

# Intestinální mikroflóra v raném dětství – úloha při rozvoji infekčních a alergických chorob

doc. MUDr. Vojtěch Thon, Ph.D.

Ústav klinické imunologie a alergologie LF MU a FN u sv. Anny v Brně

Fyziologická střevní mikroflóra představuje komplexní ekosystém s obrovskou mikrobiální variabilitou. Gastrointestinální trakt novorozence je při narození sterilní, je však ihned kolonizován. Střevní mikroflóra zajišťuje vyhrávaní imunitního systému. Je nejvýznamnějším zdrojem mikrobiální stimulace. V předchozích letech byly nalezeny rozdíly ve střevní mikroflóře u dětí ze zemí s vysokým a s nízkým výskytem alergií. Mikrobiální deprivace v rozvinutých zemích může mít za následek nevyváženost přirozené antigenní stimulace s důsledkem redukce expozice lipopolysacharidy. Probiotika mohou imunitní odpověď fyziologicky modifikovat. Terapeutické a preventivní účinky ve vztahu k infekčním a zánětlivým chorobám dětí, včetně alergií, jsou u konkrétních probiotik doloženy.

**Klíčová slova:** střevní mikroflóra, slizniční imunitní systém, GALT, novorozenec, probiotika, alergie, infekce.

## Intestinal microflora in early infancy and its role in the course of infectious and allergic diseases

Microbiota represent a complex ecosystem with enormous microbial diversity. The gastrointestinal tract of a new born infant is sterile. Soon after birth it is colonized by numerous types of microorganisms. The gut flora is quantitatively the most important source of microbial stimulations and provides a primary signal for driving the postnatal maturation of the immune system. Over the past years, differences have been documented in the composition of the intestinal microflora between healthy infants in countries with a low and high prevalence of allergy. In developed countries slow colonization of the intestine with enterobacteria may reduce exposure to lipopolysaccharides. Microbial deprivation could be overcome by probiotics which may modify the immune development. Therapeutic or preventive effects of certain probiotics on infectious and inflammatory diseases in children are documented.

**Key words:** intestinal microflora, mucosal immune system, GALT, newborn, probiotics, allergy, infection.

Pediatr. prax, 2011, 12 (4): 150–153

## Úvod

Bakteriální flóra zažívacího traktu plní významnou roli v rámci fyziologických funkcí obrany organismu. Umožňuje udržení homeostázy a regulaci nutričního metabolismu. V případě dysbiózy se podílí na rozvoji nemocí infekčních, autoimunitních a alergických. Nejedná se o nové zjištění. Již v roce 1907 Mečnikov zdůraznil klinický význam střevní mikroflóry a rozeznal její roli pro udržení zdraví (1). Také díky českým vědcům (Šterzl, Tlaskalová, Městecký a další) a experimentálním průkazům získaným na bezmikrobních modelech je dnes zcela zřejmé, že se sliznicemi asociovaný imunitní systém (MALT) a střevní bakteriální mikroflóra tvoří nezastupitelnou integrální komponentu vývoje a účinné obrany organismu (2–4).

## Novorozenec

Na svět přicházejí novorozenci jako bezmikrobní. Během prvních hodin života mimo dělohu jsou osidlováni bakteriemi. V případě porodu per vias naturales jsou zdrojem kolonizace novorozence bakterie poševní a fekální bakteriální flóry matky a dále bakterie, které jsou v bezprostředním prostředí narozeného dítěte. V našich podmínkách se převážně jedná o porodnice. Složení střevní mikroflóry novorozence

a kojenec ovlivňují následná hygienická opatření a forma výživy – kojení (5, 6).

## Osídlení zažívacího traktu

Zažívací trakt plní nejen funkci nutriční. Je v organismu největším orgánem imunitní obrany. Klíčovým se přitom jeví vztah hostitele a mikrobiální flóry. Záhy a rychle gastrointestinální trakt osidluje *E. coli*, Enterokoky a *Enterobacter spp.*, jež jsou nalézány u novorozenců mnohdy ve vyšších koncentracích než u dospělých. Je to dáno skutečností, že aerobní a potenciálně anaerobní bakterie nacházejí vhodné prostředí na sliznici střeva novorozence. Jakmile expandují, spotřebovávají kyslík a tím umožňují anaerobním kmenům dynamicky střevo kolonizovat. Jedná se např. o *Bacteroides*, *Bifidobacterium* a *Clostridium spp.* (5, 6).

