



УНИВЕРЗИТЕТ „ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ“ - ШТИП

ФАКУЛТЕТ ЗА МЕДИЦИНСКИ НАУКИ

Корелација помеѓу секреторен имуноглобулин А од мајчиното млеко и alpha glutathione S transferase во серум кај доенчиња со акутен гастроентерит

-докторска дисертација-

д-р Марија Димитровска-Иванова

Штип, 2021 година

**Интерен ментор** проф. д-р Елизабета Зисовска

Редовен професор, Факултет за медицински науки

Универзитет „Гоце Делчев”- Штип

**Екстерен ментор** проф. д-р Соња Пеова

Редовен професор во пензија, Медицински факултет

Универзитет „Св. Кирил и Методиј”- Скопје

**Членови на комисија за оценка и одбрана**

**Претседател** проф. д-р Милка Здравковска

Редовен професор, Факултет за медицински науки

Универзитет „Гоце Делчев”- Штип

**Член** проф. д-р Катарина Ставриќ,

Редовен професор на Медицински факултет,

Универзитет „Св. Кирил и Методиј”- Скопје

**Член** проф. д-р Светлана Јовевска,

Редовен професор на Факултет за медицински науки,

Универзитет „Гоце Делчев”- Штип

**Научно поле** Базични и клинички истражувања во медицината

**Научна област** Педијатрија

датум на одбрана \_\_\_\_\_

датум на промоција \_\_\_\_\_

## **БЛАГОДАРНИЦА**

Голема благодарност за проф. д-р Елизабета Зисовска, која покрај својот менторски ангажман за ова истражување, безрезервно се вложуваше во моето стручно и научно усовршување, ми даваше совети и поддршка во текот на научно-истражувачката работа.

Посебна благодарност оддавам на проф. д-р Соња Пеова, која ми даваше совети и поддршка во мојата работа за ова истражување.

Се заблагодарувам на проф. д-р Розалинда Исјановска, која безрезервно ми помагаше и ги споделуваше своите совети и идеи во однос на експерименталниот дизајн и статистичката анализа на ова истражување.

Благодарност до проф. д-р Милка Здравковска, која ми помагаше во научно-истражувачката работа.

Благодарност до проф. д-р Татјана Рушковска, која ме насочуваше во истражувачката работа и ми даваше совети за експерименталниот дизајн.

Благодарност до сите вработени во Биохемиската лабораторија, Клиничка болница - Штип, кои ми помагаа во лабораториската обработка на собраниот материјал.

Благодарност до вработените на Детско одделение, Клиничка болница – Штип, кои помагаа во собирањето на материјалот за изработката на овој докторат.

Посветено на моите најмили Драган и Александар  
и на моите почитувани родители, кои беа и се  
инспирација за мојата работа.

## **СПИСОК НА ОБЈАВЕНИ ТРУДОВИ ОД ДОКТОРСКАТА ДИСЕРТАЦИЈА**

1. Dimitrovska-Ivanova, M., & Zisovska, E. (2020). Breast milk effects on clinical signs of acute gastroenteritis in infants up to 6 months of age. *Research in Physical Education Sport and Health*, 9(1), 145-150.
2. Dimitrovska-Ivanova, M., & Zisovska, E. (2020). Evaluation of breast milk sIgA protective role versus alpha glutathione S transferase in infants acute gastroenteritis. *Physioacta*, 14(1), 77-90.
3. Dimitrovska Ivanova, M., & Zisovska, E. (2020). Clinical and microbiologic patterns of acute gastroenteritis on infants of different age. *International Medical Journal Medicus*, 25 (2), 157-163.
4. Dimitrovska-Ivanova, M., & Zisovska, E. (2020). Impact of breast milk secretory immunoglobulin A on infants acute gastroenteritis. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 8(B), 897-901.
5. Dimitrovska-Ivanova, M., & Zisovska, E. (2020). Alpha glutathione S-transferase – a potential biomarker for intestinal epithelial damage in infants with acute gastroenteritis. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 8(B), 902-905.

## Корелација помеѓу секреторен имуноглобулин А од мајчиното млеко и alpha glutathione S transferase во серум кај доенчиња со акутен гастроентерит

### Краток извадок

Акутниот гастроентерит е една од најчестите инфекции во детската возраст и посебно опасна може да биде во првите 12 месеци од животот со повисок ризик од умерена до тешка дехидратација, посебно кај доенчињата што не се на ексклузивно доење. Секреторниот имуноглобулин А (sIgA) е прва линија на одбрана на цревниот епител од патогени микроорганизми и интестинални токсини. Alpha glutathione S transferase ( $\alpha$ -GST) е високоактивен структурен ензим во интестиналните епителни клетки и е вклучен во врзување, транспорт и детоксикација на штетни супстанции преку нивно врзување за глутатион (GSH). Главната цел на оваа студија беше да се покаже дали мукозниот интегритет, мерен преку вредностите на sIgA во столицата, е заштитен фактор од епително оштетување, мерено преку вредностите на  $\alpha$ -GST во серум кај доенчиња со акутен гастроентерит и нивната поврзаност со начинот на исхрана. Во студијата беа вклучени 58 доенчиња со акутен гастроентерит поделени во 4 групи според типот исхрана. Испитуваните индикатори беа тежината на симптомите, степенот на дехидратација и потребата од парентерална рехидрација. Нивоата на sIgA во столица и  $\alpha$ -GST во серум беа испитани и е направена нивна споредба помеѓу групите. Во оваа студија се докажа дека sIgA во столицата е позитивен кај сите доенчињата до 6-месечна возраст, кои се на ексклузивно доење, и кај доенчињата од 7 до 12-месечна возраст кај кои и покрај воведувањето на комплементарната храна е продолжено со доењето. Кај доенчињата кај кои доењето беше неексклузивно и кај тие од 7 до 12-месечна возраст sIgA во столицата во поголем процент беше негативен. Присуството на sIgA во доенчките црева имаше влијание врз тежината на клиничката слика на акутен гастроентерит и тоа преку: намалување на фреквенцијата на повраќање, намалување на бројот и тежината на дијарејалните епизоди, го намалува ризикот за појава на умерена и тешка дехидратација, ја намалува фреквенцијата на покачена температура. Најчест предизвикувач на акутен гастроентерит кај доенчињата во оваа студија

беше ротавирус (Rotavirus). Во истражувањето се покажа дека за првите две групи како и за вторите две групи постои сигнификантна статистичка асоцијација помеѓу припадност во групата и вредностите на  $\alpha$ -GST во серумот. Се докажа статистички сигнификантна разлика за вредностите на  $\alpha$ -GST во серум меѓу ротавирус позитивните и ротавирус негативните доенчиња. Во студијата се покажа дека sIgA во столицата негативно корелира со  $\alpha$ -GST во серум за  $p = 0,002$ . Доенчињата што имаа повисоки вредности на sIgA во столица имаа пониски вредности на  $\alpha$ -GST во серум, а со тоа и полесна клиничка слика. Од добиените резултати во оваа студија, со релевантни и недвосмислени показатели се покажа дека мајчиното млеко не е само извор на енергија, туку е мошне сложена динамичка биолошка течност, која има заштитна и имуномодулаторска улога. Токму поради тоа доењето е многу значајно особено во првите две години од животот на детето, бидејќи мајчиното млеко обезбедува високи концентрации на sIgA, кој го заштитува цревниот епител на доенчињата од оштетување при присуство на ентерични патогени, како што во овој случај го заштитува од оштетување, предизвикано од ротавирус акутен гастроентерит.

Клучни зборови: дијареја, ротавирус, доење, интестинално епително оштетување.

## Correlation between secretory Immunoglobulin A from breast milk and Alpha Glutathione S Transferase in serum in infants with Acute Gastroenteritis

### Abstract

Acute gastroenteritis is one of the most common infections in childhood and it can be especially dangerous in the first 12 months of life with a higher risk of moderate and severe dehydration, especially in infants who are not exclusively breastfed. The secretory Immunoglobulin A (sIgA) is the first line of defense for the intestinal epithelium from pathogenic microorganisms and intestinal toxins. Alpha Glutathione S Transferase ( $\alpha$ -GST) is a highly active structural enzyme in intestinal mucosal epithelial cells and is involved in binding, transporting and detoxifying harmful substances by binding them to glutathione (GSH). The main aim of this study was to show whether mucosal integrity measured by sIgA values in stool was a protective factor against epithelial damage measured by serum  $\alpha$ -GST values in infants with acute gastroenteritis and their association with feeding patterns. A total of 58 infants with acute gastroenteritis divided into 4 groups based on the feeding patterns (type of milk) were included in the study. Investigated indicators were severity of symptoms, dehydration degree and the need for parenteral rehydration. Stool sIgA and serum  $\alpha$ -GST levels were tested and compared between the groups. This study showed that stool sIgA was positive in all infants up to 6 months of age who were exclusively breastfed and in infants aged 7 to 12 months in whom, despite the introduction of complementary foods, breastfeeding was continued. In infants where breastfeeding was non-exclusive and in those aged 7 to 12 months stool sIgA was higher in the negative percentage. The presence of sIgA in the infant's intestines has affected the severity of the clinical signs of acute gastroenteritis through: reducing the frequency of vomiting, reducing the number and severity of diarrheal episodes, reduces the risk of moderate and severe dehydration, reduces the frequency of elevated temperature. The most common cause of acute gastroenteritis in infants in this study was Rotavirus. In this study it was found that for the first two groups as well as for the second two groups, there was a significant statistical association between group affiliation and serum  $\alpha$ -GST values. A statistically significant difference was proved for serum  $\alpha$ -GST values between Rotavirus



positive and Rotavirus negative infants. This study revealed that stool sIgA was negatively correlated with serum  $\alpha$ -GST for  $p = 0.002$ . Infants who had higher sIgA values in the stool had lower serum  $\alpha$ -GST values, and thus a milder clinical picture. The results of this study, with relevant and unambiguous indicators, showed that breast milk is not only a source of energy, but also a very complex dynamic biological fluid that has a protective and immunomodulatory role. That's why breastfeeding is so important, especially in the first two years of a child's life, because breast milk provides high concentrations of sIgA that protects the intestinal epithelium of infants from damage in the presence of internal pathogens, as in this case it protects it from damage caused from Rotavirus acute gastroenteritis.

Key words: diarrhea, Rotavirus, breastfeeding, intestinal epithelial damage.

## СОДРЖИНА

1. ВОВЕД.....	1
2. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА.....	7
2.1. Вирусен гастроентерит.....	7
2.1.1. Ротавирус (Rotavirus).....	7
2.1.1.2. Ротавирус имунизација.....	13
2.1.2. Аденовирус (Adenovirus).....	16
2.1.3. Норволк (Norwalk) и Норволк лајк (Norwalk-like) вирус .....	17
2.1.4. Astrovirus (Астровирус).....	19
2.2. Бактериски акутен гастроентерит.....	22
2.2.1. Ешерихија коли (Escherichia coli) .....	22
2.2.2. Салмонела (Salmonella).....	24
2.2.3. Шигела (Shigella) .....	27
2.2.4. Кампилобактер јејуни (Campylobacter jejuni) .....	28
2.2.5. Јерсинија ентероколитика (Yersinia enterocolitica) .....	29
2.2.6. Vibrio cholera (Вибрио колера).....	30
2.3. Механизам на природна одбрана на организмот.....	30
2.3.1. Вроден имун одговор .....	32
2.3.2. Стекнат (хуморален) имун одговор .....	34
2.4. Доењето и неговото значење.....	38
2.5. Состав на мајчиното млеко .....	39
2.5.1. Колострум.....	41
2.5.2. Транзициско млеко .....	43
2.5.3. Зрело млеко.....	43
2.5.4. Масти.....	43
2.5.5. Протеини.....	45
2.5.6. Јаглехдрати.....	48
2.5.7. Минерали и олигоелементи.....	49
2.5.8. Витамини.....	50
2.5.9. Хормони и ензими.....	50

2.6.	Имунолошко значење на мајчиното млеко.....	51
2.7.	Развој на незрелиот мукозен имун систем на доенчето.....	60
2.8.	Имунолошки одговор на домаќинот и акутен гастроентерит...	70
2.9.	Интестинална епителна бариера и alpha glutathione S transferase како потенцијален биомаркер за интестинално епително оштетување.....	74
3.	ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО.....	78
4.	МЕТОДИ НА ИСТРАЖУВАЧКА РАБОТА.....	79
4.1.	Дизајн на студија.....	79
4.2.	Лабораториски методи.....	80
4.2.1	Имунохроматографски тест за брза детекција на ротавирус и аденовирус.....	81
4.2.1.	Копрокултура.....	82
4.2.3	Квантитативно одредување на sIgA во столицата со Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	83
4.2.4	Квантитативно одредување на alpha glutathione S transpherase во серум со Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	85
4.3.	Статистичка анализа.....	86
5.	РЕЗУЛТАТИ .....	88
5.1.	Дескриптивни податоци.....	88
5.2.	Застапеност на повраќање во последните 24 часа пред прием кај доенчињата со акутен гастроентерит.....	88
5.3.	Број на столици 24 часа пред прием кај доенчињата со акутен гастроентерит.....	90
5.4.	Застапеност на доенчињата со акутен гастроентерит според телесната температура.....	90
5.5.	Застапеност на доенчињата со акутен гастроентерит според степенот на дехидратација при прием.....	91
5.6.	Застапеност на доенчињата со акутен гастроентерит според наодот на имунохроматографскиот тест за ротавирус и аденовирус.....	91
5.7.	Приказ на наодот на копрокултура кај доенчињата со.....	92

## акутен гастроентерит

5.8.	Просечен број регистрирани столици во текот на лекувањето кај доенчињата со акутен гастроентерит.....	93
5.9.	Просечен број регистрирани повраќања во текот на лекувањето кај доенчињата со акутен гастроентерит.....	93
5.10.	Број на денови на парентерална рехидрација кај доенчињата со акутен гастроентерит.....	94
5.11.	Број на денови на хоспитализација кај доенчињата со акутен гастроентерит.....	94
5.12.	Наод на sIgA во столица кај доенчињата со акутен гастронтерит.....	95
5.13.	Наод на $\alpha$ -GST во серум кај доенчињата со акутен гастроентерит.....	95
5.14.	Ефектите на sIgA врз клиничката слика кај доенчињата со акутен гастроентерит.....	96
6.	ДИСКУСИЈА.....	99
7.	ЗАКЛУЧОК.....	111
8.	ДОДАТОК.....	115
8.1.	Табели.....	115
8.2.	Графикони.....	125
8.3.	Листа на кратенки.....	137
9.	КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES).....	139

## 1. ВОВЕД

Акутниот гастроентерит е водечка причина за морбидитет и морталитет во земјите во развој и неразвиените земји каде што малнутрицијата и слабата локална здравствена заштита се одговорни фактори за зголемувањето на тежината на клиничката слика на акутен гастроентерит (Sdiri-Loulizi et al., 2008). Годишно на светско ниво се регистрираат околу 1,7 билиони случаи на акутен гастроентерит кај децата под 5-годишна возраст. Акутниот гастроентерит особено опасен може да биде во првите 12 месеци од животот со поголем ризик од зголемено губење вода и електролити со последична умерена до тешка дехидратација и тоа посебно кај доенчињата што не се на ексклузивно доење или се на исхрана со адаптирана млечна формула. Дијарејалната болест е втора причина за смрт кај децата под 5-годишна возраст и е одговорна за 525 илјади смртни случаи кај децата секоја година. Морталитетот од акутен гастроентерит може да биде поголем кај деца во првите 12 месеци во однос на децата над едногодишна возраст (De Wit et al., 2001). Во развиениот свет акутниот гастроентерит е главна причина за морбидитет. Менаџментот на акутниот гастроентерит се базира на клиничкиот наод, со фокус на корекција на дехидратацијата и со оптимизација на внесувањето течности и храна. Акутниот гастроентерит се дефинира како намалување на конзистенцијата на столиците (кашести или течни столици) и/или зголемување на честотата на испразнувањата ( $\geq 3$  за 24 часа) со или без температура и повраќање (Guarino et al., 2014). Промената на конзистенцијата на столиците е поиндикативна за дијареја отколку бројот на столици кај доенчињата посебно во првите месеци од животот. Акутната дијареја трае помеѓу 7 и 14 денови. Инциденцијата на акутниот гастроентерит се движи од 0,5 – 2 епизоди по дете на годишно ниво кај деца, помали од три години. Во оваа возраст акутниот гастроентерит е најчеста причина за хоспитализации (Guarino et al., 2014).

Ротавирус (*Rotavirus*) е најчестиот предизвикувач на акутен гастроентерит, но норовирусот (*Norovirus*) е водечка причина во земјите од Европа и САД, кои имаат висока покриеност со ротавирус вакцина. Аденовирусот (*Adenovirus*) и астровирусот (*Astrovirus*) се поретки предизвикувачи на вирусен акутен гастроентерит. Во послабо развиените земји вирусната дијареја е значителна причина за смрт посебно во доенечката возраст (King et al., 2003). Од

бактериските предизвикувачи се застапени салмонела (*Salmonella*), шигела (*Shigella*), а поретко ешерихија коли (*Escherichia coli*), кампилобактер јејуни (*Campylobacter jejuni*) и јерсинија ентероколитика (*Yersinia enterocolitica*). Овие вируси и бактерии имаат различен афинитет кон ентероцитите на различни места од цревните ресички. Инфекцијата на ентероцитите води до клеточна смрт, екструзија во луменот, и атрофија на цревните ресички кога стапката на клеточна продукција во криптите не може да одржи чекор со стапката на ентероцитна загуба. Ова резултира во намалена цревна површина со нарушување на дигестивните и апсорптивните функции. Овие промени заедно со намалената ензимска активност и намалениот епителен интегритет може да доведе до појава на акутна транзитрна малапсорптивна дијареја, која може да трае сè додека дигестивните/апсорптивните функции на ентероцитите не се обноват.

Основна задача на имуниот систем е да го брани и чисти организмот од инфективни и други видови агенси препознавајќи ги сопствените и реагирајќи на туѓите антигени. Имуниот систем на фетусот и новороденото е компетентен но, неискусен и недоволно ефикасен, со карактеристики на Th<sub>2</sub> насоченост. За негово ефикасно созревање потребна е антигена стимулација. Прва линија на одбрана на организмот се структурно и функционално здрави кожа и слузница. За да предизвикаат инфекција патогените микроорганизми мораат ефикасно да се прилепат врз епителната површина, да ја колонизираат и/или да навлезат низ неа. Неспецифичната одбрана на епителот од инфекција може да биде: механичка (епителни клетки, проток на воздух или течност, движење на мукус), хемиска (ензими, кисела Ph, масни киселини, антибактериски пептиди) и микробиолошка нормална флора.

Мукозниот имун систем на човекот веќе на раѓање структурно ги поседува сите неопходни клеточни компоненти. Но тој е функционално неискусен и незрел. Во отсуство на антигените од храната и бактериската флора нема физиолошки развој на секундарни фоликули во Пејеровите плочи (PP) и имуноглобулин А (IgA) плазма-клетки во lamina propria mucosae. Бројот на имуноцити во цревната lamina propria и плунковните жлезди, кои произведуваат имуноглобулин А (IgA) и имуноглобулин (IgM) започнува да расте 2-4 недели по раѓање (Mantis et al., 2011). За постигнување на адултни вредности на

застапеноста на IgA плазма-клетки во мукозата потребни се 1-2 години (Brandtzaeg, 2002). Интестиналниот тракт содржи над 70% од IgA секретирачките плазма-клетки (Macpherson et al., 2001). IgA е антитело што има значајна улога во мукозниот имунитет. Дури од 4-годишна возраст се постигнува оптимална дневна продукција од 3 до 5g IgA во цревниот лумен. Секреторниот IgA (sIgA) е главниот имуноглобулин во мукозните секрети – солзи, плунка, колострум, ГИТ, респираторен епител, простата. Секреторната компонента на sIgA го заштитува овој имуноглобулин од разградување од страна на ензимите на ГИТ. IgA е слаб активатор на комплементот и слабо опсонизира. sIgA е прва линија на одбрана на цревниот епител од патогените микроорганизми и цревните токсини. Го спречува врзувањето на антигените и патогените микроорганизми за епителните рецептори преку негово врзување за Fc рецептор на површината на патогенот со последична појава на антитело зависна клеточно медирана цитотоксичност, ги заробува микроорганизмите во мукусот и го овозможува нивното отстранување преку стимулирање на перисталтиката и мукоцилијарната активност (Mantis et al., 2011 и Boullier et al., 2009). sIgA е способен директно да ја намали бактериската вируленција, има влијание врз составот на цревната микрофлора од Fab зависни и Fab независни механизми, го промовира ретротранспортот на антигени преку цревниот епител на дендритичните клетки (DC) во цревното лимфоидно ткиво и ги регулира проинфламаторните реакции, поврзани со навлегувањето на високопатогени бактерии и потенцијални алергени (Mantis et al., 2011).

Мајчиното млеко претставува оптимална исхрана за новороденчиња и е клучно за одржување на здравјето и градење на темелите за раст и когнитивен развој. Светската здравствена организација препорачува доенчињата да бидат ексклузивно доени од раѓање до 6-месечна возраст и последователно да добиваат соодветна комплементарна храна, но доењето да се продолжи до 24 месеци или подолго. Доењето има значајна улога во јавното здравје, здравјето на децата, исхраната и преживувањето на децата, здравјето на мајките како во националните, така и во интернационалните стратегии. Во земјите во развој само околу 32% од мајките ексклузивно ги дојат своите доенчиња до 6-месечна возраст (Haschke et al., 2013). Извештаите од земјите во развој укажуваат дека во услови на лоша хигиена доењето може да има значење на живот или смрт.

Проценето е дека 1,3-1,45 милиони смртни случаи во 42 земји со висок морталитет може да се превенираат преку зголемување на доењето (Jones et al., 2003 и Lauer et al., 2006). Во земјите во развој во првите 6 месеци најчести причини за смрт се дијареја со 55% и долнореспираторни инфекции со 53%, а во вторите 6 месеци дијареја со 20% и долнореспираторни инфекции со 18% (Lauer et al., 2006). Ексклузивното доење има значајно влијание врз доенечкиот морбидитет во индустријализираните земји, на пример, на намалување на гастроинтестиналните инфекции и долните респираторни инфекции. Ефектот на парцијалното доење е послабо. Се смета дека 53% од хоспитализациите поради дијареја може да се превенираат секој месец со ексклузивно доење и 31% со парцијално доење (Quigley et al., 2007).

Мајчиното млеко не е само извор на енергија, туку е мошне сложена динамичка биолошка течност, која има заштитна и имуномодулаторска улога. Хуманото млеко претставува спој помеѓу мајчиниот имун систем и доенчето. Иако доенчињата имаат антитела, пренесени трансплацентарно, тие остануваат незаштитени кога ќе дојдат во контакт со нови микроорганизми (Filipovic, 1997). Мајчиното млеко може да го намали овој ризик преку антителата присутни во него и на тој начин да го модифицираат имуниот, метаболичниот и микрофлора системот на доенчето (Filipovic, 1997). Кога најголем дел од матерналните IgG антитела, пренесени трансплацентарно, ќе исчезнат почнувајќи околу 2-месечна возраст, доенчето станува сè повеќе зависно од антителата од мајчиното млеко. Мајчиното млеко има антимикуробна активност против вируси, бактерии и протозои може да ја намали инциденцијата на гастроинтестиналните и неентеричните инфекции кај доенчињата (Chirico et al, 2008). Протективната улога против ентеровирусните инфекции е примарно медирана од антителата во мајчиното млеко (Sadeharju et al., 2007).

Веднаш по раѓањето, новороденото е изложено на микроорганизми од надворешната средина. Транзицијата од стерилна средина во висококолониизирана средина е придружена со истовремена експозиција на гастроинтестиналниот тракт на новороденото со мајчините IgA антитела, стекнати преку доење. Природните и специфичните sIgA антитела во мајчиното млеко се способни за врзување на комензални бактерии и може да бидат вклучени во воспоставување на цревната микрофлора на новороденчето, која,



пак, го стимулира созревањето на цревното лимфно ткиво, што резултира со производство на IgA со ограничен афинитет за препознавање и отстранување на патогените микроорганизми (Mantis et al., 2011).

sIgA е најважниот имуноглобулин во мајчиното млеко, не само поради високата концентрација, туку и поради неговата биолошка активност. Ентеромамарната циркулација овозможува мукозниот имун систем на мајката да го заштити цревото на доенчето преку хуманото млеко. Кога ќе влезе патоген во цревото на мајката се презема од страна на PP и антигените се презентираат на лимфоцитите. sIgA продукцијата се индуцира на базолатералната страна од мамарната клетка, а IgA патува низ мамарната клетка за да влезе во млекото како sIgA. sIgA преку мајчиното млеко влегува во цревото на доенчињата каде што ги заштитува преку врзување на патогенот (Newburg и Walker, 2007). sIgA ја спречува адхеренцијата и влезот на патогенот за мукозата, предизвикува аглутинација и неутрализација на антигенот како и негова елиминација преку фагоцитоза и цитотоксичност преку Fc фрагмент на IgA рецептор (FcαRI) (Chirico et al., 2008). Се смета дека мајчиното млеко не само што има заштитна улога од инфекции преку sIgA, туку и стимулирачки ефект на развојот на гастроинтестиналниот хуморален имун одговор (Koutras и Vigorita, 1998).

Интестиналната мукоза е вклучена во дигестија и апсорпција на хранливи материи, во заштита од инфективни, токсични и карциногени материи, ингестирани во дигестивниот тракт. За оваа цел е вклучен комплексен одбранбен систем: мукусна бариера, епителни клетки и една од најзначајните класи на ензими како што се glutathione S transpherase (GST) ензимите. Тие се вклучени во врзување, транспорт и детоксикација на овие штетни материи преку нивно врзување за глутатион (GSH). Изоформата alpha glutathione S transpherase ( $\alpha$ -GST) е високоактивен структурен ензим во интестиналните мукозни епителни клетки (Kong et al., 2019 и Nijhoff et al., 1995). Во раната фаза при нивно оштетување се зголемуваат концентрациите на овој ензим во серумот и неговите нивоа во серумот корелираат со степенот на интестинално епително оштетување (Khurana et al., 2002). Токму поради ова одредувањето на  $\alpha$ -GST во серумот може да се користи како маркер за рано откривање интестинално оштетување (van Oudheusden et al., 2013).

Во последната деценија во Република Северна Македонија, но и во светот е намалена стапката на ексклузивно доење барем до 6-месечна возраст. Постојат голем број студии што укажуваат на бенефициите од доењето, а посебно на значењето на имунолошките фактори во мајчиното млеко, кое е богато со sIgA, кој, пак, го штити интестиналниот епител на доенчињата од оштетување предизвикано од акутен гастроентерит. Од тука произлезе идејата да се покаже дали мукозниот интегритет мерен преку вредностите на sIgA во столицата е заштитен фактор од епително оштетување, мерено преку вредностите на  $\alpha$ -GST во серум, кај доенчиња со акутен гастроентерит и нивната поврзаност со начинот на исхрана. Ова ќе помогне во промовирање на доењето и охрабрување на мајките што е можно подолго да ги дојат своите доенчиња затоа што мајчиното млеко со својот посебен состав е многу значајно за целокупниот раст и развој на децата како и заштита од инфекции особено до 2-годишна возраст.

## 2. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРАТА

### 2.1. Вирусен гастроентерит

Најчести предизвикувачи на акутен гастроентерит се вирусите. Ротавирусот е најчестиот предизвикувач на акутен гастроентерит, но норволквирусот (*Norwalk*) е водечка причина во земјите од Европа и САД, кои имаат висока покриеност со ротавирус вакцина. Аденовирусот и астровирусот се поретки предизвикувачи на вирусен акутен гастроентерит. Во послабо развиените земји вирусната дијареја е значителна причина за смрт посебно во доенчката возраст (King et al., 2003). Најчести предизвикувачи на вирусниот гастроентерит се: ротавирус, аденовирус, астровирус, калицивирус (*Calicivirus*) (ретко кај доенчиња и деца) и норволквирус или норволк-лајк (*Norwalk-like*) вирус.

#### 2.1.1. Ротавирус

Ротавирусот е RNA вирус и припаѓа на фамилијата *Reoviridae*. Се карактеризира со сегментиран двојно извиткан RNA геном. Секој од 11-те гени на ротавирусот кодираат единичен протеин со исклучок на 11-от ген што кодира два протеина. Вирионот се состои од 4 главни структурни протеини (VP). VP4 и VP7 се површински протеини и тие се примарниот таргет на хуморалниот имунитет. VP4 е продукт на генот 4 и формира шилести структури на површината на вирусот со големина од 10 nm. VP 4 е вирусен хемаглутинин, кој има значајна улога во вируленцијата на ротавирусот. За да влезе вирусот во клетката мора да биде расцепен од страна на трипсин во тенкото црево на два протеина (VP5 и VP8). VP7 е гликопротеин и е одговорен за детерминирање на вирусниот серотип. Внатрешниот капсид се состои од два големи протеина VP6 и VP2. VP6 е одговорен за групната и субгрупната антигенска реактивност (Blacklow et al., 1991).

При примарна и секундарна инфекција се создаваат IgM, IgG, IgA антитела во серумот и интестиналните секрети (Blacklow et al., 1991). Овој вирус е најчест предизвикувач на акутна дијареја кај доенчињата и малите деца. Постојат девет типови ротавирус: A, B, C, D, E, F, G, H и I. Ротавирус тип A и B се

најчести предизвикувачи на вирусен гастроентерит. Типот А е главен предизвикувач на тешка дехидратација кај доенчињата. Се пренесува преку феко-орален пат: ингестија на контаминирана храна или вода и контакт со контаминирани површини. Ширењето по респираторен пат е дискутабилно бидејќи не е докажан во секретите од респираторниот тракт ниту, пак, е асоциран со симптоми од респираторниот тракт (Ивановски и Миленковиќ, 2007). Во земјите во развој првата ротавирусна инфекција се јавува меѓу 6 и 9-месечна возраст, а кај 80% кај доенчињата под една година (WHO Strategic Advisory Group of Experts (SAGE) on Immunization, 2009).

Инфекцијата се појавува сезонски од октомври до април/мај. Во тропските предели болеста се јавува во тек на целата година (Ивановски и Миленковиќ, 2007). Најчесто се јавува од 6-месечна до 3-годишна возраст, затоа што се смета дека во првите 6 месеци доенчето е заштитено од трансплацентарните антитела, пренесени од мајката. Болеста е поретка кај доенчињата што цицаат во однос на оние што се на кравјо млеко (Filipovic, 1995). Хуманото млеко содржи антитела против тој вирус, лактоферин, лизозим и макрофаги (Filipovic, 1995). Контагиозноста е најголема од 2 дена пред почетокот на дијарејата до 2 недели од почетокот на проливот, кога голем број вирусни честички се наоѓаат во столицата. Најголема контагиозност е на третиот ден од појавата на проливот ( $>10^{12}$  вирусни честички/грам столица) (Ивановски и Миленковиќ, 2007).

Вирусот ги напаѓа горните 2/3 од тенкото црево, се размножува во цитоплазмата на ентероцитот, ги оштетува микроресичките додека цревните крипти се поштедени. Патогенезата на болеста е мултифакториелна: дијарејата се случува поради оштетувањето на ентероцитите и нарушувањето на апсорпцијата, вирус индуцирана нарушена регулација на абсорптивните ензими и функционални промени на тесните врски помеѓу ентероцитите што води до параклеточно истекување (Greenberg и Estes, 2009). Инфективните честички се ослободуваат во цревниот лумен и продолжуваат со репликација во дисталните партии на гастроинтестиналниот тракт (ГИТ). Резултат на оваа инвазија е изумирање на ентероцитот, инфилтрација на lamina propria mucosae со мононуклеарни клетки. Овие промени се посебно изразени кај доенчиња помали од 6-месечна возраст (Ивановски и Миленковиќ, 2007).

Постои секреторна компонента на ротавирусна дијареја што се смета дека е посредувана од активација на ентеричниот нервен систем и од страна на неструктурен протеин (NSP) 4. Студиите на вирусот и на ефектите на NSP 4 на култивирани клетки и во животински модели укажуваат дека дијарејата од ротавирусот делумно е предизвикана од активација на хлорните канали што ја зголемува секрецијата на хлор (Cl) и вода. Оваа секреција на Cl не се одвива преку цистична фиброза трансмембранскиот регулатор (Greenberg и Estes, 2009). Овој NSP 4 има цитопатогенетски ефект и се смета дека дејствува и како ентеротоксин (Bajolet и Chipraux-Huyppolite, 1998). Се смета дека вирусот може да предизвика исхемија на цревните ресички и нарушување на цревниот мотилитет (Greenberg и Estes, 2009).

Вирусот ја намалува активноста на ензимите лактаза и натриум – калиум атепеаза (Na-K-ATP-аза). Нарушен е транспортот на електролити и вода преку слuzницата, а многу често се јавува и неподносливост за лактоза. Ензимот лактаза во тенкото црево е најверојатно рецептор за вирусот и тој врши инвазија претежно во јејунумот каде тој ензим се наоѓа во најголема концентрација (Filipovic, 1995).

По кратка инкубација од 1-3 дена се јавуваат симптомите на ротавирус акутен гастроентерит. Покачена температура дури и над 39°C, одбивање храна, гадење, повраќање, зачестени течни столица често проследени со абдоминална коликообразна болка (Filipovic, 1995). Дијарејата може да биде тешка и да доведе до тешка дехидратација. Во студијата на Viçer et al., 2018 кај повеќе од половината од испитуваните пациенти (60,5%) со ротавирус гастроентерит е детектиран средно тежок степен на дехидратација.

Исто така, и во студијата на Modares et al., 2005 се укажува дека најголемиот дел од децата имаат покачена температура, повраќање, и дехидратација, а доењето има протективна улога против ротавирус инфекциите ( $p < 0,005$ ). Кај дел од децата може да се јави и секундарна неподносливост на лактоза поради намалена активност на ензимот лактаза со последична појава на експлозивни пенести столица со жолтеникава боја. Ова ја отежнува исхраната и го продолжува лекувањето (Filipovic, 1995). Проливот трае од 3 до 9 дена, но и подолго кај потхранети и имунокомпромитирани деца (Ивановски и Миленковиќ, 2007).

Годишно ротавирусот е причина за 111 милиони епизоди на дијареја, кои бараат домашна нега, 25 милиони посети на лекар, 2 милиона хоспитализации и 352.000-592.000 (медијана 440.000) смртни случаи кај деца под 5-годишна возраст (Parashar et al., 2003). Слични се и податоците во студијата на Tate et al., 2008 каде што се зборува дека ротавирусот е најчестиот предизвикувач на тешка дијареја кај малите деца и е причина за околу 453.000 смртни случаи годишно во светот. Modares et al., (2005) пријавиле стапка на инфекција од 28,4% со ротавирус А кај хоспитализирани деца под петгодишна возраст во Техеран, следени од јануари 2002 до април 2004 година. Од нив 70% биле под 2-годишна возраст, а највисока стапка на инфекција била таа кај доенчињата од 6 до 12-месечна возраст. Во оваа студија е укажано дека ротавирус акутниот гастроентерит најчесто се јавува во декември, јануари и февруари.

Kazemi et al., (2006) спровеле студија кај деца до 5-годишна возраст хоспитализирани во Исфahan од декември 2003 година до ноември 2004 година. Ротавирус инфекција е детектирана кај 30,8% од вкупниот број деца со акутен гастроентерит. Од нив 84,2% биле случаи на ротавирус акутен гастроентерит кај деца под 2-годишна возраст од кои највисока инциденција се јавила кај доенчињата од 6 до 12 месеци. Стапката на ротавирус акутен гастроентерит била највисока во зимските месеци (41,4%). Ротавирус акутен гастроентерит бил почест кај доенчиња што се хранеле со адаптирана млечна формула и со комерцијално кравјо млеко и оние што посетувале јасли.

Zarnani et al., (2002) направиле студија за да ја утврдат улогата на ротавирусот кај деца помали од 5 години, кои имаат акутен гастроентерит во два педијатриски медицински центра и една општа болница во Техеран. Во 15,3% од децата со акутна дијареја ротавирус бил детектиран со највисока инциденција кај доенчиња од 6 до 12-месечна возраст. Инфекцијата со ротавирус била поретка кај доенчиња што се на мајчино млеко, а повисока кај оние што се на исхрана со адаптирана формула. Најголема детекција на вирусот имало во пролет, а најголема стапка на хоспитализација имало во зима.

Samarbafzadeh et al., (2005) спровеле студија во Ахваз (Ahwaz), Иран од ноември 2001 до март 2002 во која биле опфатени болнички и амбулантски деца од 1 до 24-месечна возраст. Ротавирус бил детектиран кај 26,3% од амбулантските пациенти и кај 36,5% од хоспитализираните пациенти. Во оваа

студија фреквенцијата на ротавирус била највисока кај доенчињата од 7 до 12-месечна возраст (29,5%) што укажува на врската помеѓу возраста и стапката на ротавирус инфекција.

Sharifi-Rad et al., (2013) спровеле студија за застапеноста на вирусен гастроентерит кај доенчиња од раѓање до 12-месечна возраст во зима во 2013 година. Резултатите покажале дека дистрибуцијата на ротавирус, аденовирус и норовирусот меѓу доенчињата со дијареја биле 70,20%, 20,30% и 9,50% соодветно. Резултатите покажале 22, 50, 8 и 2 инфицирани во возрастните групи <1, 1-5, 5-9 и 9-12 месеци. Резултатите покажале дека најзасегната група е онаа од 1 до 5-месечна возраст со вкупен број од 50 пациенти, а потоа следувала онаа под 1 месец со вкупно 22 пациенти. Најголем дел од случаите на вирусна дијареја биле предизвикани од ротавирус (34 доенчиња), норовирус (27 доенчиња) и аденовирус (21 доенче). Вирусната дијареја била почеста кај доенчиња што не биле ексклузивно доени (51 доенче) во однос на оние што биле ексклузивно доени (31 доенче). Застапеноста на ротавирус, норовирус и аденовирус кај доенчињата на мајчино млеко биле 14, 12 и 5 случаи. Застапеноста на ротавирус, норовирус и аденовирус кај доенчињата што се на мешана исхрана била 20, 15 и 16.

Релевантни имуни ефектори, потребни за да се постигне заштита против различните соеви сè уште се тема на дебата. Додека CD8 Т лимфоцитите (CD8 Т-Ly) го олеснуваат чистењето на ротавирус инфекцијата, Б лимфоцитите (B-Ly) се покажаа како круцијални во заштита од реинфекција преку рецептори за мукозата и продукцијата на антитела (Franco и Greenberg, 1995 и Kuklin et al., 2001). Неутрализирачките антитела се насочени кон протеините на надворешната обвивка VP4, VP7 (Ramig, 1997). VP6 протеинот претставува 51% од масата на вирионот и е антигенски конзервиран во групата А ротавирус и може да обезбеди хетеротипна заштита (Prashad и Chiu, 1994). IgA моноклонални антитела насочени кон VP6 протеин од внатрешната обвивка (IgA7D9 MAб) обезбедува заштитен имунитет кај возрасни глувци и глувци што цицаат. Овие антитела немаат ин витро неутрализирачка активност, но тие може да ја медираат нивната антивирусна активност интерферирајќи во циклусот на репликација на вирусот или со дејствување на мукозната површина како sIgA спречувајќи го прилепувањето на вирусот на површината на ентероцитите (Corthésy et al., 2006).

Дијагноза се поставува со:

- Брза детекција на антиген во столицата со Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) за групата А ротавирус и Latex аглутинациски тестови.
- Имунохроматографски тест за детекција на антигенот на ротавирус (Kurokawa et al., 2004 и Weitzel et al., 2007).
- Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) метода, која не се работи рутински.
- Електронска микроскопија за детекција на non Group А вируси.
- Култивирање од групата А: ротавирусите се култивираат во бубрежни клетки од мајмун.

Во студијата на Al-Ali et al., 2011 за детекција на ротавирус група А и ентеричните аденовируси е користен имунохроматографски тест DUO ROTA-ADENOVIRUS – Check-1 на компанијата VEDA.LAB (Alencon-France). Од 43 позитивни случаи на ентерични вируси (54%), ротавирус е детектиран кај 38 деца (48%) со симптоми на акутен гастроентерит, а аденовирусот не е детектиран кај ниту еден случај. Преостанатите 5 позитивни случаи на предизвикувачи на акутен гастроентерит се детектирани со други методи.

Имунохроматографски тест за детекција на ротавирус и аденовирус е користена и во студијата на Carraturo et al., 2008 во која е потврдено дека хуманиот ротавирус е најзначаен етиолошки предизвикувач на дијареја кај хоспитализираните деца во Италија додека ентеричните аденовируси имаат ограничена улога. И во студијата на Торкава et al., 2006 е користен имунохроматографски тест за брза детекција на антигените на ротавирус и аденовирус, но со таа разлика што застапеноста на аденовирус е приближно иста со таа на ротавирус. Овој тест има големо значење во диференцијалната дијагноза кај децата со акутен гастроентерит. Овој тест за брза детекција на антигените за ротавирус и аденовирус е употребен и во други студии за етиолошка брза детекција на акутен гастроентерит кај педијатриската популација (Özer et al., 2011 и Ozsari et al., 2016). Во студијата на Elhag et al., 2013 е користен имунохроматографски тест за брза детекција на ротавирус и аденовирус во столицата кај деца со акутен гастроентерит, а позитивните примероци за ротавирус и аденовирус потоа се испитувани со RT-PCR за утврдување на групата ротавирус и типот аденовирус. Во студијата на Wilhelmi



et al., 2001 е докажано дека имунохроматографската техника за детекција на ротавирус има висока сензитивност (99%) и специфичност (96%) и е брза и лесна за изведување во рутинска клиничка лабораторија. Слични податоци се среќаваат и во студијата на Shimizu et al., 2001 во која е испитувана сензитивноста на имунохроматографски тест за детекција на ротавирус група А, која изнесувала 99,2%, а за аденовирус сензитивноста изнесувала 98,6%. Во студијата на Weitzel et al., 2007 е испитувана сензитивноста и специфичноста на комбиниран имунохроматографски тест за брза детекција на ротавирус и аденовирус, споредено со RT-PCR и е докажано дека сензитивноста на имунохроматографскиот тест за ротавирус е 75%, а специфичноста е 95%. Совпадливоста помеѓу имунохроматографскиот тест и RT-PCR за ротавирус изнесувала (84,5%). За аденовирус сензитивноста изнесувала 22%, а специфичноста 84%. Совпадливоста на резултатите помеѓу имунохроматографскиот тест и RT-PCR изнесувала 66,8%. Во студијата на Kurosawa et al., 2004 се испитувани примероци столица за детекција на ротавирус, аденовирус и норовирус користејќи истовремено RT-PCR и имунохроматографски тест. Во студијата се добиени слични резултати и од двете техники, што укажува дека имунохроматографската техника, како евтина и брза, е корисна во дијагноза на вирусен акутен гастроентерит во земјите во развој.

Третманот на ротавирус гастроентеритис е симптоматски преку корекција на дехидратацијата со орален рехидратациски раствор (ОРС) или со парентерална рехидрација зависно од степенот на дехидратација. Активниот третман со пробиотици (*Lactobacillus rhamnosus* GG и *Sacharomices boulardii*) во комбинација со рехидрацијата е ефективна во намалување на траењето и интензитетот на симптомите на акутен гастроентерит особено оние што се предизвикани од тип А и тип I ротавирус (Guarino et al., 2014).

