



**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI  
FARMACIE  
FACULTATEA DE MEDICINĂ GENERALĂ**



---

# **EFICIENȚA ASOCIERII PROBIOTICELOR ÎN TRATAMENTUL ETIOPATOGENIC AL ENTEROCOLITEI ACUTE LA SUGAR ȘI COPILUL MIC**

**TEZĂ DE DOCTORAT  
REZUMAT**

Conducător științific:

Prof.Univ.Dr. FLORICA POPESCU

Student - Doctorand:

LIANA VIAȘU-BOLOCAN

CRAIOVA

2014

## Introducere

Diareea infecțioasă este o boală în care disfuncția barierei intestinale joacă un rol important. Este definită ca diaree datorată unei infecții bacteriene, virale sau parazitare a tractului gastro-intestinal, emisia a cel puțin 3 scaune apoase, în cantitate mare într-o zi. Caracterul acut al diareei este definit prin evoluția acestei boli în cel mult 2 săptămâni de la debut.

Diareea acută mai poate fi definită ca o malabsorbție temporară a apei, electroliților și a unor principii alimentare (oligozaharide și grăsimi) ducând la evacuarea accelerată a conținutului intestinal, care se soldează cu pierdere ponderală.

Episoadele de diaree sunt o problemă majoră de sănătate la copii la nivel mondial; incidența bolilor diareice a rămas neschimbată în ultimii zece ani, fiind evaluată la 3,2 episoade pe copil pe an. În țările în curs de dezvoltare bolile diareice sunt asociate cu un risc crescut de mortalitate și, astfel, reprezintă o preocupare majoră.

Utilizarea probioticelor pentru modularea florei bacteriene intestinale a fost propusă de mulți ani și există în literatura de specialitate variate studii care o susțin în prevenirea și tratarea diferitelor tulburări gastro-intestinale: diareea de etiologie virală sau bacteriană (inclusiv *Clostridium difficile*) și cea asociată tratamentului antibiotic, gastroenterita cauzată de *Helicobacter pylori*, deficitul de maltază, intoleranța la lactoză, boala inflamatorie cronică a intestinului, colonul iritabil.

Unele efecte ale probioticelor asupra funcțiilor normale sau patologice ale organismului sunt bine documentate și utilizarea acestora, fie singure, fie în asociere cu alte tratamente, pot fi considerate dovezi ale eficacității lor.

Modificările florei microbiene intestinale în urma schimbărilor dietetice pot afecta sistemul imun al mucoasei. Bacteriile din tractul digestiv formează o barieră protectoare, care împiedică colonizarea cu germeni patogeni. Această barieră poate fi afectată în diferite circumstanțe patologice sau în tratamente antibiotice nejudicioase și se consideră că ea se poate reface prin ingestia de bacterii vii, chiar dacă ele colonizează intestinul temporar (ceea ce impune consumul lor regulat). În plus, față de efectul de barieră, mulți metaboliți ai bacteriilor lactice pot inhiba creșterea germenilor patogeni.

Rezultatele studiilor efectuate pe animale și pe oameni susțin conceptul că bacteriile lactice exercită efecte imunomodulatoare, deși există puține studii la om. Până în momentul de față, per total, concluziile studiilor privind efecte imunologice ale bacteriilor lactice susțin ipoteza

potrivit căreia consumul de bacterii lactice poate modula răspunsul imun, care la rândul său crește rezistența la bolile mediate imun.

Administrarea lactatelor acide și bacteriilor lactice conduce la vindecarea gastroenteritelor moderate sau diminuează simptomatologia specifică, inclusiv la sugari și copiii mici. Efectele variază însă mult în funcție de specia și de produsul folosit, ca și de bacteria patogenă. Cele mai bune rezultate s-au obținut cu *L. acidophilus* NCFB 1748, *johnsoni*, *rhamnosus* GG, *casei* Shirota, cu *Bifidobacterium lactis* și cu *Enterobacter faecium*. Germenii patogeni asupra cărora efectele au fost cele mai favorabile au fost *E.coli* patogen, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus*, rotavirus și mulți alții.

