



УДК 616.345-008.87-053.31

FORMATION OF THE MICROBIOME OF THE COLON IN NEWBORN CHILDREN

ФОРМУВАННЯ МІКРОБІОМУ ТОВСТОГО КИШКІВНИКА У НОВОНАРОДЖЕНИХ ДІТЕЙ

Mikheev A.A. / Міхєєв А.О.*PhD, associate professor / к.б.н., доцент*

ORCID: 0000-0003-2163-8866

Sydorchuk L.I. / Сидорчук Л.І.*PhD, associate professor / к.мед.н., доцент*

ORCID: 0000-0003-1275-1867

Dzhuryak V.S. / Джуряк В.С.*PhD, associate professor / к.б.н., доцент*

ORCID: 0000-0002-8810-3164

Blinder O.O. / Бліндер О.О.*PhD, associate professor / к.мед.н., доцент*

ORCID: 0000-0002-5855-5549

Sydorchuk I.Y. / Сидорчук І.Й.*MD, professor / д.мед.н., професор*

ORCID: 0000-0002-9494-1041

Bukovinian State Medical University,

2, Theatralna sq., Chernivtsi-city, 58002

Буковинський державний медичний університет,

Театральна площа, 2, м. Чернівці, 58002

Анотація: Показано, що мікробіом товстої кишки новонароджених дітей (8-90 днів) формується із головної мікробіоти (облігатні анаеробні бактерії, факультативні анаеробні та аеробні бактерії), додаткової (облігатні анаеробні бактерії) та випадкової (облігатні анаеробні бактерії, факультативні аеробні Ентеробактерії, а також *C. albicans*, *S. vini* та інші). За таксономічним складом, популяційним рівнем, мікро-екологічними показниками екосистеми «макроорганізм-мікробіом» у мікробіоті товстої кишки дітей віком 8-90 днів домінують бактерії типу *Firmicutes*, а також типу *Bacteroides* та типу *Actinobacteria*. Провідну функціональну (захисну, метаболічну та ін.) роль у бактерій типу *Firmicutes* відіграють бактерії роду *Lactobacillus*, які проявляють широкий спектр антагоністичної дії стосовно первинно патогенних та умовно патогенних Ентеробактерій, стафілококів та Кандид. Вони інгібують ріст та розмноження патогенних та умовно патогенних бактерій залежно від тест-штаму.

Ключові слова: діти 8-90 днів від народження, товста кишка, мікробіом, лактобактерії.

Вступ. У товстій кишці практично здорових дорослих людей переважають бактерії, що належать до наступних типів: *Firmicutes* (65-80%), *Bacteroides* (біля 23%), *Actinobacteria* (біля 3%), *Proteobacteria* (1%), *Verrucomicrobiota* (0,1%) та ін. [1]. Представники *Firmicutes* та *Actinobacteria* належать до грампозитивних бактерій, інші типи – переважно грамнегативні.



Мікрофлора товстого кишківника та організм людини упродовж життя взаємодіють за рахунок мутуалістичних зв'язків – кишківник є комфортним захисним середовищем для росту та розмноження і забезпечує мікробіом джерелами енергії, а мікробіота при цьому сприяє підтримці гомеостазу в цілому. На таксономічний склад мікробіоти людини суттєво впливають раціон харчування та індивідуальні параметри ШКТ: рН, кислотність шлункового соку, активність продукції жовчних кислот, час транзиту харчів, біохімічний склад слизу, прийом лікарських засобів різного механізму дії та інші.

Симбіоз людини з мікробіотою представляє собою динамічну розвинуту біосистему, яка є надчутливим індикатором і реагує на будь-які зміни як екзогенного, так і ендогенного характеру у процесі його розвитку, зростання і старіння. Починаючи з внутрішньоутробного періоду розвитку – перший контакт плоду з мікробіотою матері, симбіотичні мікроорганізми вступають з макроорганізмом в складні взаємовідношення. Як підсумок виникає полі-таксономічна мікробна екосистема «макроорганізм-мікробіом», що упродовж життя людини стає його невід'ємною частиною [2, 3]. Вікові зміни таксономії та популяційного рівня мікробіоти у значній мірі залежать умов і способу життя, раціону харчування та багатьох інших факторів [4].

Перші місяці після народження є досить критичним періодом у розвитку організму людини і характеризуються зниженою резистентністю до екзогенної мікробіоти, схильністю до гнійно-запальних процесів та септичних станів, з високою чутливістю до вірусної інфекції. При цьому фізіологічна значущість мікробіому, зокрема Лактобактерій, для організму людини має виняткове значення для екосистеми «макроорганізм-мікробіом» та доведена, що не викликає сумнівів [5, 6, 7, 8, 9]. Водночас, формування мікробіому товстої кишки новонароджених дітей (8-90 днів) Північної Буковини до сьогодні залишається практично не вивченим.