### **2.1.1.2. Ротавирус имунизација**

Бидејќи природната инфекција ја намалува инциденцијата и тежината на следните епизоди, ротавирус дијарејата може да се контролира со вакцинација.

Серотип специфичниот имунитет може да има протективна улога кон оваа болест (Parashar et al., 1998).

Velazquez et al., (1996) откриле дека ефикасноста од првата ротавирус инфекција го заштитува детето од следната инфекција за 77%. Оваа заштита расте на 83% по две ротавирус инфекции и за 92% по три ротавирус инфекции. Во студијата на Bishop et al., 1983 е направена компарација на ротавирус инфицирани новороденчиња со неинфицирани новороденчиња што се следени во тригодишен период. Симптомите меѓу оние што биле инфицирани во неонаталниот период биле поретки и со послаб интензитет ( $p=0,003$ ) водејќи до заклучок дека неонаталните ротавирус инфекции обезбедуваат заштита од тешка болест во случај на реинфекција.

Постојат две орални атенуирани вакцини, лиценцирани во индустријализираните земји од 2006 година, кои се покажаа за безбедни и ефикасни. Во 2009 година Светската здравствена организација препорача воведување на ротавирус вакцина во целиот свет.

Вакцината Rota Teq (RV 5), Merck&Co. е петовалентна вакцина, која ги содржи најчестите ротавирус антигени кај човекот (G1, G2, G3, G4 и P [8] ), се дава во три дози и содржи соеви од хумано и бовино потекло (WHO Strategic Advisory Group of Experts (SAGE) on Immunization, 2009 и WHO position paper, 2013). Оваа вакцина се дава во три дози почнувајќи од 6 до 12-неделна возраст на интервали од 4 до 10 недели, а третата доза треба да се администрира пред 32-та недела од раѓањето (WHO Strategic Advisory Group of Experts (SAGE) on Immunization, 2009). Се препорачува оваа вакцина да се дава со трите дози на DiTePer и Polio вакцина.

Rotarix (RV1), GlaxoSmithKline Biologics е дводозна моновалентна вакцина од хумани соеви (WHO position paper, 2013). Rotarix е жива вакцина што содржи атенуиран моновалентен G1P(8) сој на хуман ротавирус и се препорачува да се администрира орално во две дози почнувајќи од 6 до 12-неделна возраст со интервал од најмалку 4 недели помеѓу двете дози и со завршување до 24-неделна возраст (WHO Strategic Advisory Group of Experts (SAGE) on Immunization, 2009). Се препорачува оваа вакцина да се дава заедно со DiTePer 1 и 2, Polio и пнеумококна вакцина (WHO position paper, 2013).

Вакцинација кај деца над 2-годишна возраст не се смета за неопходна. И покрај малиот ризик од појава на интусусцепција ротавирус вакцините се безбедни.

Главни контраиндикации за ротавирус вакцина се тешка алергиска реакција на првата доза или тешка имнунодефициенција. Вакцинацијата треба да се одложи доколку детето во моментот има акутен гастроентерит или друга болест со покачена температура (WHO position paper, 2013).

Голем број рандомизирани контролирани студии покажаа дека и двете орални вакцини се 80-90% ефикасни против тежок ротавирус акутен гастроентерит во земји со низок или многу низок морталитет и 40-60% ефикасност во земји со висок или многу висок морталитет кај децата и возрасните. Во најголем дел од случаите вакцинацијата во доенечкиот период обезбедува заштита од тежок ротавирус акутен гастроентерит најмалку во текот на 2 години. Доењето и прематуритетот (<37 г.н.) немаат значајно влијание врз одговорот на ротавирус вакцината (WHO position paper, 2013).

Moon et al., (2010) го објаснуваат слабиот одговор на ротавирус вакцината во слабо-развиените земји делумно поради високиот титар на IgA антитела во млекото на мајките што живеат во овие земји, кои преку млекото ја намалуваат ефективностa на вакцината.

Меѓутоа две рандомизирани контролни студии не најдоа статистичка значајна разлика во антиротавирус IgA сероконверзијата кога беше продолжено доењето или кога е прекинато за време на вакцинацијата (Groome et al., 2014 и Ali et al., 2015)

Во трета рандомизирано контролирана студија покажана е статистички значајно висока сероконверзија помеѓу доенчињата што биле доени. Поставена е хипотеза дека мајчиното млеко може да дејствува како дополнителен пуфер во неутрализација на желудочната киселина, а со тоа и да ја подобри апсорпцијата на вакцината (Rongsen-Chandola et al., 2014 и Burnett et al., 2016).

Главната цел на овие вакцини е да се создаде природната меморија на инфекција и да се заштити од тешка болест во првите месеци од животот. Предвремено родените новороденчиња се изложени на поголем ризик од тешка инфекција со ротавирус во споредба со терминските новороденчиња и новороденчиња со нормална родилна тежина. Податоците, собрани за ротавирус вакцинација кај предвремено родени новороденчиња покажаа дека вакцините за ротавирус се ефикасни и безбедни, како и кај терминските новороденчиња, со маргинален ризик од хоризонтално пренесување на вирусот и дисеминација кога вакцинацијата се изведува за време на

хоспитализација. Предвременно родените новороденчиња честопати се хоспитализирани по почетокот на 12-та недела од животот, што сугерира дека треба да примаат ротавирус вакцини според официјалниот распоред на имунизација (Álvarez Aldeán et al., 2019).

По воведувањето на ротавирус вакцините во високоразвиените земји хоспитализациите поради ротавирус дијареја се намалија од 49 до 92% од 54-59% во средно развиените земји, а во ниско развиените земји од 69-81% (Tate и Parashar, 2014)

### **2.1.2. Аденовирус (Adenovirus)**

Хуманите аденовируси (HAdV) припаѓаат на генусот *Mastadenovirus* на фамилијата *Adenoviridae* и се состои од 7 видови (HAdV-A – HAdV-G) вклучувајќи повеќе од 70 серотипови (Lync и Kajon, 2016). Цревни аденовируси од групата F (40 и 41 серотипови) се значајни предизвикувачи на акутен гастроентерит кај доенчињата и децата до двегодишна возраст (втор по честота веднаш по ротавирусот со честота од 1 до 20% од сите случаи на дијареја на светско ниво кај амбулантски или хоспитализирани деца (Filipovic, 1995; Dey et al., 2011; Shimizu et al., 2007; Lin et al., 2000 и Barnes et al., 1998).

На истото укажуваат и резултатите од студијата на Filho et al., 2007 каде што аденовирусот бил најчесто изолиран кај деца со дијареја помали од 2 години. Dey et al., (2011) сакале да утврдат дали сезонските промени играат улога во преваленцијата на аденовирус дијарејата и резултатите биле анализирани на месечно ниво во текот на две години. Аденовирусната дијареја била преобладавајќа во февруари и март во текот на двете години иако имало спорадични случаи и во тек на годината. Во симптоматските и асимптоматските случаи аденовирусната дијареја е најчесто детектирана кај деца под две години. Средната возраст на децата со аденовирус тип 40 инфекција била на 8-месечна возраст, на аденовирус тип 41 инфекција најчесто кај деца со средна возраст од 15 месеци.

Инфекцијата се пренесува по феко-орален пат, но може и со директен контакт со заболен пациент. За разлика од ротавирус, аденовирус акутниот

гастроентерит нема сезона. Инкубацијата е долга 8-10 дена, а потоа се јавува симптоматологија: повраќање во текот на 1-2 дена, лесно покачена температура во текот на 2-3 дена и дијареја што може да трае 5-12 дена (најдолго кај серотипот 40). Може да се јави секундарна интолеранција на лактоза (Filipovic, 1995). Ретко се комплицира со дехидратација од тежок степен. Дијагнозата на аденовирус акутен гастроентерит може да се постави со детекција на вирусен антиген со латекс аглутинација, имунохроматографски тест како во студиите на Kurokawa et al., 2004 и Weitzel et al., 2007 или со докажување на вирусните партикли со електронска микроскопија или со ELISA или со PCR.

Во земјите во развој меѓу кои е и нашата земја најчесто се користат евтини и лесни за изведување тестови за вирусна детекција. Најчесто се користат имунохроматографски тестови за брза детекција на ротавирус и аденовирус.

### **2.1.3. Норволквирус (Norwalk) и Норволк лајк (Norwalk-like) вируси**

Името го добиле по епидемија на акутен гастроентерит во Норволк, Охајо во 1972 година. Овие вируси припаѓаат на фамилијата *Caliciviridae*. Имаат едноверижна RNA, немаат обвивка и се со димензија од 27 до 32 nm. Вирусот норволк е чест предизвикувач на акутен гастроентерит во светот. Во развиените земји каде што е започната програмата на ротавирус вакцинација, вирусот норволк е најчест предизвикувач на акутен гастроентерит во детската возраст (Саресе и Gignac, 2008). Распространети се насекаде во светот и ги има во повеќе епидемиски соеви. Познати се седум геногрупи на норволквирус, но само геногрупите I и II се одговорни за најголем дел од инфекциите кај луѓето (Atmar et al., 2018). Студиите покажаа дека дијареите што се јавуваат преку контаминирана вода се асоцирани со геногрупа I, додека зимските епидемии се последица на геногрупа II (Atmar et al., 2018).

Најчесто ги напаѓаат доенчињата и децата во школска возраст. Доенчињата што се на мајчино млеко поретко се инфицирани и имаат полесна клиничка слика во однос на оние што се на адаптирана формула или комерцијално кравјо млеко. Во студијата на Ruvoën-Clouet et al., 2006 е утврдено дека има две фракции во мајчиното млеко, кои дејствуваат инхибиторно на

прилепувањето на капсидот на норволквирусот. Тоа се жолчни соли-стимулирана липаза и муцин (MUC1, MUC 4), кои дејствуваат како рецептори за норволквирус. Најчесто инфекцијата се јавува во зимските месеци. Трансмисијата е феко-орална преку контаминирана храна или вода од фекални материји како и при директен контакт човек со човек. Вирусот и во мал број е високоинфективен (<100 честички) (Ивановски и Миленковиќ, 2007). Вирусот е резистентен и може да остане на површините дури и по дезинфекција (Atmar et al., 2018). Вирусот предизвикува сериозни компликации кај новородените како некротизирачки ентероколит. Годишната инциденција на норволквирус акутен гастроентерит се проценува дека изнесува 21.400 на 100.000 деца под 5-годишна возраст. Норволквирус инфекциите се почести во земјите во развој (Atmar et al., 2018).

Вирусот предизвикува хистопатолошки промени на слузницата во проксималниот дел на тенкото црево (јејунумот): проширување и израмнување на цревните ресички, хиперплазија на цревните крипти, цитоплазматска вакуолизација, инфилтрација на lamina propria mucosae со полиморфонуклеарни и мононуклеарни клетки. Не се забележани хистолошки промени на фундусот и антрумот на желудникот ниту на слузницата на колонот (Glass et al., 2009 и Levy et al., 1976). Ензимската активност (алкална фосфатаза, сукраза и трехалаза) е намалена што резултира со умерена стеатореа и транзитрна малапсорпција на јаглехидрати (д-ксилоза, лактоза) (Agus et al., 1973). Активноста на јејуналната аденилат циклаза не е зголемена. Промените се повлекуваат за две недели. Карактеристично за акутниот гастроентерит, предизвикан од норволквирус, е тоа што инфекцијата го нарушува гастричното празнење што ја објаснува честотата на гадењето и повраќањето (Blacklow et al., 1991).

Инкубацијата трае од еден до два дена, а потоа се јавува симптоматологија: гадење, повраќање, стомачна болка, дијареја, главоболка и покачена температура. Повраќањето е почесто кај децата, а дијарејата е почеста и поинтензивна кај возрасните. Симптоматологијата трае околу 2-3 дена. Кај дел од пациентите може да се јават и респираторни симптоми, слични на грип (Ивановски и Миленковиќ, 2007). Може да се јави како епидемија во градинките, камповите и школите. Вирусот е присутен во екскретите и по завршување на симптомите. Во една јапонска студија е укажано на висока

стапка на асимптоматски норволквирус инфекции и пролонгирана екскреција на вирусот по инфекцијата (Ozawa et al., 2007).

Норволк и норволк лајк вирусите може да се детектираат со одредување на IgM и IgG антитела со ELISA метода, со детекција на вирусните партикли со електронски микроскоп и со имунохроматографски тест (Relić et al., 2015). Имунитетот е краток се губи по 2-3 години од примарната инфекција или отсуствува (Parrino et al., 1977). Третманот на норволквирус акутен гастроентерит е ист како и кај преостанатите вирусни предизвикувачи со пробиотици и орална рехидрација или ако пациентот повраќа и е тешко дехидриран со парентерална рехидрација.

#### **2.1.4. Астровирус (Astrovirus)**

Хуманиот астровирус е еден од почестите предизвикувачи на средно тешка дијареја и е значаен фактор за појава на нозокомијална дијареја (Jeong et al., 2012). Астровирусот е мал вирус без обвивка со едноверижна RNA со димензии од 27 до 32 nm. Припаѓа на фамилијата *Astroviridae* (Filipovic, 1995 и Bosch et al., 2014). Се разликуваат 8 серотипови. Астровирус тип 1 е најчест предизвикувач на дијареја во однос на преостанатите 7 серотипови (Burbelo et al., 2011).

Главниот клеточен рецептор за хуманиот астровирус сè уште останува непознат, но подложноста на различни клеточни линии на инфекција со хуман астровирус се разликува во зависност од серотипот (Brinker et al., 2000), што укажува на тоа дека овие вируси би можеле да ја искористат предноста да имаат повеќе од еден рецептор, од кои некои може да имаат полисахаридна природа (Dong et al., 2011). Се смета дека јагленохидратна молекула може да дејствува како клеточен рецептор. Во ин витро студија е докажано дека со врзувањето на вирусот за епителната клетка се зголемува клеточната пермеабилност и ова се случува независно од репликацијата на вирусот (Moser et al., 2007).

Се проценува дека астровирусите, предизвикуваат од 2 до 9% од сите случаи на небактериска дијареја кај децата (Bosch et al., 2014), со нови соеви поврзани

со инфекција на централниот нервен систем (менингит и енцефалит) посебно кај имунокомпромитирани деца (Cordey et al., 2016 и Quan et al., 2010).

Најчесто се јавува од доенечка возраст (6 до 12-месечна) до двегодишна возраст (Olorategui et al., 2017). Во една клиничка студија, спроведена во Кина, дистрибуцијата на астровирусната дијареја била 7,4 % кај доенчиња од 9 до 11-месечна возраст, 6,1 % кај доенчиња од 12 до 17-месечна возраст, 5,6 % кај доенчиња од 6 до 8-месечна возраст и 5,6 % кај доенчиња од 0 до 2-месечна возраст. Над 95% од инфекциите се случиле кај деца под 2-годишна возраст (Fang et al., 2006).

Астровирус е откриен во 6 (7%) епидемии на дијареја од вкупно 81. Од 217 тестирани деца, 73 (34%) биле заразени со астровирус. Од инфицираните деца 35 (48%) биле симптоматски, а 38 (52%) асимптоматски. Шесте епидемии траеле од 11 до 44 дена (средно траење 22 дена). Екскрецијата на астровирусот траела од 2 до 30 дена, при што екскрецијата се јавувала од 1 до 8 дена (просечно 2 дена) пред започнувањето на дијарејата, а траела од 1 до 20 дена (просечно 2 дена) по прекинувањето на дијарејата. Помладите деца ( $\leq 12$  месеци) биле изложени на поголем ризик од инфекција за разлика од постарите деца ( $p=0,011$ ) и почесто имале симптоми кога биле заразени во однос на постарите деца ( $p=0,015$ ). Од 24 примероци со астровирус, кои биле детектирани со ензимски имуноесеј (EIA) потврдено е дека 20 (83%) го имаат вирусот со реакција на реверзна PCR (Mitchell et al., 1993). Астровирусот е значајна причина за експлозии на дијареја во градинките, притоа почесто се инфицирани децата од помала возраст, но чести се и асимптоматските инфекции (Mitchell et al., 1993). Вирусот може да предизвика и нозокомијална дијареја кај деца помали од 2 години, хоспитализирани на детските одделенија (Esahli et al., 1991). Наспроти горенаведените резултати во една француска студија е утврдено дека астровирусната дијареја е почеста кај деца над 3-годишна возраст (Chikhi-Brachet et al., 2002).

Инфекцијата се пренесува од човек на човек, преку феко-орален пат. Астровирус дијарејата е поретка во однос на ротавирус, аденовирус и норволквирусната дијареја. Нема сезона на појавување, но во една студија во Кина, спроведена во период од 1998 до 2005 година кај деца под 5-годишна возраст астровирусната дијареја се појавила во период од октомври до јануари (Fang et al., 2006). Морбидитетот зависи од сезоната. Инфекцијата почесто се



среќава во зима во земјите со умерена клима, додека во земјите со тропска клима во сезона на дожд (Krishnan, 2014).

Инкубацијата на астровирусот трае од 1 до 5 дена, а болеста трае од 1 до 3 дена. Има полесна клиничка слика од ротавирус гастроентеритис. Трансмисијата е по феко-орален пат, од човек на човек, преку контаминирана храна и вода. Клинички се манифестира со пролив, повраќање, главоболка, лесно покачена температура. Ретко предизвикува тешки дехидратации во однос на ротавирусната дијареја.

За човечката популација во литературата постои само еден извештај за хистопатолошките промени на тенкото црево, добиена по пат на биопсија на дуоденум и јејунум кај дете со имундефицит и перзистентна астровирус дијареја по трансплантација на коскена срцевина. Детето го елиминирало вирусот во столицата во текот на 60 дена. Главните хистопатолошки промени се состоеле во израмнување на цревните ресички, ирегуларна епителна површна и појава на инфламаторен инфилтрат во lamina propria mucosae. Вирусната репликација била откриена во површните епителни клетки на врвот од цревните ресички во дуоденум и јејунум. Иако пациентот бил имунокомпромитиран инфламацијата на епителот на тенкото црево била умерена (Sebire et al., 2004). Брзото губење вода и електролити може да настанат поради намалување на апсорптивната функција на црево, активација на секреторниот процес или поради нарушување на епителната пермеабилна бариера (Bosch et al., 2014).

Дијагнозата се поставува со електронска микроскопија, EIA, имуофлуоресцентна микроскопија и PCR.

Превенцијата на астровирус акутен гастроентерит треба да се фокусира на отстранувањето на изворот на инфекција и на прекин на трансмисијата од човек на човек. Астровирусната дијареја, обично, е самолимитирачка, но понекогаш кај деца од помала возраст може да има потреба од перорална или парентерална рехидрација. Во иднина имунизацијата може да има голема улога во превенцијата на астровирусната дијареја (Jeong et al., 2012).

Во текот на бременоста се врши траснплацентарен пренос на антитела и нивното ниво се намалува по шестиот месец (Mitchell et al., 1999). Инфекцијата индуцира производство на антитела кај човекот, кои може да бидат присутни за подолг временски период (Koortmans et al., 1998).

Мукозниот IgA има значајна улога во одбраната против гастроинтестинални вирусни инфекции и е докажана продукција на sIgA антитела кај астровирусна инфекција (Blutt и Conner, 2013). Во слузницата на тенкото црево, инфицирано со астровирус се пронајдени и CD4 T-Ly и CD8 T-Ly клетки. Од ова се согледува дека и хуморалниот и клеточниот имунитет се вклучени во заштита од реинфекции (Molberg et al., 1998). Исто така, е докажано дека капсиден протеин на вирусот го инхибира системот на комплемент, кој е дел од имуниот одговор против бактериски и вирусни инфекции.

## **2.2. Бактериски акутен гастроентерит**

Во поголемиот дел од светот дијарејата е водечка причина за смрт кај новороденчињата и доенчињата. Ризиците од бактериски ентеритис вклучуваат акутна загуба на течности, опасна за животот, бубрежна инсуфициенција и нарушен раст. Изложеноста на бактериски ентеропатогени варира географски. Во областите каде што е лоша санитарната состојба, голем број патогени се јавуваат со голема фреквенција. Во поразвиените земји, се среќаваат ограничен вид патогени, кои лесно се шират преку директен контакт или преку загадена храна (Noguera-Obenza и Cleary, 2001).

### **2.2.1 Ешерихија коли (*Escherichia coli*)**

Познати се десетина серотипови на ешерихија коли (*E. Coli*), но само некои од нив предизвикуваат акутна дијареја. Болеста почесто се јавува кај новороденчињата и доенчињата. Оваа склоност кон инфекции во првите месеци од животот се објаснува со ниското ниво на IgM, кој е главен носител на антителата против грам негативните бактерии. Најверојатно со возраста се намалува бројот на рецепторите за термостабилниот токсин на *E. coli* па постарите деца стануваат поотпорни на инфекции. Мајчиното млеко содржи високо ниво на sIgA антитела кои го спречуваат прилепувањето на *E. coli* за цревната слузница. Инфекцијата е почеста во летниот период и тоа почесто кај доенчињата што се хранат со кравјо млеко во однос на оние што цицаат

(Filipovic, 1995). Инфекцијата се пренесува по феко-орален пат, со директен контакт или, пак, со храна и вода, контаминирана со човечки измет. Инкубацијата трае од 3 до 12 дена. Болеста може да се јави спорадично или во вид на мали епидемии во породилиштата, градинките или на болничките одделенија (Filipovic, 1995). Клиничката слика е различна од блага до тешка, пратена со тешка дехидратација, ацидобазно и електролитно нарушување. Смртноста кај доенчињата и малите деца изнесува од 5 до 10%. Во зависност од механизмот со кој ја предизвикуваат дијарејата се разликуваат повеќе типови *E. coli* (Filipovic, 1995).

Ентеропатогената *E. coli* има способност за адхеренција на слузницата и предизвикува фокално оштетување на микроресичките на слузницата, а тоа доведува до намалување на транспортот и апсорпцијата на вода и електролити преку слузницата. Оваа бактерија дејствува цитотоксично, не е ентероинванзивна, ниту создава ентеротоксин (Filipovic, 1995).

Ентеротоксичната *E. coli* го колонизира горниот дел од тенкото црево. По адхеренцијата на ентероцитот создава термолабилен или термостабилен ентеротоксин. Термолабилниот ентеротоксин преку аденилат циклаза од аденозин трифосфат (АТФ) создава цикличен аденозин монофосфат (сАМФ) кој ја успорува апсорпцијата на натриум (Na), Cl и вода во ентероцитите на врвот од микроресичките, а го зголемува лачењето на Na, бикарбонати (HCO<sub>3</sub>) и вода во криптите на слузницата. Овие промени доведуваат до секреторна дијареја. Термостабилниот ентеротоксин преку гванилат циклаза создава гванозин монофосфат (GMP), кој дејствува слично на цревната апсорпција (Filipovic, 1995).

Ентероинванзивната *E. coli* продира во епителните клетки на слузницата на колонот и предизвикува видливи оштетувања, воспаление, улцерации и некроза. Поради тоа во столицата може да се јави крв (дизентеричен синдром) (Filipovic, 1995).

Ентероадхерентната *E. coli* се прилепува за епителот, не создава токсин, нема инванзивно својство и предизвикува акутна дијареја (Filipovic, 1995).

### 2.2.2. Салмонела (*Salmonella*)

Постојат повеќе од 2.300 серотипови на нетифусни салмонели (Ивановски и Миленковиќ, 2007). За разлика од предизвикувачите на тифус и паратифус другите салмонели се адаптирани на животните и живината, но често предизвикуваат заболувања кај човекот (Filipovic, 1995). Инфекциите најчесто се предизвикани од *Salmonella typhimurium* и *Salmonella enteritidis*. Поподложни на инфекција се доенчињата, имунокомпромитираните пациенти и постарите лица. Почести се во дождливите сезони, во областите со тропска клима и во топлите сезони кај умерена клима. Централизацијата на производството на храна ги направи нетифоидните салмонели предоминантни во развиените земји. Резервоар се животни: свињи, говеда, живина, стаорци (Ивановски и Миленковиќ, 2007). Инфекцијата се пренесува преку живина, јајца (80% од случаите), месо, преработки од месо, млеко, школки контаминирани со столица или урина во кои се наоѓаат тие бактерии. Ретко, но може да се пренесе со директен контакт преку загадени раце. Извор на инфекцијата е болен човек или клицоносителите, но и домашните животни и живината.

Инфекциите со салмонела претставуваат значаен проблем за доенчињата во првите три месеци од животот поради ризикот од настанување на сепса поради ниското ниво на IgM антитела и малата отпорност кон грам негативни бактерии (Filipovic, 1995).

Салмонелата се прилепува за епителот на слузницата на тенкото црево и ги оштетува микроресичките на ентероцитите, а потоа стигнува до lamina propria mucosae каде што се размножува. Предизвикува морфолошки промени на слузницата. Овде создава простагландини што ја стимулираат аденилат циклазата. Тоа доведува до зголемено лачење на електролити и вода во цревниот лумен поради што се јавува дијареја (Filipovic, 1995).

На светлосна микроскопија во илеумот се забележува денудација на колумнарниот епител што овозможува поминување на токсините во циркулацијата. На електронска микроскопија на илеумот се забележува раздвојување на врските помеѓу епителните клетки со фокална некроза на слузницата и појава на интраклеточни мембрански инклузии.

Нетифусните салмонели имаат краток инкубационен период од 12 до 72 часа. Клинички се манифестира со дијареја, повраќање, треска, покачена

температура (38-40°C), главоболка, стомачна болка и папсаност. Столиците во почетокот се зеленкави и ретки, а потоа стануваат чести и водени (Ивановски и Миленковиќ, 2007). Во столиците понекогаш може да се присутни слуз и крв. Болеста, обично, трае околу 5 дена (Ивановски и Миленковиќ, 2007). Кај новороденчињата и доенчињата може да се комплицира со сепса, менингит, остеомиелит. Во оваа возраст често може да дојде до тешка дехидратација со последична акутна бубрежна инсуфициенција и смрт. Ретко болеста може да се манифестира со псевдоапендицитис – клиничка слика, која имитира акутен апендицитис (Filipovic, 1995).

Зачестеноста на проливите зависи од тежината на клиничката слика, која може да биде лесна (умерена стомачна болка, неколку течни столици по што болеста престанува), средно тешка (пролив, повраќање, папсаност, стомачна болка, покачена температура, кои траат од 2 до 5 дена) и тешка (исти симптоми како кај средно тешкиот облик, но болеста трае подолго, со поизразена дехидратација, а може да се јават и болки и грчеви во мускулите) (Ивановски и Миленковиќ, 2007). Серотиповите *Salmonella choleraesuis* и *Salmonella dublin* се инванзивни и предизвикуваат бактериемија и треска. Може иако ретко да развијат и локализиран инфекции како артерит и ендокардит посебно кај деца со конгенитални срцеви аномалии. Ретко може да предизвикаат менингит и мозочен апсцес и да доведат до смрт (Ивановски и Миленковиќ, 2007).

Можна е и појава на интрабодоминални инфекции како апсцес во црн дроб или слезенка, кои се третираат оперативно. Кај имунокомпромитирани деца можна е појава на лобарна пневмонија, па и уринарни инфекции како пиелонефрит или цистит (Ивановски и Миленковиќ, 2007).

Иако многу ретко кај новороденчињата и во раната доенечка возраст може да се јави остеомиелит на фемур, тибиа, хумерус или на лумбалните пршлени. (Ивановски и Миленковиќ, 2007).

Методи за докажување на салмонелата се: култивирање на измет и/или крвта, ELISA за докажување на серотипот преку одредување на антитела, PCR за детекција на салмонела во изметот, Видалова (Widall) реакција (Ивановски и Миленковиќ, 2007).

Акутниот гастроентерит, предизвикан од нетифоидни салмонели кај доенчињата се третира со антибиотици (третогенерациски цефалоспорини) од 7 до 14 дена, бидејќи постои ризик од системска инфекција, сепса, рецидиви па

и бацилоностилество. Некритичната употреба на антибиотици при одгледувањето на стока е причина за големата резистенција на салмонелата кон антибиотици (Ивановски и Миленковиќ, 2007).

Неодамнешните истражувања покажале дека екскрецијата на салмонела е подолготрајна кај деца под 5-годишна возраст и кај оние со симптоматски инфекции (Buchwald и Blaser, 1984). Се верува дека антимикуробна терапија за нетифоидна гастроентеритис салмонела не го скратува времетраењето на дијарејалната болест и може да го продолжи клицоносителството (Onwuezobe et al., 2012).

Моментално, антимикуробната терапија, обично, не е индицирана кај здрави деца со асимптоматска инфекција или некомплицирани гастроентеритис, предизвикан од нетифоидни серотипови, но се препорачува кај новороденчиња и доенчиња под 3-месечна возраст, поради поголема инциденција на екстраестинални компликации или инвазивно заболување. Третманот треба да се земе предвид и кај деца со висок ризик, како што се, анемија на српести клетки, малигнитет, имуносупресија и хронично заболување на гастроинтестиналниот тракт. При започнување на терапија, се препорачува амоксицилин или триметоприм-сулфаметоксазол кај пациенти со гастроентеритис. За отпорни видови, обично, е ефикасен азитромицин (Álvarez et al., 2019).

*Salmonella typhi* и *Salmonella paratyphi* се многу инвазивни. Поподложни на овие инфекции се децата под 1-годишна возраст. Тие продираат во илеумот до PP, а потоа преку лимфните садови доаѓаат во крвотокот. Бактериите на салмонела развиле механизми за да се избегне имунолошката одбрана и да предизвикаат хронична инфекција кај домаќинот. Имунолошкиот одговор на домаќинот вклучува вродени и стекнати компоненти, кои се различно активни во мукозните и системските лимфоидни ткива.

Се покажа дека CD4 T-Ly играат голема улога во заштитниот имунитет за време на примарна и секундарна инфекција со салмонела. Овие CD4 T-Ly првично се активираат во PP и мезентеријалните лимфни јазли по орална инфекција, пред да се појават дополнителни стимулации во системските ткива. Покрај CD4 T-Ly, вродените имунолошки клетки, CD8 T-Ly и B-Ly, имаат значаен придонес во чистењето на патогенот (Pham и McSorley, 2015). Салмонелата се размножува во ретикулоендотелните клетки во хепарот и

слезенката што често доведува до хепатоспленомегалија. Може да се комплицира со менингит и конвулзии. Често е проследена со осип по телото (Filipovic, 1995).

### 2.2.3. Шигела (Shigella)

Дизентеријата е бактериско воспаление на лигавицата на дебелото црево, чија класична манифестација е слузаво-крвав пролив. Шигелите се грам негативни бактерии, неподвижни без капсула од родот *Enterobacteriaceae*. Според антигенската структура и биохемиските карактеристики, шигелите се делат во четири главни групи: *Shigella dysenteriae* со 10 серотипови, *Shigella flexneri* со 14 серотипови, *Shigella sonnei* со еден серотип, *Shigella boydii* со 18 серотипови. Основен механизам на болеста е нивната инванзивност, која зависи од шига-егзотоксинот, кој најмногу го излучува *Shigella dysenteriae* тип I, а другите серотипови во помала мера (Ивановски и Миленковиќ, 2007). Шига токсинот има силни ентеротоксични и невротоксични својства. (Ивановски и Миленковиќ, 2007). Шигелозата се јавува во сите возрасти, а особено кај деца од 6-месечна до 5-годишна возраст. (Ивановски и Миленковиќ, 2007).

Извор на инфекција е човекот. Инфекцијата се пренесува преку контаминирана храна и вода со човечки измет (експлозивна дијареја), а поретко со директен контакт (спорадична епидемија). За појава на болеста е потребна мала инфективна доза од 10 до 100 шигели. Инфекцијата е почеста кон крајот на летото. (Ивановски и Миленковиќ, 2007).

Шигелите имаат инванзивно својство и продираат во епителните клетки на колонот. Тука се размножуваат предизвикуваат воспаление понекогаш со појава на улцерации и крвавење. Настанува акутен колит пропратен со дизентеричен синдром (крвави столица). Одредени типови шигела во тенкото црево лачат ентеротоксин, кој стимулира создавање cAMP и GMP, а со тоа и појава на секреторна дијареја. Инкубацијата трае од 1 до 3 дена. (Filipovic, 1995). Болеста започнува со покачена температура, намален апетит и папсаност. Проливот на почетокот е воден, а потоа станува мукоиден со примеси на крв. Дневно се јавуваат од 8 до 10 течни столица со мал волумен (просечно се губи 30ml/kg/ден). Тежината на болеста варира во зависност од

серотипот. *Shigella sonnei* предизвикува умерена болест најчесто само со појава на воден пролив. За разлика од неа *Shigella dysenteriae* тип 1 и *Shigella flexneri* најчесто предизвикуваат дизентеричен синдром. Кај имунокомпетентни пациенти болеста, обично, трае до 7 дена (Ивановски и Миленковиќ, 2007).

Стомачните болки, главно, се во вид на грчеви. Изметот во почетокот е обилен и фекулентен, но по 3 дена стивнуваат количински и се манифестираат со слуз и крв (дизентерична исплувка). За болеста се карактеристични тenezми и лажни нагони на исфрлање измет, кои се јавуваат поради соголените сензитивни завршетоци во ампулата на ректумот (Filipovic, 1995).

Кај шигелозите е можна појава на екстраинтестинални манифестации. Кај децата најчести се респираторните компликации со пневмонија и на нервниот систем со појава на менингит и конвулзии. Кај овие деца карактеристично е што при лумбална пункција наодот во ликворот е во граници на нормала. При потешка клиничка слика и подолго траење на болеста може да се јави хипопротеинемија. Ретка компликација е појава на реактивен артрит, која се јавува по 2-3 недели од завршувањето на болеста. Се манифестира како моноартрит или олигоартрит на зглобовите на нозете. Овие артрити кај 90% се јавуваат кај носители на хуман леукоцитен антиген (HLA) – B27 алоантиген. Една од најтешките компликации кај децата е појава на хемолитичко-уремичен синдром (Filipovic, 1995).

Дијагнозата се поставува со копрокултура и PCR. Третманот се состои од надоместување на вода и електролити, хигиено-диететски режим на исхрана и антимикробна терапија. Лекови од избор се ампицилин, триметоприм-сулфометоксазол. Третманот трае од 5 до 7 дена. (Filipovic, 1995; Ивановски и Миленковиќ, 2007)

#### **2.2.4. Кампилобактер јејуни (*Campylobacter jejuni*)**

Кампилобактер јејуни најчесто се јавува на пролет и лето. Извор на инфекција се живина, птици, куче, мачка, свињи, говеда. Инфекцијата се пренесува преку контаминирана храна или вода од секретите на гореспоменатите животни. Може да се пренесе со директен контакт со животното или со заболен човек. Ова е ентероинванзивна бактерија бидејќи се



прилепува за епителот, а потоа продира во него и ги оштетува ентероцитите. Некои типови лачат и ентеротоксин и предизвикуваат секреторна дијареја. Инкубацијата трае од 3 до 5 дена, па потоа се појавуваат симптоми: покачена температура, болка во мускулите, главоболка, абдоминална болка. Потоа следуваат течни столица, а може да се видат и примеси на крв во нив. Промените се повеќе изразени на дебелото црево. Болеста трае неколку дена, но може да премине и во хронична инфекција. Опишани се случаи со појава на артритис (Filipović, 1995). Дијагнозата се поставува со засадување на посебни подлоги, причинителот може да се открие и на обоен препарат поради специфичен изглед на буквата S. Се користи и серологија за детекција на оваа бактерија. Третманот се состои во супституција на вода и електролити и каузална терапија со еритромицин, азитромицин, а кај возрасни и кинолони.

#### **2.2.5. Јерсинија ентероколитика (*Yersinia enterocolitica*)**

Јерсинија ентероколитика се јавува во зимските месеци. Извор на инфекција се човекот и домашните животни. Инфекцијата се пренесува преку контаминирана храна и вода што се чува во фрижидер. Бактеријата доаѓа до терминалниот илеум се прилепува на цревниот епител, врши инвазија и стигнува до lamina propria mucosae и lamina muscularis mucosae. Се размножува во ретикулоендотелните клетки на PP. Може да стигне до мезентеријалните лимфни жлезди и да предизвика мезентеријален лимфаденит (Filipović, 1995). Инкубацијата трае од 7 до 10 дена, се јавува стомачна болка, гадење, повраќање, покачена температура и пролив. Кај дел од пациентите може да се јави артрит и нодозен еритем. Терминалниот илеит е понекогаш тешко да се разликува од Крнова болест (Filipović, 1995). Дијагнозата се поставува со копрокултура – сензитивноста се намалува со повлекување на симптомите. Серологијата се иследува со ELISA. IgM антителата се јавуваат по неколку дена, а исчезнуваат по неколку недели. IgG антителата можат да траат со години, IgA антителата се поврзуваат со појава на артритис (Ивановски и Миленковиќ, 2007).

### **2.2.6. Вибрио колера (*Vibrio cholerae*)**

Вибрио колера се пренесува преку контаминирана храна или вода. Предизвикува епидемиска колера. Ја нема во нашето географско подрачје. Инкубацијата трае до 36 часа. По прилепување за цревната слузница бацилот лачи колера токсин, кој се врзува за површината на ентероцитите без оштетувања и инвазија на епителот. Токсинот ја стимулира аденилат циклазата и се создава cAMP, кој го стимулира лачењето на вода и електролити. Настанува тешка дијареја со тешка дехидратација и ризик од метаболна ацидоза со акутна бубрежна инсуфициенција и смрт. Третманот се состои од ургентна парентерална рехидрација и антибиотска терапија (Filipovic, 1995).

### **2.3. Механизам на природна одбрана на организмот**

Основна задача на имуниот систем е да го брани и чисти организмот од инфективни и други видови агенси препознавајќи ги сопствените и реагирајќи на туѓите антигени. Имуниот систем на фетусот и новороденото е компетентен, но неискусен и недоволно ефикасен, со карактеристики на Th<sub>2</sub> насоченост. За негово ефикасно созревање, потребна е антигена стимулација. Два одделни, но меѓусебно постојано соработувачки системи на одбраната на организмот се: вроден имун одговор и стекнат имун одговор (Mardesic, 2003).

За да ги оствари ефикасно сложените задачи имуниот систем е организиран на: лимфоиден систем и ретикулоендотелен систем (РЕС). Во лимфоидниот систем влегуваат: примарни лимфоидни органи (тимус и коскена срцевина) и периферни лимфоидни органи (лимфни јазли, слезена, мукозоно лимфно ткиво). Клетките на лимфоидниот систем обезбедуваат: високоспецифична заштита против туѓи агенси и координирање на функциите на другите делови на имуниот систем преку производство на цитокини. Во РЕС влегуваат: моноцити, макрофаги, дендритични клетки.

Клетките на РЕС обезбедуваат природен имунитет против микроорганизмите со: фагоцитоза и интраклеточно убивање, привлекување на други воспалителни клетки преку продукција на цитокини и презентација на антигените на лимфоцитите.

Клетките на имуниот систем потекнуваат од зародишните стем-клетки во феталниот црн дроб, оментумот и коскената срцевина. Под влијание на сигнали од микрооколината од стем-клетките се развиваат две основни клеточни линии: клетки на вродениот имун одговор: миелоидни клетки (неутрофили, еозинофили, базофили, моноцити/макрофаги), клетки природни убијци (NK клетки) и клетки на стекнатиот имун одговор: T-Лу, B-Лу. При раѓањето имуниот систем сè уште не е комплетно зрел и ефикасен. За негово ефикасно созревање неопходна е антигена стимулација.

Имуниот систем на фетусот е способен компетентно да одговори на интраутерина инфекција веќе во 12-та гестациска недела (г.н.) (Mardesic, 2003). Докажана е трансплацентарна имунизација на фетус по имунизирање на мајката со присуство на сензибилизирани лимфоцити кај новородените и подолго од една година. Антигените стимули со доволна јачина и траење се способни да ги надминат функционалните недостатоци на феталниот имун систем и да предизвикаат имунитет еквивалентен на адултниот. Разни фактори од околината може да влијаат врз развојот на феталниот имун систем ин утеро. Оптималната исхрана на мајката особено во третиот триместар на бременоста (масти, витамин А, антиоксиданти) има посебно значење во развојот на имуниот систем на плодот (Berti et al., 2017). Пушењето на мајката во текот на бременоста има значајни имунолошки ефекти врз плодот посебно на намалувањето на вродените Toll-Like Receptors (TLR) посредувани одговори споредено со доенчињата на мајки непушачи (Noakes et al., 2006).

Интеракцијата меѓу домаќинот и микробиолошкиот агенс претставува рамнотежа меѓу активностите на двата организма, при што понекогаш е во предност домаќинот, а понекогаш микроорганизмот. Различни микроорганизми предизвикуваат специфични ефекторни механизми на одбрана кај домаќинот. Фактори што го одредуваат исходот на средбата меѓу човечкиот организам и микроорганизмите се: патогеност и инокулациона доза на микроорганизмите од една страна и одбранбени механизми на домаќинот од друга страна.

Патогеност е способност на микроорганизмот да предизвика болест. Сите патогени микроорганизми поседуваат способност за интеракција со клетките на инфекцијата (Mardesic, 2003).

Карактеристиките на имуниот одговор зависат од бактериските механизми на патогеност: бактерии што произведуваат егзотоксини/ендотоксини,

инкапсулирани бактерии, интраклеточни бактерии. Бактериите имаат механизми со кои го избегнуваат фагоцитното оштетување: секретите што ја инхибираат хемотаксата, капсула со која се избегнува прилепување на фагоцити, блокирање на механизми за убивање на фагоцитната бактерија, секреција на каталаза, која го разградува водородниот пероксид, фактори што го оневозможуваат антиген-презентирањето на површината на инфицираната клетка, излегување од фаголизозомот и размножување во клетката и убивање на фагоцитот (Mardesic, 2003).

Вирусите се интраклеточни паразити. Се одликуваат со комплексна градба, стратегии за размножување и брза промена на антигените карактеристики. Предизвикуваат акутни и хронични инфекции.

### **2.3.1. Вроден имун одговор**

Вродениот имун одговор има две улоги, а тоа се: рана одбрана од напад на патогени и известување до стекнатиот имун одговор дека започнала инвазија од патогени. Вродениот имун систем се активира за неколку минути по инвазијата на микроорганизмите и е одговорен за одбраната на организмот во тек на првите часови и денови од инфекцијата. Вродениот имун одговор се појавува веднаш по антигената стимулација, специфичност и меморија нема, не обезбедува отпорност кон повторно заболување. Компоненти на вродениот имун одговор се: физичка бариера (кожа, слузница и цилии), солубилни фактори (C reactive protein - CRP, лизозим, комплемент, масни киселини), клеточни фактори (фагоцити, ткивни макрофаги, NK клетки) и нормалната флора.

Прва линија на одбрана на организмот се структурно и функционално здрави кожа и слузница. За да предизвикаат инфекција патогените микроорганизми мораат ефикасно да се прилепат врз епителната површина, да ја колонизираат и/или да навлезат низ неа. Неспецифичната одбрана на епителот од инфекција може да биде: механичка (епителни клетки, проток на воздух или течност, движење на мукус), хемиска (ензими, кисела Ph, масни киселини, антибактериски пептиди) и микробиолошка нормална флора. Бројот на бактериски клетки од нормалната флора во човечкиот организам 1.000 пати го

надминува бројот на сопствените клетки на еден возрасен човечки организам. Макрофагите се откриени во четвртата г.н. и се први имунолошки елементи во ембрионот. Оксидативниот метаболизам им е нормален, но хемотаксата е бавна и смалена. Раната појава на овие клетки е значајна за нормална ембриогенеза. Нивната функција се состои од фагоцитоза и интраклеточно убивање на микроорганизми, обработка на протеински антигени и нивна презентација на T-Лу, имаат цитотоксична функција и регулација на другите клетки од имуниот систем. Активираниите макрофаги произведуваат: ензими: (лизозим, еластаза, колагеназа, кисела хидролаза, плазминоген активатор), медијатори на воспаление: интерферон (IFN) $\alpha$ , IFN $\beta$ , колоностимулирачки фактори (CSF), интерлеукин (IL)-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, хемокини: простагландини (PG), леукотриени (LT), азотен оксид (NO), тумор некротски фактор (TNF), компоненти на комплементот (C1-C9, пропердин, фактори B, D, I, H), коагулациски фактори и реактивни кислородни радикали (Robertson, 1998).