Cercetările au demonstrat că probioticele ajută la reducerea:

- simptomelor de balonare și diaree în cazurile de intoleranță la lactoză;
- diareei ca efect secundar al administrării antibioticelor;
- acutizarilor bolilor intestinale inflamatorii, care determină diaree și durere abdominală;
- inflamației ileonului la pacienții care au suferit îndepărtarea chirurgicală a unei porțiuni din colon.

În majoritatea cazurilor, probioticele sunt folosite pentru profilaxia diareei determinată de antibiotice. Antibioticele omoară, pe lângă bacteriile care determină apariția unei boli, și bacteriile benefice ale tubului digestiv. O scădere a bacteriilor benefice poate duce la diaree. Administrarea unor suplimente probiotice (sub forma de capsule, pudra sau lichid) poate ajuta la înlocuirea bacteriilor benefice pierdute și astfel poate fi prevenită diareea. Scăderea bacteriilor benefice poate conduce la dezvoltarea altor infecții, precum, candidoza vaginală și infecții ale tractului urinar.

De departe, cel mai bune rezultatele clinice s-au obținut prin folosirea probioticelor în diareea acută la copil. Un număr mare de studii au documentat utilizarea terapeutică a probioticelor ca suplimente la debutul bolii. Majoritatea studiilor au inclus diverse specii de *Lactobacillus*, printre care cel mai utilizat a fost *L rhamnosus* (GG). Eficacitatea *L rhamnosus* (GG) a fost dovedită, în special, atunci când este administrat ca supliment în cursul diareei cu Rotavirus. Efectul cel mai important raportat a fost o reducere a duratei de boală. A fost luată în calcul și reducerea incidenței bolii diareice acute. Mai multe studii, cu diferite niveluri de importanță, au documentat o reducere a incidenței sau a severității diareei acute prin folosirea bifidobacteriilor, în principal *B lactis*, și a lactobacililor, în principal, *L rhamnosus* (GG).

Cuvinte cheie: probiotice, lactobacili, bifidobacterii, enterocolita acută, intereukine, imunoglobuline.

## **Scopul lucrării**

Studiul își propune să evidențieze influența completării tratamentului enterocolitei acute la sugar și copilul mic cu probiotice, urmărind pe parcursul evoluției bolii modificarea simptomatologiei și variația valorilor parametrilor paraclinici.

Scopul acestei cercetări este de a dovedi influența benefică a asocierii probioticelor în tratamentul enterocolitei acute, urmărindu-se evoluția unor parametrii clinici și paraclinici.

Pentru realizarea scopului propus se va urmări realizarea următoarelor obiective specifice:

- Stabilirea loturilor de studiu și realizarea unei baze de date, identificându-se principalii parametrii de interes: sex, vârstă, antecedente personale fiziologice și patologice, antecedente heredo-colaterale, istoricul bolii, diagnosticul clinic prezumtiv.

- Identificarea parametrilor clinici și de laborator: numărul și frecvența zilnică a scaunelor, aspectul lor, coprocitograma, coprocultura, hemoleucograma (HLG), PCR și valorile în ser ale IgA, IL10, TNF $\alpha$ .

Se vor realiza corelații și asocieri între parametrii studiați și rezultatele investigațiilor, cu stabilirea celor semnificative statistic, folosindu-se diferite programe statistice. În final se vor elabora concluzii în ceea ce privește asocierea probioticelor la tratamentul etiopatogenic al diareei acute.

## **Obiective**

Prin studiul de față dorim să evaluăm influența pozitivă a asocierii probioticelor la tratamentul etiopatogenic al enterocolitei acute, asupra duratei de spitalizare și asupra evoluției simptomatologiei. De asemenea, urmărim analiza factorilor de risc în apariția episodului de enterocolită acută la sugari și copii cu vârsta între 1-3 ani.