Метою дослідження було вивчення популяційного рівня, таксономічного складу, а також основних мікроекологічних показників екосистеми «макроорганізм-мікробіом» мікробіоти товстої кишки у новонароджених дітей



(від 8 до 90 днів) та встановлення ролі бактерій роду *Lactobacillus* у формуванні їх мікробіому.

Матеріали і методи дослідження. Для мікробіологічного дослідження таксономічного складу мікробіому товстої кишки використовували свіжі фекалії 126 дітей віком від 8 до 90 днів життя ($48,91 \pm 5,77$ днів), серед яких було 65 дівчат та 61 хлопчик. До початку взяття клінічного матеріалу діти були оглянуті лікарем-педіатром, який і брав проби. Ізоляцію та ідентифікацію виділених штамів мікроорганізмів кишкового мікробіому та, зокрема, Лактобактерій, з визначенням їх популяційного рівня і мікроекологічних показників екосистеми «макроорганізм-мікробіом» мікробіоти товстої кишки проводили за методами, описаними у попередніх роботах [10].

Антагоністичну активність Лактобактерій стосовно патогенних та умовно-патогенних бактерій визначали у змішаних культурах методом сумісного культивування у стерильному молоці. При цьому було використано добові культури мікроба-антагоніста та 18-20 годинні культури тест-штаму, що містили по 2 мільярди клітин згідно оптичного стандарту мутності. Інкубування виконували упродовж доби за температури 37 °С. Опісля робили посіви тест-штамів на оптимальні тверді середовища із приготуванням 10-ти кратних розведень, а через 24 години підраховували типові колонії тест-штамів. Число бактеріальних клітин, які вижили у досліді стосовно до числа живих клітин (що формують колонії) в контролі виражали у відсотках та розраховували за формулою: $A=100-(D \times 100)/K$, де D - число клітин, що вижили, K – число клітин контролю.

Опрацювання результатів досліджень проводили з використанням загальноприйнятих статистичних методів. Варіаційно-статистичну обробку результатів здійснювали з використанням програмного пакета для персональних комп'ютерів Microsoft Excel. Визначали основні статистичні показники: M – середнє арифметичне значення; $\pm m$ статистична похибка; n - кількість дослідів у кожному випадку. Достовірність змін встановлювали за t -критерієм Ст'юдента ($p < 0,05$).

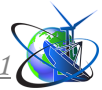


Результати дослідження та їх обговорення. Товста кишка є основним резервуаром симбіотичної мікробіоти як дорослої людини, так і дитини різного віку, в тому числі і дітей віком від 8 до 90 днів – у першому критичному періоді становлення імунної системи та в період народжуваності (табл. 1).

Мікробіом біотопу товстої кишки новонароджених дітей (8-90 днів) формується із домінуючої, додаткової та випадкової мікробіоти. Згідно визначених показників: таксономічний склад, популяційний рівень, індексами постійності, частоти зустрічання, видового багатства Маргалефа, різноманіття Уїттекера та домінування Сімпсона, Бергера-Паркера, а також з врахуванням популяційного рівня таксону, коефіцієнтів кількісного домінування, значущості та участі у саморегуляції стану мікробіому домінуюча мікробіота у дітей 8-90 днів від народження представлена облігатними анаеробними бактеріями родів *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, а також факультативними анаеробними та аеробними бактеріям родів *Escherichia* і *Staphylococcus*. Відповідно до цих же показників – додаткова формується бактеріями родів *Proteus* та *Propionibacterium*, а випадкова, відповідно, представлена облігатними анаеробними *P. niger*, *Clostridium* та аеробними *E. coli* Hly+, *C. freundii*, *H. alvei*, *S. marcescens*, *C. albicans* та *S. vini*. Проаналізувавши таксономічний склад, популяційний рівень, мікроекологічні показники екосистеми «організм дитини-мікробіом» мікробіоти товстої кишки у цих дітей нами було встановлено домінування бактерії типу *Firmicutes* (54%), до типу *Bacteroides* належать 27%, а 19% – до типу *Actinobacteria*.