Зрели неутрофилни леукоцити се откриени во 14-16 г.н. Бројот на неутрофилите е нормален како и нивниот оксидативен метаболизам. Нивен главен недостаток кај фетусот и новороденото се ограничен капацитет за забрзано производство на гранулоцити при инфекција и намалена способност за движење и прилепување, поради што се движат бавно кон местото на инфекција. Исто така, неутрофилите кај новороденото имаат ограничена расположливост на опсонини. Сето ова е резултат на недостатоци во регулација на експресија на интегрините. Неутрофилите се први борци на местото на акутно воспаление, прогоштуваат, убиваат и разложуваат патогени, имаат изразена подвижност и способност за прилепување. Функциите им зависат од специјални адхерентни протеински молекули (CD11b/CD18) и од оксидативниот потенцијал (цитохром b558) (Mardesic, 2003).

NK клетките се појавуваат во 6-та г.н. незрели се (CD56-) и се со намалена цитотоксична активност. Во првите месеци од животот нивните функции се нормализираат. Недостатоците во нивната функција не се должат на нивен внатрешен дефект, туку се резултат на намаленото цитокинско производство на T-Лу. NK клетките неспецифично убиваат туморски клетки и клетки инфицирани со вируси, произведуваат цитокини (IL-2, IFN- $\gamma$ , IFN- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ),

немаат Т клеточен рецептор и CD3 мембранска молекула, имаат мембрански CD16 рецептор за Fc фрагментот на IgG антителата (Robertson, 1998).

При бактериска инфекција вродениот имун одговор реагира со: оспонизација на микроорганизмите, директно убивање со лиза, хемотактично дејство, обработка на имуните комплекси, поттикнување на специфичен антитело одговор. При вирусна инфекција вродениот имун одговор реагира со: IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , NK-клетки и макрофаги.

### **2.3.2. Стекнат (хуморален) имун одговор**

Стектатиот имун одговор има специфичност, обезбедува отпорност кон повторно заболување, има способност за меморија на претходни средби и се пројавува со: производство на антитела и со клеточно условена реакција. На стектатиот имун одговор му се потребни 4-10 дена за да појави соодветна специфична реакција (Mardesic, 2003).

Лимфоидните клетки се одговорни за стектатиот имун одговор и обезбедуваат долготраен, специфичен и ефикасен имунитет. Лимфоидни клетки со протимоцитен фенотип се појавуваат во 7 г.н. во црниот дроб. Помеѓу 8 и 10 г.н. T-Ly имаат специфични маркери. Тимусниот рудимент е колонизиран со Т клетки на 8,5 недели гестациска старост (Mardesic, 2003)

T-Ly ги регулираат клеточно условените имуни одговори, помагаат на B-Ly во производство на антитела, поседуваат антиген специфичен рецептор. Секој зрел T-Ly има мембранска молекула, позната како CD3 молекула (Calster of differentiation 3) и CD4 или CD8 молекула. T-Ly се поделени на: Т помошнички (helper) лимфоцити (Th-Ly) обележани со CD4, Т цитотоксични лимфоцити (Tc-Ly) и Т супресорни лимфоцити (Ts-Ly) обележани со CD8. Th-Ly се способни да ги препознаат туѓите антигени во спрега со втората класа молекули на главниот хистокомпатибилен комплекс (MHCII) на површината од антигенпрезентирачките клетки (APC). По контактот и препознавањето на антигенот Th-Ly излучуваат цитокини, кои ги стимулираат B-Ly да произведуваат специфични антитела. Tc-Ly/Ts-Ly се способни да ги препознаат туѓите антигени во спрега со првата класа молекули на главниот

хистокомпатибилен комплекс (MHC I) на површината од APC. Нивната функција се состои во лиза на туморските клетки и клетките на домакилот инфицирани со вирус. Т лимфоцитните функции кај новороденото се намалени. Нивна основна карактеристика е наивноста, која е причина за: недоволна помошничка улога во В лимфоцитното зреење, намалена цитотоксичност, доцнење на Т клеточно зависен антиген специфичен одговор при инфекција како и слаба способност за пројавување на CD-40 лиганд. Оваа Т лимфоцитна недостатоност прогресивно исчезнува на повторувачка изложеност на антигена стимулација (Brahma et al., 2018).

Во осмата г.н. пре В-Лу се докажани во фетален црн дроб и оментум, а во 13-та г.н. се докажани во коскената срцевина. Веќе во 10-та г.н. се присутни В-Лу со површински IgM молекули. Помеѓу 10-та и 12-та г.н. се појавуваат В-Лу со површински IgG и IgA молекули (Mardesic, 2003).

В-Лу обработуваат протеини и им ги прикажуваат антигените како пептиди заедно со MHC молекули на Т-Лу. В-Лу под дејство на антигена стимулација се диференцираат во плазма-клетки и секретираат антитела. После првиот контакт со туѓиот антиген во текот на примарната имунолошка реакција ако антигенскиот рецептор на В-Лу го препознае својот антиген и ако постои доволна стимулација од страна на Th<sub>2</sub>-Лу доаѓа до пролиферација на тој клон на В-Лу во плазма-клетки, кои произведуваат и излучуваат за тој антиген специфични имуноглобулини од изотип IgM (LeBien и Tedder, 2008). Помал број на така активирани В-Лу се преобразуваат во мемориски В-Лу. Во овие мемориски В-Лу имуноглобулинските гени ќе се пренасочат од синтеза на IgM антитела кон синтеза на еден од другите изотипови на имуноглобулини: IgG, IgA или IgE. При следен контакт со истиот антиген настанува секундарна имунолошка реакција: мемориските В-Лу пролиферираат и се преобразуваат во плазма-клетки, кои секретираат, не само IgM туку и други изотипови имуноглобулини IgG, IgA, IgE (LeBien и Tedder, 2008).

В-Лу на новороденото се наивни поради што на антигена стимулација одговараат со производство на ниско афинитетни IgM антитела. Способноста за производство на високоспецифични IgG и IgA антитела прогресивно се појавува зависно од антигената стимулација. Незрелите В-Лу имаат хиперпродукција на IL-10, кој го инхибира IL-12. Новороденото пасивно го штитат трансплацентарно пренесените IgG антитела од мајката. Новороденото

не е отпорно кон бактериски патогени кон кои мајката нема IgG антитела (LeBien и Tedder, 2008).

Имуноглобулините се гликопротеини на површината на B-Ly, во циркулацијата и секретите. Имуноглобулините се поделени на: IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgA (IgA1, IgA2), IgM, IgD, IgE.

Имуноглобулин М (IgM) е ограничен на интраваскуларниот простор и претставува околу 10% од сите имуноглобулини. IgM се јавува во примарната имунолошка реакција во контакт со нов антиген. Бидејќи има голема молекула и има слаба дифузија, во најголеми концентрации се среќава во серумот. Ефективно се врзува и го активира комплементот и ги отстранува бактериите во циркулацијата по пат на опсонизација и аглутинација. IgM не ја поминува плацентата. Присуство на IgM антитела во серумот укажува на акутна инфекција кај поголемо дете, додека неговото присуство кај новороденче укажува на интраутерина инфекција (Schroeder и Cavacini, 2010).

Имуноглобулин Г (IgG) е подеднакво застапен во интраваскуларниот и екстраваскуларниот простор, насочен кон многу бактерии, вируси, габи. Тоа е мемориско антитело, кое останува во циркулацијата долго време после антигенската стимулација. Претставува 75% од сите имуноглобулини во серумот. Веќе во 12 г.н. ја поминува плацентата обезбедувајќи заштита на фетусот додека е во мајчината утроба. Постојат четири супкласи на IgG: IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>. Секоја од овие супкласи најдобро реагира со одредена група на антигени како, на пример: IgG<sub>2</sub> најдобро реагира со полисахаридни антигени. Само IgG<sub>4</sub> слабо се поврзува со комплементот (Schroeder и Cavacini, 2010).

Имуноглобулин А (IgA) е најважно заштитно антитело на слузницата на ГИТ, дишните патишта и уринарниот тракт. Се излучува на површината на слузницата, врзан со специфичен протеин, кој се означува како секреторна компонента. Серумскиот IgA, поврзан со секреторната компонента се означува како секреторен IgA (Schroeder и Cavacini, 2010).

Имуноглобулин Д (IgD) претставува само 1% од вкупните имуноглобулини, а служи како антигенски рецептор на површината на B-Ly (Schroeder и Cavacini, 2010).

Имуноглобулин Е (IgE) се наоѓа во серумот во многу мали концентрации, но е важен хуморален посредник во реакциите на непосредна преосетливост. Има одредена улога во одбраната од паразити. Се наоѓа на површината на



еозинофилите и базофилите. Децата со алергија имаат зголемени концентрации на IgE во серумот (Schroeder и Cavacini, 2010).

При бактериска инфекција хуморалниот одговор реагира со блокирање на прилепување на бактериската клетка за клетките на домаќинот со IgA антитела. Пролиферацијата на бактериските клетки се спречува по пат на нивна опсонизација со C3b компонентата на комплементот и антитела со последична фагоцитоза или, пак, преку комплемент посредувана лиза и последичен воспалителен одговор. Инвазијата во ткивото се спречува со антитело посредувана аглутинација. Токсичното оштетување на клетките се спречува со неутрализација на токсини со антитела.

При вирусна инфекција стекнатиот имун одговор реагира со механизми на клеточен имун одговор: Th и Tc секреција на IFN- $\gamma$  кој има директна антивирусна активност а, Tc-Ly ги убиваат клетките инфицирани со вирус. Механизми на хуморален имун одговор при вирусна инфекција се: IgA го блокира врзувањето на вирусот за клетките на домаќинот, IgM ја спречува фузијата на вирусната обвивка со клеточната мембрана, учествува во опсонизација на вирусите и фагоцитоза, помага и во аглутинација на вирусите, IgG ја спречува фузијата на вирусната обвивка со клеточната мембрана, учествува во опсонизација на вирусите и фагоцитоза, активација на комплементот, опсонизација со C3b компонентата на комплементот и IgG или IgM последична лиза на вирусот.

Имуниот систем е комплексен и интерактивен. За да ги активира и регулира имуните одговори организмот употребува за комуникација растворливи фактори и контакти клетка-клетка. Одговорот кон повеќето инфективни агенси е комплексен и вклучува различни комбинации на хуморални и клеточни механизми. Свкупната реакција на организмот, која го вклучува имуниот одговор заедно со сите придружни секундарни феномени се нарекува инфламација. Споредено со возрасен организам новороденото има намалена концентрација (50%) и активност на комплементниот систем. Нормални вредности се достигнуваат во текот на првата година.

## 2.4. Доењето и неговото значење

Мајчиното млеко претставува оптимална исхрана за новороденчиња и е клучно за одржување на здравјето и градење на темелите за раст и когнитивен развој. Светската здравствена организација препорачува доенчињата да бидат ексклузивно доени во првите 6 месеци од животот и последователно да добиваат соодветна комплементарна храна, додека доењето продолжува до 24-месечна возраст или подолго. Мајчиното млеко е природна храна за доенчињата. Степенот на здравствените придобивки од мајчиното млеко се повисоки во земјите во развој отколку во развиените земји и се инверзно пропорционални на социоекономскиот статус на популацијата што е очигледно пониска во земјите во развој отколку во развиените земји (Agostoni et al., 2009). Од страна на Американската академија за педијатрија е прогласено дека доењето не е избор, туку прашање на јавно здравје (Lawrence RA и Lawrence RM, 2005). Доењето има значајна улога во јавното здравје, здравјето на децата, исхраната и преживувањето на децата, здравјето на мајките како во националните, така и во интернационалните стратегии. Во земјите во развој само околу 32% од мајките ексклузивно ги дојат своите доенчиња до 6-месечна возраст (Haschke et al., 2013).

Извештаите од земјите во развој укажуваат дека во услови на лоша хигиена доењето може да има значење на живот или смрт. Проценето е дека 1,3-1,45 милиони смртни случаи во 42 земји со висок морталитет може да се превенираат преку зголемување на доењето (Jones et al., 2003 и Lauer et al., 2006). Во земјите во развој во првите 6 месеци од животот најчести причини за смрт се дијареја со 55% и долнореспираторни инфекции со 53%, а во вторите 6 месеци дијареја со 20% и долнореспираторни инфекции со 18% (Lauer et al., 2006).

Ексклузивното доење има значајно влијание на доенечкиот морбидитет во индустријализираните земји, на пример, на намалување на гастроинтестиналните инфекции и долните респираторни инфекции. Ефектот на парцијалното доење е послабо. Се смета дека 53% од хоспитализациите поради дијареја можат да се превенираат секој месец со ексклузивно доење и 31% со парцијално доење. (Quigley et al., 2007).

Доенчињата примаат системска заштита трансплацентарно и локална интестинална заштита на ГИТ по орален пат преку колострумот и зрелото млеко. Средината на интестиналниот тракт на доеното доенче продолжува да обезбедува заштита против инфекции преку стимулација на бактериската флора сè додека доенчето не се одвикне од доење. Доенчињата што се на мајчино млеко имаат поретко инфекции на респираторниот тракт, поретко воспаление на средното уво, гастронитестинални заболувања и други болести. Имунолошката заштита преку специфични антитела за респираторен синцициелен вирус и ротавирус исто го заштитуваат доенчето од болест (Lawrence RA и Lawrence RM, 2005)

Доказите за заштита на доењето против доенечка смрт од инфективни болести во Бразил во 1987 година се поубедливи во внимателно контролирана студија од Victoria et al., 1987. Направена е споредба меѓу доенчиња кои се на ексклузивно доење и оние што се на комплетна исхрана на шише. Резултатите укажале дека доенчињата што се на исхрана на шише имале 14,2 пати поголем релативен ризик од смрт од дијареја и 3,6 пати поголем релативен ризик од смрт од респираторни инфекции. Парцијалното доење давало помала заштита. Адаптираните формули и кравјото млеко биле подеднакво штетни. Најголем ризик од појава на дијареја имале доенчињата во првите 2 месеци од животот. Во САД дијарејата е ретка кај доенчињата што се на мајчино млеко и во третманот се препорачува да се продолжи со доење. При афекција со фебрилност овие доенчиња лесно не стануваат дехидрирани и интоксицирани (Lawrence RA и Lawrence RM, 2005)

## **2.5. Состав на мајчиното млеко**

Мајчиното млеко е секрет на мамарните жлезди со променлива содржина. Поедини состојки на млекото ги обезбедуваат енергетските и нутритивните потреби на новороденчињата и доенчињата, а други влегуваат во состав на новоизградените ткива како составен дел од структурата на клетките. Одредени состојки од млекото имаат посложени функции, заштитни и имуномодулаторски. Со други зборови мајчиното млеко му обезбедува на детето оптимален раст и развој (Filipović, 1997). Хуманото млеко е најдобра

храна за сите доенчиња. Тоа е приспособено на нутритивните потреби и физиолошката состојба на дигестивниот систем и на ограничените екскреторни можности на бубрезите на децата во првите месеци од животот. Млекото на здравите доилки ги намирава сите енергетски и нутритивни потреби на доенчињата во првите 6 месеци со исклучок на витамин Д. Епидемиолошките студии покажуваат дека морбидитетот и морталитетот на доенчињата што цицаат е помал во однос на оние што се хранат со друг вид млеко (Filipovic, 1997).

Количината на млеко што го создава доилката не е иста, таа се менува според потребите на доенчето, зависи од зачестеноста на доењето, стадиумот на лактација и индивидуалниот капацитет на млечните жлезди (Filipovic, 1997). Доилките создаваат помалку млеко во првите денови по раѓањето, а потоа количината постепено се зголемува. Количината на млеко не зависи од големината на дојките, туку од нивото на хормоните кај мајката, пред се од нивото на пролактинот, од редовното и доволното празнење на дојките и од правилната положба на доенчето за време на подојот. Врз волуменот на создаденото млеко има влијание концентрацијата на лактозата, бидејќи таа е главен фактор на осмоларниот притисок на млекото (Filipovic, 1997). Секрецијата на млеко во првите денови не поминува повеќе од 50 ml колострум на ден. Од 4 до 14 ден продукцијата се зголемува до 500 ml/ден, а по две недели дојките произведуваат од 800 до 1000 ml млеко на ден (Mardesic et al., 2003).

Млекото се менува во текот на денот и за време на лактација. Концентрацијата на поедини состојки во млекото е различна во поедини фази од лактацијата. Постојат разлики од еден до друг подој како и на почетокот и крајот на подојот. Постои разлика во составот на млекото кај жена што родила во термин и онаа што родила пред термин (Filipovic, 1997). Млекото од мајката што родила пред време е побогато со протеини, но содржи помалку лактоза во однос на млекото од мајката што родила во термин (Filipovic, 1997). Исхраната на мајката влијае врз профилот на масни киселини во млекото. Кога доилката внесува поголема количина растителни масти во млекото се зголемува концентрацијата на линолна киселина. Неправилната исхрана доведува до намалување на концентрацијата на хидросолубилните витамини пред се витамин Б1, витамин Б2, фолна киселина и витамин Ц (Filipovic, 1997).

Мајчиното млеко содржи протеини, масти, јаглехидрати, минерали, витамини и олигоелементи, кои се од голема важност за задоволување на нутритивните потреби на доенчињата и обезбедуваат нормален раст и развој. Мајчиното млеко содржи голем број имуни компоненти како што е sIgA, леукоцити, олигосахариди, лизозим, лактоферин, IFN- $\gamma$ , нуклеотиди, цитокини. Дел од овие компоненти обезбедуваат пасивна заштита во гастроинтестиналниот тракт и во дел од горните дишни патишта, превенирајќи адхеренција на патогени на мукозата и на тој начин заштитувајќи ги доенчињата од инвазивни инфекции. Мајчиното млеко содржи и масни киселини, ензими, хормони, фактори на раст, полиамини и други биолошки фактори, кои играат значајна улога во здравјето на доенчињата (Agostoni et al., 2009).

Диетата кај мајките има големо влијание врз продукцијата и составот на млекото кога мајката е потхранета или е на рестриктивна диета. Потхранетите мајки имаат приближно иста пропорција на протеини, масти јаглехидрати како и ухранетите мајки, но продуцираат помалку млеко. Кај мајките што се на рестриктивна диета пониски се вредностите на хидросолубилните витамини (витамин Ц, тиамин и витамин Б12) и липосолубилните витамини (Lawrence RA и Lawrence RM, 2005).

### 2.5.1. Колострум

Првото млеко по раѓањето (1-3 ден) се вика колострум. Колострумот е леплива жолтеникава течност. Количината на колострумот дневно изнесува околу 30 ml (од 10-100 ml/ден). Колострумот се разликува по својот состав од зрелото млеко. Содржи помалку лактоза, масти и хидросолубилни витамини од зрелото млеко, а повеќе протеини, липосолубилни витамини (витамин А, витамин Е, витамин К и повеќе натриум (Na) и цинк (Zn). Содржи голема количина на имноглобулини и други заштитни материи (Filipovic, 1997). Имуноглобулините ја обложуваат слузницата на цревата и спречуваат прилепување на микроорганизми. Колострумот дејствува како модулатор и го стимулира созревањето на гастроинтестиналниот тракт (Filipovic, 1997).

Специфичната тежина на колострумот е 1,040 до 1,060. Средната калориска вредност е 67 kcal/dl споредено со 75 kcal/dl кај зрелото млеко. Волуменот

варира помеѓу 2 и 20 ml по оброк во првите 3 дена. Вкупниот волумен во текот на денот зависи од бројот на хранења и изнесува приближно 100 ml за првите 24 часа. Порастот на цитратите во мајчиното млеко е паралелно со зголемувањето на волуменот на мајчиното млеко. Вредностите на гликоза во колострумот се  $0,35 \pm 0,16$  mmol/l додека во зрелото млеко се движат од  $1,5 \pm 0,4$  mmol/l (Lawrence RA и Lawrence RM, 2005).

Волуменот на продукција на мајчино млеко зависи од побарувачката на доенчето, но и од паритетот на мајката. Доколку мајката претходно доела кај неа е присутен колострум уште на самото раѓање и волуменот на продуцирано млеко расте побргу. Жолтата боја на колострумот се должи на присуството на бета( $\beta$ ) каротен. Концентрациите на Na, калиум (K) и хлориди се повисоки од оние на зрелото млеко. Протеините, липосолубилните витамини и минералите се присутни во повисоки концентрации од транзициското и зрелото млеко. Растат концентрациите на sIgA, лактоферин и олигосахариди. Во колострумот се високи концентрациите на имуноглобулините особено на sIgA (50 mg/ml), високо е и нивото на имунолошки компетентни мононуклеарни клетки. Нивото на масти расте од 2% во колострумот до 2,9% во транзициското млеко и 3,6% во зрелото млеко. Концентрацијата на мастите во препарталната секреција е само 1 g/dl и е различна дистрибуцијата на разни класи на липиди. Во препарталната секреција триглицеридите се застапени со 93%, во колострумот растат до 97% со диглицериди, моноглицериди и слободни масни киселини, чии концентрации растат по раѓањето. Препарталната секреција содржи високи вредности на мембрански компоненти како што се фофолипиди, холестерол и холестеролски естери, чии концентрации се намалуваат при премин од колострум во зрело млеко (Lawrence RA и Lawrence RM, 2005).

Колострумот го олеснува воспоставувањето на *Lactobacillus bifidus* флората во дигестивниот тракт. Колострумот ја олеснува пасајата на мекониум. Мекониумот содржи есенцијален фактор на раст за *Lactobacillus bifidus*. Колострумот е богат со антитела што обезбедуваат заштита од бактерии и вируси што се присутни во родилниот канал и средината во која се наоѓа новороденото (Lawrence RA и Lawrence RM, 2005). Колострумот го помага празнењето на цревата т.е. испуштање мекониум. Колострумот содржи антиоксиданси што функционираат како замка за реактивните кислородни метаболити, создадени од неутрофилите. Значи овие антиоксиданси имаат

антиинфламаторна улога. Колострумот содржи високи концентрации на витамин А, витамин Е и каротеноиди (Buescher и McIlheran, 1992).

### **2.5.2. Транзициско млеко**

Транзициско млеко е млекото што се создава помеѓу колострумот и зрелото млеко. Ова млеко се создава од четвртиот ден до четиринаесеттиот ден по раѓањето. Се намалува концентрацијата на имуноглобулините и тоталните протеини, додека вредностите на лактоза, масти и тоталните калориски вредности растат. Се зголемува концентрацијата на витамини растворливи во вода, а се намалуваат липосолубилните витамини на вредности што се карактеристични за зрелото млеко (Lawrence RA и Lawrence RM, 2005).

### **2.5.3. Зрело млеко**

Зрелото млеко се јавува по 14 ден од раѓањето. Енергетската вредност на зрелото млеко е околу 68 kcal/100 ml.

Водата е најмногу застапена во мајчиното млеко (87,5 g/100 ml) и сите други состојки се растворени во неа. Водата има значајна улога во регулирањето на телесната температура кај новороденото бидејќи 25% од топлинската загуба е од евапорација на водата преку кожата и дишењето. Доенчето што цица најчесто нема потреба од додатно давање течности (Mardesic et al., 2003). Во составот на мајчиното млеко основни компоненти се мастите, протеините и јаглехидратите. Преостанатите состојки ги има во помала количина, но се важни во исхраната, растот и развојот на децата.

### **2.5.4. Масти**

Мастите се застапени со триглицериди, фосфолипиди, масни киселини и стероли. Мастите се значајни за раст и развој, тие се добар извор на енергија,

обезбедуваат максимална интестинална апсорпција на масните киселини, Масните обезбедуваат 50% од калориите, обезбедуваат есенцијални масни киселини и полинезаситени масни киселини и холестерол (Lawrence RA и Lawrence RM, 2005).

Количината на масти зависи од стадиумот на лактација и гестациската старост. Во колострумот се застапени со 2-2,5 g/dl, во транзициското млеко од 2,5-3,5 g/dl. По концентрација масните се застапени на второ место во млекото од 3-5% или од 3,5 до 4,5 g/dl (Mardesic et al., 2003).

Мастите се со доста варијабилна концентрација во текот на денот. Од 30-55 kCal енергија се добива од масните. Масните во млекото се дисперзирани во вид на глобули. Јадрото на овие глобули е составено од триглицериди (98% од вкупните масти во млекото) (Mardesic et al., 2003). Протективната мембрана на глобулите е составена од фосфолипиди, холестерол и протеини (Lawrence RA и Lawrence RM, 2005). Холестеролот е есенцијална компонента на сите клеточни мембрани, потребен е за растење, репликација и одржување. Доенчињата што се на мајчино млеко имаат повисоки концентрации на холестерол во плазмата отколку доенчињата што се на формула. Вредностите на холестеролот во зрелото млеко се 20 mg/dl. Мајчиното млеко содржи малку заситени масни киселини (палмитинска) и повеќе незаситени масни киселини (олеинска, линолна, линоленска, арахидонска). Овие незаситени масни киселини се важни за одржување на флуидноста на липидните мембрани, за синтеза на простагландини и миелин. Масните од мајчиното млеко содржат долголанчани омега 3 масни киселини, кои се есенцијални за доенчето (Mardesic et al., 2003). Хуманото млеко е богато со полинезаситени масни киселини со долги синџири, кои се значајни за развој и миелинизација на мозокот. Од нив посебно се значајни арахидонската и докосаеноичната масна киселина (Filipovic, 1997).

Во мајчиното млеко се наоѓа и неспецифична липаза, која учествува во емулгацијата и хидролизата на масните и овозможува нивна поголема искористливост (90-95%) и покрај сè уште недоволната развиена панкреасна функција. Кај доенчиња што се хранат на кравјо млеко искористливоста и дигестијата на масните е околу 60% (Mardesic et al., 2003).



### 2.5.5. Протеини

Количината на протеини во зрелото мајчино млеко се движи од 1,1 до 1,2 g/100ml (Mardesic et al., 2003). Колострумот има повеќе протеини од преодното и зрелото млеко. Во првите денови од лактацијата концентрацијата на протеините изнесува 1,3 g/100ml. Концентрацијата на протеините во млекото кај жена што родила пред време изнесува околу 2,7 g/100ml во првите денови, кон крај на првиот месец изнесува 1,7 g/100ml. Концентрацијата на протеините во млекото кај жена што родила пред време е повисока за 20% во текот на целата лактација во однос на жените што родиле во термин (Filipovic, 1997). Протеините на млекото се казеин, протеини на сурутка, имуноглобулини и други гликопротеини.

Казеинот е група белковини во облик на комплексни честички со калциум и аноргански фосфат (Mardesic et al., 2003). Постојат повеќе фракции на казеин: алфа ( $\alpha$ ), бета ( $\beta$ ), гама ( $\gamma$ ) и капа ( $\kappa$ ). Најмногу има  $\beta$  казеин. Кравјото млеко е казеинско млеко бидејќи на казеинот опаѓа околу 77% од вкупните протеини, додека во мајчиното млеко е застапено со 34%. Казеинот содржи повеќе пролин, а малку цистин (Filipovic, 1997). Казеинот во мајчиното млеко преципитира во желудникот во фини фоликули што го забрзуваат празнењето на желудникот, а оној од кравјото млеко преципитира во груби грутчиња. Функцијата на казеинот е примарно нутритивна, служи како извор на аминокиселини, калциум и фосфати (Mardesic et al., 2003).

Во мајчиното млеко концентрацијата на цистеин е висока додека во кравјото млеко е ниска. Но во кравјото млеко има повисоки концентрации на метионин. Односот цистин: метионин во хуманото млеко е 2:1 (Filipovic, 1997). Во мајчиното млеко има мали концентрации на фенилаланин и тирозин (Filipovic, 1997). За новороденчето цистеинот е есенцијална аминокиселина, бидејќи ензимот цистатионаза, која создава цистеин и цистин од метионин сè уште не е доволно активен (Mardesic et al., 2003). Мајчиното млеко е богато со таурин. Оваа аминокиселина е значајна за конјугација на жолчните соли, има улога на невротрансмитер и невромодулатор.

Протеините на сурутка се застапени со 66%, а казеинот со 34% па затоа мајчиното млеко се означува како неказеинско. Во мајчиното млеко протеините на сурутка се состојат од:  $\alpha$  лакталбумин, лактоферин, имуноглобулини,

лизозим, карнитин и серумски албумини. Во кравјото млеко главен протеин на сурутка е  $\beta$  лактоглобулин, кој воопшто не е присутен во мајчиното млеко. Во кравјото млеко лактоферин, лизозим и sIgA се застапени во трагови. Албумините се подеднакво застапени и во мајчиното и кравјото млеко. Сурутката од мајчиното млеко содржи носачи на минерали поради што доеното дете најчесто нема потреба од додавање железо, цинк и витамини со исклучок на витамин Д (Mardesic et al., 2003). Содржината на лактоферин во мајчиното млеко се намалува со фазите на развој на лактација, највисоки концентрации има во колострумот 5,5 g/L и помеѓу 1,5 и 3,0 g/L во зрело млеко во зависност од фазата на лактација (Rai et al., 2014). Лактоферинот е полипептид, со висок афинитет го врзува фери железото во цревниот лумен и со тоа врши две функции: носител на железо во мајчиното млеко, но истовремено и им го одзема железото на бактериите, кој е важен за нивниот раст (Lawrence RA и Lawrence RM, 2005 и Haschke и Thakkar, 2016). Поради основниот N-терминален домен што може да комуницира со разни микробиолошки цели и цели на домаќинот, лактоферинот не само што има антимикуробни својства, туку и ги модулира вродените и стекнатите имунолошки реакции. Ова е контролирано од страна на цитокини како IL-4, IL-2, IL-12 и IFN- $\gamma$  и резултира со негова способност да дејствува како проинфламаторен или антиинфламаторен агенс (Haschke и Thakkar, 2016). Кога лактоферинот ќе се разгради во желудникот од страна на пепсинот се добиваат полипептиди, кои имаат антибактериски, антивирусни, антитуморски и имунолошки функции (Lawrence RA и Lawrence RM, 2005).

Лизозимот ја хидролизира гликозидната врска во сидот на бактеријата и има антибактериско својство (Filipovic, 1997). Посебно е ефикасен во борба против *Enterobacteriaceae* и грам позитивни бактерии. Концентрациите на лизозимот во мајчиното млеко се 0,2 mg/ml. Значаен е во развојот и одржувањето на интестиналната флора кај доенчињата што се на мајчино млеко (Lawrence RA и Lawrence RM, 2005).

Од имуноглобулините 95% му припаѓа на IgA. Го создаваат субепителните клетки на цревото освен во првите месеци од животот кога се добива од мајчиното млеко. sIgA го создаваат и млечните жлезди. Овој имуноглобулин ги

покрива епителните цревни клетки на слузницата и го спречува прилепувањето на микроорганизмите. Се смета дека ги врзува бактериите, токсините и микромолекулските антигени и го спречува нивното прилепување на епителот (Filipovic, 1997). Вредностите на IgA во колострумот изнесуваат 1.740 mg/dl, а во зрелото млеко 100 mg/dl. Вредностите на IgG во колострумот изнесуваат 43 mg/dl, а во зрелото млеко се 4 mg/dl. sIgA е главен имуноглобулин во колострумот и зрелото млеко како и во сите секрети кај човекот. Се синтетизира во млечните жлезди од две молекули на серумски IgA, поврзани со дисулфидни врски. sIgA е стабилен на ниска Ph и резистентен на протеолитичките ензими. Присутен е во цревата на доенчињата што се на мајчино млеко и обезбедува заштита против бактерии и вируси што ја напаѓаат мукозата (Lawrence RA и Lawrence RM, 2005). Во мајчиното млеко се откриени и неимуноглобулини што имаат заштитна улога на цревниот епител, како на пример муцилот и сијаличната киселина се смета дека ја инхибираат репликацијата на ротавирусот и превенираат гастроентеритис (Lawrence RA и Lawrence RM, 2005).

Остеопонтин е мултифункционален, гликозилиран и фосфорилиран кисел протеин со можни улоги во имуно активирање, инхибиција на ектопична калцификација, клеточна адхезија и миграција, ангиогенеза и ремоделирање на коските (Ashkar et al., 2000). Просечната концентрација на остеопонтин во мајчиното млеко е приближно 140 mg/L (Schack et al., 2009). Докажано е дека остеопонтин предизвикува експресија на Th1 одговорот и го инхибира Th2 одговорот заедно со IL-10 (Ashkar et al., 2000). Во мајчиното млеко е откриено и присуство на цитокини IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , трансформирачки фактор на раст (TGF)- $\beta$  и CSF (Haschke и Thakkar, 2016). Тие се присутни во многу ниски концентрации (пикограми) и може да имаат потекло од епителиалните клетки на млечните жлезди или од активирани макрофаги или други клетки во мајчиното млеко (Lonnerdal, 2004). Биолошката функција на овие агенси кај доенчињата е да го надополнат сопствениот извор на цитокини кај доенчињата што се произведуваат во помали количини како резултат на незрелост на имунолошкиот систем. Се претпоставува дека цитокините ги балансираат Th1 и Th2 одговорите (Lonnerdal, 2003).

Карнитин е белковина што влегува во состав на ензимот карнитин-ацил-трансфераза, кој овозможува транспорт на масните киселини со долги синцири

во митохондриите и на тој начин ја помага нивната оксидација. Новороденчето не е во состојба да го синтетизира карнитинот (Filipovic, 1997). Доенчињата што се на адаптирана млечна формула имаат помала концентрација на карнитин во однос на оние што се на доење. Нивоата на карнитин во мајчиното млеко се движат од 70 до 95 nmol/ml, а во адаптираните млечни формули од 40 до 80 nmol/ml (Lawrence R. A и Lawrence R. M, 2005).

Хуманото млеко содржи значително повисоки концентрации на непротеински азот (околу 25%) отколку кравјото млеко (3-5%) (Filipovic, 1997). Во оваа фракција спаѓаат: креатинин, креатин, глукозамин, слободни аминокиселини (таурин и глутаминска киселина), карнитин, нуклеински киселини и нуклеотиди (Mardesic et al., 2003).

#### **2.5.6. Јаглехдрати**

Главен јаглехидрат во мајчиното и кравјото млеко е лактозата. Во зрелото млеко јаглехидратите се застапени со 7 mg/100ml, колострумот има 4 mg/100ml, а во кравјото млеко околу 5 mg/100ml. Концентрацијата на лактозата е помала во млекото на жени што се потхранети или што родиле пред термин. Лактозата обезбедува околу 40% од енергетските потреби на доенчето (Filipovic, 1997). Лактозата ја олеснува апсорпцијата на калциум и железо во цревата, што е важно поради ниските концентрации на овие елементи во мајчиното млеко. Лактозата од мајчиното млеко се разградува со помош на цревната лактаза на гликоза и галактоза (која влегува во состав на галактолипиди потребни за развој на централниот нервен систем). Дел од лактозата стигнува неразградена во дебелото црево каде што бактериите ја ферментираат во млечна киселина. Оваа кисела средина го оневозможува растот на *E. coli*. Мајчиното млеко содржи бифидус фактор (нискомолекуларен јаглехидрат, кој содржи и азот од непротеинско потекло), кој го помага развојот на *Lactobacillus bifidus* (главен претставник на цревната флора кај доенчињата што се хранети со мајчино млеко) (Mardesic et al., 2003). *Lactobacillus* е дел од пробиотската бактериска флора, која обезбедува заштита на домаќинот. Се смета дека ја стимулира продукцијата на антитела и ја подобрува фагоцитната функција на леукоцитите.

Во мајчиното млеко во мали концентрации присутни се и гликоза 1,4 g/dl, галактоза 1,2 g/dl, олигосахариди, гликопротеини и гликолипиди. Олигосахаридите се застапени од 15-23 g/L во колострумот и 1-10 g/L во зрелото млеко. Олигосахаридите го стимулираат растот на *Bifidobacterium spp.* и *Bacteroides*, кои се предоминантно присутни во цревата на доенчињата што се на мајчино млеко, имаат индиректна заштита на ГИТ преку спречување на адхеренцијата на бактериските и вирусните антигени за слузницата, го стимулираат созревањето на цревата и мукозниот имун систем на ГИТ (Mardesic et al., 2003; Donovan и Comstock, 2016 ).

### **2.5.7. Минерали и олигоелементи**

Количината минерали во мајчиното млеко изнесува 0,2 g/100ml и е значително помала отколку во кравјото млеко 0,7 g/100ml. Минералите во млекото се наоѓаат во вид на јони или се врзани со други соединенија.

Концентрацијата на Na во мајчиното млеко изнесува 0,2 mg/100ml. Доенчињата што се хранат со мајчино млеко добиваат доволно Na со кој ги надоместуваат потребите за раст и губитоците преку кожата и урината. Вредностите на Na во кравјото млеко се за 3,6 пати повисоки од мајчиното млеко. Познати се случаи на хипернатремиска дехидратација кај доенчиња, хранети со кравјо млеко (Lawrence RA и Lawrence RM, 2005).

Калиумот (K) се наоѓа во повисоки концентрации во мајчиното млеко 17mg/100ml. Количината калциум (Ca) 26 µg/100ml и фосфор (P) 14 µg/100ml е помала во мајчиното млеко, но нивниот меѓусебен однос во мајчиното млеко е 2:1, а со тоа се олеснува апсорпцијата на калциум. Поголемите концентрации на P во кравјото млеко ја зголемуваат неговата апсорпција и може да предизвикаат неонатална хипокалцемија. Концентрациите на магнезиум (Mg) (4 µg/100ml) се помали во мајчиното млеко, но доволни да ги задоволат потребите на доенчето (Lawrence RA и Lawrence RM, 2005; Filipovic, 1997 и Mardesic et al., 2003).

Цинкот (Zn) го има помалку во мајчиното млеко 0,2µg/100ml отколку во кравјото млеко, но неговата апсорпција е значително подобра од мајчиното млеко отколку од кравјото млеко или адаптираните млечни формули. Поради тоа

дефицит на Zn не се јавува кај доенчиња што се на исхрана со мајчино млеко. Мајчиното млеко има терапевтски ефект кај доенчиња со *Acrodermatitis enteropatica*, предизвикана од недостиг од Zn. Вредностите на бакар, кобалт и селен се повисоки во мајчиното млеко отколку во кравјото млеко и се доволни да ги намират потребите кај доенчињата (Filipovic, 1997).

Железото (Fe) се наоѓа во ниски концентрации во мајчиното и во кравјото млеко. Но тоа значително подобро се апсорбира од мајчиното млеко (50%) отколку од кравјото млеко. За подобра апсорпција на Fe од мајчиното млеко придонесуваат поволниот ацидитет во гастроинтестиналниот тракт, присуство на Zn и бакар во соодветни количини, лактоферин што спречува цревните бактерии да го користат Fe, поголемата количина витамин Ц и лактоза, како и помалата концентрација на протеини. Анемијата поради дефицит на Fe е ретка кај доенчињата што цицаат во првите 4-6 месеци од животот за разлика од доенчињата што се хранат со кравјо млеко (Filipovic, 1997).

#### **2.5.8. Витамини**

Концентрацијата на хидросолубилните и липосолубилните витамини во мајчиното млеко е доволна да ги обезбеди потребите на доенчињата со исклучок на витамин Д. Концентрацијата на хидросолубилните витамини зависи од исхраната на мајката. Концентрацијата на липосолубилните витамини е повисока во колострумот отколку во зрелото млеко (Filipovic, 1997).

#### **2.5.9. Хормони и ензими**

Од хормоните во мајчиното млеко се наоѓаат окситоцин, пролактин, адреналин, оваријални стероиди, инсулин, соматостатин, релаксин, калцитонин, неуротензин, тироксин, еритропоетин и други рилизинг фактори, фактори на раст, простагландини и нуклеотиди. Од ензимите присутни се амилаза, аминотрансфераза, дехидрогеназа, холинестераза, протеаза, алфа1 антитрипсин, рибонуклеаза, алкална и кисела фосфатаза, липаза, лизозим.

## 2.6. Имунолошко значење на мајчиното млеко

Хуманото млеко не е само извор на енергија, туку е доста сложена динамичка биолошка течност, која има заштитна и имуномодулаторска улога (Filipovic, 1995). Го менува својот состав во текот на лактацијата. Имунолошките својства на хуманото млеко се најголема предност во однос на кравјото млеко. Овие имунолошки својства не може да се создадат во адаптираните формули (Filipovic, 1995).

Хуманото млеко претставува спој помеѓу мајчиниот имун систем и доенчето. Иако доенчињата имаат антитела, пренесени трансплацентарно, тие остануваат незаштитени кога ќе дојдат во контакт со нови микроорганизми (Filipovic, 1997). Мајчиното млеко може да го намали овој ризик преку антителата, присутни во него и на тој начин да го модифицираат имуниот, метаболичниот и микрофлора системот на доенчето (Filipovic, 1997). Кога најголем дел од матерналните IgG антитела, пренесени трансплацентарно ќе исчезнат почнувајќи од околу 2-месечна возраст, доенчето станува сè повеќе зависно од антителата од мајчиното млеко (Brandtzaeg, 2002). Забележително е дека IgA продуцирачките имуноцити не можат да се детектираат во интестиналната мукоза пред десеттиот ден, потоа следува нивна појава, но во многу мал број дури и по едногодишна возраст (Brandtzaeg, 2002). IgM имуноцитите остануваат позастапени до 1-месечна возраст. Адултни вредности на IgA во плунката се достигнуваат во касното детство (Brandtzaeg, 2002). Мајчиното млеко влијае врз реактивните карактеристики на имунокомпетентните клетки во цревата (преку специфично и диференцирачко модулирање на TLR реактивност), го компензира капацитетот на неонаталната плазма за поддршка на одговорите кон липополисахариди, влијае врз периферните леукоцити кај новороденото (модулира вродени имуни одговори при системска инфекција) (He et al., 2016). Компоненти како TLRs, sCD14, sTLR2) во мајчиното млеко овозможуваат доминација на бифидобактерии. Мајчиното млеко ја модулира функцијата на разните TLR со цел да го помогне колонизирањето на цревата со бифидобактерии и за да го оневозможи размножувањето на потенцијално опасни грам негативни бактерии (He et al., 2016).

