що містить життєздатні антагоністично активні біфідобактерії, є період з 9.00 до 13.00 год з 15.00 до 17.00 год.

Подібні циркадіанні хроноритми встановлено і для популяційного рівня та мікроекологічних показників лактобактерій. Тому призначати лактобактерин або ж комплексні бактерійні препарати, що містять життєздатні лактобактерії, також рекомендується в період з 9.00 до 13.00 год (1-й прийом) та з 15.00 до 17.00 год (2-й прийом).

До ряду бактеріальних лікувальних препаратів (біфі-форм, лінекс та інші) входять і ентерококи (*E. faecium*), тому нами приділяється увага циркадіанним хроноритмам і ентерококів. Упродовж усього світлового періоду доби популяційний рівень ентерококів практично не змінюється. Лише в період з 9.00 до 11.00 він є найнижчим ( $7,53 \text{ IgKYO/г}$  проти  $8,13 \pm 0,19 - 8,80 \pm 0,10 \text{ IgKYO/г}$ ). Тому раціональним періодом призначення бактерійних препаратів, що містять у собі життєздатні ентерококи, є період з 5.00 до 7.00 год та з 13.00 до 17.00 год.

Вивченням циркадіанних хроноритмів автохтонних облигатних мікроорганізмів, із яких виготовляють бактерійні препарати для терапії кишкових дисбактеріозів, доведено, що у хворих на БА бактерійні препарати, що містять тільки біфідобактерії та лактобактерії (нормофлор, біфілайф та інші) слід призначати в перший прийом з 9.00 до 13.00 год, другий прийом доцільно здійснювати з 15.00 до 17.00 год, а препарати, що містять ентерококи - перший прийом - з 5.00 до 7.00 год, другий - з 13.00 до 17.00 год.

Комплексні бактерійні препарати, що містять біфідобактерії, лактобактерії та ентерококи (лінекс), на наш погляд, доцільно призначати: перший прийом 10.00 год, другий — 15.00 год. У ці періоди дня знижується популяційний рівень патогенних (гемолітичних, ентеропатогенних і ентеротоксигенних ешерихій) та умовно патогенних ентеробактерій, превотел, стафілококів, що створює умови для розвитку автохтонних облигатних бактерій, які вводяться з бакпрепаратом.

#### **Висновки.**

1. Популяційний рівень мікрофлори порожнини товстої кишки та її мікроекологічні показники у хворих на бронхіальну астму залежні від циркадіанних хроноритмів. Найнижчий популяційний рівень автохтонних облигатних анаеробних бактерій встановлено у період з 7.00 до 9.00 год, та з 13.00 до 15.00 год, у цей період зростає популяційний рівень умовно патогенних ентеробактерій, стафілококів, пептостока та інших.

2. Комплексний бактерійний препарат лінекс доцільно призначати 2 рази на добу в період 9.00-11.00 год та 13.00-17.00 год. При цьому його ефективність при двократному прийомі дещо вища, ніж при традиційному використанні (3 рази на день).

**Література.** 1. *Бигон М., Харпер Дж., Таусенд К.* Экология: Особи, популяції, сообщества: в 2-х т.: Перевод с англ.- М.: Мир, 1989.- 487 с. 2. *Быданов В.А., Алексеева М.К., Вахрушев И.М.* О частоте поражения органов гастроуденальной системы у больных бронхиальной астмой // Клини. медицина. - 1990.-№ 4. – С. 69-72. 3. *Кшемінська М.В., Сидорчук І.Й.* Мікроекологія порожнини товстої кишки при загостренні бронхіальної астми // Буковинський мед. вісник.- 1999. - Т3, №1. - С. 58-63. 4. *Микельсаар М.Э., Сийгур У.Х., Ленцнер А.А.* Оценка количественного состава микрофлоры фекалий // Лаб. дело. - 1990.-№3.-С.62-66. 5. *Определитель бактерий Берджи.* В 2-х т.: Перевод с англ. / Под ред. Дж. Хоулта, Н.Крига, П.Снита, Дж.Стейли, С.Уильянса. - М.: Мир. - 1997. - 432 с. і 368 с. 6. *Пішак В.П., Сидорчук І.Й., Плаксивий О.Г., Попко Й.М.* Циркадіанні ритми мікрофлори ексудату і слизової оболонки у хворих на гнійний синусит // Матер. VIII з'їзду отоларингологів України. — К., 1995.— С. 79. 7. *Покровский В.И.* Энтеробактерии: Руководство для врачей.-М.: Медицина, 1985.-512 с. 8. *Ужегова Е.Б., Тажобаева Р.Б., Калащкарлова Л.Н., Борькин В.М.* Кишечный дисбактериоз с бронхиальной астмой и хроническим обструктивным бронхитом // Здравоохр. Казахстана.-1986.-№4.-С.67-69. 9. *Чучалин А.А., Новиков Ю.К., Татарский А.Р.* Состояние клеточных мембран лимфоцитов у больных бронхиальной астмой // Иммунология. – 1988.-№5.-С.74-82. 10. *Ewing W.N.* Biochemical identification of Enterobacteriaceae. — Minneapolis, 1972.-52 p. 11. *Ewing W.N., Martin W.J.* Enterobacteriaceae. In manual of clinical microbiology. -Washington, 1974.-P. 189-222. 12. *Mirelis B., Lopez P.* Metodos de aislamiento y técnicas de identificación convencionales de las enterobacterias // Laboratorio.-1986.-V.82, N491.-P.283-245. 13. *Mitsuoka T.A.* A color atlas of anaerobic bacteria.-Tokyo, 1980.-182 p. 14. *Sutter V.Z., Citron D.M., Edelstein M.A. etc.* Wadsworth anaerobic bacteriology manual: 4-ed starr, Pull.comp.-Belmont, California, 1986.-154 p.

## MULTIMODALITY THERAPY OF PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA WITH REGARD FOR DISORDERS OF THE SPECIES COMPOSITION AND POPULATION LEVEL OF THE MICROFLORA OF THE CAVITY OF THE LARGE INTESTINE AND ITS CIRCADIAN CHRONORHYTHMS

*M. V. Ksheminska*

**Abstract.** The species composition and population level of the microflora of the large intestine at certain periods of the fight day (from 5a.m. till 5p.m.) were studied in 52 patients with bronchial asthma (BA). The investigated circadian chronorhythms of the autochthonous and obligate microorganism forming the basis of bacterial preparations for therapies of intestinal dysbacterioses, make it possible to perform a multimodality therapy of patients with BA.

**Key words:** bronchial asthma, microecology of the large intestine, dysbacteriosis, circadian rhythms.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)