## Material și metodă

Au fost cuprinse în studiu trei loturi de copii:

- Primul lot, al cărui studiu a fost prospectiv, este format din toate cazurile de sugari și copii mici, internați cu diagnosticul de Enterocolită acută la Spitalul Clinic Filantropia Craiova, în perioada ianuarie 2011-decembrie 2012, și care au primit tratament etiopatogenic și simptomatic, 131 de cazuri (lot martor).
- Al doilea lot, al cărui studiu a fost tot unul prospectiv, este format din toate cazurile de sugari și copii mici internați cu diagnosticul de Enterocolită acută la Spitalul Clinic Filantropia Craiova, în perioada ianuarie 2011-decembrie 2012, și care au primit tratament etiopatogenic, simptomatic și probiotice, 222 de cazuri (lot de studiu).
- Al treilea lot, supus unui studiu prospectiv, este format din sugari și copii mici internați la Spitalul de Boli Infecțioase "Victor Babeș" Craiova, în perioada ianuarie 2012 – aprilie 2012, cu diagnosticul de Enterocolită acută, care au primit tratament etiopatogenic, simptomatic și probiotice, și la care s-a urmărit evoluția markerilor imunologici, IL10, TNF $\alpha$ , IgA, pe perioada internării.

Am exclus cazurile care din momentul internării nu au mai prezentat scaune diareice și cele care au fost externate după 24-28 de ore, neputând urmări evoluția lor pe o perioadă semnificativă.

Pentru sublinierea rolului benefic al asocierii probioticelor, s-a realizat un studiu comparativ al cazurilor cuprinse în primele două loturi și un studiu descriptiv al evoluției valorilor markerilor imunologici pentru al treilea lot luat în studiu.

**Diagnosticul pozitiv** s-a bazat pe coroborarea datelor anamnestic-clinice cu cele paraclinice. S-a insistat pe circumstanțele care au determinat apariția diareei, pe manifestările clinice care ne permit aprecierea severității bolii și care ne pot sugera chiar etiologia *Anamnestic* au fost culese date despre noi alimente introduse în alimentație, infecții, administrarea unor medicamente (antibiotice administrate oral, laxative), călătorii recente (factori endemici și variații sezoniere), aport excesiv de lichide etc. *Examenul clinic* a contribuit la identificarea etiologiei, reflectată uneori de complicațiile apărute: deshidratare, febră, scaune sangvinolente, dureri abdominale, vărsături. *Examenle de laborator* efectuate au inclus hemoleucograma, VSH, determinările imunologice din sânge și examenul scaunului – coprocultura, coprocitograma, examen coproparazitar.

## Rezultate

Realizând analiza lotului studiat din punct de vedere al **asocierii probioticelor la tratamentul etiopatogenic al enterocolitei acute**, am constatat că în 222 de cazuri (62,89%) a fost completat tratamentul și cu probiotic și numai o treime, 131 de cazuri (37,1%), nu au primit probiotic.

**Factorii legați de perioada de sugar**, precum, prematuritatea și greutatea mică la naștere cresc riscul apariției enterocolitei acute printr-o susceptibilitate crescută. În lotul studiat se constată o incidență ușor crescută a prematurității (24 cazuri; 6,8%) și a greutății la naștere sub 2800g (53 cazuri; 15,01%).

Cunoscându-se calitățile protectoare ale laptelui matern împotriva diareei, a fost cuantificată incidența **alimentației naturale** în lotul studiat. S-a constatat că un număr destul de mare, de 232 de copii (65,72%) au primit exclusiv lapte matern în primele 4 luni de viață, și un procent înjumătățit, de 105 cazuri (29,75%) au primit lapte formulă din prima zi de viață. Se poate considera astfel că, absența alimentației naturale a constituit un factor de risc pentru apariția enterocolitei acute., fapt precizat și de datele publicate în literatură.