Хуманото млеко си има свој имун систем и разновидни солубилни и клеточни компоненти што го обезбедуваат развојот и созревањето на имуниот систем кај доенчињата (Field, 2005). Во зависност од фазата на лактација во колострумот присутни се леукоцити ( $4 \cdot 10^9/l$ ), а во зрелото млеко ( $10^8 \cdot 10^9/l$ ) за кои се претпоставува дека имаат улога во промовирање и развој на неонаталниот имун одговор. Макрофагите (55-60%) и неутрофилите (30-40%) доминираат над лимфоцитите (5-10%). Макрофагите од мајчиното млеко (CD14+) ја модулираат функцијата на T и B-Ly кај доенчето преку активацискиот маркер CD11c, имаат фагоцитна активност и секретираат имунорегулаторни фактори. Пријавено е дека има макрофаги што содржат sIgA, кои може да го испуштат при контакт со бактерии во цревата (Rivas et al., 1994). Неутрофилите во мајчиното млеко имаат намалена адхеренција и подвижност и експресираат високи вредности на CD11b и ниски вредности на L-selectin маркери што укажува на нивна претходна активација и ограничен функционален капацитет штом ќе се секретираат во млекото (Rivas et al., 1994). Малку се знае за улогата на неутрофилите во развојот на имуниот систем на доенчињата, но повеќе истражувачи сугерираат дека нивната главна улога е во протекција на мајката бидејќи тие имаат лимитиран функционален капацитет штом ќе се секретираат во млекото (Field, 2005). Најголем дел од лимфоцитите во мајчиното млеко се T-Ly (80%). Најмногу се застапени CD8 T-Ly а потоа и CD4 T-Ly, но во активирана форма. Овие активирани CD4 T-Ly ја компензираат иматурната функција на неонаталните T-Ly и го стимулираат нивното созревање. Истовремено ја компензираат намалената антиген презентирачка активност на макрофагите (Field, 2005). Мајчиното млеко содржи широк спектар на цитокини и хемокини како што се IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, TNF, TGF, IFN, Гранулоцитно–колоностимулирачки фактор (G-CSF), моноцитен хемотактичен протеин. Извор на овие цитокини се млечните жлезди. Но се смета дека леукоцитите во мајчиното млеко се способни да произведуваат голем број на цитокини (Field, 2005). Некои од цитокините во мајчиното млеко (TGF, IL-6, IL-10) може да имаат придонес во развојот и деференцијацијата на IgA продуцирачки клетки и во матурацијата на наивниот интестинален имун систем (Bottcher et al., 2000 и Donnet-Hughes et al., 2000).

Хормони, фактори на раст и пептиди се детектирани во мајчиното млеко, вклучувајќи кортизол, естроген, прегнандиол, прогестерон, еритропоетин,



гонадотропин, хуман хорионски гонадотропин, инсулин, лептин, пролактин, прокалцитонин, епидермален фактор на раст, инсулин сличен фактор на раст (ILGF), врзувачки протеини, нуклеотиди, лактоглобулин, лактоферин. Се смета дека овие фактори го модулираат имуниот систем и се смета дека играат улога во развојот на имуниот систем на доенчињата (Field, 2005). *Syntenin-1* е новооткриен имунорегулаторен протеин во хуман колострум, кој овозможува развој на IgA продуцирачки B-ly.

Долголанчани полинезаситени масни киселини (докосахекасноичната, арахидонската и линолеинската киселина) се смета дека имаат улога во развојот на имуниот систем (Field, 2005).

Нуклеотидите во мајчиното млеко ја промовираат лимфоцитната пролиферација, активноста на NK клетките, активацијата на макрофагите и продукцијата на имуномодулаторни фактори (Field, 2005). Постојат конституенти во мајчиното млеко, кои промовираат толеранција и прајминг (сензитизација) на имуниот систем, имаат имуномодулаторна и антиинфламаторна активност (Field, 2005).

Мајчиното млеко има антимикуробна активност против вируси, бактерии и протозои може да ја намали инциденцијата на гастроинтестиналните и неентеричните инфекции кај доенчињата (Chirico et al, 2008). Протективната улога против ентеровирусните инфекции е примарно медирана од анителата во мајчиното млеко (Sadeharju et al., 2007).

Во проспективна лонгитудинална студија на Frank et al., 2019 биле опфатени деца од раѓање до 4-годишна возраст за кои на секои три месеци се собирали податоци за траењето на доењето, воведување адаптирана млечна формула и немлечна храна и појава на болести. Утврдено е дека на возраст од 3 до 6 месеци доењето е инверзно поврзано со честотата на респираторни инфекции со температура (OR=0,82, 95% CI=0,70-0,95), отитис медиа (OR = 0,76, 95% CI = 0,62-0,94) и инфективен гастроентеритис (OR = 0,55, 95% CI = 0,46-0,70). Меѓу 6 и 18-месечна возраст доењето на секои 3 месеци евалуација продолжило да биде инверзно поврзано со честотата на инфективен гастроентеритис и отитис медиа. Оваа студија укажува дека доењето може да има протективна улога против респираторни и гастроинтестинални акутни болести кај децата барем во првите 6 месеци од животот со продолжување на истата улога доколку продолжи доењето и по шестиот месец од раѓањето.

Santos et al., (2015) спровеле ретроспективна дескриптивна студија во која е направен интегративен преглед на објавени студии од Бразил во Pub Med и LILACS во период од јануари 1992 година до август 2011 година поврзани со доењето и намалувањето на појава на дијареја кај деца помали од две години. Биле селектирани 11 студии што укажале на значењето на доењето во превенција и заштита од дијареја кај деца помали од 6 месеци посебно кај деца што се ексклузивно доени. Забележано е дека децата што се ексклузивно доени до 6-месечна возраст и кај кои доењето е продолжено до 12-месечна возраст имаат пониска стапка на хоспитализации поради дијареја. Посебно е забележана редукција на појавата на дијареја кај ексклузивно доените доенчиња во првите 6 месеци од животот додека кај доенчињата што се хранеле со адаптирана млечна формула била поголема појавата и стапката на хоспитализации поради дијареја. Од овој преглед на литературата во Бразил дојдено е до заклучок дека доењето е значаен фактор во превенција и заштита од дијареја кај деца помали од две години. Diallo et al., (2019) спровеле проспективна кохортна студија во која е испитувана поврзаноста на траењето на доењето (ексклузивно и парцијално доење) и инциденцијата на дијареја кај доенчињата во првата година од животот. Во студијата биле вклучени 2.340 мајка-доенче дијади. Во студијата е увидено дека прекин на доењето пред тримесечна возраст било сигнификантно асоцирано во висока стапка на појава на дијареја на 6-месечна возраст и помеѓу 6 и 12-месечна возраст. Прекилот на доењето пред шестиот месец, исто така, било поврзано со повисока стапка на појава на дијареја на 6-месечна возраст. Исхраната со адаптирана млечна формула во траење од  $\geq 3$  месеци било поврзано со почеста појава на дијареја меѓу 6 и 12-месечна возраст. Дојдено е до заклучок дека ексклузивното доење во првите 3 месеци продолжено со парцијално доење до 6-месечна возраст обезбедува заштита од појава на дијареја. Krawczyk A et al., (2016) спровеле систематски преглед на литературата објавена во Cochrane Central Register of Controlled Trials (CENTRAL), MEDLINE/PubMED (од 1980 до 2016), ScienceDirect (од 1980 до 2016), OVID (од 1980 до 2016) и регионалната база-IndMED. Сите студии (дескриптивни, case series, cross sectional, case control проспективни и ретроспективни кохортни), кои укажувале на ефективност на ексклузивното доење биле земени за ревизија. Од сите разгледани студии седум биле земени за систематски преглед. Било докажано дека ексклузивното

доење е ефективно во превенција на ротавирус инфекција намалувајќи го ризикот од ротавирус инфекција кај децата посебно во првите 6 месеци од животот. (OR= 0,62, 95% CI= 0,48-0,81). Во студијата на Plenge-Bönig et al., 2010 е утврдено дека доењето кај доенчиња со ротавирусна дијареја од 1 до 6-месечна возраст има поголем протективен ефект (OR=0,33; 95% CI=0,19-0,55) во однос на оние што се на од 7 до 12-месечна возраст. Целта на студијата на Yarnoff et al. 2013, во која се опфатени новороденчиња и доенчиња до една година од 20 земји во Африка, Азија и Латинска Америка била да се испита поврзаноста помеѓу 6 различни типови храна (ексклузивно доење, неексклузивно доење, адаптирана формула, комерцијално кравјо млеко, немлечни течности и немлечна храна) со 5 индикатори на доенечкото здравје (должина, тежина, дијареја, покачена температура и кашлица). Доенчињата по возраст биле поделени во две групи од 0 до 6-месечна и од 6 до 12-месечна возраст. Во првата група само 33% биле ексклузивно доени, а во групата од 6 до 12-месечна возраст само 4% биле ексклузивно доени. Кај доенчињата помали од 6 месеци е утврдено дека ексклузивното доење е позитивно поврзано со порастот во тежина и должина, а е негативно поврзано со инциденцијата на дијареја. Неексклузивното доење имало слична поврзаност. Немлечната храна имала негативна асоцијација со порастот во тежина и позитивна асоцијација со инциденцијата на дијареја, покачена температура и кашлица. Комерцијалните кравји млека имале негативна поврзаност со тежината, но немале поврзаност со другите мерки за здравјето на доенчињата. Адаптираните млечни формули и преостанатите течности немале статистичка значајна поврзаност со здравјето на доенчињата. Кај доенчињата над 6-месечна возраст ниеден тип исхрана немала статистички сигнификантна поврзаност со појавата на болести кај доенчињата.

Во студијата на Lamberti et al., 2011 е направен систематски преглед на литературата, објавен во период од 1980 до 2009 година и во него е направена процена на нивото на субоптимално доење како ризик-фактор за морбидитет и морталитет од дијареја. Во студијата е утврден релативниот ризик според исходот и возраста. Пронајдени се голем број докази за заштитниот ефект на доењето против инциденцијата, преваленцијата, хоспитализациите и морталитетот од дијареја. Резултатите од мета-анализите на 18 вклучени

студии укажале на варијабилен степен на заштита во зависност од нивото на доење со најголем степен на заштита кај ексклузивно доените доенчиња од 0 до 5-месечна возраст и кај другите доени доенчиња и малите деца од 6 до 23-месечна возраст. Доенчињата што не биле доени имале исклучително голем ризик од морталитет од дијареја во споредба од оние што биле ексклузивно доени. Оваа студија уште еднаш ги потврдува препораките на Светската здравствена организација за промоција на ексклузивното доење во првите 6 месеци од животот и уште еднаш укажува на значењето на доењето во заштита од морбидитет и морталитет од дијареја во првите 2 години од животот.

Позната е заштитната улога на sIgA, кој речиси недостига кај новородените и доенчињата, но е присутен во високи концентрации во колострумот ( $\approx 10$  g/L) и зрелото млеко ( $\approx 1$  g/L) (Chirico et al., 2008). Направено е квантитативно одредување на IgA во хуманото млеко, собирано од раѓањето до 27 месеци старост на доенчињата од страна на Peitersen et al., 1975 и Goldman et al., 1982. Концентрацијата на IgA била висока веднаш по раѓањето, се намалувала во текот на 2-3 недели по раѓањето, а потоа останала константна. sIgA е најден во столицата кај новородени што се на доење веќе вториот ден од раѓањето додека кај доенчињата што се хранети со формула само кај 30% се забележала минимална IgA активност на крај од првиот месец од животот (Jatsyk et al., 1985). Во Канадска лонгитудинална кохортна студија од 2016 година биле опфатени 47 доенчиња кај кои се укажало на поврзаност помеѓу концентрациите на sIgA во столицата 4 месеци по раѓањето и исхраната со мајчино млеко. Доенчињата што биле на мајчино млеко и првородените имале повисоки средни вредности на sIgA во столицата (23,11 v. 9,34  $\mu\text{g/g}$  протеин,  $P < 0,01$  и 22,19 v. 8,23  $\mu\text{g/g}$  протеин,  $p = 0,04$ ). Концентрацијата на sIgA сукцесивно растела со ексклузивноста на доењето. Оваа статистичка асоцијација е независна од партитетот на мајката (Bridgman et al., 2016). Во студијата на Maquama et al., 2009 се испитувани промените на sIgA во плунката и фецесот кај 28 доенчиња со различен режим на исхрана (доење, доење+формула и доенчиња што се хранат само со формула) во првите 12 месеци од животот. sIgA е испитуван со методата ELISA. Фекалниот sIgA во столицата е детектиран од вториот ден на животот и рапидно растел на 1-

месечна возраст во сите групи. Доенчињата што биле на мајчино млеко имале сигнификантно повисоки вредности на sIgA во столицата во однос на доенчињата што се хранеле со формула на 1-месечна возраст. Во студијата е заклучено дека нивото на sIgA во столицата е под силно влијание од внесувањето на мајчино млеко ( $p < 0,05$ ). Во студијата на Wang et al., 1995 се испитувани концентрациите на sIgA во мајчиното млеко на 1, 2, 3 и 4 месеци по породување и во столицата на доенчињата во истиот период со ELISA метода. Во студијата биле вклучени 20 жени и 12 доенчиња на мајчино млеко и 13 доенчиња хранети со адаптирано млеко. Утврдено е дека немало значителни промени во концентрацијата на sIgA во мајчиното млеко, но доенчињата што биле доени имале значително повисоки концентрации на sIgA во столицата во однос на оние што се хранеле со адаптирана млечна формула, со заклучок дека мајчиното млеко обезбедува големи количини sIgA за доенчињата и дека има голема улога во заштитата и промоција на имунолошката функција на доенечкиот дигестивен тракт.

Според Jelliffe D. B. и Jelliffe E. F. P., 1981 во студијата „Breast milk and infection“ со познавањето на заштитните ефекти што ги има колострумот против дијареја кај доенчињата дијарејата се дефинира како „Синдром на дефицит на колострум“. Ова било поттик за истражувачите да пробаат со терапевтска доза на колострум 5 mg/kg/ден и е потврдено дека е возможно да се редуцира неонаталната дијареја со *E. coli* и други вирусни дијареи. Застапеноста на IgA<sub>2</sub>, кој е порезистентен на пептичната активност и ацидитетот во желудникот и на дигестија од страна на ентеричните ензими и бактериските протеази е повисока во мајчиното млеко отколку во плазмата. Односот IgA<sub>1</sub>/IgA<sub>2</sub> е 6:4 во мајчиното млеко, а во плазмата изнесува 9:1. Дневното внесување на IgA преку мајчиното млеко кај новороденче изнесува 0,5-1 g/ден. Се смета дека концентрациите на IgA се повисоки кај мајките што родиле пред термин (Chirico et al., 2008). Производството на sIgA во мајчиното млеко се смета дека е под влијание на возраста на мајката, промената на расположението, имунолошките и инфективните фактори, серумските проинфламаторни и проимуни цитокини и нивоата на кортизол (Groer et al., 2004). Во студијата на Moirasgenti et al., 2019 е испитувано влијанието на матерналниот психолошки стрес врз имунолошките компоненти на мајчиното млеко. Во испитувањето биле вклучени 98 доилки.

Направена е процена на општиот стрес, постпарталниот-специфичен стрес, негативната афекција, вредностите на кортизол во плунката на мајката и sIgA нивоата во мајчиното млеко 4-6 недели по породувањето. Контролирајќи ги ефектите на возраста, тежината, бројот и траењето на подоите, постпарталниот специфичен стрес бил поврзан со ниски концентрации на sIgA во млекото. Оваа студија укажува на врска помеѓу психолошкиот стрес и имунитетот, која може да има влијание врз имунитетот на новороденото преку намалување на имунолошките придобивки на мајчиното млеко. Наодите ја потенцираат потребата за интервенции што се однесуваат на жените за време на постпарталниот период, со цел да се обезбеди благосостојба на мајката и оптимален развој на новороденчето. Miranda et al., (1983) докажале дека матерналниот нутритивен статус има влијание врз имунолошките својства на колострумот и зрелото млеко. Матерналната малнутриција се карактеризира со низок однос тежина/висина, низок креатин/висина индекс, ниски се тоталните протеини и IgG, IgA. Кај потхранети мајки колострумот содржи една третина од нормалните концентрации на IgG и IgA, половина од нормалните вредности на албумините и намалени вредности на C4 компонентата на комплементот. Нормални се вредностите на лизозим, C3 компонентата на комплементот и IgM. Вредностите се нормализираат со подобрување на нутритивниот статус на мајката.

sIgA е најважниот имуноглобулин во мајчиното млеко не само поради високата концентрација, но и поради неговата биолошка активност. Ентеромамарната циркулација овозможува мукозниот имун систем на мајката да го заштити цревата на доенчето преку хуманото млеко. Кога ќе влезе патоген во цревата на мајката се презема од страна на PP и антигените се презентираат на лимфоцитите. IgA продукцијата се индуцира на базолатералната страна од мамарната клетка, а IgA патува низ мамарната клетка за да влезе во млекото како sIgA. sIgA преку мајчиното млеко влегува во цревата на доенчињата каде што ги заштитува преку врзување на патогенот (Newburg и Walker, 2007). sIgA се синтетизира во мамарните алвеоларни клетки или од лимфоцитите што мигрирале од PP на ГИТ или од лимфното ткиво во респираторниот тракт преку лимфните садови во дојките. Цитокините предизвикуваат изотипна промена од локални IgM<sup>+</sup>B-Ly во IgA<sup>+</sup>B-Ly. Овие изотипно променети лимфоцити патуваат

во дојките каде што се трансформираат во плазма-клетки, кои продуцираат sIgA, кој е насочен кон микроорганизмите во ГИТ на доенчето (Lawrence R. A и Lawrence R. M, 2005).

IgG и IgM се присутни во ниски концентрации, дневното внесување преку мајчиното млеко изнесува 10-100 mg/ден. Дистрибуцијата на IgG супкласите во мајчиното млеко може да го компнезираат намалениот трансплацентарен трансфер на одредени антитела особено на оние против пнеумококи. Кога мајката доилка е изложена на антигени, М клетките во PP во цревното лимфно ткиво (GALT) или трахеобронхијалната мукоза (BALT) го презентираат антигенот на B-Ly кои стануваат активни и секретираат IgA и мигрираат во локалните регионални лимфни јазли. Тогаш тие стигнуваат во плунковните и солзните жлезди, цревата, горните дишни патишта и урогениталниот тракт. Во текот на бременоста и лактацијата поради хормоналните стимули IgA<sub>1</sub>B-Ly ги колонизираат млечните жлезди и продуцираат специфичен секреторен IgA, кој може да се врзе за антигенот. sIgA ја спречува адхеренцијата и влезот на патогенот за мукозата, предизвикува аглутинација и неутрализација на антигенот како и негова елиминација преку фагоцитоза и цитотоксичност преку Fc фрагмент на IgA рецептор (FcαRI) (Chirico et al., 2008).

Во студијата „The mammary gland as an immunological organ“ од страна на Hanson, 1982 е испитуван титарот на IgA антитела кон O антиген на *E. coli* во млекото на здрави доилки во Шведска. Доенчињата што консумирале мајчино млеко од овие мајки имале високи титри на IgA антитела кон O антигенот на *E. coli*.

Во друга проспективна студија од страна на Glass et al., 1983 се испитувало дали sIgA антителата против колера, кои се присутни во мајчиното млеко заштитуваат од колонизација со *Vibrio cholerae 01* и болест. Во студијата биле земени предвид мајки од фамилии со колера што немале дијареја, а нивните доенчиња биле следени за колонизација во текот на 10 дена. Во мајчиното млеко се испитувало IgA за колера токсин и липополисахариди. Од 93 парови мајка-доенче, триесет доенчиња биле колонизирани со *Vibrio cholerae 01*, а болест се развила кај 11 од нив. Немало разлика во титарот на антитела во млекото со кое биле хранети доенчињата што биле колонизирани и оние што не биле колонизирани. Но помеѓу колонизираните доенчиња кај кои се развила дијареја во млекото со кое се хранеле имало пониски вредности на антителата

кон двата колера антигени. Заклучено е дека антителата кон колера антигените во мајчиното млеко не ги заштитуваат доенчињата од колонизација, но ги заштитуваат од болест оние што се колонизирани.

Во ретроспективната студија на France et al., 1980 инфекцијата салмонела е докажана кај 253 доенчиња. Од нив само 12 биле доени, а од тие само кај едно се развила клиничка слика на салмонела гастроентерит.

## **2.7. Развој на незрелиот мукозен имун систем на доенчето**

Имуниот систем на човекот започнува со формирање и развој во феталниот период. Имуниот систем на новороденчето е незрел. Но тој брзо се адаптира во постнаталниот период. Ова се однесува на созревањето на кожата, мукозните мембрани и созревање на одговорот при експозиција на инхалирани или ингестирани антигени и микробни агенси од надворешната средина. Имуниот систем на доенчињата се развива посебно во првите 2 години од животот. Но и покрај тоа доенчињата имаат ограничени способности да одговорат брзо и ефективно на инфективните предизвици, што ја објаснува подложноста на доенчињата кон инфекции (Lawrence RA и Lawrence RM, 2005). В-Лу и продукцијата на имуноглобулини е дефицитна. Бавна е матурацијата на антитело одговорот на специфични антигени. Клеточно-медирано имун одговор вклучувајќи ги ефекторните и мемори Т клетки се функционално ограничени да одговорат при инфекција. Слабо е развиена неутрофилната активност што ги прави осетливи доенчињата кон инвазивни бактериски инфекции во првите месеци од животот. Компонентите на комплементот се со ниска концентрација и ограничена е активацијата на класичниот и алтернативниот пат на комплементот (Lawrence RA и Lawrence RM, 2005). Ограничена е количината на многу имуни компоненти како што е IFN- $\gamma$ , IgA, IL3, IL6, IL10, TNF- $\alpha$ , лактоферин, лизозим (Lawrence RA и Lawrence RM, 2005). На раѓањето дијадата мајка-фетус се менува од асептичен трансфер на хранливи состојки преку папочната врвца во исхрана со мајчино млеко што обезбедува трансфер на хранливи материи и заштита од ентерични патогени. Големиот број протективни фактори во цревата на доенчето и мајчиното млеко може да ја компензира наивноста на стекнатиот имунитет кај новороденчето и



незрелоста на другите делови од ГИТ. Многу од компонентите на мајчиното млеко служат за да ја зголемуваат моќноста на вродениот имун систем. Стекнатиот имун систем се карактеризира со исклучителна антигенска специфичност и одложена реакција што доведува до меморија, додека вродениот имун систем обезбедува брза заштита кон широк спектар на молекули, но без создавање меморија ( Newburg и Walker, 2007).

По раѓањето коскената срцевина и тимусот ја преземаат улогата на примарни лимфоидни органи што создаваат циркулирачки пул на лимфоцити што ги населуваат секундарните лимфоидни органи. Во нив спаѓа и мукозниот имун систем. Мукозното лимфно ткиво (MALT) е расеано по должината на слузокожните обвивки на организмот со површина околу 400m<sup>2</sup>. Цел на мукозниот имун систем е отпорност кон патогени микроорганизми и имунолошка толеранција кон проголтани и вдишани антигени, како и толеранција кон сапрофитната бактериска флора. Гастроинтестинално лимфно ткиво (GALT) е гастроинтестинален мукозен имун систем, кој се состои од PP, мезентеријални лимфни јазли (МЛЈ), апендикс и изолирани лимфни фоликули во интестиналната мукоза. Овие компоненти на мукозниот имун систем се поврзани заедно во мрежа на заеднички имунолошки одговор: GALT, солзните и плунковните жлезди (Slade и Schwartz, 1987). GALT се состои од CD8+T-Ly, B-Ly, дендритични клетки, макрофаги и M-клетки. Изолирани лимфни фоликули се составени од специјализираните епителијални клетки наречени M-клетки. Овие M клетки немаат микровили и гликокаликс и вршат експресија на микрофолд на нивната луминална површина и доаѓаат во директен контакт со микроорганизмите и антигените. Овие клетки вршат ендоцитоза, фагоцитоза и транспорт на антигенот од нивната површина до базалниот дел на клетката. Антиген презентирачките клетки (APC) го презентираат антигенот на лимфоцитите сместени во субмукозата. Активирани лимфоцити мигрираат преку лимфниот систем до ductus thoracicus, а отаму во крвта. Преку циркулацијата повторно се враќаат во мукозата од каде што потекнуваат и функционираат како активирани лимфоцити во lamina propria mucosae (Lawrence RA и Lawrence RM, 2005).

Развојот на мукозниот имун систем започнува во пренаталниот и продолжува во постанаталниот период. Функционалната мукозна бариера вклучува дејство на ензими, ацидитет (Ph), мукуз, имуноглобулини и нормалната цревна флора

(Lawrence RA и Lawrence RM, 2005). Уште во 8 г.н. се утврдени промени во интестиналната бариера со почеток на развој на ентероцити, goblet клетки и ентерохромафини клетки како и развој на цврсти врски помеѓу епителиалните клетки (Pang et al., 1983; Polak-Charcon et al., 1980 и Lawrence RA и Lawrence RM, 2005). Забележана е мукусна продукција пре- и постнатално почнувајќи со експресија на *muc 2* генот уште во 12 г.н. (Buisine et al., 2008 и Lawrence RA и Lawrence RM, 2005). Во овој период се појавуваат Панетовите клетките во интестиналните крипти. Овие клетки секретираат  $\alpha$  дефензин, лизозим, секреторна фосфолипаза  $A_2$  и TNF- $\alpha$ , кои придонесуваат во заштитата од патогени и влијаат врз селекцијата и бројот на комменсалните микроорганизми (Muller et al., 2005 и Salzman et al., 2007). T-Ly и B-Ly се појавуваат најрано во 19 г.н. но секундарните фоликули со герминативни центри се појавуваат дури неколку недели по раѓањето укажувајќи на нивна зависност од егзогени стимули (Prameela и Mohamed, 2010).

Мукозниот слој е подебел во интестиналниот тракт отколку на другите мукозни површини и се состои од густ внатрешен слој (со зголемување на дебелината од тенкото кон дебелото црево) и тенок надворешен слој (со зголемување на дебелината од тенкото кон дебелото црево) (McGuckin et al., 2011). Критичната улога на мукусот во интестиналниот имунитет е утврдено преку откритието дека во густиот внатрешен слој нема бактерии (Johansson et al., 2008). Главниот гликопротен, кој влегува во составот на интестиналниот мукус е муцин-2 (*Muc-2*), кој претставува продукт на *Muc-2* генот во луѓето и *Muc-2* генот во глувците и се секретира во најголем дел од goblet клетките. Глувците со делеција на *Muc-2* генот имаат намален број goblet клетки и немаат мукусен слој на епителната луминална површина (Perez-Vilar, 2007 и Velcich et al., 2002). *Muc-2* е неопходен за отстранување на комменсалните бактерии од внатрешниот мукусен слој на дебелото црево (Rogier et al., 2014). Во студијата на Rogier et al., 2014 е утврдено дека *slgA* е отсутен во внатрешниот мукусен слој и е поврзан со цревната бактериска микрофлора во надворешниот мукусен слој. Ова откритие има импликација во однос на механизмите преку кои *slgA* обезбедува заштита на дебелото црево, каде што главна функција му е да го спречи влезот на комменсалните бактерии во организмот.

Мукозниот имун систем на човекот веќе на раѓање структурно ги поседува сите неопходни клеточни компоненти. Но тој е функционално неискусен и незрел. Во

отсуство на антигените од храната и бактериската флора нема физиолошки развој на секундарни фоликули во PP и IgA плазма-клетки во lamina propria mucosae. Бројот на имуноцити во цревната lamina propria и плунковните жлезди што произведуваат IgA и IgM започнува да расте 2-4 недели по раѓање. За постигнување на адултни вредности на застапеноста на IgA плазма-клетки во мукозата потребни се 1-2 години. Интестиналниот тракт содржи над 70% од IgA секретирачките плазма-клетки (Macpherson et al., 2001). IgA е антитело што има значајна улога во мукозниот имунитет. Дури од 4-годишна возраст се постигнува оптимална дневна продукција од 3 до 5 g IgA во цревниот лумен. Постојат две супкласи на IgA (IgA<sub>1</sub> и IgA<sub>2</sub>), кои се јавуваат и во димерна форма како sIgA. IgA<sub>2</sub> почесто се среќава во секретите а IgA<sub>1</sub> во серумот. sIgA е главниот имуноглобулин во мукозните секрети: солзи, плунка, колострум, ГИТ, респираторен епител, простата. Нормални вредности на sIgA во столица се 51-204 mg/dL. Полимеризацијата на IgA е иницирана од еден полипептид со молекуларна тежина од 15,6 kDa, кој се синтетизира од плазма-клетките и е означен како J синџир, кој ковалентно врзува два алфа (или му) тешки синџири со два лесни синџири заедно на нивниот C терминален крај. Тогаш димерниот IgA продуциран на IgA плазма клетките во субмукозата активно се транспортира по пат на ендоцитоза од базолатералната страна до мукозната површина на епителните клетки каде што се ослободува во секретите. Транспортот на секретираниот IgA од плазма клетките на lamina propria mucosae во секретите на дигестивниот тракт се врши со полимерен имуноглобулински рецептор (pIgR), кој претставува трансмембрански гликопротеин, кој се создава ексклузивно од страна на мукозните и жлездните епителни клетки (Johansen и Kaetzel, 2011). На луминалната површина со протеолитичко расцепување се ослободува екстрацелуларниот домен на pIgR позната како секреторна компонента (SC.) (Chintalacharuvu и Morrison, 1997 и Crottet и Corthesy, 1998). Оваа SC специфично се врзува за J синџирот на димерниот IgA и на тој начин се ослободува на површината sIgA (Slade и Schwartz., 1987). SC на sIgA го заштитува овој имуноглобулин од разградување од страна на ензимите на ГИТ и бактериските протеази (Chintalacharuvu и Morrison, 1997 и Crottet и Corthesy, 1998). Критичната улога на pIgR и SC во интестиналниот имунитет е евидентирана кај глумци со делеција на Pigr генот кај кои е утврдено изразито намалување на нивоата на IgA во секретите на

дигестивниот тракт и се поподложни на разни интестинални инфекции и се со променет состав на комензалната микрофлора на цревата (Johansen и Kaetzel, 2011 и Reikvam et al., 2012). Boullier et al., (2009) демонстрирале користејќи изолирани цревни вијуги на илеум со PP од зајак, дека моноклоналните sIgA антители насочени против *Shigella flexneri* ја ограничуваат оваа бактерија на луминалната мукозна површина на тенкото црево по пат на имуна ексклузија и неутрализација и со тоа го зачувуваат интегритетот на интестиналната епителна бариера преку превенција на бактериско-индуцирано воспаление. Помалку се знае за локализација на sIgA во дебелото црево каде што бактериското оптоварување е изразито поголемо и во најголем дел го сочинуваат коменсални бактерии. Со имунофлуоресцентна микроскопија на дебело црево од глвци и човек се покажало дека sIgA заедно со бактериската микрофлора се наоѓа во надворешниот слој на мукузот од дебелото црево (Rogier et al., 2014). Исто така, со имунофлуоресценција е докажано дека IgA<sub>2</sub><sup>+</sup> плазма-клетките се доминантно застапени во цревата (59%), млечните жлезди (37%) и плунковните жлезди (34%), споредено со слезенката, периферните лимфни јазли и тонзилите каде што се застапени од 5 до 9%. Овие површински sIgA<sub>2</sub><sup>+</sup> плазма-клетки од GALT секретираат J синцир со поголема фреквенција од IgA<sub>1</sub><sup>+</sup> плазма клетките. IgM и IgG продуцирачки плазма-клетки се присутни на мукозната површина и тие продуцираат J синцир со висока фреквенција. Во случај на селективен недостиг од sIgA неговата функција може да ја надомести sIgM, но во спротивно тие лица имаат почести и потешки инфекции. Постојат малку податоци за тоа која е улогата на IgG на мукозната површина бидејќи се знае дека не се врзува за секреторниот протеин, ниту за J синцирот. IgG е доминантно присутен во тонзилите и алвеолите на белите дробови. IgG4 супкласата на мукозните површини се смета дека има улога во медијацијата на алергиските реакции. sIgA е прва линија на одбрана на цревниот епител од патогените микроорганизми и цревните токсини. Го спречува врзувањето на антигените и патогените микроорганизми за епителните рецептори преку негово врзување за Fc рецептор на површината на патогенот со последична појава на антители зависна клеточно медирана цитотоксичност, ги заробува микроорганизмите во мукусот и го овозможува нивното отстранување преку стимулирање на перисталтиката и мукоцилијарната активност (Mantis et al., 2011 и Boullier et al., 2009). sIgA е способен директно да ја намали бактериската

вируленција, има влијание врз составот на цревната микрофлора од Fab зависни и Fab независни механизми, го промовира ретротранспортот на антигени преку цревниот епител на дендритичните клетки (DC) во цревното лимфоидно ткиво и ги регулира проинфламаторните реакции, поврзани со навлегувањето на високопатогени бактерии и потенцијални алергени. sIgA не е бактерициден и не промовира формација на опсонизирачки комплемент супфрагменти, нема директна опсонизирачка активност (Mantis et al., 2011). Но sIgA може да предизвика цитотоксичен ефект на инфицираните епителни клетки лизирајќи ги преку активација на еозинофилите, неутрофилите или клетките природни убијци (Rose, 2014). sIgA ја инхибира колонизацијата и инвазијата на патогените на тој начин што pIgR – трансмембранска секреторна компонента, го транспортира полимерниот IgA (pIgA) и пентамерниот IgM (pIgM), кои ги инактивираат ротавирус, инфлуенца вирус во секреторните епителни клетки, ги носат патогените и нивните продукти назад во луменот и на овој начин се избегнува цитолитичкото оштетување на епителот (Norderhaug et al., 1999). Веднаш по раѓањето, новороденото е изложено на микроорганизми од надворешната средина. Транзицијата од стерилна средина во високо колонизирана средина е придружена со истовремена експозиција на гастроинтестиналниот тракт на новороденото со мајчините IgA антители стекнати преку доење. Природните и специфичните sIgA антители во мајчиното млеко се способни за врзување на коменсални бактерии и може да бидат вклучени во воспоставување на цревната микрофлора на новороденчето, која, пак, го стимулира созревањето на цревното лимфно ткиво, што резултира со производство на IgA со ограничен афинитет за препознавање и отстранување на патогените микроорганизми (Mantis et al., 2011). Оваа тврдење е поткрепено со студијата на Koutras et al., 1989 во која се испитувани ефектите на мајчиното млеко во првите 8 недели од животот на развојот на локалниот гастроинтестинален хуморален имун одговор преку мерење на фекалниот sIgA. Во студијата биле вклучени 44 доенчиња од кои 21 биле доени, а 23 биле на адаптирана млечна формула. Зголемените вредности на sIgA во столицата кај доените доенчиња наспроти доенчињата хранети со адаптирана формула не е предизвикано само од присуството на sIgA во мајчиното млеко. Се смета дека мајчиното млеко нема само заштитна улога од инфекции преку sIgA, туку и стимулирачки ефект на развојот на гастроинтестиналниот хуморален имун

одговор. Во здрав ГИТ комбинираниите акции на перисталтиката, мукозната продукција и цилијарните движења формираат релативно ефикасна бариера кон бактериската адхезија, превенирајќи бактериска инвазија. Интраепителијалните ефекторни Т клетки ја комплетираат оваа бариера и спречуваат вирусна инвазија. Хуморалниот имун одговор кон ентеричните антигени е комплексен и инволвира системска супресија на IgG одговорот и индукција на мукозниот IgA одговор. sIgA во хуманото млеко може да препознае голем број микроорганизми и да биде насочен против нив. Може да препознае вируси од типот на: ротавирус, аденовирус, норволквирус, ентеровируси (Polio virus, Coxsackie virus, Ehovirus), CMV, HSV, RSV, HIV, Rubella и други. Може да препознае и да дејствува против: *E.coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter pylori*, *Vibrio cholerae*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Group B Streptococcus type III*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium difficile*, *Clostridium botulinum*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Strongyloides stercoralis* и *Candida albicans* (Goldman, 1999; Noguera-Obenza и Cleary, 2001 и Lawrence R. A и Lawrence R. M, 2005).

Во последните години, микрофлората се поврзува со имунитетот на домаќинот. Многу студии покажуваат дека микрофлората на цревата не само што е важна за метаболизмот на основните хранливи материи за организмот, туку, исто така, игра клучна улога во развојот на цревата и е неопходна за развој на целосно функционален имунолошки систем (Caracilli et al., 2014 и Rooks и Garrett, 2016). Човечкиот ГИТ содржи околу 100 трилиони бактерии. Не само што помага во варењето и ферментацијата на храната што е важна за производство на одредени витамини, микрофлората, исто така, е неопходна во одбраната против патогени микроорганизми преку натпреварување за хранливи материи и местата за адхеренција, некои дури и активно ги елиминираат патогените микроорганизми со излучување на антимицробни пептиди (Moens и Veldhoen, 2012 и Kamada et al., 2013). Експериментите, спроведени на животни без микроби – germ free (GF) покажаа дека колонизацијата на микрофлората во раниот живот е неопходна за оптимален развој на имунолошкиот систем. Во отсуство на микрофлората, имунитетот на цревната мукоза е недоволно развиен со појава на помали МЛЈ, РР и намален

број на имунолошки клетки како што се плазма-клетки што произведуваат IgA, CD4+LPT-Ly и интраепителен  $\alpha\beta$  T-клеточен рецептор на CD8+T-Ly, што резултира во ослабен капацитет за борба против патогените бактерии (Sommer и Backhed, 2013). Бактериската микрофлора во цревото создава разни метаболити од анаеробната ферментација на храната во дигестивниот тракт. Еден од тие продукти се масните киселини со кратки синџири, кои не се само значаен извор на енергија за микрофлората и интраепителијалните клетки на цревата, туку имаат и антиинфламаторна активност во дигестивниот тракт. (Kumar et al., 2016). Некои фактори на животната средина го модулираат развојот на микрофлората на детето, вклучително исхраната, употребата на антибиотици за време на перинаталниот период, начинот на породување, доењето и инфекции. (Rodriguez et al., 2015). Новороденчињата и доенчињата добиваат различен бактериски инокулум што зависи од начинот на раѓање, а тоа води до различен вид микрофлора колонизација во дигестивниот тракт. Децата, родени вагинално ја имаат микрофлората присутна во вагината на мајката (*Lactobacillus*, *Prevotella*, или *Sneathia species*) за разлика од децата, родени со царски рез кај кои се среќаваат бактерии присутни на кожата на мајката или од околината (*Staphylococcus*, *Corynebacterium* и *Propionibacterium species*) (Dominguez-Bello et al., 2010 и Kristensen и Henriksen, 2016). Мајчиното млеко не само што обезбедува пасивна заштита, туку, исто така, директно го модулира имунолошкиот развој на доенчињата преку различни микробиолошки и имуни фактори што се пренесуваат од мајката на детето. Мајчиното млеко содржи неколку стотици видови бактерии во приближна концентрација од 1,000 colony-forming units (CFUs)/ml (Cabrera-Rubio et al., 2012 и Jeurink et al., 2013). Се претпоставува дека доенчињата што се хранат со мајчино млеко внесуваат околу 800.000 бактерии дневно (Heikkila и Saris, 2003). Сè уште се испитува потеклото на бактериската микрофлора во мајчиното млеко. За време на доењето при контакт со брадавицата на дојката доенчето ги внесува коменсалните бактерии од кожата на мајката. Се претпоставува дека со ентеромамарниот пат бактериите од цревото на мајката мигрираат до млечните жлезди преку ендоген пат за време на бременоста и лактацијата (Le Doare et al., 2018). Составот на бактерии што се наоѓаат во мајчиното млеко може да варира во зависност од географските фактори и исхраната на мајките, но неколку истражувања откриваат претежно присуство на *Staphylococcus*,

*Streptococcus*, *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* (Fernandez et al., 2013). Вкупната концентрација на бактерии со употреба на квантитативна PCR е помала во колострумот отколку во преодното и зрелото млеко, со зголемување на нивото на *Bifidobacterium species* и *Enterococcus species* со текот на времето (Cabrera-Rubio et al., 2012 и Khodayar-Pardo et al., 2014). Здравјето на мајките има влијание врз составот и различноста на бактериската микрофлора на млекото што е евидентирано преку компаративни студии на здрави мајки и оние со дебелина, целијачна болест или имундефицит (ХИВ) (Cabrera-Rubio et al., 2012; Olivares et al., 2015 и Gonzalez et al., 2013). Имуномодулаторни цитокини, најдени во млекото на здрави мајки како што се  $TGF\beta_1$  и  $TGF\beta_2$  се поврзани со зголемен број и разновидност на бактерии во млекото како и со поголема заштита од атописки болести (Sitarik et al., 2017). Употребата на антибиотици ја намалува разновидноста и бројот на бактериската флора на мајчино млеко (Soto et al., 2014). Доенчињата што не се хранат со мајчино млеко имаат зголемен ризик од појава на гастроентерит, пневмонија, обезитет, тип-1 и тип-2 дијабетес, синдром на ненадејна смрт на доенче (Stuebe, 2009). Прематурните доенчиња што, исто така, не се хранети со мајчино млеко имаат зголемен ризик од појава на некротизирачки ентероколит (McGuire и Anthony, 2003). Раната колонизација на доенечкиот дигестивен тракт со микрофлора е многу значајно за обезбедување успешно созревање и хомеостаза на имунолошката функција на цревниот епител. Досегашните податоци укажуваат на сложена интеркомуникација помеѓу микрофлората, мукозниот имун систем и интестиналната епителна бариера што е од големо значење за одбраната од патогени додека се одржува толеранција и рамнотежа (Takiishi et al., 2017).

Составот на микрофлората го обликува производството на IgA, и обратно, произведениот IgA влијае врз составот на микрофлората (Pabst et al., 2016). Оваа сложена меѓусебна поврзаност се смета дека е критично важна за здрав живот бидејќи дисфункциите во оваа рамнотежа може да доведат до дисбиоза и воспаление во дигестивниот тракт (Macpherson et al., 2015 и Sutherland et al., 2016). Според тоа, кај GF глвци се создава малку IgA но, нивото бргу се зголемува по бактериската колонизација (Bos et al., 1989). Моноколонијата на GF глвци покажа дека бактериските видови се разликуваат според нивото на IgA, кое го индуцираат (Lécuyer et al., 2014). Некои од овие разлики се



должат на промените во експресијата на pIgR и факторите што влијаат врз транспортот на димерниот IgA, но, исто така, и зголемено создавање на IgA плазма-клетки во PP може да биде вклучено (Lécuyer et al., 2014). IgA антитела реактивни на комензалните бактерии се најдени во секретите на дигестивниот тракт, но не и во серумот поради што е предложено дека некои sIgA антитела се вклучени во контролирањето на системското ширење на комензалните бактерии (Macpherson et al., 2000). Докажано е дека глувците со дефицит на B-Ly се помалку ефикасни во контролирањето на бактериската транслокација и нивното ширење на МЛП (Macpherson и Uhr, 2004). sIgA во цревата има големо влијание врз составот на микрофлората и голем број бактерии од микрофлората во цревата се обложени со sIgA и на тој начин промовираат контролирано антигенско семплирање на микрофлора антигените од страна на М клетките во епителниот слој (Bunker et al., 2015 и Benckert et al., 2011). Во цревата на човекот 24-74% од микрофлората е обложена со sIgA (Tsuruta et al., 2009 и van der Waai et al., 2005). Овие sIgA антитела им помагаат на стекнатиот имун одговор преку специфична антитело активност и на вродениот имун одговор преку гликан медирано врзување за бактериите во цревата. (Mestecky и Russell, 2009 и Mathias и Corthésy, 2011). Иако овие обложувачки IgA антитела беа иницијално предложени како механизам за преземање на инвазивните бактерии, овој механизам, исто така, ќе им овозможи на неинвазивните коменсални бактерии да навлезат во PP и да стимулираат созревање на прекурзорни во зрели IgA секретирачки плазма-клетки, а со тоа и зголемена продукција на sIgA во цревниот лумен. (Rios et al., 2016 и Palm et al., 2014). Salerno-Goncalves et al., (2016) забележале дека комплексот микрофлора – sIgA има значајно влијание врз инфламаторните одговори на епителните клетки. Овој микрофлора – sIgA комплекс има антиинфламаторен ефект преку регулирање на намалувањето на продукцијата на проинфламаторните цитокини (IL-8). Исто така, е утврдено дека во случаите кога sIgA е слободен и бактериската микрофлора не е обложена тогаш се зголемува продукцијата на проинфламаторните цитокини.