Це вказує на те, що мікробіом товстої кишки продовжує формуватися і його показники мають стабільну тенденцію до розвитку мікробіому за типами *Firmicutes* та *Bacteroides*. У даному періоді життя дітей ці типи складають майже 81%, водночас у здорових дорослих – це 65-90%. Провідну роль серед бактерій типу *Firmicutes* відіграють бактерії роду *Lactobacillus* (табл. 2).

Встановлено, що тип *Firmicutes* складає ряд таксонів *Lactobacillus*, зокрема це *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. helveticus*, а також частково *L. gassei* та *L. fermentum*. Провідним таксоном відповідно є *L. acidophilus*, який за складом,



популяційним рівнем та мікроекологічними показниками перевищує інших представників роду в біотопі.

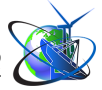
Таблиця 1 - Таксономічний склад і мікроекологічні показники мікробіоти товстої кишки у дітей до трьох місяців (n=126)

Таксони	Ізольовано штамів	Індекс постійності (%)	Частота зустрічання	Індекс видового			
				Багатства Маргалєфа	Різноманіття Уїткєра	Домінування	
						Сімпсона	Бєргєра- Паркєра
Облігатні анаеробні бактерії							
<i>Bifidobacterium spp.</i>	126	100,00	0,15	0,15	18,89	0,023	0,151
<i>Lactobacillus spp.</i>	126	100,00	0,15	0,15	18,89	0,023	0,151
<i>Bacteroides spp.</i>	126	100,00	0,15	0,15	18,89	0,023	0,151
<i>Propionibacterium spp.</i>	31	24,60	0,04	0,04	4,65	0,001	0,037
<i>Clostridium spp.</i>	14	11,11	0,02	0,02	2,10	<0,001	0,017
<i>Peptococcus niger</i>	79	23,02	0,03	0,03	4,35	0,001	0,035
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	97	76,98	0,12	0,11	14,54	0,013	0,116
Факультативні анаеробні та аеробні мікроорганізми							
<i>Escherichia coli</i>	126	100,00	0,15	0,15	18,86	0,023	0,151
<i>E. coli Hly+</i>	28	22,22	0,03	0,03	4,20	0,001	0,033
<i>Proteus mirabilis</i>	29	23,02	0,03	0,03	4,35	0,001	0,035
<i>P. vulgaris</i>	3	2,38	<0,01	<0,01	0,45	<0,001	0,004
<i>Hafnia alvei</i>	1	0,79	<0,01	-	0,15	-	0,001
<i>Citrobacter freundii</i>	1	0,79	<0,01	-	0,15	-	0,001
<i>Serratia marcescens</i>	1	0,79	<0,01	-	0,15	-	0,001
<i>Staphylococcus spp.</i>	96	76,19	0,11	0,11	14,39	0,013	0,115
<i>Candida spp.</i>	2	1,59	<0,01	<0,01	0,30	-	0,002
<i>Sacharomyces vini</i>	1	0,79	<0,01	-	0,15	-	0,001



Таблиця 2 - Видовий склад мікробіому товстої кишки бактерій роду *Lactobacillus* у дітей віком 8-90 днів

	Ізольовано штамів	Індекс постійності (%)	Частота зустрічання	Індекс видового				Популяційний рівень в ІгКУО/г (M±m)	Коефіцієнт кількісного домінування	Коефіцієнт значущості	Рівень участі у саморегуляції мікробіому
				Багатства Маргалєфа	Різноманіття Уїттекера	домінування					
						Сімпсона	Бергера-Паркера				
<i>Lactobacillus</i>	126	100,00	0,15	0,15	20,45	0,023	0,151	7,34±0,31	119,16	0,18	157,43
<i>L. acidophilus</i>	86	63,25	0,10	0,10	13,96	0,011	0,103	9,07±0,34	84,34	0,12	91,80
<i>L. casei</i>	15	11,90	0,02	0,02	2,44	0,0003	0,018	8,05±0,25	13,05	0,02	2,10
<i>L. plantarum</i>	10	7,94	0,01	0,01	1,62	0,0001	0,012	7,31±0,87	7,91	0,01	0,58
<i>L. helveticus</i>	10	7,94	0,01	0,01	1,62	0,0001	0,012	6,87±0,18	7,43	0,01	0,51
<i>L. gassei</i>	3	2,38	0,004	0,002	0,49	-	0,004	6,72±0,09	2,18	0,004	0,06
<i>L. fermentum</i>	2	1,29	0,002	0,001	0,32	-	0,002	6,02±0,11	1,30	0,002	0,02



Широта фізіологічних функцій Лактобацил мікробіоти товстої кишки досить велика – мають повноцінний набір захисних властивостей, що дозволяє їм успішно конкурувати як з патогенними, так і умовно-патогенними ентеробактеріями та іншими патогенами. Нами було вивчено спектр антагоністичної активності *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. helveticus* за умов сумісного культивування у стерильному молоці з наступним визначенням інгібуючої дії Лактобацил за популяційним рівнем тест-штаму після завершення культивування через 18 год (табл. 3).