Realizând împărțirea celor două subloturi în funcție de **durata spitalizării** pe categorii de durată și comparând distribuțiile rezultate prin testul Chi pătrat, am constatat că diferențele observate, și anume că în lotul tratat cu probiotic au o pondere mai mare pacienții internați pe o perioadă de sub 5 zile și peste 7 zile, și o pondere mai mică cei internați pe perioada 5-7 zile, dar nu sunt rezultate semnificative față de lotul tratat fără probiotic –  $p$  Chi pătrat=0,183>0,05.

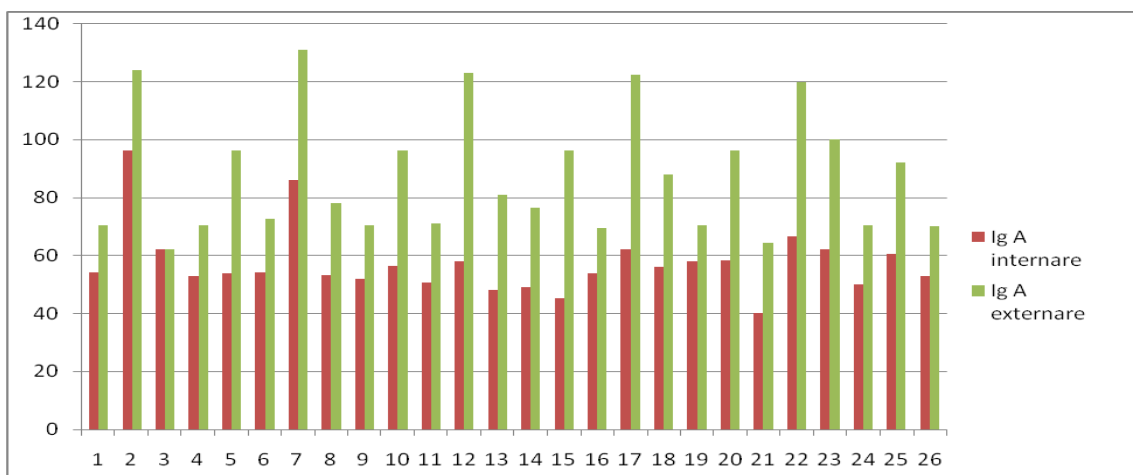
### **Evoluția valorilor IgA**

Probioticele participă favorabil la imunitatea gazdei prin stimularea sintezei de imunoglobuline, în special prin stimularea sintezei de IgA.

Așa cum se observă în figura 3, în toate cazurile luate în studiu, valoarea Ig A a crescut după folosirea combinației probiotice-tratament etiopatogenic.

Conform WHO, valoarea normală a Ig A în ser este 90-450 mg/dl.

Rezultatele sunt în concordanță cu cele menționate în studiile de specialitate, ceea ce susține ipoteza stimulării imunității gazdei prin acțiune asupra celulelor implicate în imunitatea naturală și în imunitatea specifică.



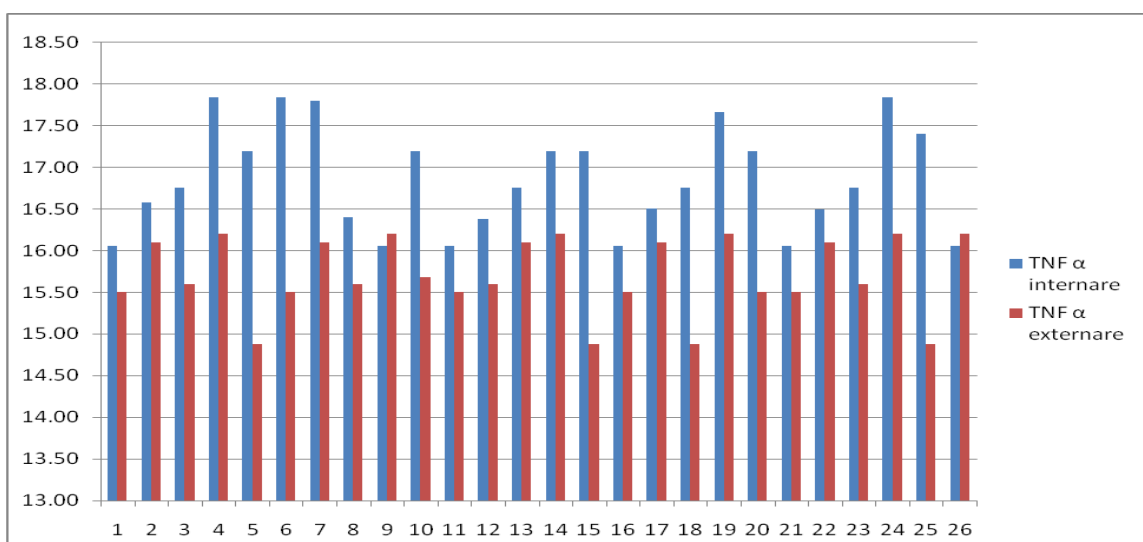
**Figura 54.** Evoluția valorilor Ig A la internare și la externare