## 2.8. Имунолошки одговор на домаќинот и акутен гастроентерит

Во нормални услови sIgA има критична улога во имунолошкиот одговор кон патогени што ги напаѓаат и ги оштетуваат мукозните површини како што е онаа на ГИТ. Репликацијата на ротавирус се случува во епителните клетки од тенкоцревната слузница. sIgA е потребен за отстранување на ротавирус инфекцијата и заштита од реинфекција со истиот вирус (Blutt et al., 2012). Овој вирус често е присутен во системската циркулација за време на цревна инфекција, но, независно од ова, IgA игра многу мала улога во отстранувањето на вирусот од крвта и не е есенцијален за заштита против системска вирусна инфекција. Системскиот IgG и IgM се значајни В клеточни ефекторни продукти во чистењето на системската вирусна инфекција. Поради тоа инфекцијата со ротавирус предизвикува многу повисоки серумски нивоа на IgG отколку на IgA. IgG има клучна улога во отстранување на ротавирус од крвта и заштита од антигенемија и виремија при реекспозиција. Оралната вакцина против ротавирус индуцира продукција на IgA. Се шпекулира дека намалената појава на акутен гастроентерит се должи на оваа стимулација. При превенција од ротавирус инфекција имуниот систем може да се бори подобро со другите патогени пред сè со другите гастроинтестинални вируси (*Adenovirus, Norovirus*) (Rose, 2014).

Во студијата на Blatt et al., 2012 е испитувано значењето на улогата на sIgA во ГИТ при инфекција со ротавирус кај глувци што се дефицитарни со продукција на IgA. C57BL/6 и BALB/c глувци што немаат IgA (IgA -/-) биле експонирани на ротавирус и кај нив е утврдено забавено чистење на иницијалната инфекција, споредено со див тип глувци. IgA -/- глувци го екскретирале вирусот до 3 недели во столицата по иницијалната експозиција, споредено со дивниот тип глувци, што го екскретирале вирусот во столицата во текот на 10 дена. IgA -/- глувци не развиле заштитен имунитет против реекспозиција на вирусот. Сите IgA -/- го екскретирале вирусот во столицата по реекспозиција на Ротавирус додека дивниот тип на глувци биле комплетно заштитени од ре-инфекција. Овие заклучоци директно укажуваат на критичната улога на sIgA во развојот на имунитет против ГИТ вируси. Детекцијата на вирусниот антиген како и одредувањето на sIgA во столицата е испитувано со ELISA методата. И во студијата на Franco et al., 2000 е укажано дека на појавата на ротавирус

специфичен IgA во столицата му претходи исчезнување на ротавирус од фецесот. Овие наоди укажуваат дека интестиналниот sIgA е значаен фактор во разрешувањето на инфекцијата предизвикана од ротавирус.

Инфекцијата од ротавирус кај пациенти со IgA дефицит би била пролонгирана, болеста ќе има потешка клиничка слика или ќе се јавува почесто во споредба со лица со нормална продукција на IgA. Се претпоставува дека вакцините против ротавирус би биле помалку ефикасни кај пациентите со IgA дефицит (Blutt et al., 2012). Повеќе студии кај децата укажуваат дека вредностите на IgA во столицата корелираат со подложноста кон инфекција со ротавирус, како кај децата, чии вредности на IgA се намалиле по иницијална инфекција со ротавирус не се заштитени од реинфекција (Coulson et al., 1990). Важноста на IgA за заштита од инфекција со ротавирус, која е докажана кај глувците укажува на важноста дека sIgA во столицата кај човекот корелира со ротавирус-заштита (Blutt et al., 2012). Во студијата на Sherif et al., 2015 се испитувани ефектите на sIgA во столицата врз клиничката слика на ротавирус акутен гастроентерит кај доенчиња. Во студијата поголемиот дел од доенчињата што се хранеле со мајчино млеко имале позитивни вредности на sIgA во столицата за разлика од оние што биле хранети со друго млеко. Оние што биле позитивни за sIgA имале полесна клиничка слика, со помал степен на дехидратација, со поретка фреквенција на повраќање. Се претпоставува дека кај овие доенчиња клиничката слика е полесна поради инхибиторната функција на sIgA кон бактериското и вирусното прилепување за мукозниот епител и неговата способност за нивна аглутинација. Оваа студија укажала на сигнификантна негативна корелација помеѓу *glutathione S transferase* (GST) и sIgA што ја потврдило теоријата дека добриот мукозен имунитет не штити само од гастроентеритис, туку дури и во случај на инфекција штити од понатамошно епително оштетување.

Во проспективната студија на Cruz et al., 1988 година е испитувано дали sIgA антитела против термолабилниот токсин на *E. coli* во мајчиното млеко ги заштитуваат доенчињата од дијареја. Во студијата биле вклучени 130 доенчиња кај кои примерок од столицата е земено на секои 2-3 недели и во период на дијареја за докажување на токсинот, а во исто време е собирано и млеко од мајките за одредување на нивото на sIgA. Кај 20 од доенчињата била детектирана *E. coli*, 9 од нив имале дијареја, а 11 биле асимптоматски.

Доенчињата што развиле клиничка слика консумирале мајчино млеко со понизок титар на анти IgA *E. coli* антитела во однос на тие кои биле асимтоматски.

Во студијата на Khazenson et al., 1980 е докажано дека sIgA кон *Shigella sonnei* во столицата има поголем капацитет за аглутинација на антигенот на *Shigella sonnei* во однос на серумскиот IgA.

Во Мексико од страна на Nayani et al., 1992 е спроведена проспективна студија на здрави доенчиња за да се утврди заштитната улога на антишигела (anti-*Shigella*) sIgA антитела во мајчиното млеко. Примероците на млеко се собирали месечно, а примероците од столицата се собирали неделно како и во епизоди на дијареја. Кај деветнаесет доенчиња, кои се хранеле со мајчино млеко, се откриени *Shigella flexneri*, *Shigella boydii* и *Shigella sonnei* во столицата. Десет од доенчињата биле симптоматски, а девет биле асимтоматски. За детекцијата на sIgA против липополисахаридите на *Shigella flexneri*, *Shigella boydii* серотип 2, *Shigella sonnei* и плазмидните антигени е користена ELISA метода. Средниот титар на anti-*Shigella* антитела насочени кон плазмидниот антиген биле осумпати повисоки кај асимтоматските доенчиња за разлика од оние кај кои се развила клиничка слика. Дојдено е до заклучок дека мајчиното млеко ги заштитува доенчињата од симптоматска шигела инфекција кога содржи високи концентрации на sIgA против плазмид антигенот.

Ruiz-Palacios et al., (1990) ја испитувале улогата на доењето во превенција од дијареја, предизвикана од кампилобактер јејуни (*Campylobacter jejuni*). Во проспективната студија биле вклучени 98 доенчиња од Мексико и биле следени во текот на 2 години од самото нивно раѓање. Застапеноста на дијареја кај доенчиња под 6-месечна возраст, кои не биле доени била за 2,3 пати поголема ( $p < 0,005$ ) од онаа кај доенчињата што се хранеле со мајчино млеко. Доенчињата на мајчино млеко долго немале дијареја, споредено со оние што биле хранети со адаптирана формула ( $p < 0,0005$ ). SIgA антитела во млекото насочени против антигенот на кампилобактер јејуни биле високи во колострумот, а потоа се намалиле во првиот месец од лактација за потоа да останат перзистентни во текот на лактацијата. Хуманото млеко што го консумирале доенчињата кај кои се развила кампилобактер јејуни дијареја не содржело sIgA против антигенот на кампилобактер јејуни. Во оваа студија е

утврдена поврзаност помеѓу *Campylobacter* антителата во мајчиното млеко и превенцијата од дијареја, предизвикана од кампилобактер јејуни.

Внесувањето хумано млеко, кое содржи високи вредности на специфични антитела покажа дека обезбедува заштита од дијарејална болест и алергии на храна кај доените доенчиња. Но, неколку проспективни студии покажаа дека присуството и нивоата на специфичните sIgA антитела во мајчиното млеко не се константни во тек на лактацијата, сугерирајќи дека протективната улога варира во одредени периоди од лактацијата. Во студијата на Goldman et al., 1982 се испитувани ефектите на доењето преку вредностите на лактоферин, тотален IgA, sIgA, sIgA антитела кон соматскиот антиген на *E. Coli* и леукоцитите во мајчиното млеко. Во оваа лонгитудинална студија биле вклучени жени од 20 до 35-годишна возраст за време на првата година од лактацијата. Докажано е дека вредностите на лактоферин, тотален IgA и леукоцитите се намалуваат во првите недели од лактацијата потоа вредностите на лактоферин и IgA се стабилизираат. Исто така е утврдено дека 90% од тоталниот IgA во мајчиното млеко во тек на првата година од лактацијата е sIgA. Титарот на sIgA кон *E. Coli* се зголемил кај дел од мајките укажувајќи дека ентеромамарниот пат на продукцијата на sIgA е активен после неколку недели од почетокот на лактацијата.

Во студијата на Cruz et al., 1985 концентрациите на sIgA, IgA специфични антитела против *E. coli* термолабилниот токсин, *Shigella flexneri* 6 и Ротавирус биле утврдени во примероците од млеко, добиени сервиски од жени во текот на првите 16 недели по породувањето. Средната концентрација на sIgA ја следела очекуваната шема, нивоата на специфични антитела флукуирале на непредвидлив начин и независно од концентрацијата на sIgA во млекото, станувајќи недетектибилни во многу случаи. Дојдено е до заклучок дека доењето може да не гарантира континуирано внесување антитела против цревни патогени кај доенчињата што се хранат со мајчино млеко.

## **2.9. Интестинална епителна бариера и alpha glutathione S transpherase како потенцијален биомаркер за интестинално епително оштетување.**

Еден слој на епителни клетки ја формираат физичката бариера помеѓу луменот и мукозните ткива. Парацелуларниот простор е запечатен со цврсти врски (Tight Junction - TJ), кои го регулираат протокот на вода, јони и мали молекули. Под цврстите врски се адхерентните врски, кои се значајни во клеточното сигнализирање и епителијалната реституција. Цврстите врски се состојат од интрамембрански протеини, наречени оклудини и членови на фамилијата клаудини. Овие протеини заедно со трицелулин ги поврзуваат клетките со актинскиот цитоскелет преку цитоплазматските протеини како што се *Zonula occludens*. Централен регулатор на епителната бариера е интестиналната микрофлора. Интестиналниот епител се обновува на секои 5 дена како резултат на пролиферација и диференцијација на мултипотентни стем-клетки, лоцирани во Либеркуновите крипти. Интестиналните стем-клетки може да се диференцираат во 4 линии: ентероцити, ентероендокрини клетки, мукуз продуцирачки Гоблет-клетки и Панетови клетки, кои се среќаваат само во тенкото црево на човекот (Bischoff et al., 2014).

Интестиналната епителна обвивка треба да обезбеди ефикасна бариера, која ќе превенира влез на патогени и антигени. Во изминатите декади стана евидентно дека дисфункцијата на интестиналната бариера има сигнификантно влијание врз здравјето на индивидуата. Мукозната бариера може да биде компромитирана како последица на разни интестинални заболувања и како ваква може да игра голема улога во патогенезата и одржувањето на болеста (Grootjans et al., 2010). Дисфункцијата на интестиналната епителна бариера ја зголемува интестиналната мукозна пермеабилност. Како резултат на ова интестиналните бактерии, ендотоксини и други штетни супстанции поминуваат низ интестиналното ткиво и почнуваат серија на патофизиолошки промени, па дури и системски инфламаторен одговор и синдром на мултиорганска дисфункција (Kong et al., 2019). Иако има напредок во тестовите со кои се проценува функцијата на интестиналната епителна бариера, сепак, сè уште останува предизвик евалуацијата на интегритетот и функцијата на цревниот епител за клиничарите (Grootjans et al., 2010). Серумските биомаркери во последно време го привлекуваат вниманието на истражувачите бидејќи

биомаркерите што го рефлектираат оштетувањето на интестиналната мукозна бариера се идентификувани во неколку клинички и анимални студии. Интестиналната мукоза е вклучена во дигестија и апсорпција на хранливи материи, во заштита од инфективни, токсични и карциногени материи ингестирани во дигестивниот тракт. За оваа цел е вклучен комплексен одбранбен систем: мукусна бариера, епителни клетки со краток животен век (неколку дена), кои имаат комплексен ензимски систем способен да метаболизира штетни материи на начин што овозможува нивна екскреција преку жолчката, фецесот и урината. Една од најзначајните класи на ензими што ја вршат оваа функција се GST ензимите. Тие се вклучени во врзување, транспорт и детоксикација на овие штетни материи преку нивно врзување за GSH (Sherratt и Hayes, 2001).

*Glutathion S transferases* (GST) се ензими што се убиквитарно присутни во природата и во многу организми: микроби, инсекти, растенија, риби, птици и цицачи (Sherratt и Hayes, 2001). Поседуваат многу активности. Погolem дел од овие ензими може да ја катализираат конјугацијата на редуцираниот GSH со супстанции што содржат електрофилен центар преку формирање тиоетерска врска помеѓу сулфурниот атом на GSH и супстратот (Sherratt и Hayes, 2001). Учествуваат во GSH зависни каталитички активности како што е редукција на органски хидропероксиди и изомеризација на несатурирани супстанции. Овие ензими имаат и голем број некаталитички функции како што е секвестрација на карциногени, интрацелуларен транспорт на хидрофобни лиганди и модулација на патиштата на сигнална трансдукција (Sherratt и Hayes, 2001). GST ензимите се поделени на две суперфамилии. Во првата суперфамилија спаѓаат цитозолните или солубилни ензими. Солубилните ензими се поделени на осум фамилии: *Alpha* ( $\alpha$ ), *Mu* ( $\mu$ ), *Pi* ( $\pi$ ), *Sigma* ( $\sigma$ ), *Theta* ( $\theta$ ), *Zeta* ( $\zeta$ ), *Omega* ( $\omega$ ) и *Kapa* ( $\kappa$ ). Четири дополнителни класи од оваа суперфамилија означени како *Beta* ( $\beta$ ), *Delta* ( $\delta$ ), *Phi* ( $\phi$ ) и *Tau* ( $\tau$ ) се присутни во бактериите, инсекти и растенија (Sherratt и Hayes, 2001). Втората суперфамилија се микрозомални трансферази и се означени како membrane-associated proteins in eicosanoid and glutathione metabolism (MAPEG). Оваа суперфамилија содржи 6 членови (Sherratt и Hayes, 2001). Солубилните GST ензими се вклучени во метаболизмот на карциногените, разни хемикалии меѓу кои и хемотерапевтиците, вклучени се во детоксикација на потенцијално штетни

ендогено настанати супстанции. Имаат антиоксидативна функција, дел од нив се вклучени во синтеза и инактивација на простагландини. MAPEG суперфамилијата на ензими се вклучени во биосинтеза на леукотриени и простаноиди – ендогени липидни сигнални молекули (Sherratt и Hayes, 2001).

Peters et al., (1989) ја испитувале активноста на GST ензимите во тенкото и дебелото црево и докажале дека интестиналните епителни клетки имаат висока содржина и активност на цитозолни GST ензими. Специфичната активност на цитозолните GST ензими постепено се намалува од проксималниот кон дисталниот дел на тенкото црево, а нагло паѓање на активноста се јавува во дебелото црево. Според Kong et al., 2019 alpha glutathione S transpherase ( $\alpha$ -GST) е високоактивен структурен ензим во интестиналните мукозни епителни клетки, додека според Sherratt и Hayes, 2001  $\alpha$ -GST е доминантно присутна во црниот дроб, бубрезите и цревата. Во студијата на Coles et al., 2002 е испитувана активноста на GST ензимите во ГИТ (желудник – колон) на 16 орган-донори и докажале дека  $\alpha$ -GST и  $\alpha$ <sub>2</sub>-GST се застапени со високи вредности во дуоденумот и тенкото црево, а дека нивната експресија се намалува во желудникот и дебелото црево. И во студијата на Khurana et al., 2002 е утврдено дека GST ензимите се присутни по должната на целото црево и при оштетување на клеточната мембрана на интестиналните епителни клетки овие ензими се ослободуваат и нивните нивоа во серумот корелираат со степенот на интестинално епително оштетување. Kelly et al., (2004) демонстрирале дека GSH детоксикацискиот систем е важен во одржување на интегритетот на цревната мукоза. Ова е потврдено во студијата на Nijhoff et al., 1995 во која е утврдено дека антиканцерогените флавоноиди и алфа ангеликалактони дури и во мали концентрации кај машки вистар стаорец, во желудникот, тенкото црево и црниот дроб, а во помала мера во дебелото црево, го стимулираат GST ензимскиот комплекс, главно, преку индукција  $\alpha$ -GST и  $\mu$ -GST изоензимите.  $\alpha$ -GST е потенцијален биомаркер за интестинално епително оштетување од различни причини – гастроентерити, исхемија на цревата, хронични инфламаторни цревни болести. Може да се користи како скрининг кај пациентите со ризик за интестинална патологија (McMonagle et al., 2006). Ентероцитите рапидно се разрушуваат во раната фаза на интестинално оштетување и ова лесно може да се открие преку одредување на вредностите



на  $\alpha$ -GST во плазмата земајќи ја како маркер за рано откривање на интестинално оштетување (van Oudheusden et al., 2013). Во студијата на Sherif et al., 2015 GST била сигнификантно позитивна во случаите кои биле ротавирус позитивни во однос на оние што биле ротавирус негативни. Ова ја потврдило теоријата дека ротавирусот може да предизвика епителна ерозија, документирана преку пораст на GST во серумот кај ротавирус позитивните случаи. Исто така е утврдено дека GST била сигнификантно пониска во случаите, кои биле позитивни за sIgA во столицата во однос на sIgA негативните случаи потврдувајќи дека присуството на sIgA во доенечките црева ги заштитува од епително оштетување.

Samiec et al., (2000) утврдиле дека одредена количина GST има во мукузот на интактниот цревен епител што обезбедува нов механизам за превенција на директен контакт на потенцијално токсични супстанции и микроби со интестиналните ентероцити. GST има значајна улога во одржувањето на клеточната хомеостаза, а  $\alpha$ -GST изоензимот е високоспецифичен за тенкото црево и црниот дроб (Khurana et al., 2002).  $\alpha$ -GST може да се користи и како маркер за рана детекција на интестинална мезентеријална исхемија (Khurana et al., 2002; Delaney et al., 1999 и Gearhart et al., 2003). Во студијата на Can Kong et al., (2019) година се испитувани серумски биомаркери за интестинална епителна дисфункција кај пациенти со абдоминална хируршка интервенција. Во оваа студија меѓу другите биомаркери е испитувана и  $\alpha$ -GST во серумот кај овие пациенти со ELISA методата на производителот CUSABIO и е докажано зголемување на нејзините вредности во случаите со интестинална епителна дисфункција.  $\alpha$ -GST може да обезбеди заштита од електрофилите или лековите не само преку нивна конјугација со GSH туку и преку ублажување на оксидативниот стрес и последичната липидна пероксидација, која е постојано присутна при експозиција на ксенобиотици. (Rajendra et al., 2004).

### 3. ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО

Акутниот гастроентерит е честа причина за морбидитет во првите пет години од животот кај децата. Особено опасен може да биде во првите 12 месеци од животот со поголем ризик од зголемено губење вода и електролити со последична умерена до тешка дехидратација и тоа посебно кај доенчињата што не се на ексклузивно доење или се на исхрана со адаптирана млечна формула. Во последната деценија во Република Северна Македонија, но и во светот е намалена стапката на ексклузивно доење барем во првите 6 месеци од животот. Постојат голем број студии што укажуваат на бенефициите од доењето, а посебно на значењето на имунолошките фактори во мајчиното млеко, кое е богато со sIgA, кој, пак, го штити интестиналниот епител на доенчињата од оштетување, предизвикано од акутен гастроентерит. Оттука произлегоа следните цели:

1. Да се утврди застапеноста на акутен гастроентерит кај доенчињата хоспитализирани на Детското одделение – Клиничка болница Штип.
2. Да се процени дали sIgA од мајчиното млеко има заштитно влијание врз цревниот епител преку евалуација на тежината и траењето на клиничката слика кај доенчињата со акутен гастроентерит во зависност од видот на исхраната.
3. Да се процени дали  $\alpha$ -GST може да биде биомаркер за рано интестинално епително оштетување кај доенчиња со акутен гастроентерит и степенот на корелација на нејзините вредности во серумот со степенот на интестиналното епително оштетување поврзано со видот исхрана на доенчињата.

Со оглед на фактот што во Република Северна Македонија досега нема студија од оваа област, а во светски рамки постојат само неколку слични студии, мотивот за спроведување на оваа студија е да се покаже дали мукозниот интегритет мерен преку вредностите на sIgA во столицата е заштитен фактор од епително оштетување, мерено преку вредностите на  $\alpha$ -GST во серум кај доенчиња со акутен гастроентерит и нивната поврзаност со начинот на исхрана.

## 4. МЕТОДИ НА ИСТРАЖУВАЧКА РАБОТА

### 4.1. Дизајн на студија

Студијата се работеше како проспективна кохортна студија и беше започната на 15.11.2018 година и траеше до 31.12.2019 година.

За целите на студијата беа опфатени новороденчиња и доенчиња од раѓање до навршена една година од животот со приемна дијагноза акутен гастроентерит. Сите доенчиња беа хоспитализирани на Детското одделение во Клиничката болница – Штип.

За истражувањето родителите беа информирани и се бараше нивна писмена согласност за земање биолошки материјал (столица и венска крв) од нивните деца за анализи.

Направен беше соодветен анкетен прашалник на кој одговараше мајката и кој е во прилог на овој докторат. Во прашалникот беа опфатени следните сегменти: возраста на доенчето, начинот на исхрана (доење, адаптирана млечна формула или комерцијално кравјо млеко) и практиката на одвикнување. Вклучени беа и податоци за појавата на симптомите на акутен гастроентерит во последните 24 часа пред прием (број на повраќања, број на столици 24 часа пред прием, степен на дехидратација на прием и покачена температура), како и податоци за исхраната и здравствената состојба на мајката доилка. Одговорите беа со заокружување и писмен одговор.

Доенчињата беа поделени во 4 групи според возраст во месеци и според млечната исхрана и воведувањето немлечна храна.

Група I – опфаќаше новороденчиња и доенчиња од раѓање до полни 6 месеци, кои беа на ексклузивно доење.

Група II – опфаќаше новороденчиња и доенчиња од раѓање до навршени 6 месеци неексклузивно доени (доенчиња, кои од самото раѓање или од првиот месец, се на адаптирана млечна формула или комбинација на исхрана со мајчино млеко и адаптирана млечна формула, доенчиња што се на доење и кај кои е започната немлечна храна, доенчиња на адаптирана формула и

немлечна храна, како и доенчиња што се хранат со кравјо млеко, козјо млеко итн. )

Група III – во која беа опфатени доенчиња од 7 до 12-месечна возраст, кои се хранеа со мајчино млеко и дополнително адаптирана млечна формула и немлечна храна.

Група IV – во која беа опфатени доенчиња од 7 до 12-месечна возраст кај кои исхраната се спроведуваше со адаптирана млечна формула или кравјо/козјо млеко и кај кои беше воведена немлечна исхрана.

Ексклузивно доени беа доенчиња што се хранеа само со мајчино млеко и не добиваа дополнително друга храна и течности дури и вода (со исклучок на перорален рехидрациски раствор, витамини, минерали и лекови).

Клиничката слика и степенот на дехидратацијата се одредуваше со физикален преглед и се правеше поделба на степенот на дехидратацијата на лесен, среден и тежок преку употреба на клинички скоринг систем. (World health organization: Integrated management of childhood illness-Module 4, Diarrhoea)

За секое доенче вклучено во истражувањето се пополнуваше евидентен лист во кој се следеше развојот на клиничката слика и потребата од парентерална рехидрација во тек на болничкиот престој. Во студијата не беа опфатени доенчиња кај кои дијарејата беше од хируршка или екстра-интестинална причина како и доенчиња што имаа примено имуносупресивна терапија.

## **4.2. Лабораториски методи**

Од секое доенче, вклучено во студијата се земаа по два примерока столица од пелената со пластична шпатула и 2,5 ml венска крв.

Едниот примерок столица се собираше во стерилна пластична чашка на која се напишани општите податоци за пациентот и шифрата и во временски рок од 30 минути се носеше во Микробиолошката лабораторија во Центарот за јавно здравје (ЦЈЗ) – Штип. Во овој примерок столица се докажуваше присуство на ротавирус и аденовирус со имунохроматографски тест. Од истиот примерок

столица се реализираше копрокултура со која се докажуваше присуство на ентеропатогени бактерии со засејување на примерокот столица на соодветна подлога.

Во вториот примерок столица, квантитативно се одредуваше нивото на sIgA со ELISA метода.

Од примерокот венска крв со центрифугирање се добиваше серум и во него квантитативно се одредуваше нивото на  $\alpha$ -GST со ELISA метода.

#### **4.2.1. Имунохроматографски тест за брза детекција на ротавирус и аденовирус.**

Во студијата за детекција на ротавирус и аденовирус во столицата се користеше имунохроматографскиот тест DUO ROTA-ADENOVIRUS – Check-1 на компанијата VEDA.LAB (Alencon-France). Тестот се изведуваше во Микробиолошката лабораторија при ЦЈЗ – Штип. Овој тест е имунохроматографски брз тест со страничен тек за квалитативна детекција на ротавирус и аденовирус во хуман фецес. Тест единицата за детекција на ротавирус и аденовирус се состои од две различни траки, сместени во пластично куќиште. Обоениот конјугат со моноклонални антитела на ротавирус и аденовирус конјугиран со колоидно злато е сместен на левиот крај на мембраната. По земање примерок столица во епрувета што содржеше екстракционен раствор, примерокот столица се раствораше и потоа неколку капки од овој екстракт се додаваа на местото за примерок на реакционата единица. Додека примерокот протекуваше низ апсорбентската подлога, обележаниот обоениот антитело-конјугат се врзуваше за антигенот на ротавирус и аденовирус (кога се присутни во примерокот), формирајќи антитело-антиген комплекс. Овој комплекс се врзуваше за поликлонални анти-ротавирус и анти аденовирус антитела во позитивниот реакционен прозор при што се формираше розово обоена линија. Во отсуство на ротавирус и аденовирус немаше линија во позитивната зона на реакција. Реакционата мешавина продолжуваше да тече преку апсорбентската единица преминувајќи преку позитивната зона на реакција во контролната зона. Неврзаниот конјугат

се врзуваше за реагенс во контролниот прозор создавајќи розово обоена линија и со тоа се покажуваше дека реагенсите исправно функционираат. Секое тест пакување содржеше упатство за употреба и по 20 од следниве компоненти: реакциона единица, пластични пипети, пластични епрувети наполнети со 20 ml екстракционен раствор, апликатори за примерок.

Сите компоненти на DUO ROTA-ADENOVIRUS – Check-1 беа чувани во фрижидер на + 4 °C. Примерокот столица за микробиолошка анализа се земаше со пластична шпатула и се собираше во стерилна пластична чашка и во рок од половина час се носеше во ЦЈЗ – Штип. На стерилната пластична чашка беа напишани општите податоци на пациентот и неговата шифра. По приемот на материјалот се изведуваше имунохроматографски тест DUO ROTA-ADENOVIRUS – Check-1. Сите делови од тестот претходно беа поставени за адаптација на собна температура. На епруветата со екстракционен раствор се наведуваа општите податоци на пациентот и шифрата. Мала количина од столицата (големина на зрно грашок) се ставаше во епруветата со екстракционен раствор и се мешаше додека не се раствори столицата. По мешањето растворот се центрифугираше на 1.000 вртежи во минута за да се исталожат нерастворените честички столица. По ова со пипета се капнуваа 6 капки од екстрахираниот раствор во местото за апликација на примерокот. Резултатите се читаа по 10 минути од додавањето на екстрахираниот раствор на местото за апликација. Тестот беше позитивен кога покрај во контролниот прозор ќе се јавеше розова линија и во тест прозорот. Резултатот беше негативен доколку се јавеше розова линија само во контролниот прозор. Доколку не се појавеше јасно обоена линија и во контролниот и во тест прозорот тестот беше неубедлив и се повторуваше.

#### **4.2.2. Копрокултура**

Фецесот за копрокултура се земаше непосредно по дефекација. Кај доенчињата примерокот столица се земаше од пелената со пластична шпатула и се ставаше во стерилен пластичен сад. На садот беа наведени општите податоци и шифрата на пациентот. Добиениот примерок столица се

транспортираше во рок од половина час до Микробиолошката лабораторија во ЦЈЗ - Штип. Столицата се засејуваше на:

Крвен агар (Columbia agar) во текот на 24 часа на 37 °C - за изолација на ентеропатогена, ентеротоксична, ентероинванзивна и ентероадхерентна *E coli* (Biolife Italiana N° - 401136).

SS агар збогатен со Selenit F бујон (Biolife Italiana N° - 402025) во тек на 24 часа на 37 °C – за изолација на салмонела и шигела (Biolife Italiana N° - 402075).

Campylobacter агар во тек на 24 часа на 37 °C – за изолација на *Campylobacter spp.* (Oxoid CM0739).

#### **4.2.3. Квантитативно одредување на sIgA во столицата со Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)**

Вториот примерок столица се собираше во епендорф микроепрувети и се замрзнуваше на -80 °C во лабораторијата на Факултет за медицински науки при Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип (УГД) и во тој примерок се одредуваше нивото на sIgA со ELISA метода (Mindray MR-96A) во дијагностичката лабораторија Фармахем-Скопје.

За одредување на нивото на sIgA во столицата се користеше тестот IDK sIgA ELISA kit (Catalog N° K8870) од производителот Imundiagnostik Bensheim, Germany.

До изведување на тестот сите компоненти на ELISA китот беа чувани во фрижидер на 4 °C во лабораторијата на Факултет за медицински науки при УГД – Штип. Пред самото изведување сите компоненти на тестот беа оставени за адаптација на собна температура, а примероците столица претходно беа одмрзнати. Според производителот Imundiagnostik, sIgA во столица е позитивен во вредности  $\geq 510$  ug/ml.

За екстракција на примерокот столица се користеше Stool Sample Application System (SAS) (Catalog N° K6998SAS) од производителот Imundiagnostik Bensheim, Germany. Во празната епрувета за столица (SAS) се ставаше по 1,5

ml од екстракциониот пуфер, кој претходно беше адаптиран на собна температура. Потоа се отвораше жолтиот дел од капачката на епруветата – жолтиот дипстик, чиј долен дел комплетно беше покриен со столица. Потоа жолтиот дипстик се враќаше назад во епруветата со екстракциониот пуфер вишокот столица се отстрануваше, а остануваа само 15 mg столица, кои ги растворавме во екстракциониот пуфер. Добро се промешуваше епруветата се додека не се добиеше хомогена суспензија. Потоа добиената суспензија се оставаше да одмори во текот на 10 минути за да се исталожи седиментот на дното од епруветата. На овој начин се добиваше раствор I (1:100). Од овој раствор I се земаше 40  $\mu$ l кој понатаму се разредуваше (1:125) со воден пуфер 960  $\mu$ l и се добиваше раствор II (1:25). 200  $\mu$ l од растворот II се мешаа со 800  $\mu$ l воден пуфер и се добиваше раствор III (1:5). Финалниот раствор беше со разредување 1:12 500. За анализа се пипетираа по 100  $\mu$ l од растворот III.

За изведување на ELISA тестот во првиот инкубациски чекор, sIgA во примерокот се врзуваше за поликлонални антитела (зајачки антихуман IgA) кои се имобилизирани на површините на бунарчињата. За да се отстранат сите неврзани супстанции се спроведуваше чекор на перење. Во вториот инкубациски чекор се додаваше пероксидаза врзан конјугат (гљувчешки анти sIgA), кој го препознаваше специфично врзаниот sIgA. По втор чекор на перење за да се отстранат сите неврзани супстанции солидната фаза се инкубираше со супстратот Тетраметилбензидин (TMB). Потоа се додаваше кисел раствор за да се сопре реакцијата. Бојата се променуваше од сина во жолта. Интензитетот на жолтата боја беше директно пропорционален на концентрацијата на sIgA. Се создаваше крива на одговор на дозата на единицата за апсорпција (оптичка густина) наспроти концентрацијата, користејќи ги резултатите, добиени од стандардите. sIgA присутен во примероците на пациентите, се одредуваше директно од оваа крива.



#### **4.2.4. Квантитативно одредување на alpha glutathione S transpherase во serum со Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)**

За одредување на  $\alpha$ -GST во serum се земаа по 2,5 ml венска крв во епрувети SST (Serum separator tubes) од 5 ml од производителот Grainer Bio-One. Внатрешната страна на ѕидот од епруветата е обложена со силика честички, кои го активираат процесот на коагулација. Овие епрувети имаат сепарациски гел на дното, кој за време на центрифугирањето формира стабилна бариера помеѓу serumот и крвните клетки. Овој тип епрувети се користат кога се испитуваат специфични протеини во serumот со цел за нивна подобра детекција.

По земањето крвта во епруветата се мешаше 8 пати, а потоа отстојуваше на собна температура во текот на два часа. Потоа крвта се центрифугираше во центрифуга во лабораторијата на Клиничка болница – Штип на 2.500 вртежи во текот на 15 минути.

Во пет епендорф микроепрувети се одделуваше по 200  $\mu$ l од добиениот serum и примероците се замрзнуваа на  $-80^{\circ}\text{C}$  во лабораторијата на Факултет за медицински науки УГД – Штип се до моментот на квантитативно одредување на  $\alpha$ -GST во serumот со ELISA метода (Mindray MR-96A) во дијагностичката лабораторија Фармахем-Скопје.

За квантитативна детерминација на хуман  $\alpha$ -GST во serum се користеше ELISA kit на производителот CUSABIO (CSB-E08906h).

До изведување на тестот сите компоненти на ELISA китот беа чувани во фрижидер на  $4^{\circ}\text{C}$  во лабораторијата на Факултет за медицински науки при УГД – Штип. Пред самото изведување сите компоненти на тестот беа оставени за адаптација на собна температура во текот на 30 минути, а примероците serum претходно беа одмрзнати. Според производителот CUSABIO  $\alpha$ -GST е позитивна во serumот со вредности  $\geq 0,156$  ng/ml.

Антителата специфични за  $\alpha$ -GST се претходно обложени на микроплоча. Стандардите и примероците се пипетираат во бунарчиња и секое присуство на  $\alpha$ -GST се врзува за имобилизираното антитело. По отстранување на сите неврзани супстанции, биотин коњугирано антитело специфичен за  $\alpha$ -GST се додаваше во бунарчињата. По перењето во бунарчињата се додаваше авидин

конјугирана Horseradish Peroxidase (HRP). Потоа следувааше уште еден чекор на перење за да се отстрани неврзаниот авидин ензимски реагенс, а после се додаваше субстрат во бунарчињата по што се развиваше боја, чиј интензитет одговараше на вредностите на  $\alpha$ -GST.

За изведување на тестот ELISA сите реагенси, примероци и стандарди беа претходно припремени според инструкциите од производителот. Во првиот чекор се додаваа по 100  $\mu$ l од стандардот и примерокот во секое бунарче се покриваше со фолија и по што следувааше инкубација на 37  $^{\circ}$ C во текот на 2 часа. Вториот чекор се состоеше во отстранување на течноста од секое бунарче, но без перење. Во третиот чекор во секое бунарче се додаваше по 100  $\mu$ l Biotin антитело, повторно се покриваа бунарчињата со фолија и следувааше инкубација на 37  $^{\circ}$ C во текот на еден час. Во четвртиот чекор изведувавме аспирација и перење на бунарчињата 3 пати. Перењето се изведуваше со Wash Buffer (200  $\mu$ l) и со помош на автоматски перач. Wash buffer стоеше во текот на две минути во бунарчето по што следувааше комплетно отстранување на течноста со аспирација. По перењето во петтиот чекор додававме по 100  $\mu$ l HRP – avidin во секое бунарче со инкубација во тек на 1 час на 37  $^{\circ}$ C покриени со фолија. Шестиот чекор се состоеше од аспирација и перење петпати. Во седмиот чекор се додаваше по 90  $\mu$ l TMB субстрат во секое бунарче со инкубација од 15-30 минути на 37  $^{\circ}$ C со заштита од светлина. Последниот чекор се состоеше од додавање на 50  $\mu$ l раствор за стопирање на реакцијата. Во рок од 5 минути се читаше оптичката густина на секое бунарче користејќи читач на микроплочи, поставен на 450 nm бранова должина.

### **4.3. Статистичка анализа**

Собраните податоци се обработуваа со помош на статистичкиот програм SPSS 20 и Statistica for Windows – верзија 10 и следниве статистички методи:

Базите на податоците се формираа со примена на специфични компјутерски програми, наменети за таа намена. Нивната обработка се изврши со помош на

стандардни дескриптивни и аналитички биваријантни и мултиваријантни методи.

Атрибутивните статистички серии се анализираа со одредување на коефициент на односи, пропорции, стапки и со одредување на статистичката значајност меѓу откриените разлики.

Нумеричките серии се анализираа со мерки на централна тенденција и со мерки на дисперзија на податоците.

Статистичка сигнификантност на веројатноста меѓу дистрибуциите на фреквенциите на две атрибутивни варијабили се проценуваше со тестот на разлика (Difference test), а меѓу нумеричките серии со помош на Student t–тест.

Корелативните односи се реализираа со помош на Пирсоновиот (Pearson) коефициент на линеарна корелација.

Веројатноста за асоцијацијата меѓу дистрибуциите на фреквенциите на две атрибутивни варијабли се проценуваше со Pearson Chi square тестот и Fisher exact 2 tailed тест.

Користен е вкрстениот однос Odds ratio-OR да се утврди врската помеѓу зависната критериумска варијабла и независната.

Со Shapiro-Wilk's тест се тестираше нормалноста на дистрибуцијата на варијаблите.

За CI (интервал на доверба – confidence interval 95% CI) беше дефинирано статистичко значење на ниво на стандардна грешка помала од 0,05 (p).

Резултатите се прикажани во табели и графикони.

## **5. РЕЗУЛТАТИ**

### **5.1. Дескриптивни податоци**

Истражувањето претставува проспективно-кохортна студија, спроведена на Детско одделение во Клиничка болница – Штип во траење од една година. Со анализата беа опфатени 58 хоспитализирани новороденчиња и доенчиња од раѓање до навршена една година од животот со приемна дијагноза Gastroenteritis acuta, поделени во четири групи. Во првата група беа застапени 7 (12,1%) доенчиња, во втората 16 (27,6%), во третата 19 (32,7%) и во четвртата 16 (27,6%) доенчиња, поделени според возраста изразена во месеци и начинот на исхрана.

Во првата група со 57,1% беше застапен машкиот пол, а со 42,9% женскиот пол. Во втората група со 56,25% беше застапен машкиот и со 43,75% женскиот пол (таб. 1, граф. 1)

Во третата група со 57,9% беше застапен машкиот пол, а со 42,1% женскиот пол. Во четвртата група со 37,5% беше застапен машкиот и со 62,5% женскиот пол (таб. 1, граф. 1).

Просечната возраст на доенчињата во првата група изнесуваше  $2,1 \pm 0,9$  месеци, со 42,9% беше застапена возраста од три месеци. Просечната возраст на доенчињата во втората група изнесуваше  $3,4 \pm 1,5$  месеци, со најголем процент од 25,0% беше застапена возраста два, три и четири месеци (таб. 2, таб. 2а, граф. 2, граф. 2а).

Просечната возраст на доенчињата во третата група изнесуваше  $9,3 \pm 1,2$  месеци, повеќе од половина 52,6% е на 9-месечна возраст. Просечната возраст на доенчињата во четвртата група изнесуваше  $9,5 \pm 1,4$  месеци, со 37,5% беше застапена возраста од 10 месеци (таб. 2, таб. 2а, граф. 2, граф. 2а).

### **5.2. Застапеност на повраќање во последните 24 часа пред прием кај доенчињата со акутен гастроентерит**

Во првата група не се регистрираше повраќање во последните 24 часа пред прием кај 71,4%, додека кај 28,6% се регистрираше повраќање, кај две доенчиња се регистрираше по едно повраќање. Процентуалната разлика, која

се регистрираше во однос на регистрацијата на повраќања во последните 24 часа пред прием е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  (Difference,  $p = 0,0147$ ) (таб. 3, граф. 3).

Во втората група не се регистрираше повраќање во последните 24 часа пред прием кај 18,75%, додека кај 81,25% се регистрираше повраќање од нив само кај едно доенче се регистрираше најголем број на повраќања 12. Процентуалната разлика која се регистрираше во однос на регистрацијата на бројот на повраќања во последните 24 часа пред прием е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  (Difference test,  $p = 0,0004$ ) (таб. 3, граф. 3).

Во третата група не се регистрираше повраќање во последните 24 часа пред прием кај 42,1%, додека кај 57,9% се регистрираше повраќање и тоа кај две доенчиња се регистрираше по 10 повраќања. Процентуалната разлика, која се регистрираше во однос на регистрацијата на повраќања во последните 24 часа пред прием е статистички несигнификантна за  $p > 0,05$  (Difference test,  $p = 0,3301$ ) (таб. 3, граф. 3).

Во четвртата група не се регистрираше повраќање во последните 24 часа пред прием кај 18,75%, додека кај 81,25% се регистрираше повраќање, од нив само кај едно доенче се регистрираше најголем број повраќања – 12. Процентуалната разлика, која се регистрираше во однос на регистрацијата на повраќања во последните 24 часа пред прием е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  (Difference test,  $p = 0,0004$ ) (таб. 3, граф. 3).

Процентуалната разлика што се регистрираше помеѓу бројот на повраќања во последните 24 часа пред прием, прва во однос втора група е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  (Difference test,  $p = 0,0147$ ) и трета во однос четврта група е статистички несигнификантна за  $p > 0,05$  (таб. 3).

Просечниот број на повраќања пред прием кај доенчињата во првата група изнесуваше  $0,3 \pm 0,5$ , во втората група  $4,6 \pm 3,3$ , разликата е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  ( $t = -3,40460$ ,  $p = 0,002669$ ) (таб. 3а, граф. 3а).

Просечниот број повраќања пред прием кај доенчињата во третата група изнесуваше  $2,7 \pm 3,3$ , во четвртата група  $4,6 \pm 3,3$ , разликата е статистички несигнификанта за  $p > 0,05$  ( $t = -1,62537$ ,  $p = 0,113598$ ) (таб. 3а, граф. 3б).

### **5.3. Број на столица во последните 24 часа пред прием кај доенчињата со акутен гастроентерит**

Бројот на течни столица во последните 24 часа пред прием во првата група се движеше од 3 до 5. Кај 42,85% од доенчињата се регистрираа 3 и 4 течни столица (таб. 4).

Во втората група се регистрираа течни столица во последните 24 часа пред прием во најголем број 10 кај 4 (25,0%) доенчиња, бројот на течни столица се движеше од 4 до 20 (таб. 4).

Во третата група се регистрираа течни столица во последните 24 часа пред прием во најголем број 4 кај пет (26,3%) доенчиња, бројот на течни столица се движеше од 3 до 10 (таб. 4).

Во четвртата група се регистрираа течни столица во последните 24 часа пред прием во најголем број 4 кај три (18,75%) доенчиња, бројот на течни столица се движеше од 3 до 19 (таб. 4).