Novorozenci, u nichž byl porod proveden císařským řezem, nepřicházejí ihned do kontaktu s bakteriemi matky. Kolonizace kmeny *Bacteroides* je proto u nich opožděna. Již v 80. letech minulého století bylo prokázáno, že tato skutečnost může mít negativní souvislost s rozvojem atopického ekzému/dermatitidy v průběhu dalšího života dítěte (5, 7).

Laktobacily, které kyslík tolerují, nemusí být zachyceny během prvního měsíce života; hlavním zdrojem kolonizace může být spíše střevní

flóra matky než flóra vaginální. Od druhého měsíce života reprezentují přibližně 10 % kultivovatelných bakterií střevní flóry novorozence a kojenec (5).

Enckova rozsáhlá studie zaměřená na kultivovatelné bakterie při vyšetření tisíců dětí prokázala, že nejintenzivnější kolonizace je v prvních měsících života, s maximy kolem pěti a deseti měsíců (ukončení kojení a přestup na příkrmy), v průběhu druhého a třetího roku života klesá a zůstává stabilní až do dospělosti (5). Je pozoruhodné, že z dlouhodobého hlediska ve svém individuálním spektru není výrazně ovlivněna antibiotiky.

## Slizniční bariéra a střevní mikroflóra

U dospělého člověka představuje celková plocha zažívacího traktu přibližně 200 m<sup>2</sup> (2, 4, 8). Střevo tvoří největší bariéru mezi zevním a vnitřním prostředím organismu. Sliznice zažívacího traktu je kolonizována bakteriemi řádově v počtu 10<sup>14</sup> (tabulka 1) (2, 8). Toto závratně vysoké množství – 100 trilionů bakterií – představuje více než 1 kg hmoty mikroorganismů. Ve svém počtu přesahuje normální mikroflóra více než desetkrát celkové množství eukaryontních buněk organismu člověka, jež činí řádově 10<sup>13</sup> buněk

**Tabulka 1.** Množství mikroorganismů v jednotlivých částech zažívacího traktu

Počty mikroorganismů	
dutina ústní	$10^{10-12}$
žaludek, duodenum	$10^{5-10}$
jejunum, ileum	$10^{5-10}$
tlusté střevo	$10^{12-14}$

(tabulka 2). Diverzita komenzálních bakterií je enormní. Zahrnuje 500–1000 druhů, jež se dále dělí na jednotlivé kmeny. Laboratorně kultivovatelných je však přibližně polovina z nich (2, 9).

### Slizniční imunitní systém a jedinečnost GALT

Se sliznicemi asociovaný imunitní systém (MALT, Mucosa-associated lymphoid tissue) je unikátním způsobem uspořádán. V anatomické lokalitě zažívacího traktu se označuje zkratkou GALT (Gut-associated lymphoid tissue). Normální mikroflóra je nezbytná pro fyziologický vývoj. Je součástí přirozených mechanismů ochrany sliznice proti patogenním a virulentním mikroorganismům. Zabraňuje adhezenci a invazi patogenů přes epitelální bariéru. Také střevo samotné se tvorbou mucinu podílí na nespecifické obraně organismu. Změny ve složení a množství mucinů mohou ovlivňovat zánětlivé procesy (10), Panethovy buňky navíc produkují antimikrobiální defensiny. Buněčná spojení epitelové bariéry, která ovlivňují propustnost pevných spojů epitelových buněk pro makromolekuly, jsou regulována neuropeptidy. Mechanismů přirozené imunity se aktivně účastní fagocytující buňky (makrofágy, neutrofilové, dendritické buňky), jež také svými působky – cytokiny regulují zánětlivou odpověď. Uplatňují se zejména v indukční a v aktivační fázi imunitní reakce. Signál nebezpečí rozeznávají Toll-like receptory, lektinové receptory typu C, RIG-I-like receptory a další. Antigeny ze střevního lumen aktivně transportují M-buňky. Dendritické buňky prezentují antigeny T-lymfocytům. Jsou významné v indukci tolerance v interakci s regulačními T-lymfocyty. Produkce IL-10 a TGF-beta vede k aktivaci regulačních T-lymfocytů a k indukci orální tolerance (4, 11). Současně však patogenní mikroorganismy stimulují dendritické buňky k vyzrávání, s důsledkem následné aktivace T-lymfocytů, které se podílejí na specifické buněčné odpovědi.

Humorální složku specifické imunitní reakce na sliznicích představují především sekreční IgA protilátky. Jsou poměrně odolné k působení proteolytických enzymů. Mohou neutralizovat, zabraňují adhezenci mikroorganismů a průniku antigenů ze střeva do organismu.