Встановлено, що Лактобактерії товстого кишківника у дітей віком 8-90 днів проявляють широкий спектр антагонізму стосовно первинно патогенних (*S. sonnei*, *S. flexneri*, *S. typhi*, *S. typhimurium*) та умовно патогенних (*S. aureus*, *MRSA*, *C. freundii*, *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*, протеїв та ін.) бактерій, а також грибів роду *Candida*. Найвищий рівень антагоністичної дії *L. acidophilus* – стосовно *V. metchnikovii*, дещо нижча активність стосовно первинно патогенних *S. typhimurium*, *S. typhi*, *C. freundii*, *H. alvei*, *S. aureus* та *S. flexneri*. Низька антагоністична активність *L. acidophilus* проявилася стосовно *K. pneumoniae* та еталонного штаму *P. vulgaris*.

Не дивлячись на відсутність вірогідної різниці в антагонізмі ($p > 0,05$), бактерії роду *Lactobacillus* проявляють високу (від 52% до 92%) активність відносно еталонних та клінічних тест-штамів патогенних та умовно-патогенних бактерій та проявляють захисну функцію з формуванням колонізаційної резистентності слизової оболонки товстої кишки дітей перших трьох місяців після народження.



Таблиця 3 - Антагоністична активність бактерій роду *Lactobacillus* у мікробіомі дітей

Показники активності Тест-штами	К-сть штамів	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. helveticus</i>
		Рівень пригнічення росту тест-штаму (%)			
<i>Staphylococcus aureus</i> 209	1	69,32±3,91	64,87±4,67	61,14±4,12	63,78±4,09
MRSA	7	68,43±3,74	65,14±4,24	63,27±4,17	64,19±3,61
<i>Streptococcus faecalis</i>	1	68,54±3,92	69,71±4,11	65,28±4,21	57,19±3,91
<i>Escherichia coli</i> K12	1	63,37±4,21	60,27±3,81	54,27±3,71	64,21±3,62
<i>Shigella sonnei</i> 941	1	62,35±2,97	60,73±3,11	59,81±3,42	57,77±3,51
<i>S. flexneri</i> 516	1	68,94±3,47	57,47±4,17	67,97±3,27	60,26±3,37
<i>Salmonella typhi</i> Ty-2	1	81,32±4,91	61,67±3,29	73,18±4,04	67,24±3,53
<i>S. typhimurium</i> 415	1	83,41±4,37	56,57±2,81	79,29±4,18	69,17±3,71
<i>Citrobacter freundii</i> 370	1	78,83±4,42	64,43±3,69	79,21±4,51	67,87±3,74
<i>Enterobacter aerogenes</i> 3/43	1	62,27±3,73	54,37±3,74	70,18±4,37	68,98±3,54
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 5050	1	52,19±3,93	47,19±2,94	59,11±4,03	60,07±3,17
<i>Serratia marcescens</i> 1266	1	64,36±3,44	59,83±3,37	62,29±4,07	61,71±3,49
<i>Hafnia alvei</i>	1	73,34±4,17	51,74±3,47	69,61±3,51	62,34±3,42
<i>Proteus vulgaris</i> 296	1	54,93±2,69	59,46±5,41	61,17±4,23	60,07±3,19
<i>P. mirabilis</i>	1	61,34±3,17	49,84±6,17	64,19±3,43	53,49±3,21
<i>Vibrio metchnikovii</i>	1	92,35±3,37	77,73±2,87	89,93±2,97	87,78±3,43
<i>Candida albicans</i>	1	63,73±4,94	38,74±3,12	51,63±3,31	47,79±3,46

Примітка: MRSA – methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Висновки:

1. Мікробіом товстої кишки дітей віком від 8 до 90 днів формується із головної мікробіоти – облігатні анаеробні *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*,



Bacteroides і *Peptostreptococcus*, факультативні анаеробні та аеробні *Escherichia*, *Staphylococcus*; додаткової – облигатні анаеробні *Propionibacterium* та *Proteus*; та випадкової – облигатні анаеробні *Clostridium*, *P. niger* і факультативні аеробні *C. freundii*, *E. coli* Hly+, *H. alvei*, *S. marcescens*, а також *C. albicans* та інші.