Просечниот број течни столица пред прием кај доенчињата во првата група изнесуваше  $3,7 \pm 0,8$ , во втората група  $10,4 \pm 4,9$ , разликата е статистички сигнификанта за  $p < 0,05$  ( $t = -3,49610$ ,  $p = 0,002152$ ) (таб. 4а, граф. 4а).

Просечниот број течни столица пред прием кај доенчињата во третата група изнесуваше  $5,9 \pm 2,4$ , во четвртата група  $9,0 \pm 4,2$ , разликата е статистички сигнификанта за  $p < 0,05$  ( $t = -2,67615$ ,  $p = 0,011505$ ) (таб. 4а, граф. 4б).

### **5.4. Застапеност на доенчињата со акутен гастроентерит според телесната температура**

Покачена температура се регистрираше кај 14,3% од доенчињата во првата група, 81,25% во втората група, процентуалната разлика е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  (Difference test,  $p = 0,0025$ ). Кај 26,3% од доенчињата

во третата група се регистрираше покачена телесна температура, а во четвртата кај 68,75%. Процентуалната разлика е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  (Difference test,  $p = 0,0120$ ) (таб. 5, граф. 5).

#### **5.5. Застапеност на доенчињата со акутен гастроентерит според степенот на дехидратација при прием**

Што се однесува до степенот на дехидрација, 29 доенчиња (50,0%) страдале од лесен степен на дехидрација, 21 доенче (36,2%) страдало од умерен степен на дехидрација, додека 8 доенчиња (13,8%) страдале од тежок степен на дехидрација, како што е прикажано во табела 6.

Во првата група лесен степен на дехидратација се регистрираше кај сите доенчиња (100,0%). Во втората група лесен степен се регистрираше во помал процент кај 25,0%, умерен кај 43,75% и тежок степен на дехидратација кај 31,25% од доенчињата (таб. 6, граф. 6).

Во третата група лесен степен на дехидратација се регистрираше кај 78,9% од доенчињата, а умерен кај 21,1%. Во четвртата група лесен степен на дехидратација се регистрираше кај 18,75%, умерен кај 62,5% и тежок степен на дехидратација кај 18,75%. Процентуалната разлика е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  (Difference test,  $p = 0,0004$ -лесен степен III vs IV група;  $p = 0,0128$  – умерен степен III vs IV група) (таб. 6, граф. 6).

#### **5.6. Застапеност на доенчињата со акутен гастроентерит според наодот на имунохроматографскиот тест за ротавирус и аденовирус**

Ротавирусот беше позитивен кај 26 примероци на столица со процент на преваленција (застапеност) од 44,8%.

Ротавирусот беше позитивен кај едно (14,3%) доенче во првата група, кај 11 (68,75%) во втората група, кај 6 (31,6%) во третата група и 8 (50%) доенчиња во четвртата група (таб. 7, граф. 7).

Во истражувањето се регистрираа 26 (44,8%) позитивни доенчиња на ротавирусот, кај 21 (80,8%) од нив се регистрираше позитивност на  $\alpha$ -GST (во ранг од 0,17 до 16,6 ng/ml) во серум, само кај 5 (19,2%) доенчиња се регистрираше негативен на  $\alpha$ -GST (во ранг од 0,06 до 0,14 ng/ml) во серум, процентуалната разлика е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  (Difference test,  $p = 0,00190$ ).

Аденовирус тестот беше позитивен кај едно доенче во втората и во четвртата група (таб. 8, граф. 8).

### **5.7. Приказ на наодот од копрокултура кај доенчињата со акутен гастроентерит**

Копрокултурата беше негативна во првата и третата група. Во втората група е регистрирана *Shigella flexneri* кај едно доенче, а во четвртата група кај две доенчиња се регистрираше *Salmonella enteritidis* и кај едно доенче *Proteus mirabilis* (таб. 9, граф. 9).

Профилот на доенчињата кај кои се регистрираше позитивна копрокултура е следната:

Кај доенчето кај кое се регистрираше *Shigella flexneri* беше на едномесечна возраст, беше на неексклузивно доење, имаше покачена температура, 20 течни столици пред прием и 12 во текот на лекување, повраќања 3 пред прием и 2 по прием, тежок степен на дехидратација, два дена на парентерална рехидратација, 5 дена хоспитализирано, негативен sIgA (175 ug/ml) во столица и позитивен  $\alpha$ GST (11,65 ng/ml) во серум.

Доенчето кај кое се регистрираше *Proteus mirabilis* беше на 11-месечна возраст, спроведена беше исхрана со адаптирана млечна формула или кравјо/козјо млеко и немлечна исхрана, имаше покачена температура, 10 течни столици пред прием и 18 во текот на лекување, две повраќања пред и 3 по прием, умерен степен на дехидратација, два дена на парентерална рехидратација, 5 дена хоспитализирано, позитивен sIgA (1825 ug/ml) во столица и позитивен  $\alpha$ GST (7,59 ng/ml) во серум.



Кај доенчињата кај кои се регистрираше *Salmonella enteritidis* беа на 10 и 11-месечна возраст, спроведена беше исхрана со адаптирана млечна формула или кравјо/козјо млеко и немлечна исхрана. Имаа покачена температура, 15 и 4 течни столица пред прием и 31 и 17 во текот на лекување, нема и 5 повраќања пред прием и 4 и 4 повраќања во текот на лекување, умерен степен на дехидратација, три и два дена на парентерална рехидратација, 7 и 6 дена хоспитализација, негативни на sIgA (201 и 204 ug/ml) во столица и позитивен  $\alpha$ GST(26,21 и 11,38 ng/ml) во серум.

#### **5.8. Просечен број регистрирани столица во текот на лекувањето кај доенчињата со акутен гастроентерит**

Просечниот број течни столица во текот на лекувањето во првата група изнесуваше  $9,0 \pm 2,2$ , а во втората група беше  $21,2 \pm 8,5$ , разликата помеѓу просечниот број течни столица е статистички сигнификантен за  $p < 0,05$  ( $t = -3,67211$ ,  $p = 0,001419$ ) (таб. 10, граф. 10).

Просечниот број течни столица во текот на лекувањето во третата група изнесуваше  $14,1 \pm 7,9$ , а во четвртата група беше  $18,6 \pm 10,3$ , разликата помеѓу просечниот број течни столица е статистички несигнификантен за  $p > 0,05$  ( $t = -1,46463$ ,  $p = 0,152484$ ) (таб. 10, граф. 10).

#### **5.9. Просечен број регистрирани повраќања во текот на лекувањето кај доенчињата со акутен гастроентерит**

Просечниот број повраќања во текот на лекувањето во првата група изнесуваше  $0,3 \pm 0,8$ , а во втората група беше  $3,0 \pm 2,4$ , разликата помеѓу просечниот број повраќања е статистички сигнификантен за  $p < 0,05$  ( $t = -2,90250$ ,  $p = 0,008516$ ) (таб. 11, граф. 11). Во првата група не се регистрираше повраќање кај 85,7%, а во втората кај 25,0%.

Просечниот број повраќања во текот на лекувањето во третата група изнесуваше  $1,4 \pm 1,9$ , а во четвртата група беше  $3,4 \pm 3,0$ , разликата помеѓу просечниот број повраќања е статистички сигнификантен за  $p < 0,05$  ( $t = -2,33692$ ,

$p=0,025661$ ) (таб. 11, граф. 11). Во третата група не се регистрираше повраќање кај 52,6%, а во четвртата кај 31,25%.

#### **5.10. Број на денови на парентерална рехидрација кај доенчињата со акутен гастроентерит**

Просечниот број денови на парентерална рехидратација во првата група изнесуваше  $0,7\pm 0,8$ , а во втората група беше  $2,0\pm 1,0$ , разликата помеѓу просечниот број денови на парентерална рехидрација е статистички сигнификантен за  $p<0,05$  ( $t=-3,11436$ ,  $p=0,005246$ ) (таб. 12, граф. 12). Во првата група не се регистрираа денови на парентерална рехидратација кај 42,9%, а во втората група не се регистрираа доенчиња без парентерална рехидрација.

Просечниот број денови на парентерална рехидратација во третата група изнесуваше  $1,7\pm 1,2$ , а во четвртата група беше  $2,1\pm 1,1$ , разликата помеѓу просечниот број денови на парентерална рехидратација е статистички несигнификантен за  $p>0,05$  ( $t=-97494$ ,  $p=0,336684$ ) (таб. 12, граф. 12). Во третата група не се регистрираа денови на парентерална рехидратација кај 57,9%, во четвртата група не се регистрираа денови на парентерална рехидратација кај едно доенче (6,25%) .

#### **5.11. Број на денови на хоспитализација кај доенчињата со акутен гастроентерит**

Просечниот број денови на хоспитализација во првата група изнесуваше  $4,1\pm 1,6$ , а во втората група беше  $4,9\pm 1,8$ , разликата помеѓу просечниот број денови на хоспитализација е статистички несигнификантен за  $p>0,05$  ( $t=-1,02224$ ,  $p=0,318302$ ) (таб. 13, граф. 13).

Просечниот број денови на хоспитализација во третата група изнесуваше  $3,9\pm 1,6$ , а во четвртата група беше  $4,9\pm 1,4$ , разликата помеѓу просечниот број денови на хоспитализација е статистички несигнификантен за  $p>0,05$  ( $t=-1,98968$ ,  $p=0,054966$ ) (таб. 13, граф. 13).

### **5.12. Наод на sIgA во столица кај доенчињата со акутен гастроентерит**

Што се однесува до секреторен IgA, се покажа дека е позитивен во 11 случаи (47,8%) во првите две групи. Позитивен ( $\geq 510$  ug/ml) се регистрираше кај сите 7 доенчиња (100,0%) од првата група. Негативен тест ( $< 510$  ug/ml) на sIgA во втората група се регистрираше во поголем процент од 75,0%, а позитивен ( $\geq 510$  ug/ml) кај 25,0%. Се регистрираше статистички сигнификантна асоцијација помеѓу припадност на групата и тестот за sIgA за  $p < 0,05$  (Fisher Exact 2 tailed test,  $p = 0,001346$ ) (таб. 14, граф. 14)

Што се однесува до секреторен IgA во преостанатите две групи (III и IV), се покажа дека е позитивен во 29 случаи (82,9%). Во третата група се регистрираше кај сите доенчиња позитивен тест ( $\geq 510$  ug/ml) (100,0%). Негативен тест ( $< 510$  ug/ml) на sIgA во четвртата група се регистрираше кај 37,5%, а позитивен ( $\geq 510$  ug/ml) кај 62,5% (таб. 14, граф. 14). Се регистрираше статистички сигнификантна асоцијација помеѓу припадност на групата и тестот за sIgA за  $p < 0,05$  (Fisher Exact 2 tailed test,  $p = 0,004933$ )

Просечна вредност на sIgA кај доенчињата со дијагноза акутен гастроентерит во првата група изнесуваше  $3902,6 \pm 1496,8$  ug/ml, а во втората група беше  $531,9 \pm 506,2$  ug/ml, разликата помеѓу просечната вредност е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  ( $t = 8,198331$ ,  $p = 0,000000$ ) (таб. 15, граф. 15).

Просечна вредност на sIgA кај доенчињата со дијагноза акутен гастроентерит во третата група изнесуваше  $4422,5 \pm 3208,7$ , а во четвртата група беше  $1286,5 \pm 1180,6$ , разликата помеѓу просечната вредност е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  ( $t = 3,697013$ ,  $p = 0,000788$ ) (таб. 15, граф. 15).

### **5.13. Наод на $\alpha$ -GST во серум кај доенчињата со акутен гастроентерит**

Што се однесува до  $\alpha$ -GST во серум, се покажа дека е позитивен во 16 случаи (69,6%) во првите две групи. Позитивен ( $\geq 0,156$  ng/ml) се регистрираше кај едно доенче (14,3%) и 85,7% негативни тестови во првата група. Негативен тест ( $< 0,156$  ng/ml) на  $\alpha$ -GST во серум во втората група се регистрираше кај едно доенче (6,25%), а позитивен ( $\geq 0,156$  ng/ml) кај 93,75%. (таб. 16 и граф. 16).

Се регистрираше статистички сигнификантна асоцијација помеѓу припадност на групата и тестот за  $\alpha$ -GST во серум за  $p < 0,05$  (Fisher Exact 2 tailed test,  $p = 0,000460$ ).

Што се однесува до  $\alpha$ -GST во серум во преостанатите две групи (III и IV), се покажа дека е позитивен во 19 случаи (54,3%). Во третата група се регистрираше кај 32,6% доенчиња позитивен тест ( $\geq 0,156$  ng/ml), а негативен кај 68,24%. Негативен тест ( $< 0,156$  ng/ml) на  $\alpha$ -GST во серум во четвртата група се регистрираше кај 18,75%, а позитивен ( $\geq 0,156$  ng/ml) кај 81,25% (таб. 16, граф. 16). Се регистрираше статистички сигнификантна асоцијација помеѓу припадност на групата и тестот за  $\alpha$ -GST во серум за  $p < 0,05$  (Fisher Exact 2 tailed test,  $p = 0,015534$ ).

Просечна вредност на  $\alpha$ -GST во серум кај доенчињата со дијагноза акутен гастроентрит во првата група изнесуваше  $0,1 \pm 0,03$  ng/ml, а во втората група беше  $6,2 \pm 4,5$  ng/ml, разликата помеѓу просечната вредност е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  ( $t = -3,47531$ ,  $p = 0,002260$ ) (таб. 17, граф. 17).

Просечна вредност на  $\alpha$ -GST во серум кај доенчињата со дијагноза Акутен гатстроентерит во третата група изнесуваше  $0,8 \pm 1,6$  ng/ml, а во четвртата група беше  $7,4 \pm 7,2$  ng/ml, разликата помеѓу просечната вредност е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$  ( $t = -3,86550$ ,  $p = 0,000492$ ) (таб. 17, граф. 17).

Добиената вредност на Пирсоновиот (Pearson) коефициент на линеарна корелација ( $r$ ) покажува дека sIgA во столица негативно корелира со  $\alpha$ -GST во серум, вредноста  $p$  како статистички сигнификантна ја потврдува корелацијата ( $r = -0,4010$ ,  $p = 0,002$ ). Корелацијата е негативна, односно обратно пропорционална, што означува дека зголемувањето на серумската концентрација на  $\alpha$ -GST ја намалува вредноста на sIgA во столица, и обратно (граф. 18)

#### **5.14. Ефектите на sIgA врз клиничката слика кај доенчињата со акутен гастроентерит**

Табелата 19а и табелата 19б го прикажуваат ефектот на sIgA врз клиничката слика/степен на дехидратација на доенчињата, се регистрираше

статистичка сигнификантна поврзаност во првата и втората група, во третата и четвртата, се регистрираше значително помал степен на дехидратација (умерен и тежок) кај позитивни на sIgA.

Табелата 20а и табелата 20б го прикажуваат ефектот на sIgA врз клиничката слика/покачена температура кај доенчињата, позитивните случаи на sIgA покажаа значително пониска фреквенција на покачена температура.

Табелата 21а и табелата 21б го прикажуваат ефектот на sIgA врз симптомот повраќање кај доенчињата, се регистрираа разлики. Позитивните случаи на sIgA покажаа значително пониска фреквенција на повраќање во првите две групи, тоа не се регистрираше во вторите две групи.

$\alpha$ -GST во првите две групи беше позитивна во 16 случаи на акутен гастроентеритис, од нив Ротавирус е регистриран позитивен кај 12(75,0%).

Во вторите две групи  $\alpha$ -GST беше позитивна во 19 случаи на гастроентеритис, од нив Ротавирус е регистриран позитивен кај 9 (47,4%).  $\alpha$ -GST беше негативна во 16 случаи на акутен гастроентерит, од нив ротавирус е регистриран позитивен кај 5 (31,25%) ( $p > 0,05$ ) како што е прикажано во табела 22.

Од вкупниот број доенчиња што беа sIgA позитивни кај 26 (65,0%) се регистрираше лесен степен на дехидратација, а умерен степен на дехидратација кај 12 доенчиња (30%) и тежок степен на дехидратација кај 2 доенчиња (5%), разликата е сигнификантна за  $p < 0,05$  (Pearson Chi-square: 14,3964,  $p = 0,000748$ )

Според вкрстениот однос sIgA позитивитетот ја намалува шансата (дејствува протективно) за регистрација на тешка и умерена дехидратација OR= 0,1077 (0,0266-0,4365) .

Од вкупниот број доенчиња што беа sIgA позитивни кај 22 (55,0%) доенчиња немаа повраќање во текот на приемот, а 18 (45,0%) имаа повраќање во текот на приемот, разликата е сигнификантна за  $p < 0,05$  (Pearson Chi-square: 7,43806,  $p = 0,006386$ ).

Според вкрстениот однос sIgA позитивитетот ја намалува шансата (дејствува протективно) за повраќање OR= 0,1636 (0,0409-0,6552) .

Од вкупниот број доенчиња што беа sIgA позитивни, 25 (62,5%) доенчиња немаа покачена температура, а 15 (37,5%) имаа покачена температура, разликата е сигнификантна за  $p < 0,05$  (Pearson Chi-square: 10,4435,  $p = 0,001231$ ).

Според вкрстениот однос sIgA позитивитетот ја намалува шансата (дејствува протективно) за покачена температура OR= 0,12 (0,0297-0,4843) .

Се регистрираше статистички сигнификантна поврзаност помеѓу ексклузивното доење и ротавирусот за  $p < 0,05$  (Pearson Chi-square: 5,78889,  $p = 0,016128$ ).

Ексклузивното доење е ефективно во превенција на ротавирус инфекција намалувајќи го ризикот од ротавирус инфекција кај децата посебно во првите 6 месеци од животот OR = 0,0758, 95 % CI ( 0,0071-0,8074).

## 6. ДИСКУСИЈА

Акутниот гастроентерит е една од најчестите инфекции во детската возраст и посебно опасен може да биде во првите 12 месеци од животот со поголем ризик од зголемено губење вода и електролити со последична умерена до тешка дехидратација и тоа посебно кај доенчињата што не се на ексклузивно доење или се на исхрана со адаптирана млечна формула. Стапката на морталитет од акутен гастроентерит може да биде повисока кај децата во првите 12 месеци во однос на децата постари од една година (De Wit et al., 2001)

Основна задача на имуниот систем е да го брани и чисти организмот од инфективни и други видови агенси, препознавајќи ги сопствените и реагирајќи на туѓите антигени. Прва линија на одбрана на ГИТ се структурно и функционално здрава слузница и мукозниот имун систем. Мукозниот имун систем на човекот веќе на раѓање структурно ги поседува сите неопходни клеточни компоненти, но функционално е неискусен и незрел. Бројот на имуноцити во цревната lamina propria и плунковните жлезди што произведуваат IgA и IgM започнува да расте 2-4 недели по раѓањето (Mantis et al., 2011). За постигнување на адултни вредности на застапеноста на IgA плазма-клетките во мукозата потребни се 1-2 години (Brandtzaeg, 2002). Интестиналниот тракт содржи над 70 % од IgA секретирачките плазма-клетки (Macpherson et al., 2001). Дури од 4-годишна возраст се постигнува оптимална дневна продукција од 3-5 g IgA во цревниот лумен. sIgA е прва линија на одбрана на цревниот епител од патогените микроорганизми и цревните токсини. Го спречува врзувањето на антигените и патогените микроорганизми за епителните рецептори преку негово врзување за Fc рецептор на површината на патогенот, ги заробува микроорганизмите во мукусот и го овозможува нивното отстранување преку стимулирање на перисталтиката и мукоцилијарната активност (Mantis et al., 2011 и Boullier et al., 2009). sIgA ја инхибира колонизацијата и инвазијата на патогените на тој начин што pIgR – трансмембранска секреторна компонента, го транспортира полимерниот IgA (pIgA) и пентамерниот IgM (pIgM), кои ги инактивираат ротавирусот и инфлуенца вирусот во секреторните епителни клетки, ги носат патогените и нивните продукти назад во луменот и на овој начин се избегнува цитолитичкото

оштетување на епителот (Norderhaug et al., 1999). sIgA е способен директно да ја намали бактериската вируленција, има влијание врз составот на цревната микрофлора (Mantis et al., 2011). IgA е слаб активатор на комплементот и слабо опсонизира (Mantis et al., 2011).

Хуманото млеко не е само извор на енергија, туку е мошне сложена динамичка биолошка течност, која има заштитна и имуномодулаторска улога (Filipovic, 1997). Хуманото млеко претставува спој помеѓу мајчиниот имун систем и доенчето. Иако доенчињата имаат антитела, пренесени трансплацентарно, тие остануваат незаштитени кога ќе дојдат во контакт со нови микроорганизми. Мајчиното млеко може да го намали овој ризик преку антителата, присутни во него и на тој начин да го модифицираат имуниот, метаболичниот и микрофлора системот на доенчето (Filipovic, 1997). Кога најголем дел од матерналните IgG антитела, пренесени трансплацентарно ќе исчезнат почнувајќи од околу 2-месечна возраст, доенчето станува сè повеќе зависно од антителата од мајчиното млеко (Brandtzaeg, 2002). sIgA е најважниот имуноглобулин во мајчиното млеко не само поради високата концентрација, туку и поради својата биолошка активност (Chirico et al., 2008 и Newburg и Walker, 2007) Ентеромамарната циркулација овозможува мукозниот имун систем на мајката да го заштити цревата на доенчето преку хуманото млеко (Newburg и Walker, 2007).

Производството на sIgA во мајчиното млеко се смета дека е под влијание на возраста на мајката, промената на расположението, имунолошките и инфективните фактори, серумските проинфламаторни и проимуни цитокини и нивоата на кортизол (Groer et al., 2004). Постпарталниот специфичен стрес е поврзан со ниски концентрации на sIgA во млекото (Moirasgenti et al., 2019). Матерналниот нутритивен статус има влијание на имунолошките својства на колострумот и зрелото млеко. Кај потхранети мајки колострумот содржи една третина од нормалните концентрации на IgG и IgA (Miranda et al., 1983).

Природните и специфичните sIgA антитела во мајчиното млеко се способни за врзување на комензални бактерии и може да бидат вклучени во воспоставување на цревната микрофлора на новороденчето, која, пак, го стимулира созревањето на цревното лимфно ткиво, што резултира со



производство на IgA со ограничен афинитет за препознавање и отстранување на патогените микроорганизми (Mantis et al., 2011). Оваа тврдење е поткрепено со студијата на Koutras et al., 1989 во која се испитувани ефектите на мајчиното млеко во првите 8 недели од животот на развојот на локалниот гастроинтестинален хуморален имун одговор преку мерење на фекалниот секреторен имуноглобулин А. Зголемените вредности на sIgA во столицата кај доените доенчиња наспроти доенчињата, хранети со адаптирана формула не било предизвикано само од присуството на sIgA во мајчиното млеко. Се смета дека мајчиното млеко имало не само заштитна улога од инфекции преку sIgA туку и стимулирачки ефект на развојот на гастроинтестиналниот хуморален имун одговор. Составот на микрофлората го обликува производството на sIgA, и обратно, произведениот sIgA влијае врз составот на микрофлората (Pabst et al., 2016). Оваа сложена меѓусебна поврзаност се смета дека е критично важна за здрав живот бидејќи дисфункциите во оваа рамнотежа може да доведат до дисбиоза и воспаление во дигестивниот тракт (Macpherson et al., 2015 и Sutherland et al., 2016). Позната е заштитната улога на sIgA, кој речиси недостига кај новородените и доенчињата, но е присутен во високи концентрации во колострумот ( $\approx 10$  g/L) и зрелото млеко ( $\approx 1$  g/L) (Chirico et al., 2008).

Неколку студии имаат потврдено дека доенчињата што биле доени имале значително повисоки концентрации на sIgA во столицата во однос на оние што се хранеле со адаптирана млечна формула, со заклучок дека мајчиното млеко обезбедува големи количини sIgA за доенчињата и дека има голема улога во заштитата и промоција на имунолошката функција на доенечкиот дигестивен тракт (Bridgman et al., 2016; Maruyama et al., 2009; Wang и Shi, 1995; Koutras и Vigorita, 1989 и McLean и Holmes, 1980). Резултатите за sIgA во столица кај доенчињата со акутен гастроентерит од нашето истражување корелираат со резултатите од горенаведените студии. Во првата група sIgA беше позитивен кај сите седум доенчиња (100%) додека во втората група неексклузивно доени sIgA беше позитивен само кај 25% од доенчињата. Во првите две групи се регистрираше статистички сигнификантна асоцијација помеѓу припадност на групата и тестот за sIgA за  $p < 0,05$  ( $p = 0,001346$ ). Во третата група sIgA беше позитивен кај сите доенчиња, додека во четвртата група sIgA беше позитивен

кај 37,5%. И во вторите две групи се регистрираше статистички сигнификантна асоцијација помеѓу припадност на групата и тестот за sIgA за  $p < 0,05$  ( $p = 0,004933$ ).

Во повеќе студии е укажано дека sIgA од мајчиното млеко има протективно влијание од појава на дијареја во првите 12 месеци од животот. Во проспективна кохортна студија на Dialo et al., 2019 е испитувана поврзаноста на траењето на доењето (ексклузивно и парцијално доење) и инциденцијата на дијареја кај доенчињата во првата година од животот. Увидено е дека прекин на доењето пред третиот месец било сигнификантно асоцирано во висока стапка на појава на дијареја на 6-месечна и помеѓу 6 и 12-месечна возраст. Прекилот на доењето пред шестиот месец, исто така, било поврзано со повисока стапка на појава на дијареја од 6-месечна возраст. Исхраната со адаптирана млечна формула во траење од  $\geq 3$  месеци било поврзано со почеста појава на дијареја помеѓу 6 и 12-месечна возраст. Во ретроспективна дескриптивна студија на Santos et al., 2015 е направен интегративен преглед на објавени студии во период од јануари 1992 до август 2011 поврзани со доењето и намалувањето на појава на дијареја кај деца помали од две години. Забележано е дека децата што се ексклузивно доени до 6-месечна возраст и кај кои доењето е продолжено до 12-месечна возраст имаат пониска стапка на хоспитализации поради дијареја. Посебно е забележана редукција на појавата на дијареја кај ексклузивно доените доенчиња во првите 6 месеци од животот додека кај доенчињата што се хранеле со адаптирана млечна формула била поголема појавата на дијареја и стапката на хоспитализации поради дијареја. За разлика од претходните студии во студијата на Duffy et al., 1986 е утврдено дека зачестеноста на ротавирус акутен гастроентеритис е слична помеѓу доенчињата што се на мајчино млеко и оние што се на адаптирана млечна формула, но тежината на клиничката слика помеѓу двете групи се разликувала. Поголем број од доенчињата што биле на мајчино млеко имале умерена дијареја и пократко траење на симптомите на ротавирус акутен гастроентерит во споредба со доенчињата што биле на адаптирана млечна формула. Овие резултати укажуваат дека доењето може и да нема влијание врз појавата на ротавирус акутен гастроентерит, но има влијание врз намалување на тежината на клиничката слика кај доенчињата што се хранат со мајчино млеко. Слични

се и заклучоците од студијата на Misra et al., 2007 во која е утврдено дека немало разлика во инциденцијата на Ротавирус дијареја помеѓу ексклузивно доените и неексклузивно доените доенчиња, додека во студијата на Clemens et al., 1993 е покажано дека ексклузивното доење може да има влијание врз намалување на тежината на клиничката слика на ротавирус акутен гастроентерит (RR) = 0,10; 95% [CI] = 0,03, 0,34) и дека може да ја одложи, но не и да ја спречи појавата на ротавирус дијареја. Спротивно на овие тврдења во студијата на Maranhão et al., 2008 е забележано дека дијарејата е почеста кај доенчињата што се под 6-месечна возраст и што не се хранат со мајчино млеко или се на неексклузивно доење. Најчест изолиран патоген бил ротавирус (36,9%), додека ентеропатогена *E. coli* и шигела биле застапени во ист процент (11,6%). Krawczyk et al., 2016 утврдиле дека ексклузивното доење е ефективно во превенција на ротавирус инфекција намалувајќи го ризикот од ротавирус инфекција кај децата посебно во првите 6 месеци од животот (OR= 0,62, 95 % CI=0,48-0,81) што покажува статистичка сигнификантност. Во студијата на Plenge-Bönig et al., 2010 е утврдено дека доењето кај доенчиња со ротавирусна дијареја од 1 до 6-месечна возраст има поголем протективен ефект (OR=0,33; 95% CI=0,19-0,55) во однос на оние што се од 7 до 12-месечна возраст. Слични резултати како и оние на Krawczyk et al., 2016 и Plenge-Bönig et al., 2010 добивме и ние. Во нашата студија ротавирусот е позитивен кај 26 примероци на столица со процент на преваленција (застапеност) од 44,8%. Ротавирусот е позитивен кај едно доенче во првата група, кај 11 во втората група, кај 6 во третата група и 8 пациенти во четвртата група. Во неколку студии е утврдено дека ротавирусот е почест предизвикувач на акутен гастроентерит во доенчката возраст во однос на аденовирусот (Al-Ali et al., 2001 и Carraturo et al., 2008). Истото се потврди и во нашата студија. Кај поголемиот број доенчиња изолиравме ротавирус, додека аденовирус детектиравме само кај две доенчиња. Аденовирус тестот е позитивен кај едно доенче во втората и во четвртата група. Копрокултурата е негативна во првата и третата група. Во втората група е регистрирана *Shigella flexneri* кај едно доенче, а во четвртата група кај две доенчиња е регистрирана *Salmonella enteritidis* и кај едно доенче е регистрирана *Proteus mirabilis*.

Во студијата на Sherif et al., 2015 се испитувани ефектите на sIgA во столицата врз клиничката слика на ротавирус акутен гастроентерит кај доенчиња. Во студијата поголемиот дел од доенчињата што се хранеле со мајчино млеко имале позитивни вредности на sIgA во столицата за разлика од оние што биле хранети со друго млеко. Оние што биле позитивни за sIgA имале полесна клиничка слика, со полесен степен на дехидратација, со поретка фреквенција на повраќање и бројот на доенчиња со покачена температура бил помал. Во нашето истражување добивме слични резултати. Направивме процена на клиничката слика кај доенчињата со акутен гастроентерит на прием, земајќи ги предвид клиничките знаци и симптоми 24 часа пред прием во болница и процена на клиничката состојба во текот на самото лекување, потребата од парентерална рехидрација и должината на хоспитализација. Статистички сигнификантна разлика ( $p < 0,05$ ,  $p = 0,002669$ ) за просечниот број повраќања пред прием се регистрираше помеѓу првата и втората група со поретка појава на повраќање кај ексклузивно доените доенчиња во првата група, каде што sIgA беше позитивен во сите примероци на столица, додека помеѓу третата и четвртата група таа разлика беше несигнификантна. Од вкупниот број доенчиња, кои беа sIgA позитивни 22 (55,0%) немаа повраќање во текот на приемот, а 18 доенчиња (45,0%) имаа повраќање во текот на приемот, разликата беше сигнификантна за  $p < 0,05$ ,  $p = 0,006386$ . Според вкрстениот однос sIgA позитивитетот ја намалува шансата (дејствува протективно) за повраќање  $OR = 0,1636$  (0,0409-0,6552) .

Во однос на бројот на течни столици 24 часа пред прием во болница се регистрираше статистички сигнификантна разлика помеѓу првата и втората група со помал просечен број течни столици во првата група наспроти втората група на неексклузивно доени ( $p < 0,05$ ,  $p = 0,002152$ ). Статистички сигнификантна разлика имаше и помеѓу третата и четвртата група со помал просечен број столици во третата наспроти четвртата група ( $p < 0,05$ ,  $p = 0,011505$ ). Во однос на покачената температура во првата група имаше само едно доенче со покачена температура кај кое беше изолиран ротавирус додека во втората група покачена температура е регистрирана кај 81,25% од доенчињата со статистички сигнификантна разлика помеѓу двете групи за  $p < 0,05$ ,  $p = 0,0025$ . Исто така, процентуалната разлика за бројот на доенчиња со покачена

температура беше статистички сигнификантна помеѓу трета vs четвртата група (26,3% vs 68,75) за  $p < 0,05$ ,  $p = 0,0120$ . Од вкупниот број доенчиња кои беа sIgA позитивни 25 (62,5%) немаа покачена температура, а 15 (37,5%) доенчиња имаа покачена температура поради што разликата беше сигнификантна за  $p < 0,05$ ,  $p = 0,001231$ . Според вкрстениот однос sIgA позитивитетот ја намалува шансата (дејствува протективно) за покачена температура  $OR = 0,12$  (0,0297-0,4843) .

Sherif et al., (2015) не докажале статистичка сигнификантност за степенот на дехидратација помеѓу групите, но во оваа студија сите доенчиња од првата група, кои беа на ексклузивно доење, имаа лесен степен на дехидратација додека во втората група само 25% од доенчињата имаа лесен степен на дехидратација преостанатите имаа умерен и тежок степен на дехидратација. Што се однесува до степенот на дехидратација кај доенчињата меѓу третата и четвртата група се забележа дека лесниот степен на дехидратација е позастапен во третата додека умрениот степен на дехидратација е позастапен во четвртата група. Процентуалната разлика е статистички е сигнификантна за  $p < 0,05$  ( $p = 0,0004$  – лесен степен III група наспроти IV група;  $p = 0,0128$  – умерен степен III група наспроти IV група). Ефектот на sIgA врз степенот на дехидратација на пациентите покажа статистички сигнификантна поврзаност на првата и втората група за  $p < 0,05$ ,  $p = 0,004708$  додека, во третата и четвртата група се регистрираше значително помал степен на дехидратација (умерен и тежок) кај позитивни на sIgA за  $p < 0,05$ ,  $p = 0,019061$ . Според вкрстениот однос sIgA позитивитетот ја намалува шансата (дејствува протективно) за регистрација на тешка и умерена дехидратација  $OR = 0,1077$  (0,0266-0,4365). Слични резултати се добиени и во студијата на Fuchs et al., 1996 каде што е испитувана асоцијацијата помеѓу појавата и тежината на дехидратација кај доенчињата со дијареја според возраста на доенчињата, типот на консумирано млеко, времето од прекин на доењето и статусот на доење. Кај доенчињата помали од 12 месеци, ризикот од развој на дијареја бил најголем во текот на првите 9 месеци од животот, особено во првите 2-3 месеци ( $OR = 7,1$ ) ( $p = 0,001$ ). Само 8% од случаите и 23% од контролите биле ексклузивно доени. Доенчињата што не биле доени се соочиле со поголем ризик од дехидрација од оние што биле ексклузивно доени ( $p = 0,006$ ). Доенчињата што консумирале

само кравјо млеко или само адаптирана формула се соочиле со најголем ризик од развој на дехидратација (OR= 6 и 6,9; соодветно). Доенчињата што биле неексклузивно доени имале средно ниво на ризик за појава на дехидратација (OR= 1,3-2,2). Доенчињата што престанале да бидат доени имале голем ризик од појава на дехидратација (OR= 6,4) ( $p=0,001$ ). Овој ризик бил поголем посебно во првите 2 месеци од прекинот на доењето (OR= 8,4), а потоа се намалил. Овие резултати уште еднаш го потврдуваат заштитниот ефект на доењето, но укажуваат дека првите два месеца по прекинот на доењето се вулнерабилни и со поголем ризик од појава на дијареја и последична дехидратација. Во студијата на Prasetyo et al., 2015 биле вклучени 134 доенчиња до 6-месечна возраст кај кои е испитувана асоцијацијата помеѓу појава на тежок степен на дехидратација кај ротавирус дијареја и ексклузивното доење. Ротавирусот бил детектиран кај 60 (44,8 %) доенчиња, а од нив 32 (53,3%) биле ексклузивно доени. Од доенчињата што биле ротавирус позитивни тежок степен на дехидратација се јавила само кај 4(12,6%) доенчиња што биле ексклузивно доени додека кај неексклузивно доените тежок степен на дехидратација се јавила само кај 6 доенчиња (21,5%). Овие резултати покажале дека не постои сигнификантна асоцијација помеѓу тешката дехидратација и ротавирус дијарејата кај ексклузивно доените доенчиња ( $p = 0,491$ ). Овие резултати може да се поврзат со резултатите за степенот на дехидратација во нашата студија каде во првата група сите доенчиња имаа лесен степен на дехидратација додека во втората група тежок степен на дехидратација имаше само кај 5 доенчиња.

sIgA го спречува врзувањето на патогените микроорганизми за епителните рецептори преку негово врзување за Fc рецептор на површината на патогенот, ги заробува микроорганизмите во мукусот и го овозможува нивното отстранување преку стимулирање на перисталтиката и мукоцилијарната активност (Mantis et al., 2011; Boullier et al., 2009 и Macpherson et al., 2001). Ова е забележано во неколку студии во кои е потврдено дека внесувањето на хумано млеко што содржи високи вредности на специфични антитела покажа дека обезбедува заштита од дијарејална болест и алергии на храна кај доените доенчиња. (Khazenson et al., 1980; Hayani et al., 1992; Ruiz-Palacios et al., 1990 и McLean, B и Holmes). Со ова во нашата студија може да се објасни полесната

клиничка слика кај доенчињата со акутен гастроентерит, кои се на исхрана со мајчино млеко и имаат позитивни вредности на sIgA во столица. Во текот на лекувањето повраќањето беше помалку фреквентно кај доенчињата во првата група наспроти втората група и кај третата наспроти четвртата група со статистичка сигнификантна разлика помеѓу просечниот број на повраќања за  $p < 0,05$ . Во студијата на Weinberg et al., 1984 биле вклучени 50 доенчиња помали од една година со ротавирус гастроентерит со цел да се процени протективниот ефект на доењето. Седум доенчиња биле ексклузивно доени, кај 25 доенчиња доењето било прекинато пред појавата на ротавирус инфекцијата и 18 доенчиња се хранеле со адаптирана млечна формула. Очигледна разлика помеѓу групите имало само за фреквенцијата на повраќање што била значително пониска кај доенчињата што се хранеле со мајчино млеко. Во студијата на Eaton-Evans и Dugdale, 1987 е докажано дека кај доенчиња до 6-месечна возраст бројот на течни столици и фреквенцијата на повраќање била помала кај оние што се на доење во однос на доенчињата што се на исхрана со друг тип млеко укажувајќи дека мајчиното млеко дејствува протективно на цревата кај доенчињата помали од 6 месеци. Кај доенчињата постари од 6 месеци не била потврдена заштитната улога на мајчиното млеко.

Што се однесува до просечниот број столици во текот на лекувањето се забележа статистичка сигнификантност за  $p < 0,05$  помеѓу првата и втората група, но не и за третата и четвртата група  $p > 0,05$ . Во студијата на Weinberg et al., 1984 се забележало дека нема сигнификантна разлика помеѓу групите и во однос на траењето на дијарејата, бројот на течни столици во тек на 24 часа ниту во честотата на појавата на покачена температура. Во нашата студија забележана е статистичка сигнификантност во однос на бројот на денови на прентерална рехидрација помеѓу првата и втората група, но не и кај третата и четвртата група, додека за бројот на денови на хоспитализација не се докажа статистичка сигнификантност ниту меѓу првата и втората група, ниту меѓу третата и четвртата група. За разлика од нашите резултати во студијата на Voccolini et al., 2012 е докажано дека порастот на преваленцијата на ексклузивното доење кај доенчињата помали од 4 месеци со акутна дијареја има негативна корелација со должината на траењето на хоспитализацијата. ( $Rho = -0,483$ ,  $p = 0,014$ ). Последните наши резултати може да се поврзат и со

неколку проспективни студии во кои е покажано дека присуството и нивоата на специфичните sIgA антитела во мајчиното млеко не се константни во текот на лактацијата, сугерирајќи дека протективната улога варира во одредени периоди од лактацијата, а тоа може да има влијание и врз тежината на клиничката слика. (Goldman et al., 1982 и Cruz и Arévalo, 1985).

Иако има напредок во тестовите со кои се проценува функцијата на интестиналната епителна бариера, сепак, сè уште останува предизвик евалуацијата на интегритетот и функцијата на цревниот епител за клиничарите (Grootjans et al., 2010). Серумските биомаркери во последно време го привлекуваат вниманието на истражувачите бидејќи биомаркерите што го рефлектираат оштетувањето на интестиналната мукозна бариера се идентификувани во неколку клинички и анимални студии (Kong et al., 2019). Интестиналната мукоза има комплексен одбранбен систем: мукусна бариера, епителни клетки што имаат краток животен век (неколку дена), но овие епителни клетки имаат комплексен ензимски систем способен да метаболизира штетни материи на начин што овозможува нивна екскреција преку жолчката, фецесот и урината (Kong et al., 2019). GST ензимите се вклучени во врзување, транспорт и детоксикација на овие штетни материи преку нивно врзување за GSH. Peters et al., 1989 ја испитувале активноста на GST ензимите во тенкото и дебелото црево и докажале дека интестиналните епителни клетки имаат висока содржина и активност на цитозолни GST ензими.  $\alpha$ -GST е изоформа на GST и е високо активен структурен ензим во интестиналните мукозни епителни клетки (Kong et al., 2019).  $\alpha$ -GST е присутна во црниот дроб, бубрезите и цревата (Sherratt и Hayes, 2001). Во студијата на Khurana et al., 2002 е утврдено дека GST ензимите се присутни по должната на целото црево и при оштетување на клеточната мембрана на интестиналните епителни клетки овие ензими се ослободуваат и нивните нивоа во серумот корелираат со степенот на интестинално епително оштетување.  $\alpha$ -GST е потенцијален биомаркер за интестинално епително оштетување од различни причини – гастроентерити, исхемија на цревата, хронични инфламаторни цревни болести. Може да се користи како скрининг кај пациентите со ризик за интестинална патологија. (McMonagle et al., 2006; Khurana et al., 2002 и Delaney et al., 1999). Ентероцитите рапидно се разрушуваат во раната фаза на интестинално



оштетување и ова лесно може да се открие преку одредување на вредностите на  $\alpha$ -GST во плазмата земајќи ја како маркер за рано откривање на интестинално оштетување (van Oudheusden et al., 2013). Во студијата на Sherif et al., 2015 GST била сигнификантно позитивна во случаите што биле ротавирус позитивни во однос на оние што биле ротавирус негативни. Ова ја потврдило теоријата дека ротавирусот може да предизвика епителна ерозија, документирана преку GST во ротавирус позитивните случаи. Исто така, е утврдено дека GST била сигнификантно пониска во случаите што биле позитивни за sIgA во столицата во однос на sIgA негативните случаи потврдувајќи дека присуството на sIgA во доенечките црева ги заштитува од епително оштетување. Во нашата студија се добиени слични резултати. Во првата група доенчиња што се позитивни на sIgA во столица само во еден случај има позитивна вредност на  $\alpha$ -GST во серум додека во втората група  $\alpha$ -GST е позитивна кај 93,75% со статистичка сигнификантност за  $p < 0,05$ ,  $p = 0,000460$ . Во третата група  $\alpha$ -GST е позитивна кај 32,6% додека во четвртата група е позитивна кај 81,25% што укажува на статистичка сигнификантност за  $p < 0,05$ ,  $p = 0,015534$ .

$\alpha$ -GST беше позитивна во 37 случаи на акутен гастроентерит. Во истражувањето се регистрирани 26 (44,8%) доенчиња со изолиран ротавирус, кај 21 (80,8%) од нив е регистрирана позитивна  $\alpha$ -GST ( во ранг од 0,17 до 16,6 ng/ml) во серум, само кај 5 (19,2%) доенчиња е регистрирана негативна  $\alpha$ -GST (0,06 до 0,14ng/ml) во серум, па од тука произлезе дека процентуалната разлика е статистички сигнификантна за  $p < 0,05$ ,  $p = 0,00190$ . Со ова се потврдува претпоставката дека ротавирусот може да предизвика епителна ерозија, изразена преку пораст на серумските концентрации на  $\alpha$ -GST.