### **Evoluția valorilor TNF $\alpha$**

Probioticele din genul *Lactobacillus* inhibă secreția *factorului de necroză tumorală TNF $\alpha$* , o citokină proinflamatorie produsă de macrofagele murine. S-a demonstrat că probioticele pot fi recunoscute de către celulele prezentatoare de antigen din plăcile Peyer și pot inhiba producția de citokine precum TNF $\alpha$ .

Rezultatele studiului nostru confirmă scăderea valorilor TNF $\alpha$  în decursul zilelelor de spitalizare, prin tratamentul adjuvant cu probiotice.

Menționăm că TNF  $\alpha$  nu este detectabil în serul donatorilor aparent sănătoși.



**Figura 56.** Evoluția valorilor TNF $\alpha$  la internare și la externare

## Concluzii

- Termenul de „probiotic” a fost folosit pentru prima dată în anul 1965 de către Lilly și Stillwell, apoi de Parker în anul 1974 pentru a defini „organismele sau substanțele care contribuie la echilibrul microbian al intestinului”. Un grup de experți comandat de FAO (Organizația pentru Alimentație și Agricultură) și OMS a definit ca probiotice „microorganisme vii” care atunci când sunt administrate în cantități adecvate conferă un avantaj pentru sănătatea gazdei.
- La nivel mondial, diareea acută continuă să reprezinte una dintre cele mai importante cauze de morbiditate și mortalitate la copilul între 0-5 ani. Multe dintre episoadele diareice acute la copil rămân necunoscute, fiecare copil având în primul an de viață în medie 5-7 episoade diareice.
- Influența mediului de proveniență, a condițiilor socio-economice și igienico-sanitare diferă de cele din țările slab dezvoltate, la cazurile studiate afecțiunea fiind întâlnită mai ales la copiii din mediul urban, proveniți din familii cu nivel socio-economic bun și foarte bun.
- Analiza implicării prematurității și a greutateii mici la naștere ca factori de risc nu a evidențiat o diferență semnificativă statistic, ceea ce arată că în cazurile studiate cei doi parametri nu intervin în mod solitar în apariția bolii.
- Se observă că un procent destul de mare de copii din lotul aflat în studiu au fost alimentați artificial și mixt. Cunoscându-se faptul că laptele matern conține factori antiinfecțioși, absența alimentației naturale în primele 4 luni de viață pare a juca un rol important în apariția și evoluția episodului de enterocolită acută.
- Se constată o incidență crescută a enterocolitei cu etiologie virală, în special cu Rotavirus, iar bacteriile cu ponderea cea mai mare sunt Proteus și Klebsiella.
- Semnele de deshidratare acută au fost menționate la aproximativ jumătate din cazuri, observație ce se corelează cu datele din literatură, conform cărora prezența deshidratării reprezintă un factor de risc pentru prelungire episodului de enterocolită acută.
- Realizând analiza lotului studiat din punct de vedere al asocierii probioticelor la tratamentul etiopatogenic al enterocolitei acute, am constatat că două treimi dintre pacienți au primit tratament asociat cu probiotice