2. Відповідно до показників таксономічного складу, популяційного рівня, мікроекологічним показникам (індекси постійності, частоти зустрічання, видового багатства Маргалефа, різноманіття Уїттекера, домінування Сімпсона, Бергера-Паркера, коефіцієнти кількісного домінування і значущості) у дітей віком 8-90 днів домінують (54%) бактерії типу *Firmicutes*, 27% належать до типу *Bacteroides* та 19% – до типу *Actinobacteria*.

3. Провідну функціональну роль серед бактерій типу *Firmicutes* відіграють бактерії роду *Lactobacillus*, зокрема *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. helveticus*, *L. gassei* і *L. fermentum*.

4. Виділені з порожнини товстої кишки дітей Лактобацили проявляють широкий спектр антагоністичної дії відносно первинно патогенних та умовно-патогенних Ентеробактерій, Стафілококів, Кандид та ін.. Їх антагоністична активність вірогідно не відрізняється ($p > 0,05$) з широким спектром інгібування від 52% до 92% залежно від тест-штаму.

Література.

1. Климнюк, С. І., & Романюк, Л. Б. (2024). Деякі особливості мікробіому людини. Інфекційні хвороби, (4), 33-42.
2. Guarino, A., Wudy, A., Basile, F., Ruberto, E., & Buccigrossi, V. (2012). Retraction: Composition and roles of intestinal microbiota in children. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 25(sup1), 63-66.
3. Bsted, A. C., Logan, A. C., & Selhub, E. M. (2013). Intestinal microbiota, probiotics and mental health: from Metchnikoff to modern advances: Part II—contemporary contextual research. *Gut Pathogens*, 5, 1-14.
4. Ширококов, В. П., & Димент, Г. С. (2024). Роль мікробіому в патогенезі інфекційних захворювань. Інфекційні хвороби, (4), 19-32.



5. Сокальська, Г., & Крістіан, Е. (2024). Роль мікробіоти для здоров'я людини. *Universum*, (11), 70-77.
6. Manos, J. (2022). The human microbiome in disease and pathology. *Apmis*, 130(12), 690-705.
7. Shanahan, F., Ghosh, T. S., & O'Toole, P. W. (2021). The healthy microbiome—what is the definition of a healthy gut microbiome?. *Gastroenterology*, 160(2), 483-494.
8. Averina, O. V., Poluektova, E. U., Marsova, M. V., & Danilenko, V. N. (2021). Biomarkers and utility of the antioxidant potential of probiotic lactobacilli and bifidobacteria as representatives of the human gut microbiota. *Biomedicines*, 9(10), 1340.
9. Heczko, P. B., Giemza, M., Ponikiewska, W., & Strus, M. (2024). Importance of Lactobacilli for human health. *Microorganisms*, 12(12), 2382.
10. Міхеєв А.О., Сидорчук Л.І., Гаврилюк О.І., Джурык В.С., Бліндер О.О., Сидорчук І.Й. Особливості мікробіому товстої кишки у білих шурів за умов експериментального гіпотиреозу. *Modernization of today's science: experience and trends: collection of scientific papers «SCIENTIA» with Proceedings of the III International Scientific and Theoretical Conference, February 24, 2023. Singapore, Republic of Singapore: European Scientific Platform. Pp. 275-279.*

Abstract: *It has been shown that the colonic microbiome of newborns (8-90 days) is formed from the main microbiota (obligate anaerobic bacteria, facultative anaerobic and aerobic bacteria), additional (obligate anaerobic bacteria) and adventitious (obligate anaerobic bacteria, facultative aerobic Enterobacteriaceae, as well as C. albicans, S. vini and others). According to the taxonomic composition, population level, micro-ecological indicators of the "macroorganism-microbiome" ecosystem, the colonic microbiota of children aged 8-90 days is dominated by bacteria of the Firmicutes type, as well as the Bacteroides type and the Actinobacteria type. The leading functional (protective, metabolic, etc.) role in the bacteria of the Firmicutes type is played by bacteria of the genus Lactobacillus, which exhibit a wide range of antagonistic effects against primarily pathogenic and conditionally pathogenic Enterobacteriaceae, staphylococci and Candida. They inhibit the growth and reproduction of pathogenic and conditionally pathogenic bacteria depending on the test strain.*

Keywords: *children 8-90 days from birth, colon, microbiome, lactobacteria.*

Статтю надіслано: 07.10.2025 р.

© Міхеєв А.О., Сидорчук Л.І., Джурык В.С., Бліндер О.О., Сидорчук І.Й.