Во прилог на горенаведените резултати се докажа дека  $\alpha$ -GST е сигнификантно пониска во случаите што се позитивни за sIgA во столицата во однос на sIgA негативните случаи за  $p = 0,002$ , потврдувајќи дека присуството на sIgA во доенечките црева ги заштитува од епително оштетување. Исто така, се покажа дека ексклузивното доење е ефективно во превенција на ротавирус инфекција намалувајќи го ризикот од ротавирус инфекција кај децата посебно во првите 6 месеци од животот (OR = 0,0758, 95 % CI ( 0,0071-0,8074)).

Пребарувајќи во објавената литература се најде на мал број студии во кои е испитувано директното влијание на sIgA од мајчиното млеко врз тежината на клиничката слика на акутен гастроентерит. Исто така, мал е бројот на објавени студии спроведени кај доенчиња со акутен гастроентерит во кои се испитувани серумските концентрации на  $\alpha$ -GST со потекло од интестиналниот епител. Поради тоа се потребни повеќе студии како оваа, спроведени на поголем број доенчиња и во подолг временски период.

## 7. ЗАКЛУЧОЦИ

Еден дел од добиените резултати не е во целосна согласност со податоците од литературата, но оваа студија е оригинална, изработена кај пациенти од Република Северна Македонија и затоа треба да се земе за автентична на матичната популација. Од резултатите на оваа студиска група, би можеле да ги донесеме следните заклучоци:

1. Во оваа студија се докажа дека sIgA во столицата е позитивен кај сите доенчиња од 0 до 6-месечна возраст, кои се на ексклузивно доење и кај доенчињата од 7 до 12-месечна возраст кај кои и покрај воведувањето на комплементарната храна е продолжено со доењето. Кај доенчињата кај кои доењето беше неексклузивно и кај тие на возраст од 7 до 12 месеци sIgA во столицата во поголем процент беше негативен.
2. Се покажа дека присуството на sIgA од мајчиното млеко во цревата кај доенчињата влијае врз намалување на тежината на клиничката слика на акутен гастроентерит.

2а. Позитивните вредности на sIgA во столицата ја намалуваат фреквенцијата на повраќање, која имаше поголема статистичка значајност помеѓу ексклузивно доените и неексклузивно доените доенчиња до 6-месечна возраст, за разлика од доенчињата во вторите две групи каде што фреквенцијата на повраќање во текот на болничкиот престој немаше статистичка значајност. Но од вкупниот број доенчиња, кои имаа позитивни вредности на sIgA во столицата имаше статистички сигнификантна разлика помеѓу доенчињата, кои во поголем процент немаа повраќање во текот на приемот во однос на оние што имаа повраќање.

2б. Позитивните вредности на sIgA во столицата ја намалуваат фреквенцијата на течни столици кај доенчињата со акутен гастроентерит но, со поголема статистичка значајност помеѓу ексклузивно доените и неексклузивно доените доенчиња до 6-месечна возраст, за разлика од доенчињата во вторите две групи од 7 до 12-месечна возраст каде што таа статистичка значајност беше помала.

2в. Позитивните вредности на sIgA во столицата ја намалуваат шансата за умерена и тешка дехидратација со статистичка сигнификантност помеѓу ексклузивно доените и неексклузивно доените доенчиња до 6-месечна возраст како и помеѓу вторите две групи од 7 до 12-месечна возраст. Од вкупниот број доенчиња што беа sIgA позитивни во најголем процент беа доенчињата што имаа лесен степен на дехидратација.

2г. Позитивните вредности на sIgA во столицата го намалуваат ризикот од појава на покачена температура со поизразена статистичка сигнификантна разлика помеѓу ексклузивно доените и неексклузивно доените доенчиња до 6-месечна возраст месеци, во однос на доенчињата во вторите две групи од 7 до 12-месечна возраст. Од вкупниот број доенчиња, кои имаа позитивни вредности на sIgA во столица, се регистрираше статистички сигнификантна разлика помеѓу доенчињата од кои во поголем процент беа застапени оние што немаа покачена температура во однос на оние што имаа покачена температура.

2д. Присуството на sIgA во столицата имаше влијание врз намалување на бројот на денови на парентерална рехидрација кај ексклузивно доените доенчиња во однос на неексклузивно доените доенчиња до 6-месечна возраст. Но помеѓу вторите две групи доенчиња од 7 до 12-месечна возраст немаше статистички сигнификантна разлика помеѓу бројот на денови на парентерална рехидрација.

2ф. Присуството на sIgA во столицата немаше влијание врз бројот на денови на хоспитализација, поради што не се регистрираше статистички сигнификантна разлика за бројот на денови на хоспитализација ниту помеѓу првите две групи ниту помеѓу вторите две групи доенчиња.

3. Најчест предизвикувач на акутен гастроентерит кај доенчињата во оваа студија беше *Rotavirus*, а во многу мал број беа *Adenovirus*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri* и *Proteus mirabilis*.
4. Доенчињата што беа на ексклузивно доење имаа значително пониски вредности на  $\alpha$ -GST во серум споредено со доенчињата од втората

група што не беа ексклузивно доени. Само кај едно доенче од првата група  $\alpha$ -GST беше позитивна, но во втората група  $\alpha$ -GST беше позитивна кај 15 доенчиња.

4а. Доенчињата од третата група кај кои и покрај воведувањето на комплементарната храна беше продолжено со доење имаа значително пониски вредности на  $\alpha$ -GST во серум, споредено со доенчињата од четвртата група кај кои во исхраната не беше вклучено мајчиното млеко. Во третата група  $\alpha$ -GST беше позитивна кај 6 доенчиња додека во четвртата група  $\alpha$ -GST беше позитивна кај 13 доенчиња.

4б. Во истражувањето се покажа дека за првите две групи како и за вторите две групи постои сигнификантна статистичка асоцијација помеѓу припадност во групата и вредностите на  $\alpha$ -GST во серумот.

5.  $\alpha$ -GST во серумот беше значително повисока кај доенчињата кај кои беше изолиран ротавирус, само во мал број ротавирус позитивни случаи  $\alpha$ -GST беше негативна. Се докажа статистички сигнификантна разлика за вредностите на  $\alpha$ -GST во серум помеѓу ротавирус позитивните и ротавирус негативните доенчиња. Со ова потврдивме дека  $\alpha$ -GST може да се користи како биомаркер за рано интестинално епително оштетување во доенчињата со ротавирус акутен гастроентерит.
6. Во студијата се покажа дека sIgA во столицата негативно корелира со  $\alpha$ -GST во серум за  $p = 0,002$ . Доенчињата што имаа повисоки вредности на sIgA во столица имаа пониски вредности на  $\alpha$ -GST во серум, а со тоа и полесна клиничка слика.

Од изведените заклучоци согласно со добиените резултати во оваа студија, со релевантни и недвосмислени показатели се покажа дека мајчиното млеко претставува оптимална исхрана за новороденчињата и е клучно за одржување на здравјето и градење на темелите за раст и когнитивен развој на децата. Нашите резултати одат во прилог на препораките на Светската здравствена организација доенчињата да бидат ексклузивно доени во првите 6 месеци од животот и последователно да добиваат соодветна комплементарна храна, додека доењето продолжува до 24 месеци или подолго. Мајчиното млеко не е

само извор на енергија, туку е доста сложена динамичка биолошка течност, која има заштитна и имуномодулаторска улога. Големиот број протективни фактори во мајчиното млеко може да ја компензира наивноста на стекнатиот имунитет кај новороденчето и незрелоста на другите делови од ГИТ. Многу од компонентите на мајчиното млеко служат за да ја зголемат моќноста на вродениот имун систем. Токму поради тоа доењето е многу значајно посебно во првите две години од животот на детето, поради што треба да биде препорачано, за мајките да се охрабрат да ги дојат своите деца, бидејќи мајчиното млеко обезбедува високи концентрации на sIgA, кој го заштитува цревниот епител на доенчињата од оштетување при присуство на ентерични патогени, како што во овој случај го заштитува од оштетување, предизвикано од ротавирус акутен гастроентерит.

## 8. ДОДАТОК

### 8.1. ТАБЕЛИ

Табела 1 Застапеност на доенчињата со акутен гастроентерит според полот  
Table 1 Representation of infants with acute gastroenteritis by gender

Група/ Group Пол/ Gender	I		II	
	Број Number	%	Број Number	%
Машко/Male	4	57,1	9	56,25
Женско/Female	3	42,9	7	43,75
	III		IV	
Машко/Male	11	57,9	6	37,5
Женско/Female	8	42,1	10	62,5

Табела 2 Просечна возраст на доенчињата со акутен гастроентерит  
Table 2 Average age of infants with acute gastroenteritis

Група / Возраст Group / Age	Просек Average	N	Стд.Дев. Std.Dev.
I	2,1	7	0,899735
II	34	16	1,454877
III	9,3	19	1,249561
IV	9,5	16	1,366260

Табела 2а Застапеност на доенчињата со акутен гастроентерит според  
возраста, изразена во месеци

Table 2a Representation of infants with acute gastroenteritis by age expressed in  
months

Група / Group Возраст во месеци Age in months	I		II	
	Број Number	%	Број Number	%
1	2	28,6	1	6,25
2	2	28,6	4	25,0
3	3	42,9	4	25,0
4			4	25,0
5			1	6,25
6			2	12,5
	III		IV	
7	2	10,5	2	12,5
8	1	5,3	2	12,5
9	10	52,6	2	12,5
10	1	5,3	6	37,5
11	5	26,3	4	25,0

Табела 3 Застапеност на доенчињата со акутен гастроентерит според бројот на повраќање во последните 24 часа пред прием  
 Table 3 Representation of infants with acute gastroenteritis according to the number of vomiting in the last 24 hours before admission

Група / Group Број на повраќања Vomiting number	I		II	
	Број Number	%	Број Number	%
Нема /None	5	71,4	3	18,75
1	2	28,6		
2			1	6,25
3			1	6,25
4			3	18,75
5			3	18,75
6			1	6,25
7			1	6,25
8			2	12,5
12			1	6,25
	III		IV	
Нема / None	8	42,1	3	18,75
1	1	5,3		
2	1	5,3	1	6,25
3	2	10,5	2	12,5
4	4	21,1	1	6,25
5			3	18,75
6			4	25,0
7	1	5,3		
10	2	10,5	1	6,25
12			1	6,25

Табела 3а Просечен број регистрирани повраќања во последните 24 часа пред прием кај доенчињата со акутен гастроентерит.  
 Table 3a Average number of registered vomiting in the last 24 hours before admission in infants with acute gastroenteritis

група/group регистрирани повраќања 24ч.пред прием  Registered vomiting 24 hours before admission	Просек Average I	Просек Average II	t-ТЕСТ t-test	p	N I	N II	Стде.дев Std.dev I	Стде.дев Std.dev II
		0,285714	4,56250	-3,40460	0,002669	7	16	0,487950
	III	IV			III	IV	III	IV
	2,736842	4,562500	-1,62537	0,113598	19	16	3,280280	3,346018



Табела 4 Застапеност на доенчињата со акутен гастроентерит според бројот на течни столица во последните 24 часа пред прием

Table 4 Representation of infants diagnosed with acute gastroenteritis according to the number of liquid stools in the last 24 hours before admission

Група / Group Број на течни столица Number of liquid stools	I		II	
	Број Number	%	Број Number	%
3	3	42,85		
4	3	42,85	1	6,25
5	1	14,3	2	12,5
6			2	12,5
8			1	6,25
9			1	6,25
10			4	25,0
13			1	6,25
15			1	6,25
17			1	6,25
18			1	6,25
20			1	6,25
	III		IV	
3	3	15,8	1	6,25
4	5	26,3	3	18,75
5	1	5,3		
6	2	10,5		
7	2	10,5	1	6,25
8	3	15,8	2	12,5
9	1	5,3	1	6,25
10	2	10,5	4	25,0
11			1	6,25
12			1	6,25
15			1	6,25
19			1	6,25

Табела 4а Просечен број регистрирани течни столица пред прием кај доенчињата со акутен гастроентерит

Table 4a Average number of registered liquid stools before admission in infants with acute gastroenteritis

Група/Group регистрирани столица 24 часа пред прием Registered liquid stool 24 hour before admission	Просек Average I	Просек Average II	t-тест t-test	р	N I	N II	Стд.дев I Std.dev I	Стд.дев Std.dev II
		3,7	10,4	-3,49610	0,002152	7	16	0,755929
	III	IV			III	IV	III	IV
	5,9	9,0	-2,67615	0,011505	19	16	2,391505	4,242641

Табела 5 Застапеност на доенчињата со акутен гастроентерит според телесната температура.

Table 5 Representation of infants with acute gastroenteritis by body temperature.

Група / Group Покачена температура Elevated temperature	I		II	
	број	%	број	%
Не / No	6	85,7	3	18,75
Да / Yes	1	14,3	13	81,25
	III		IV	
Не / No	14	73,7	5	31,25
Да / Yes	5	26,3	11	68,75

Табела 6 Застапеност на доенчињата со акутен гастроентерит според степенот на дехидратација при прием.

Table 6 Representation of infants with acute gastroenteritis according to the degree of dehydration at admission.

Група / Group Степен на дехидратација Degree of dehydration	I		II	
	број	%	број	%
Лесен / Mild	7	100,0	4	25,0
Умерен / Moderate			7	43,75
Тежок / Severe			5	31,25
	III		IV	
Лесен / Mild	15	78,9	3	18,75
Умерен / Moderate	4	21,1	10	62,5
Тежок / Severe			3	18,75

Табела 7 Застапеност на доенчињата со акутен гастроентерит според наодот на ротавирус тест

Table 7 Representation of infants with acute gastroenteritis by *Rotavirus* test

Група / Group Ротавирус тест Rotavirus test	I		II	
	Број Number	%	Број Number	%
Негативен / Negative	6	85,7	5	31,25
Позитивен / Positive	1	14,3	11	68,75
	III		IV	
Негативен / Negative	13	68,4	8	50,0
Позитивен / Positive	6	31,6	8	50,0

Табела 8 Застапеност на доенчињата со акутен гастроентерит според наодот на аденовирус тест

Table 8 Representation of infants with acute gastroenteritis by *Adenovirus* test

Група / Group Аденовирус тест Adenovirus test	I		II	
	Број Number	%	Број Number	%
Негативен / Negative	7	100,0	15	93,75
Позитивен / Positive			1	6,25
	III		IV	
Негативен / Negative	19	100,0	15	93,75
Позитивен / Positive	0		1	6,25

Табела 9 Застапеност на доенчињата со акутен гастроентерит според наодот од копрокултура

Table 9 Representation of infants with acute gastroenteritis by coproculture findings

Група / Group Копрокултура тест Coproculture test	I		II	
	Број Number	%	Број Number	%
Негативен / Negative	7	100,0	15	93,75
<i>Shigella flexneri</i>			1	6,25
	III		IV	
Негативен / Negative	19	100,0	13	81,25
<i>Salmonella enteritidis</i>	0		2	12,5
<i>Proteus mirabilis</i>			1	6,25

Табела 10 Просечен број регистрирани течни столици во текот на лекувањето кај доенчињата со акутен гастроентерит

Table 10 Average number of registered liquid stool during treatment in infants with acute gastroenteritis

Група/Group Регистрирани столици во текот на лекувањето Registered liquid stools during treatment	Просек Average I	Просек Average II	t-тест t-test	p	N I	N II	Стд.дев Std.dev I	Стд.дев Std.dev II
		9,0	21,2	-3,67211	0,001419	7	16	2,236068
	III	IV			III	IV	III	IV
	14,1	18,6	-1,46463	0,152484	19	16	1,865350	3,03040

Табела 11 Просечен број регистрирани повраќања во текот на лекувањето кај доенчињата со акутен гастроентерит

Table 11 Average number of vomiting during treatment in infants with acute gastroenteritis

Група/Group Повраќања во текот на лекувањето Vomiting during treatment	Просек Average I	Просек Average II	t-тест t-test	р	N I	N II	Стд.дев I Std.dev	Стд.дев II Std.dev II
	0,3	3,0	-2,90250	0,008516	7	16	0,755929	2,394438
	III	IV			III	IV	III	IV
	1,4	3,4	-2,33692	0,025661	19	16	1,865350	3,03040

Табела 12 Просечен број денови на парентерална рехидрација кај доенчињата со акутен гастроентерит

Table 12 Average number of days of parenteral rehydration in infants with acute gastroenteritis

Група/Group Денови на парентерална рехидратација Days of parenteral rehydration	Просек Average I	Просек Average II	t-тест t-test	р	N I	N II	Стд.дев I Std.dev I	Стд.дев II Std.dev II
	0,7	2,0	-3,11436	0,005246	7	16	0,755929	0,966092
	III	IV			III	IV	III	IV
	1,7	2,1	-0,97494	0,336684	19	16	1,240166	1,08781

Табела 13 Просечен број денови на хоспитализација кај доенчињата со акутен гастроентерит

Table 13 Average number of days of hospitalization in infants with acute gastroenteritis

Група/Group Болнички денови Hospitalization days	Просек Average I	Просек Average II	t-тест t-test	р	N I	N II	Стд.дев I Std.dev I	Стд.дев II Std.dev II
	4,1	4,9	-1,02224	0,318302	7	16	1,573592	1,768945
	III	IV			III	IV	III	IV
	3,9	4,9	-1,98968	0,054966	19	16	1,629408	1,43614

Табела 14 Приказ на наодот на sIgA во столицата кај доенчињата со акутен гастроентерит

Table 14 sIgA findings in stool in infants with acute gastroenteritis

Група / Group sIgA	I		II	
	Број Number	%	Број Number	%
Негативни / Negative			12	75,0
Позитивни / Positive	7	100,0	4	25,0
	III		IV	
Негативни / Negative			6	37,5
Позитивни / Positive	19	100,0	10	62,5

Табела 15 Просечна вредност на sIgA во столица кај доенчињата со акутен гастроентерит

Table 15 Average value of sIgA in stool in infants with acute gastroenteritis

Група/Group sIgA во столица sIgA in stool	Просек Average I	Просек Average II	t-тест t-test	ρ	N I	N II	Стд.дев I Std.dev	Стд.дев II Std.dev
		3902,6	531,9	8,198331	0,000000	7	16	1496,800
	III	IV			III	IV	III	IV
	4422,5	1286,5	3,697013	0,000788	19	16	3208,730	1180,621

Табела 16 Приказ на наодот на α-GST во серум кај доенчиња со акутен гастроентерит

Table 16 Findings of α-GST in serum in infants with acute gastroenteritis

Група / Group α GST	I		II	
	Број Number	%	Број Number	%
Негативни / Negative	6	85,7	1	6,25
Позитивни / Positive	1	14,3	15	93,75
	III		IV	
Негативни / Negative	13	68,4	3	18,75
Позитивни / Positive	6	32,6	13	81,25

Табела 17 Просечна вредност на  $\alpha$ -GST во серум кај доенчиња со акутен гастроентерит

Table 17 Average value of  $\alpha$ -GST in serum in infants with acute gastroenteritis

Група/Group $\alpha$ GST во серум $\alpha$ -GST in serum	Просек Average I	Просек Average II	t-тест t-test	p	N I	N II	Стд.дев I Std.dev I	Стд.дев II Std.dev II
	0,1	6,2	-3,47531	0,002260	7	16	0,038730	4,542974
	III	IV			III	IV	III	IV
	0,8	7,4	-3,86550	0,000492	19	16	1,588291	7,235857

Табела 19а Ефектот на sIgA на степенот на дехидратација (I и II група)

Table 19a Effect of sIgA on the degree of dehydration (I and II group)

Степен на дехидратација Degree of dehydration	Негативни sIgA Negative sIgA N=12	Позитивни sIgA Positive sIgA N=11	Pearson Chi-square: 10,7170, df=2, p=0,004708
Лесен / Mild	2 (16,6%)	9(81,8%)	
Умерен / Moderate	5 (41,7%)	2 (18,2%)	
Тежок / Severe	5 (41,7%)	0	

Табела 19б Ефектот на sIgA на степенот на дехидратација (III и IV група)

Table 19b Effect of sIgA on the degree of dehydration (III and IV group)

Степен на дехидратација Degree of dehydration	Негативни sIgA Negative sIgA N=6	Позитивни sIgA Positive sIgA N=29	Fisher Exact 2Tailed P= 0,019061
Лесен / Mild	0	17 (58,6%)	
Умерен / Moderate	5 (83,3%)	10 (34,5%)	
Тежок / Severe	1 (16,7%)	2 (6,9%)	

Табела 20а Ефектот на sIgA на покачена температура (I и II група)  
Table 20a Effect of sIgA on elevated temperature (I and II group)

Покачена температура Elevated temperature	Негативни sIgA Negative sIgA N=12	Позитивни sIgA Positive sIgA N=11	Fisher Exact 2Tailed P= 0,036074
Нема / None	2 (16,7%)	7 (63,6%)	
Има / Yes	10 (83,3%)	4 (36,4%)	

Табела 20б Ефектот на sIgA на покачена температура (III и IV група)  
Table 20b Effect of sIgA on elevated temperature (III and IV group)

Покачена температура Elevated temperature	Негативни sIgA Negative sIgA N=6	Позитивни sIgA Positive sIgA N=29	Pearson Chi-square: 4,12952, df=1, p=0,042141
Нема/ None	1 (16,7%)	18 (62,1%)	
Има / Yes	5 (83,3%)	11 (37,9%)	

Табела 21а Ефектот на sIgA врз симптомот повраќање (I и II група)  
Table 21a Effect of sIgA on vomiting symptom (I and II group)

Повраќање Vomiting	Негативни sIgA Negative sIgA N=12	Позитивни sIgA Positive sIgA N=11	Pearson Chi-square: 12,6111, df=1, p=0,000383
Нема / None	1 (8,3%)	9 (75,0%)	
Има / Yes	11 (91,7%)	2 (25,0%)	

Табела 21б Ефектот на sIgA врз симптомот повраќање (III и IV група)  
Table 21b Effect of sIgA on vomiting symptom (III and IV group)

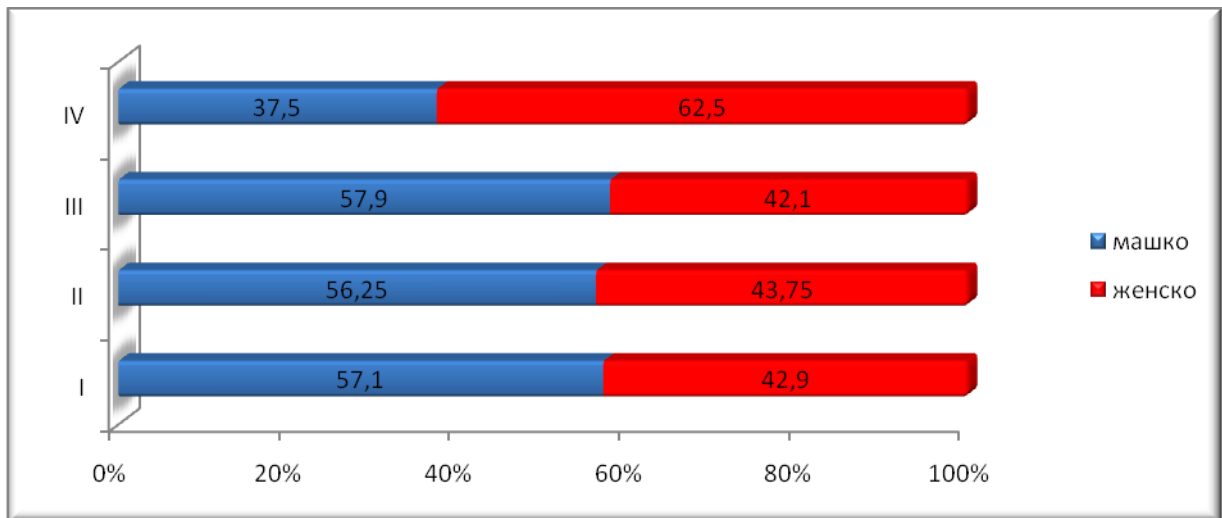
Повраќање Vomiting	Негативни sIgA Negative sIgA N=6	Позитивни sIgA Positive sIgA N=29	Pearson Chi-square: ,268199, df=1, p=0,604542
Нема / None	2 (33,3%)	13 (44,8%)	
Има / Yes	4 (67,3%)	16 (55,2%)	

Табела 22  $\alpha$ -GST во ротавирус позитивни случаи  
 Table 22  $\alpha$ -GST in *Rotavirus* positive cases

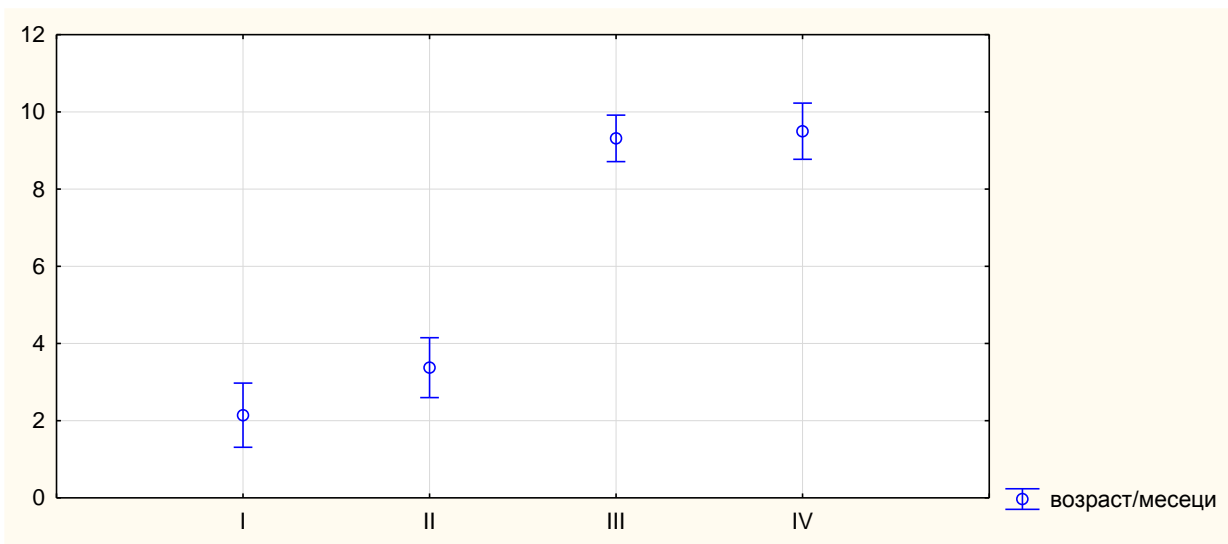
Rotavirus + I и II група I and II group	<b><math>\alpha</math>-GST + N=16</b>	<b><math>\alpha</math>-GST - N=7</b>	
	12(75,0%)	0	
III и IV група III and IV group	<b><math>\alpha</math>-GST + N=19</b>	<b><math>\alpha</math>-GST - N=16</b>	p>0,05
	(9) (47,4%)	(5) (31,25%)	



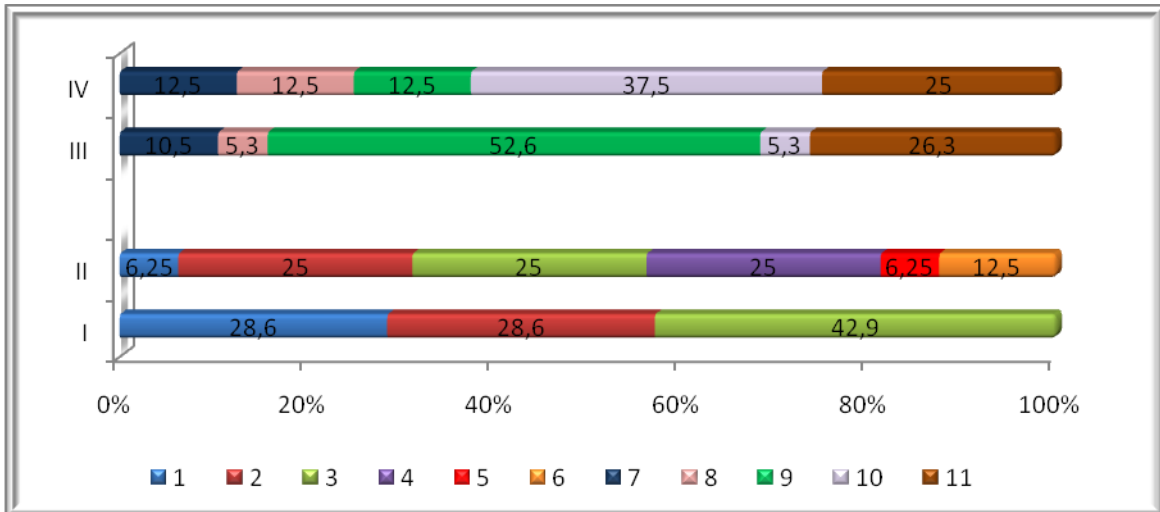
## 8.2. ГРАФИКОНИ



Графикон 1 Застапеност на доенчињата со акутен гастроентерит според пол  
Graph 1 Representation of infants with acute gastroenteritis by gender

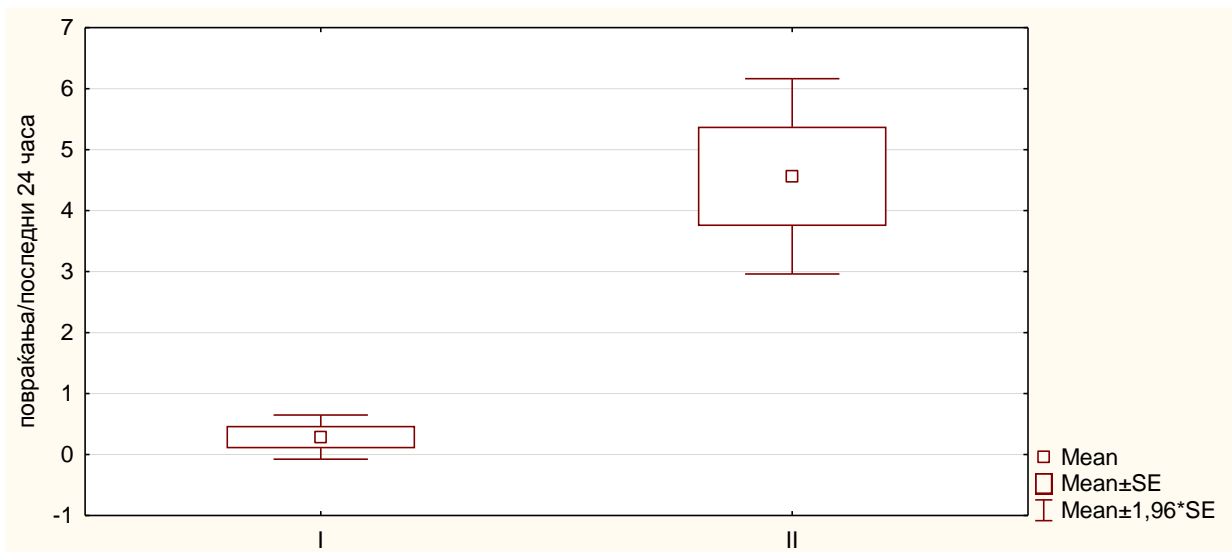


Графикон 2 Просечна возраст на доенчињата со акутен гастроентерит.  
Graph 2 Average age of infants with acute gastroenteritis.



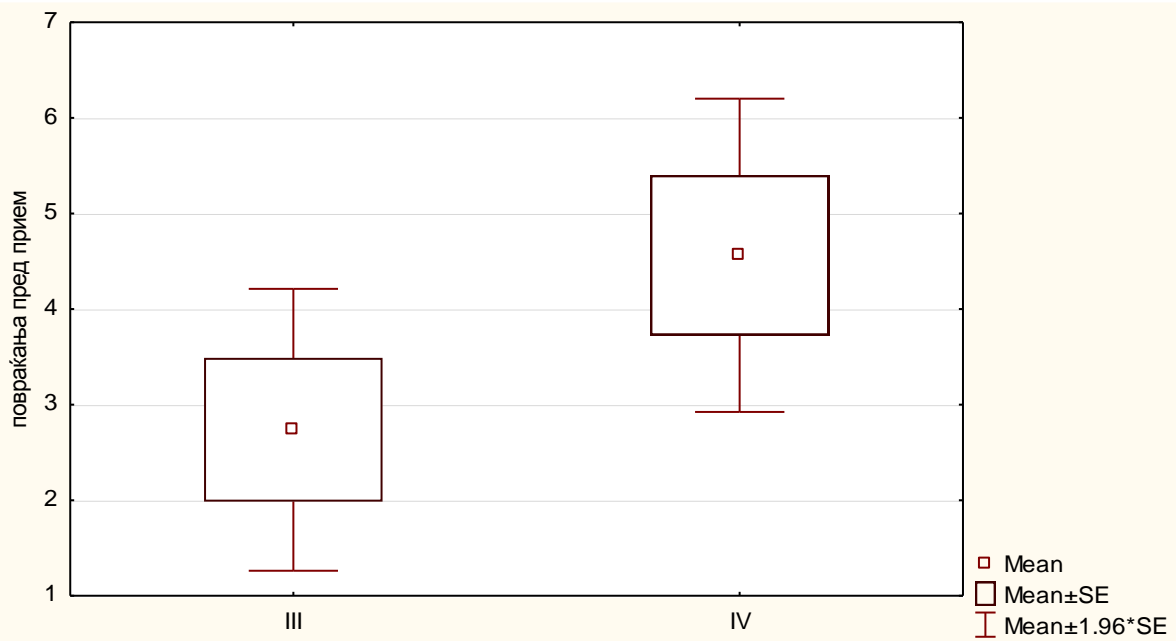
Графикон 2а Застапеност на доенчињата со акутен гастроентерит според возраста изразена во месеци

Graph 2a Representation of infants with acute gastroenteritis by age expressed in months

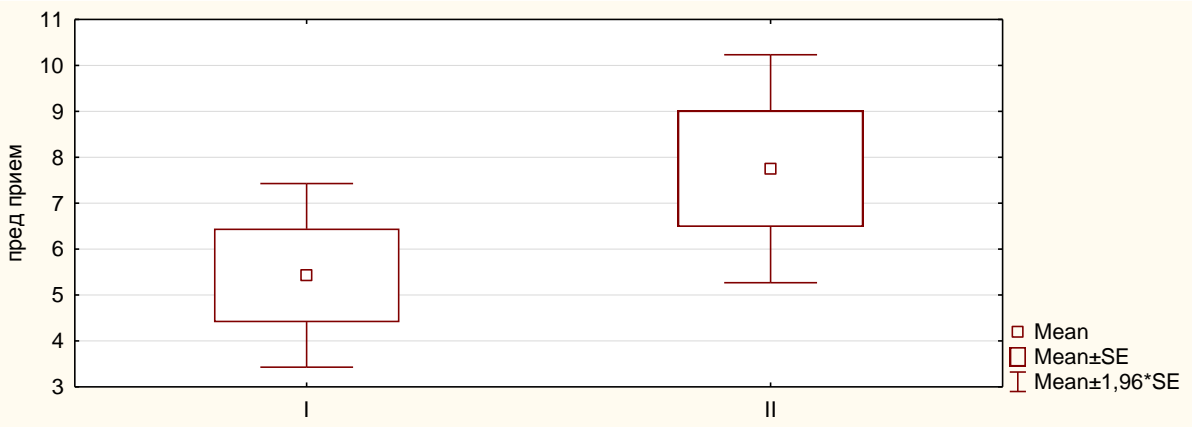


Графикон 3а Просечен број регистрирани повраќања во последните 24 часа пред прием кај доенчињата со акутен гастроентерит

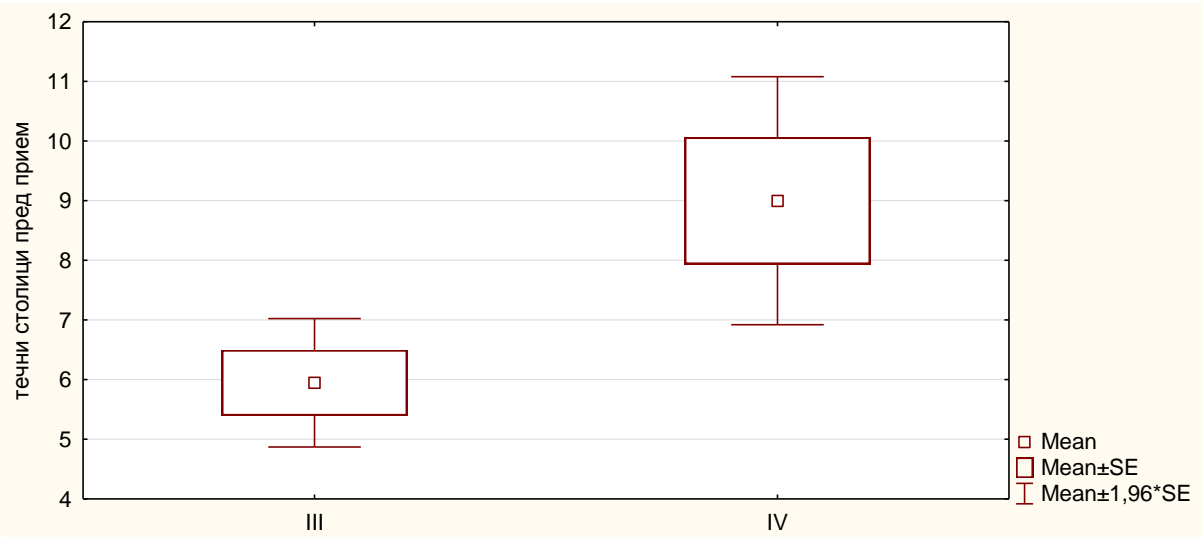
Graph 3a Average number of registered vomiting in the last 24 hours before admission in infants with e acute gastroenteritis



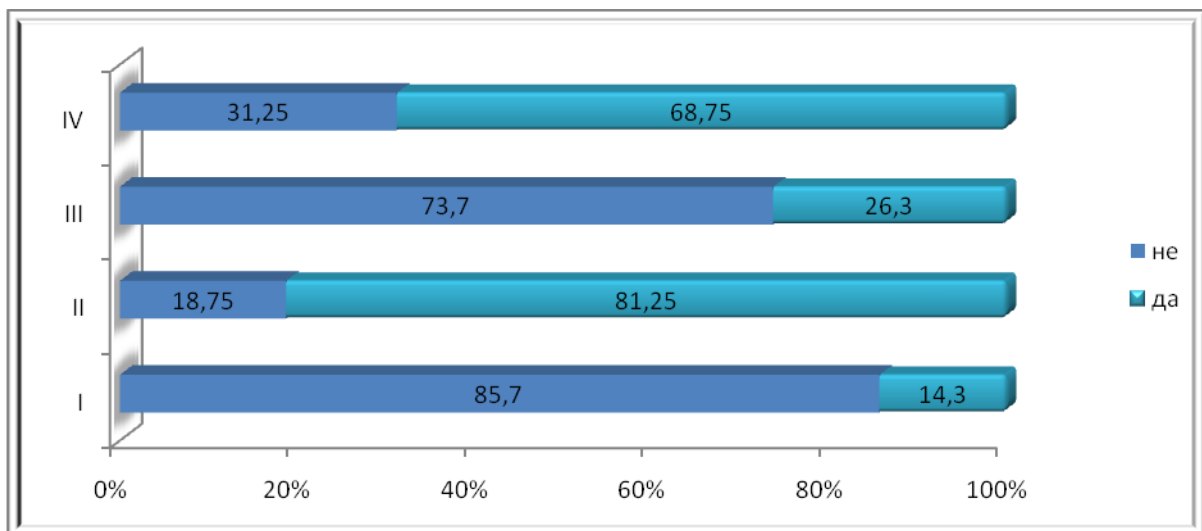
Графикон 3б Просечен број регистрирани повраќања во последните 24 часа пред прием кај доенчињата со акутен гастроентерит  
 Graph 3b Average number of registered vomiting in the last 24 hours before admission in infants with acute gastroenteritis



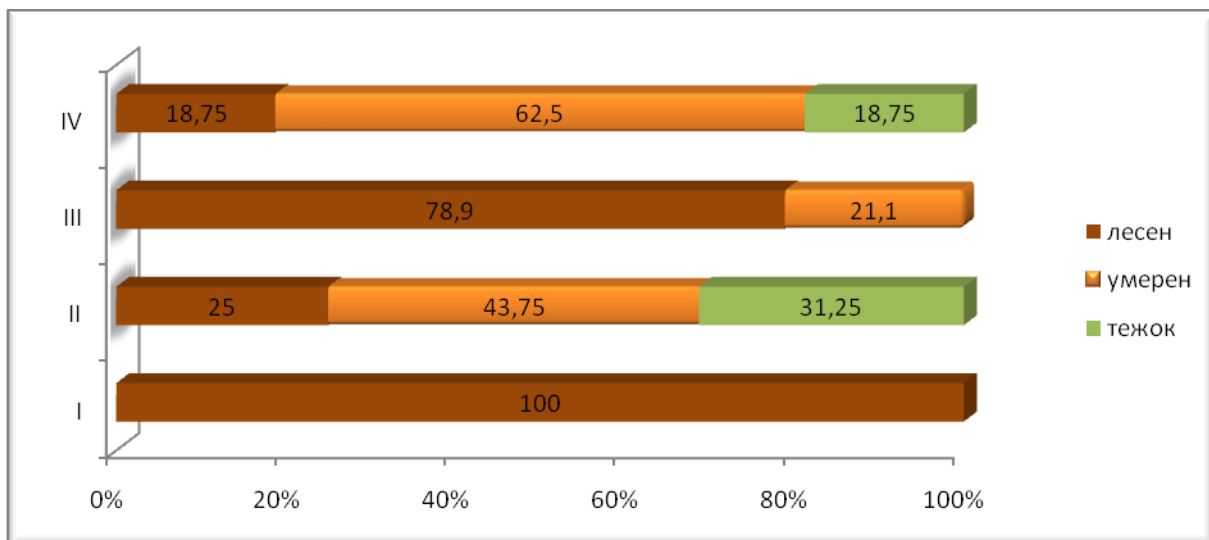
Графикон 4а Просечен број регистрирани течни столица пред прием кај доенчињата со акутен гастроентерит  
 Graph 4a Average number of registered liquid stools before admission in infants with acute gastroenteritis



Графикон 4б Просечен број регистрирани течни столици пред прием кај доенчињата со акутен гастроентерит  
 Graph 4b Average number of registered liquid stools before admission in infants with acute gastroenteritis