- Probioticele alese pentru terapie fac parte din grupul Lactobacillus, Bifidobacterium și Streptococcus. Alegerea lor a fost lăsată la latitudinea medicului curant, în funcție de dotarea clinicii, a momentul internării și de tratamentul urmat la domiciliu, mulți dintre pacienți având probioticul introdus în scheme de tratament anterior internării.
- Evaluând influența probioticelor asupra reducerii numărului de scaune pe parcursul internării, comparativ cu lotul martor care nu a primit probiotice, am constatat că diferența dintre cele două loturi s-a remarcat la reducerea numărului de scaune pe perioada scurtă de 1-3 zile de internare, asemenea mențiunilor din alte studii de specialitate.
- În cazul lotului nostru, am constatat că efectul asocierii probioticului s-a remarcat la o perioadă de spitalizare medie de 5-7 zile. Probabil, așa cum afirmă și alte studii, durata de sub 5 zile este prea mică pentru a putea aprecia eficacitatea probioticelor în tratament, iar cazurile cu durata de spitalizare peste 7 zile au fost mult prea complexe pentru a le putea evalua din acest punct de vedere.
- În toate cazurile luate în studiu, valoarea Ig A a crescut după folosirea combinației probiotice-tratament etiopatogenic. Rezultatele sunt în concordanță cu cele menționate în alte trialuri, ceea ce susține ipoteza stimulării imunității gazdei prin acțiune asupra celulelor implicate în imunitatea naturală și în imunitatea specifică
- În ciuda faptului că tuturor pacienților li s-a recoltat a doua probă de sânge după ameliorarea clinică și paraclinică, după 4-5 zile de spitalizare, doar la 23,8% dintre pacienți s-a remarcat creșterea IL 10.
- În ceea ce privește influența asupra evoluției TNF $\alpha$ , rezultatele studiului nostru confirmă scăderea valorilor TNF $\alpha$  în decursul zilelelor de spitalizare, prin tratamentul adjuvant cu probiotice.
- Relativ la siguranța tratamentului cu probiotice, nu am constatat niciun efect advers în urma administrării produselor probiotice, acest lucru fiind susținut și de o serie de studii de specialitate.
- În urma studiului efectuat de noi cu probiotice în diareea acută la copil înclinăm să propunem introducerea probioticelor în grupa medicamentelor biologice considerându-le mai mult decât suplimente alimentare.

## Bibliografie selectivă

1. Steffen Wohlgenuth, Gunnar Loh, Michael Blaut, *Recent developments and perspectives in the investigation of probiotic effects*, International Journal of Medical Microbiology, 2009 Elsevier GmbH
2. Fijan Sabina. *Microorganisms with Claimed Probiotic Properties: An Overview of Recent Literature*. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2014, 11, 4745-4767;
3. Kan Shida, Masanobu Nanno *Probiotics and immunology: separating the wheat from the chaff*. Trends in immunology Volume 29, Issue 11, November 2008, Pages 565–573
4. Camilia R. Martin, MD, and W. Allan Walker, MD *Probiotics: Role in Pathophysiology and Prevention in Necrotizing Enterocolitis* Seminars in perinatology, ELSEVIER 2008, pp127-134 doi:10.1053/j.semperi.
5. Irene Lenoir-Wijnkoop, MarkJ.C.Nuijten, JoyceCraig and Christopher C.Butler. *Nutrition economic evaluation of a probiotic in the prevention of antibiotic-associated diarrhea*. *Frontiers in Pharmacology* 17 February 2014 doi: 10.3389/fphar.2014.00013
6. Johnston BC, Goldenberg JZ, Vandvik PO, Sun X, Guyatt GH. *Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea*. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011 Nov 9;(11):CD004827. doi: 10.1002/14651858.CD004827.pub3.
7. Johnston BC, Supina AL, Ospina M, Vohra S. *Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea*. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011;(11):CD004827.
8. World Gastroenterology Organisation practice guidelines: *Probiotics and prebiotics*, Arab Journal of Gastroenterology 10. 2009, 33–42.
9. Paolo Aureli, Lucio Capurso, Anna Maria Castellazzi, Mario Clerici, Marcello Giovannini, Lorenzo Morelli, Andrea Poli, Fabrizio Pregliasco, Filippo Salvini, Gian Vincenzo Zuccotti, *Probiotics and health: An evidence-based review* *Pharmacological Research* 63 (2011) 366–376
10. Kosek, M., Bern, C. & Guerrant, R.L. *The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000*. *Bulletin of The World Health Organization*, 2003. 81, 3, 197-204
11. Koenig J.E., Spor A., Scalfone N., Fricker A.D., Stombaugh J., Knight R., Angenent L.T., Ley R.E., *Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome*. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 2011. 108 Suppl 1:4578-85. R.C.