**Tabulka 2.** Ekosystém sliznice zažívacího traktu (GIT)

- Řádově 100 trilionů bakterií (1 kg hmotnosti, 10x více než lidských buněk organismu)
- Velká diverzita: až 1 000 druhů; zejména anaerobní flóra
- Většina mikroorganismů GIT je přítomna v tlustém střevě (99%)
- Silný antigenní a imunomodulační tlak
- Nezasupitelná úloha při fyziologickém trávení a metabolismu
- Kompetice mikroorganismů (redukce střevních patogenů, zabránění slizniční adhezii, množení a invazi patogenních a virulentních kmenů)

### Distribuce struktur GALT

Peyerovy plaky se nachází především v distálním ileu a jsou tvořeny 5–200 lymfoidními folikuly. V embryonálním vývoji člověka jsou ve střevě od 11. gestačního týdne přítomny CD4+ dendritické buňky. Od 19. týdne lze rozlišit oblasti T- a B-lymfocytů. Zárodečná centra se však stávají zřejmá až po narození v závislosti na antigenní stimulaci, jež je spojená s folikulární hyperplázií a s tím souvisejícím zřetelným makroskopickým rozlišením Payerových plaků. Počet Payerových plaků stoupá z přibližně 50 makroskopicky rozlišitelných na počátku posledního trimestru gravidity ke stu při porodu. S věkem postupně jejich počet stoupá k přibližně 250, avšak ve stáří jich nalézáme opět řádově 100, tedy podobně jako při porodu (3).

Navíc sliznice zažívacího traktu obsahuje minimálně 30 000 izolovaných lymfoidních folikulů. Jejich počet ve střevě stoupá distálně. Jestliže zdravé jejunum obsahuje 1 folikul na 269 klků, v ileu je to již 1 folikul na 28 klků. Funkčně zde dochází k aktivační fázi imunitní reakce (3, 12).

Izolované lymfoidní folikuly tlustého střeva jsou morfoloogicky více heterogenní, někdy pronikají i do muscularis mucosae, zejména při zánětlivých procesech. Takto je častěji možné nalézt u ulcerózní kolitidy a Crohnovy choroby (3).

Slizniční imunitní odpověď GALT je zesilována ve spádových mezenterických uzlinách. Tyto však ke GALT strukturálně nezařazujeme, neboť charakteristikou slizničního imunitního systému je, že transportuje a přijímá antigen přímo z lumen prostřednictvím M buněk (3).

V rámci efektorové složky slizniční odpovědi nalézáme v lamina propria difúzně T-lymfocyty (zejména CD4+), málo B-lymfocytů a mnoho plasmablastů, produkujících sekreční IgA a IgM, a intraepitelálně T-lymfocyty, zejména CD8+. Sekreční protilátky jsou aktivně transportovány epitelii do střevního lumen, kde plní efektorovou funkci.

### „Hygienická hypotéza“ a alergie

Enormní nárůst incidence alergií ve vyspělých zemích a dalších chronických zánětlivých

civilizačních chorob ve srovnání se zeměmi chudšími vedl k vyslovení tzv. hygienické hypotézy. Zvyšující se životní standard se změnou životního stylu a zlepšováním hygienických podmínek snižuje antigenní tlak, včetně počtů infekcí u dětí. „Hygienická hypotéza“ byla publikována v roce 1989 na základě pozorování britských dětí narozených v březnu 1958, sledovaných do věku 23 let s následným vyhodnocením 16 perinatálních i sociálních faktorů, včetně faktorů prostředí, ve vztahu k rozvoji alergické rhinitidy a atopického ekzému. Vyhodnoceny byly skupiny dětí v 11 letech a poté ve 23 letech s nálezem nižšího výskytu alergií v rodinách s více sourozenci (13).

Následovaly četné studie zaměřené na odlišnosti složení střevní mikroflóry. Byly prokázány výrazné rozdíly u dětí ve vyspělých zemích při srovnání se zeměmi s nižším ekonomickým standardem. Nižší variabilita střevní mikroflóry je nalézána u dětí v zemích s vyšším socioekonomickým standardem. Mikrobiální deprivace může mít za následek nevyváženost přirozené antigenní stimulace (např. lipopolysacharidy), která je však naprosto zásadní pro fyziologický rozvoj imunitního systému. Nejedná se pouze o vzájemnou dysregulaci Th1 a Th2 odpovědi, jak bylo chápáno dříve, nýbrž o komplexní imunoregulační a efektorové mechanismy, včetně souhry Th1, Th17, Th2 a Treg buněk (14–16).