12. Van Tassell M.L., Miller M.J. *Lactobacillus adhesion to mucus*. *Nutrients* 2011 ;3:613–636.
13. Gonzalez-Rodriguez I., Sanchez B., Ruiz L., Turróni F., Ventura M., Ruas-Madiedo P., Gueimonde M., Margolles A. *Role of extracellular transaldolase from Bifidobacterium bifidum in mucin adhesion and aggregation*. *Appl Environ Microbiol* 2012;78:3992–3998.
14. Deepika G., Karunakaran E., Hurley C., Biggs C. *Influence of fermentation conditions on the surface properties and adhesion of Lactobacillus rhamnosus GG*. *Microb Cell Fact* 2012. 11:116. doi: 10.1186/1475-2859-11-116.
15. Aloisio I., Santini C., Biavati B., Dinelli G. et al. *Characterization of Bifidobacterium spp. strains for the treatment of enteric disorders in newborns*. *Appl Microbiol Biotechnol* 2012 ;96:1561–1576. doi: 10.1007/s00253-012-4138-5.
16. Saavedra, J.M. *Use of probiotics in pediatrics: Rationale, mechanisms of action, and practical aspects*. *Nutrition in Clinical Practice*, 2007. 22, 3, 351-365
17. Maria Theodorakopoulou, Elias Perros, Evangelos J. Giamarellos-Bourboulis, George Dimopoulos, *Controversies in the management of the critically ill: the role of probiotics* *International Journal of Antimicrobial Agents* 42S 2013. S41– S44
18. Marco Ventura, Francesca Turróni and Douwe van Sinderen *Probiogenomics as a tool to obtain genetic insights into adaptation of probiotic bacteria to the human gut* *Bioengineered Bugs* 3:2, 73–79; March/April 2012. 73-79
19. Susanne Hempel, Sydne Newberry, Alicia Ruelaz *Safety of Probiotics to Reduce Risk and Prevent or Treat Disease*. Evidence Report/Technology Assessment Number 200 Agency for Health care Research and Quality. AHRQ Publication No. 11-E007 April 2011
20. Dan W. Thomas, Frank R. Greer and Committee on nutrition - section on gastroenterology, hepatology, and nutrition. Clinical Report - *Probiotics and Prebiotics in Pediatrics*. *Pediatrics*; originally published online November 29, 2010; DOI: 10.1542/peds.2010-2548. Volume 126, Number 6, December 2010, 1217 -1231.
21. Kotzampassia Katerina, Giamarellos-Bourboulis J:E. *Probiotics for infectious diseases: more drugs, less dietary supplementation*. *International Journal of Antimicrobial Agents* 40, 2012, 288– 296
22. Chen CC, Kong MS, Lai MW, Chao HC, Chang KW, Chen SY, Huang YC, Chiu CH, Li WC, Lin PY, Chen CJ, Li TY *Probiotics have clinical, microbiologic, and immunologic efficacy in acute infectious diarrhea*. *Pediatr Infect Dis J*. 2010 Feb; 29 (2):135-138