Proto je v těchto souvislostech také z důvodu zásadního snížení počtu infekcí bezpečným očkováním (17) intenzivně studována možnost pozitivního ovlivnění mikrobiální střevní flóry probiotiky (18–21). Výsledky jsou u některých z nich, včetně nepatogenního kmene *E. coli*, povzbudivé. Bylo dokumentováno pozitivní ovlivnění a snížení výskytu alergií v atopické populaci (4, 8, 18–21). Unikátní český kmen *E. coli* O83:K24:H31 se vyznačuje vysokou adhezivní schopností díky fimbriím typu 1, dokáže sliznici osídlit a střevní flóru normalizovat. Jeho bezpečnost a imunomodulační aktivita byla testována na bezmikrobních modelech. Původní indikaci pro průjmová onemocnění především u nedonošených

**Tabulka 3.** Etiologické faktory nekrotizujúcej enterokolitidy (NEC)

**Střevní ischemie** (cirkulační poruchy a slizniční poškození v důsledku hypotenze a hypoxemie z důvodů dechových poruch)

**Perorální výživa** (metabolické substráty, vysoká osmolarita, zánět)

**Vliv patogenní mikroflóry** (*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus epidermidis*, rotaviry)

novorozenců je možné rozšířit, a to i s ohledem na atopickou populaci (21). Z imunologického hlediska a fenoménu orální tolerance je vhodné preventivní podání včas, dokud ještě není slizniční tolerance prolomena.

**Akutní průjmy**

U akutních průjmových onemocnění také probiotika redukuje tíži a délku virových i bakteriálních průjmů. Metaanalýza 34 randomizovaných klinických studií zaměřená na účinnost probiotik prokázala signifikantní redukci rizika průjmů u dětí o 57 %, což je více než u dospělých, kde byl pokles o 26 % (22).

Protektivní efekt v těchto studiích byl pozorován u řady probiotických kmenů, jako jsou *B. lactis*, *L. rhamnosus* (GG), *L. acidophilus*, *S. boulardii* a další (22).

Také u průjmů vyvolaných v souvislosti s antibiotickou léčbou byl v randomizovaných kontrolovaných studiích prokázán efekt probiotik. Riziko těchto průjmů pokleslo z 28,5 % na 11,9 % (19).

**Neonatální nekrotizující enterokolitida (NEC)**

Nekrotizující enterokolitida je život ohrožující akutní stav v novorozeneckém období. Incidence a fatální průběh u předčasně narozených novorozenců se zvyšuje s nízkou porodní hmotností a s časným gestačním věkem. U dětí s velmi nízkou porodní hmotností pod 1,5 kg je NEC komplikací více než v 70 %. Nástup je akutní. Nevyzrálость zažívacího traktu je typická u všech případů. Jedním z etiologických faktorů rozvoje NEC může být přítomnost patogenních mikroorganizmů (tabulka 3).

Poslední provedené metaanalýzy u 1425, resp. 2176 dětí prokázaly, že probiotika snižují riziko těžkého průběhu NEC a mortalitu u předčasně narozených dětí (23, 24). Aplikace probiotik v současné době náleží k preventivním opatřením u novorozenců s velmi nízkou porodní hmotností (20).

**Regulace nutričního metabolismu**

Normální mikroflóra je převážně „sacharolytická“ a je zastoupena velkým množstvím bifidobakterií a laktobacilů. Významným způsobem reguluje nutriční metabolismus. Umožňuje štěpení řady jinak ze střeva nevstřebatelných produktů. Komplexní polysacharidy jsou degradovány na mastné kyseliny s krátkými řetězci a na monosacharidy. Metabolismus bakterií umožňuje také produkci vitaminů a moduluje imunitní odpověď (2, 16).

**Závěr**

Spektrum střevní mikroflóry získané v raném dětství má zásadní význam pro celkový vývoj organismu. Bakteriální kolonizace iniciuje vyzrání imunitního systému a stimuluje mechanismy obrany. Prostřednictvím slizničního imunitního systému (GALT) ovlivňuje jak vrozenou, tak získanou imunitu a slizniční toleranci.

Fyziologická mikroflóra a v terapeutické aplikaci také probiotika mají prokázány pozitivní účinek při prevenci a zvládnání infekčních průjmů. Redukují riziko u nekrotizující enterokolitidy, mitigují průjmy asociované s antibiotickou léčbou a moduluje imunitní odpověď v atopickém a autoimunitním terénu. Podávání probiotik je individuální, vždy musí být u konkrétního pacienta zvažena bezpečnost léčebné aplikace.

**Literatura**

1. Metchnikoff E. *The Prolongation of Life: Optimistic Studies*. London: G. P. Putnam and Sons; 1907.
2. Tlaskalova-Hogenova H, Tuckova L, Mestecky J, et al. Interaction of mucosal microbiota with the innate immune system. *Scand J Immunol*. 2005; 62(Suppl 1): 106–113.
3. Brandtzaeg P, Kiyono H, Pabst R, Russell MW. Terminology: nomenclature of mucosa-associated lymphoid tissue. *Mucosal Immunol*. 2008; 1(1): 31–37.
4. Tlaskalová-Hogenová H, Stěpánková R, Kozáková H, et al. The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases. *Cell Mol Immunol*. 2011; 8(2): 110–120.
5. Enck P, Zimmermann K, Rusch K, et al. The effects of maturation on the colonic microflora in infancy and childhood. *Gastroenterol Res Pract*. 2009; 2009: 1–7.

6. Adlerberth I, Wold AE. Establishment of the gut microbiota in Western infants. *Acta Paediatr*. 2009; 98(2): 229–238.
7. Bennet R, Nord CE. Development of the faecal anaerobic microflora after caesarean section and treatment with antibiotics in newborn infants. *Infection* 1987; 15(5): 332–336.
8. Björkstén B. Effects of intestinal microflora and the environment on the development of asthma and allergy. *Springer Semin Immunopathol*. 2004; 25(3–4): 257–270.
9. Harmsen HJ, Raangs GC, He T, et al. Extensive set of 16S rRNA-based probes for detection of bacteria in human feces. *Appl Environ Microbiol*. 2002; 68(6): 2982–2990.
10. Linden SK, Sutton P, Karlsson NG, et al. Mucins in the mucosal barrier to infection. *Mucosal Immunol*. 2008; 1(3): 183–197.
11. Barnes MJ, Powrie F. Regulatory T cells reinforce intestinal homeostasis. *Immunity* 2009; 31(3): 401–411.
12. Moghaddami M, Cummins A, Mayrhofer G. Lymphocyte-filled villi: comparison with other lymphoid aggregations in the mucosa of the human small intestine. *Gastroenterology* 1998; 115(6): 1414–1425.
13. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ* 1989; 299 (6710): 1259–1260.
14. Akdis CA, Akdis M. Mechanisms and treatment of allergic disease in the big picture of regulatory T cells. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 123(4): 735–746.
15. Rook GA. Hygiene and other early childhood influences on the subsequent function of the immune system. *Dig Dis*. 2011; 29(2): 144–153.
16. Sharma R, Young C, Neu J. Molecular modulation of intestinal epithelial barrier: contribution of microbiota. *J Biomed Biotechnol*. 2010; 2010: 305–879.
17. Thon V. Imunologické principy bezpečného očkování dětí. *Pediatr. praxi* 2010; 11(6): 354–357.
18. Parracho H, McCartney AL, Gibson GR. Probiotics and prebiotics in infant nutrition. *Proc Nutr Soc*. 2007; 66(3): 405–411.
19. Saavedra JM. Use of probiotics in pediatrics: rationale, mechanisms of action, and practical aspects. *Nutr Clin Pract*. 2007; 22(3): 351–365.
20. Deshpande G, Rao S, Patole S. Progress in the field of probiotics: year 2011. *Curr Opin Gastroenterol*. 2011; 27(1): 13–18.
21. Lodinová-Zádníková R, Prokesová L, Kocourková I, et al. Prevention of allergy in infants of allergic mothers by probiotic *Escherichia coli*. *Int Arch Allergy Immunol*. 2010; 153(2): 201–206.
22. Sazawal S, Hiremath G, Dhingra U, et al. Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked, randomised, placebo-controlled trials. *Lancet Infect Dis*. 2006; 6(6): 374–382.
23. Alfaleh K, Anabrees J, Bassler D. Probiotics reduce the risk of necrotizing enterocolitis in preterm infants: a meta-analysis. *Neonatology* 2010; 97(2): 93–99.
24. Deshpande G, Rao S, Patole S, et al. Updated meta-analysis of probiotics for preventing necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *Pediatrics* 2010; 125(5): 921–930.

**doc. MUDr. Vojtěch Thon, Ph.D.**  
 Ústav klinické imunologie a alergologie  
 LF MU a FN u sv. Anny v Brně  
 Pekařská 53, 656 91 Brno  
 vojtech.thon@fnusa.cz