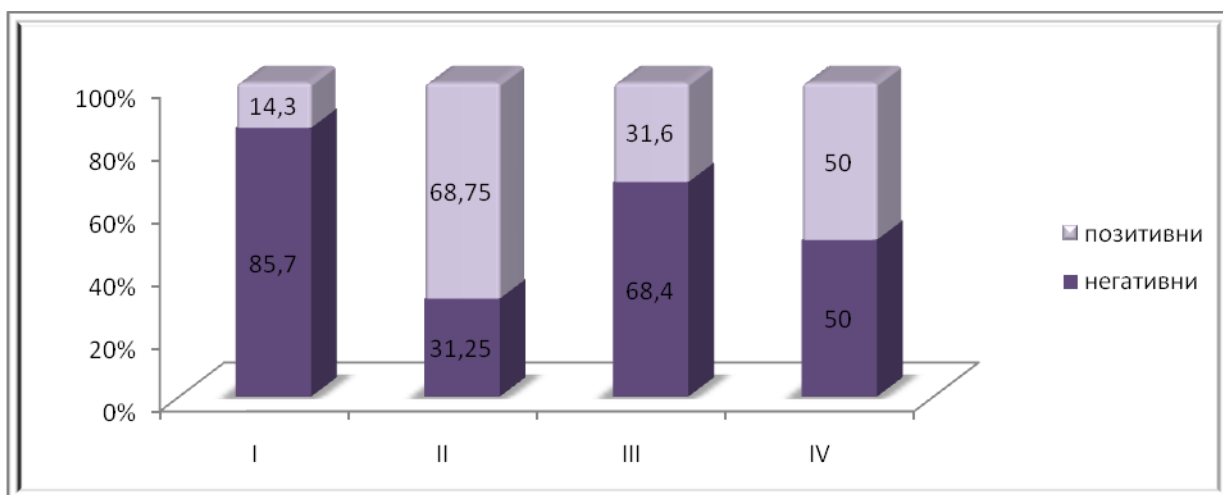


Графикон 5 Застапеност на доенчињата со акутен гастроентерит според телесната температура  
 Graph 5 Representation of infants with acute gastroenteritis by body temperature



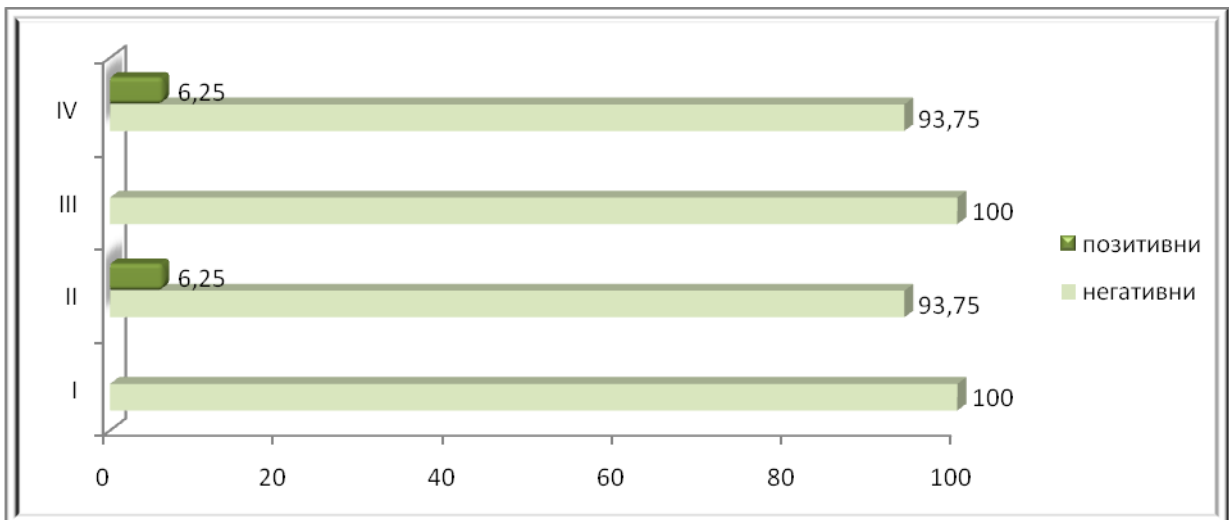
Графикон 6 Застапеност на доенчињата со акутен гастроентерит според степенот на дехидратација при прием

Graph 6 Representation of infants with acute gastroenteritis according to the degree of dehydration at admission

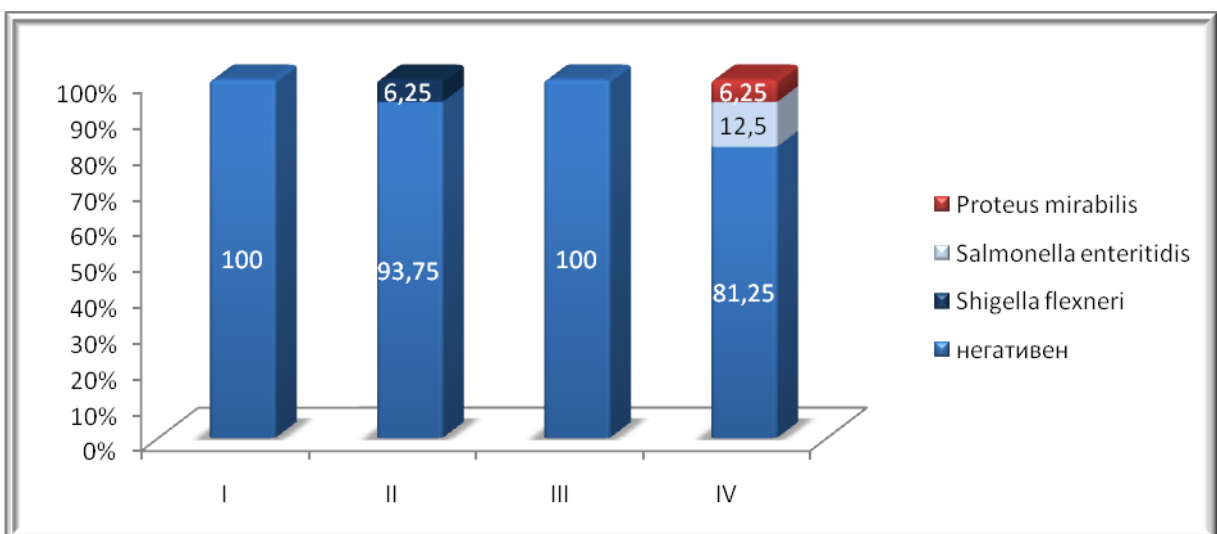


Графикон 7 Застапеност на доенчињата со акутен гастроентерит според наодот на ротавирус тест

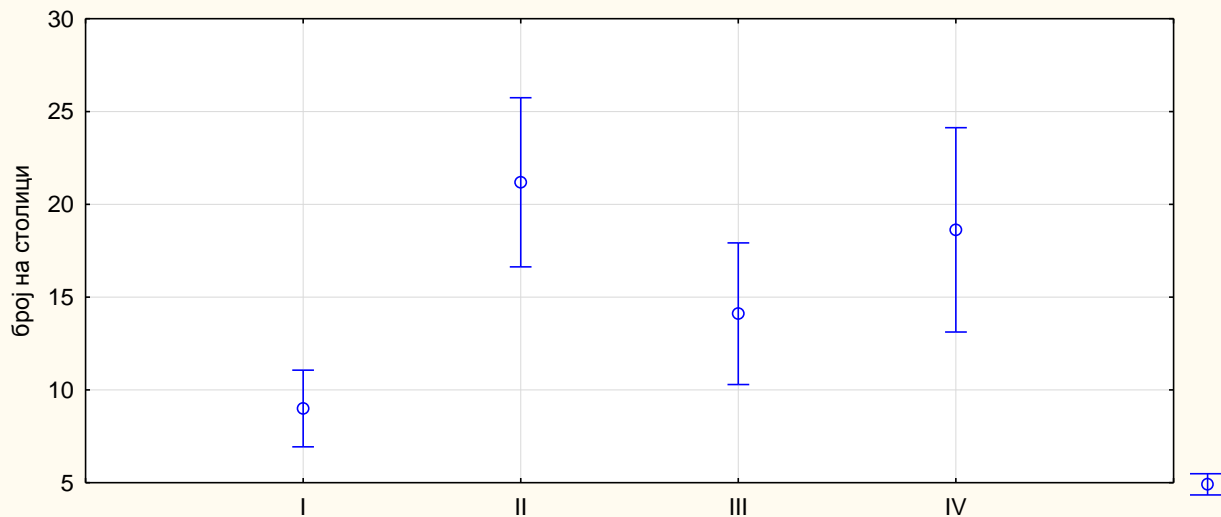
Graph 7 Representation of infants with acute gastroenteritis by *Rotavirus* test



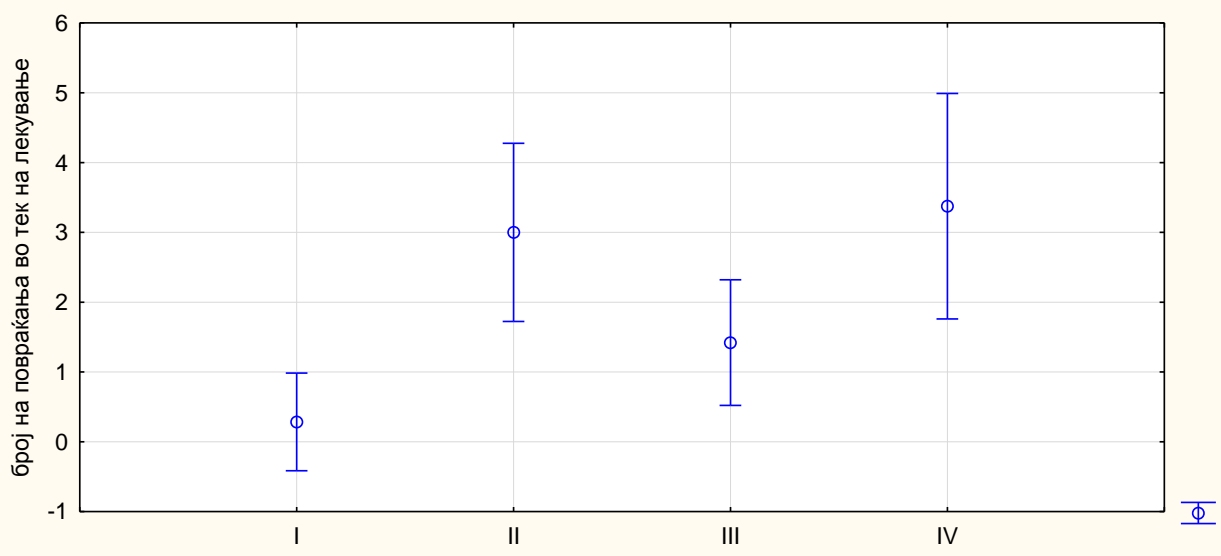
Графикон 8 Застапеност на доенчињата со акутен гастроентерит според наодот на аденовирус тест  
 Graph 8 Representation of infants with acute gastroenteritis by *Adenovirus* test



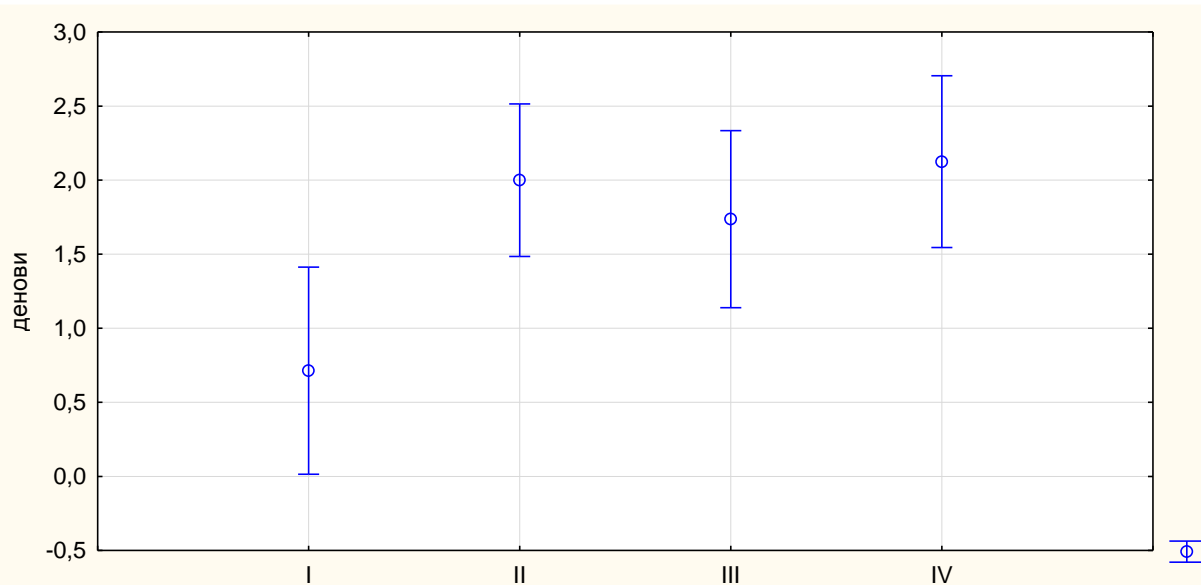
Графикон 9 Застапеност на доенчињата со акутен гастроентерит според наодот од копрокултура  
 Graph 9 Representation of infants with acute gastroenteritis by coproculture findings



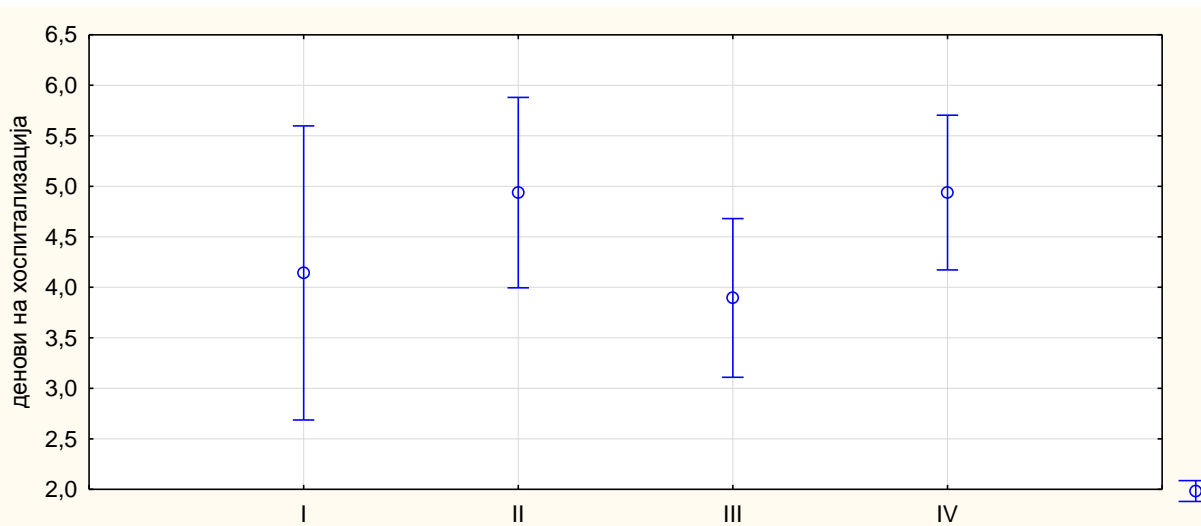
Графикон 10 Просечен број регистрирани течни столици во текот на лекувањето кај доенчињата со акутен гастроентерит  
 Graph 10 Average number of registrated liquid stool during treatment in infants with acute gastroenteritis



Графикон 11 Просечен број регистрирани повраќања во текот на лекувањето кај доенчињата со акутен гастроентерит  
 Graph 11 Average number of vomiting during treatment in infants with acute gastroenteritis

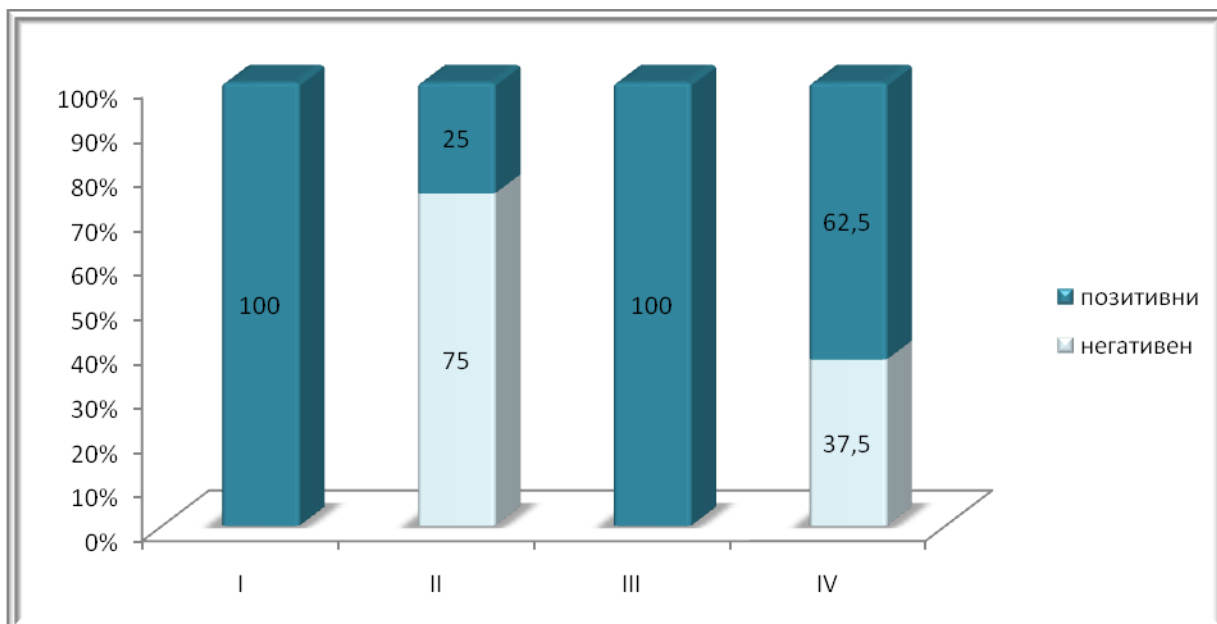


Графикон 12 Просечен број денови на парентерална рехидрација кај доенчињата со акутен гастроентерит  
 Graph 12 Average number of days of parenteral rehydration in infants with acute gastroenteritis

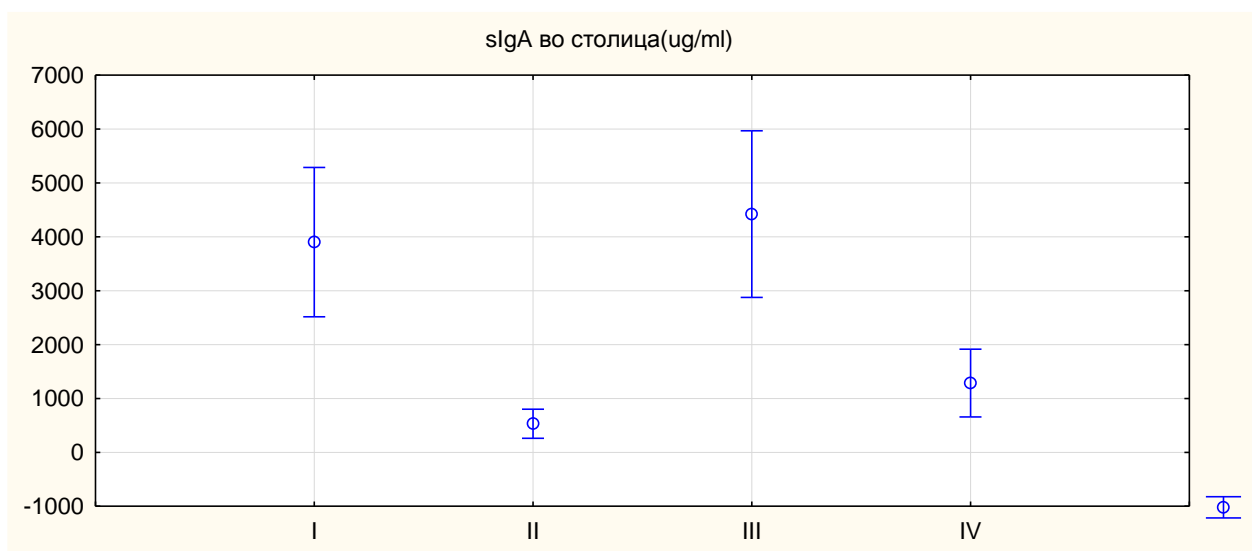


Графикон 13 Просечен број денови на хоспитализација кај доенчињата со акутен гастроентерит  
 Graph 13 Average number of days of hospitalization in infants with acute gastroenteritis

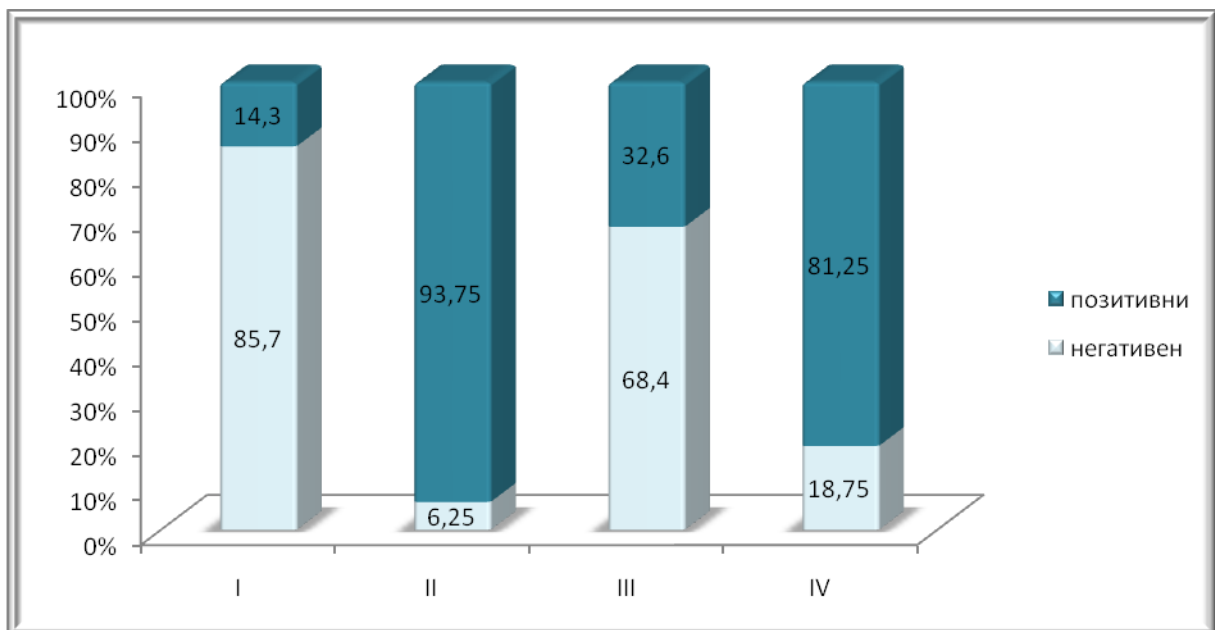




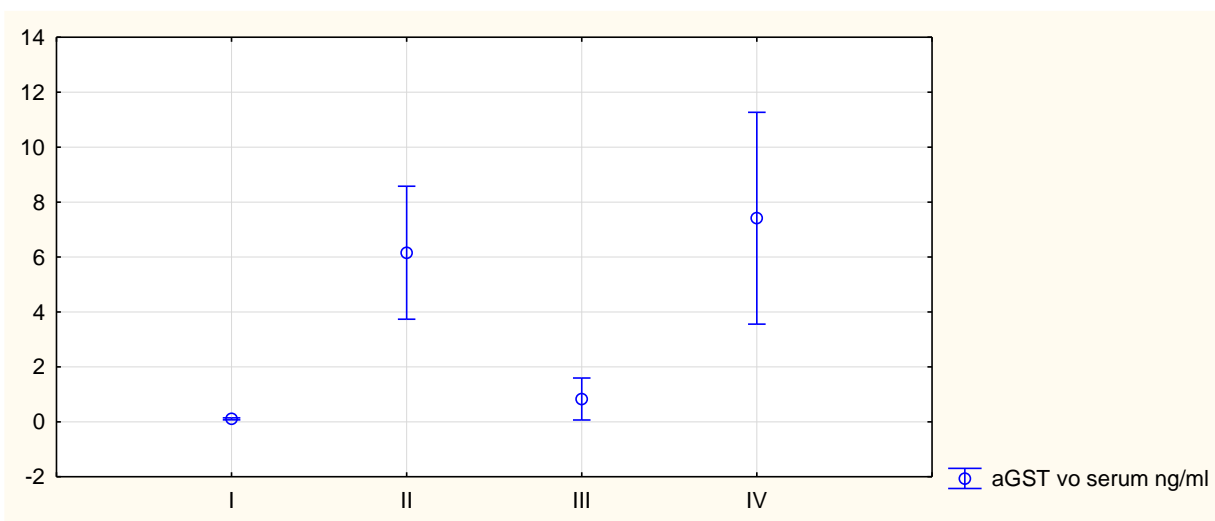
Графикон 14 Приказ на наодот на sIgA во столицата кај доенчињата со акутен гастроентерит  
 Graph 14 sIgA findings in stool in infants with acute gastroenteritis



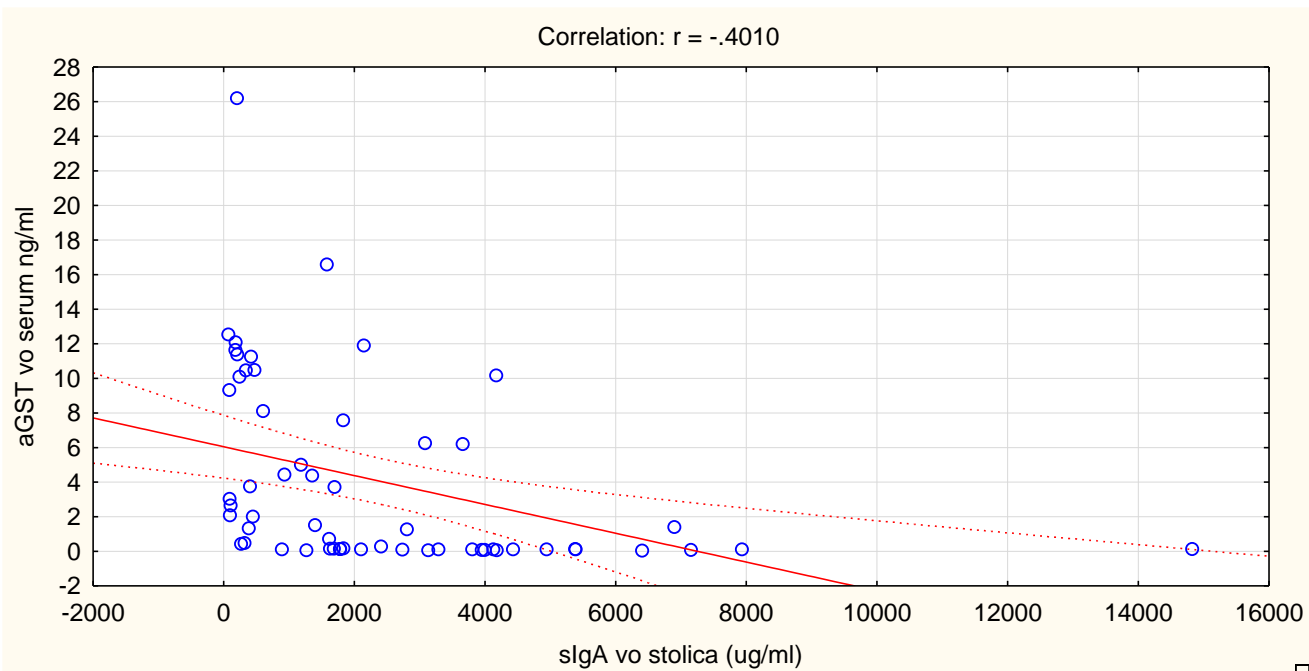
Графикон 15 Просечна вредност на sIgA во столица кај доенчињата со акутен гастроентерит  
 Graph 15 Average value of sIgA in stool in infants with acute gastroenteritis



Графикон 16 Приказ на наодот на  $\alpha$ -GST во серум кај доенчиња со акутен гастроентерит  
 Graph 16 View of findings of  $\alpha$ -GST in serum in infants with acute gastroenteritis



Графикон 17 Просечна вредност на  $\alpha$ -GST во серум кај доенчиња со акутен гастроентерит  
 Graph 17 Average value of  $\alpha$ -GST in serum in infants with acute gastroenteritis



Графикон 18 Корелација помеѓу sIgA во столицата и концентрациите на  $\alpha$ -GST во серумот

Graph 18 Correlation between sIgA in stool and concentration of  $\alpha$ -GST in serum

$r = -0,4010$ ,  $p = 0,002$

### 8.3. ЛИСТА НА КРАТЕНКИ

RNA	Рибонуклеинска киселина
VP	Вирусен структурен протеин
IgM	Имуноглобулин М
IgA	Имуноглобулин А
IgG	Имуноглобулин Г
IgE	Имуноглобулин Е
IgD	Имуноглобулин Д
ГИТ	Гастроинтестинален тракт
NSP	Неструктурен протеин
Cl	Хлор
Na-K-ATP-аза	Натриум-калиум аденозин трифосфатаза
CD	Кластер на диференцијација
T-Ly	Т лимфоцити
B – Ly	Б лимфоцити
sIgA	Секреторен имуноглобулин А
ELISA	Ензимски поврзана имуносорбентна анализа
RT-PCR	Реверзна транскриптаза – Полимераза верижна реакција
DiTePer	Дифтерија-Тетанус-Пертузис
HAdV	Хумани аденовируси
AdV	Аденовирус
MUC	Муцин
EIA	Ензимски имуноесеј
ATP	Аденозин трифосфат
cAMP	Цикличен аденозин монофосфат
HIV	Вирус на хумана имунодефициенција
PP	Пејерови плочи

GMP	Гванозин монофосфат
HLA	Хуман леукоцитен антиген
Th	Т помошник
PEC	Ретикулоендотелен систем
NK клетки	Клетки природни убијци
г.н.	Гестациска недела
CRP	Це реактивен протеин
IFN	Интерферон
CSF	Колоностимулирачки фактор
G-CSF	Гранулоцитно – колоностимулирачки фактор
IL	Интерлеукин
PG	Простагландин
LT	Леукотриен
NO	Азотен оксид
TNF	Тумор некротски фактор
Fc	Кристализирачки фрагмент
Th-Ly	Т – помошнички лимфоцити
MHC	Главен хистокомпатибилен комплекс
TGF	Трансформирачки фактор на раст
TLR	Тол лајк рецептор
ILGF	Инслуин сличен фактор на раст
М – клетки	Микрофолд клетки
FcαRI	Fc фрагмент на IgA рецептор
MALT	Мукозно поврзано лимфно ткиво
GALT	Гастроинтестинално поврзано лимфно ткиво
МЛЈ	Мезентеријални лимфни јазли
APC	Антиген презентирачки клетки

pIgR	Полимерен имуноглобулински рецептор
SC	Секреторна компонента
DC	Дендритични клетки
CMV	Цитомегаловирус
HSV	Херпес симплекс вирус
RSV	Респираторен синцициелен вирус
GF	Без микроби (бактерии)
BALB/c	Албино лабораториски глвци
C57BL/6	C57 црн 6 лабораториски глушец
GST	Glutathione S Transferase
$\alpha$ -GST	Alpha Glutathione S Transferase
GSH	Глутатион
MAPEG	Втора суперфамилија на GST ензимите
SAS	Систем за аплицирање на столица
TMB	Тетраметилбензидин
HRP	Horse radish Peroxidase – Рен пероксидаза

## 9. КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Agostoni, C., Braegger, C., Decsi, T., Kolacek, S., Koletzko, B., Michaelsen, K F., Mihatsch, W., Moreno, L. A., Puntis, J., Shamir, R., Szajewska, H., Turck, D., & van Goudoever, J. (2009). ESPGHAN Committee on Nutrition: Breast-feeding: A Commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 49(1), 112–125.
2. Agus, S.G., Dolin, R., Wyatt, R. G., Tousimis, A. J., & Northrup, R. S. (1973). Acute infectious nonbacterial gastroenteritis: intestinal histopathology: histologic and enzymatic alterations during illness produced by the Norwalk agent in man. *Annals of Internal Medicine*, 79(1), 18–25.
3. Al-Ali, R. M., Chehadeh, W., Hamze, M., Dabboussi, F., Sani, H., & Hassan, M. (2001). First description of gastroenteritis viruses in Lebanese children: a pilot study. *Journal of Infection and Public Health*, 4(2), 59-64.
4. Ali, A., Kazi, A. M., Cortese, M. M., Fleming, A. J., Moon, S., Prashar, D. U., Jiang, B., McNeal, M. M., Steel, D., Bhutta, Z., Zaidi, A. K. M. (2015). Impact of withholding breastfeeding at the time of vaccination on the immunogenicity of oral rotavirus vaccine – a randomized trial. *Public Library of Science ONE*. 10(6), e 0127622.
5. Álvarez Aldeán, J., Ares Segura, S., Díaz González, C., Montesdeoca Melián, A., García Sánchez, R., Boix Alonso, H., & Moreno-Pérez, D. (2019). Recommendations for vaccination against ROTAVirus in PREMature newborns (ROTAPREM). *Anales de Pediatría*, 91(3), 205.e1 - 205.e7.
6. Ashkar, S., Weber, G. F., Panoutsakopoulou, V., Sanchirico, M. E., Jansson, M., Zawaideh, S., Rittling, S. R., Denhardt, D. T., Glimcher, M. J., & Cantor, H. (2000). Eta-1 (osteopontin): an early component of type-1 (cell-mediated) immunity. *Science*, 287(5454), 860–864.
7. Atmar, R. L., Ramani, S., & Estes, M. K. (2018). Human noroviruses: recent advances in a 50-year history. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 31(5), 422-432.
8. Bajolet, O., & Chippaux-Hyppolite, C. (1998). Rotavirus and other viruses of diarrhea. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique*, 91(5 Pt 1-2), 432-437.

9. Barnes, G. L., Uren, E., Stevens, K. B., & Bishop, R. F. (1998). Etiology of acute gastroenteritis in hospitalized children in Melbourne, Australia, from April 1980 to March 1993. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(1), 133-138.
10. Benckert, J., Schmolka, N., Kreschel, C., Zoller, M. J., Sturm, A., Wiedenmann, B., & Wardemann, H. (2011). The majority of intestinal IgA+ and IgG+ plasmablasts in the human gut are antigen-specific. *Journal of clinical investigation*, 121(5), 1946–1955.
11. Berti, C., Agostoni, C., Davanzo, R., Hyppönen, E., Isolauri, E., Meltzer, H. M., Steegers-Theunissen, R. P., & Cetin, I. (2017). Early-life nutritional exposures and lifelong health: immediate and long-lasting impacts of probiotics, vitamin D, and breastfeeding. *Nutrition Reviews*, 75(2), 83-97.
12. Biçer, S., Çöl, D., Küçük, Ö., Erdağ, GÇ., Giray, T., Uğraş, M., Vitrinel, A., & Kaspar, Ç. (2018). Is there any difference between the symptomatology and clinical findings of viral agents causing dehydration? *Minerva Pediatrica*, 70(2), 165-174.
13. Bischoff, C. S., Giovanni, B., Buurman, W., Ockhuizen, T., Schulzke, J. D., Serino, M., Tilg, H., Watson, A., & Wells, M. J. (2014). Intestinal permeability – a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterology*, 14, 189.
14. Bishop, R. F., Barnes, G. L., Cipriani, E., & Lund, L. S. (1983). Clinical immunity after neonatal rotavirus infection. A prospective longitudinal study in young children. *New England Journal of Medicine*, 309, 72-6.
15. Blacklow, N., Greenberg, R., & Harry, B. (1991). Viral gastroenteritis. *The New England Journal of Medicine*, 324(4), 252-264.
16. Blutt, S. E., & Conner, M. E. (2013). The gastrointestinal frontier: IgA and viruses. *Frontieres in Immunology*, 4, 402.
17. Blutt, S. E., Miller, A. D., Salmon, S. L., Metzger, D. W., & Conner, M. E. (2012). IgA is important for clearance and critical for protection from rotavirus infection. *Mucosal Immunology*, 5(6), 712–719.
18. Boccolini, C. S., de Moraes Mello Boccolini, P., Lazaro de Carvalho, M., Couto de Oliveira, M. I. (2012). Exclusive breastfeeding and diarrhea hospitalization patterns between 1999 and 2008 in Brazilian state capitals. *Ciencia & Saude Colectiva*, 17(7), 1857-1863.



19. Bos, N. A., Kimura, H., Meeuwssen, C. G., De Visser, H., Hazenberg, M. P., Wostmann, B. S., Pleasants, J. R., Benner, R., & Marcus, D. M. (1989). Serum immunoglobulin levels and naturally occurring antibodies against carbohydrate antigens in germ-free BALB/c mice fed chemically defined ultrafiltered diet. *European journal of immunology*, 19(12), 2335–2339.
20. Bosch, A., Pintó, R. M., & Guix, S. (2014). Human astroviruses. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(4), 1048–1074.
21. Bottcher, M. F., Jenmalm, M. C., Garofalo, R. P., & Bjorksten, B. (2000). Cytokines in breast milk from allergic and nonallergic mothers. *Pediatric Research*, 47(1), 157–162.
22. Boullier, S., Tanguy, M., Kadaoui, K. A., Caubet, C., Sansonetti, P., Corthesy, B., & Phalipon, A. (2009). Secretory IgA-mediated neutralization of *Shigella flexneri* prevents intestinal tissue destruction by down-regulating inflammatory circuits. *Journal of immunology*, 183(9), 5879–5885.
23. Brandtzaeg, P. (2002). Current understanding of gastrointestinal immunoregulation and its relation to food allergy. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 964, 13–45.
24. Bridgman, S. L., Konya, T., Azad, M. B., Sears, M. R., Becker, A. B., Turvey, S. E., Mandhane, P. J., & Subbarao, P. CHILD Study Investigators, Scott, JA., Field, CJ., & Kozyrskyj, AL. (2016). Infant gut immunity: a preliminary study of IgA associations with breastfeeding. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, 7(1), 68-72.
25. Brinker, J. P., Blacklow, N. R., & Herrmann, J. E. (2000). Human astrovirus isolation and propagation in multiple cell lines. *Archives of Virology*, 145(9), 1847–1856.
26. Buchwald, D. S., & Blaser, M. J. (1984). A review of human salmonellosis: II. Duration of excretion following infection with nontyphi *Salmonella*. *Reviews of Infectious Diseases*, 6(3), 345–356.
27. Buescher, E. S., & McIlheran, S. M. (1992). Colostral antioxidants: separation and characterization of two activities in human colostrum. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 14(1), 47-56.
28. Buisine, M. P., Devisme, L., Degand, P., Dieu, M. C., Gosselin, B., Copin, M. C., Aubert, J. P., & Porchet, N. (2008). Developmental mucin gene expression in the

- gastroduodenal tract and accessory digestive glands II. Duodenum and liver, gall bladder, and pancreas. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 48(12), 1667–1676.
29. Bunker, J. J., Flynn, T. M., Koval, J. C., Shaw, D. G., Meisel, M., McDonald, B. D., Ishizuka, I. E., Dent, A. L., Wilson, P. C., Jabri, B., Antonopoulos, D. A., & Bendelac, A. (2015). Innate and Adaptive Humoral Responses Coat Distinct Commensal Bacteria with Immunoglobulin A. *Immunity*, 43(3), 541–553.
  30. Burbelo, P. D., Ching, K. H., Esper, F., Iadarola, J. M., Delwart, E., Lipkin, W. I., & Kapoor, A. (2011). Serological studies confirm the novel astrovirus HMOAstV-C as a highly prevalent human infectious agent. *Public Library of Science ONE*, 6(8), e22576.
  31. Burnett, E., Yen, C., Tate, E. J., & Parashar D. U. (2016). Rotavirus vaccines: current global impact and future perspectives. *Future Virology*, 11(10), 699–708.
  32. Cabrera-Rubio, R., Collado, M. C., Laitinen, K., Salminen, S., Isolauri, E., & Mira, A. (2012). The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *American journal of clinical nutrition*, 96(3), 544–551.
  33. Capece, G., & Gignac, E. (2019). *Norovirus*. StatPearls Publishing LLC. Treasure Island, Florida.
  34. Caricilli, A. M., Castoldi, A., & Camara, N. O. (2014). Intestinal barrier: A gentlemen's agreement between microbiota and immunity. *World journal of gastrointestinal pathophysiology*, 5(1), 18-32.
  35. Carraturo, A., Catalani, V., & Tega, L. (2008). Microbiological and epidemiological aspects of Rotavirus and enteric Adenovirus infections in hospitalized children in Italy. *New Microbiologica*, 31, 329-336.
  36. Chikhi-Brachet, R., Bon, F., Toubiana, L., Pothier, P., Nicolas, J. C., Flahault, A., & Kohili, E. (2002). Virus diversity in a winter epidemic of acute diarrhea in France. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(11), 4266–4272.
  37. Chintalacheruvu K. R., & Morrison S. L. (1997). Production of secretory immunoglobulin A by a single mammalian cell. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(12), 6364–6368.

38. Chirico, G., Marzollo, R., Cortinovis, S., Fonte, C., & Gasparoni, A. (2008). Antiinfective Properties of Human Milk. *The Journal of Nutrition*, 138(9), 1801S–1806S.
39. Clemens, J., Rao, M., Ahmed, F., Ward, R., Huda S., Chakraborty, J., Yunus, M., Khan, M. R., Ali, M., Kay, B. (1993). Breast-feeding and the Risk of Life-Threatening Rotavirus Diarrhea: Prevention or Postponement. *Pediatrics*, 92(5), 680-685.
40. Coles, F. B., Chen, G., Fkdlubar, F., & Radomska-Pandya, A. (2002). Interindividual variation and organ-specific patterns of glutathione S-transferase alpha, mu, and pi expression in gastrointestinal tract mucosa of normal individuals. *Archives of biochemistry and biophysics*, 403(2), 270-276.
41. Cordey, S., Vu, D. L., Schibler, M., Huillier, A. G. L., Brito, F., Docquier, M., Posfay-Barbe, M. K., Petty, J. T., Turin, L., Zdobnov, M. E., & Laurent, K. (2016). Astrovirus MLB2, a new gastroenteric virus associated with meningitis and disseminated infection. *Emerging Infectious Diseases Journal*, 22(5), 846–853.
42. Corthésy, B., Benureau, Y., Perrier, C., Fourgeux, C., Perez, N., Greenberg, H., & Schwartz-Cornil, I. (2006). Rotavirus anti-VP6 secretory immunoglobulin A contributes to protection via intracellular neutralization but not via immune exclusion. *Journal of Virology*, 80(21), 10692-10699.
43. Coulson, B. S., Grimwood, K., Masendycz, P. J., Lund, J. S., Mermelstein, N., Bishop, R. F., & Barnes, G. L. (1990). Comparison of rotavirus immunoglobulin A coproconversion with other indices of rotavirus infection in a longitudinal study in childhood. *Journal of Clinical Microbiology*, 28(6), 1367–1374.
44. Crottet P., & Corthesy B. (1998). Secretory component delays the conversion of secretory IgA into antigen-binding competent F(ab')<sub>2</sub>: A possible implication for mucosal defense. *Journal of Immunology*, 161(10), 5445–5453.
45. Cruz, J. R., & Arévalo, C. (1985). Fluctuation of Specific IgA Antibodies in Human Milk. *Acta Paediatrica*, 74(6), 897-903.
46. Cruz, J. R., Gil, L., Cano, F., Caceres, P., & Pareja, G. (1988). Breast milk anti-Escherichia coli heat-labile toxin IgA antibodies protect against toxin-induced infantile diarrhea. *Acta Paediatrica Scandinavia*, 77(5), 658-662.
47. De Wit, M. A., Koopmans, M. P., Kortbeek, L. M., Wannet, W. J. B., Vinjé, J., van Leusden, F., Bartelds, A. I. M., & van Duynhoven, Y. T. H. P. (2001).

- Sensor, a population based cohort study on gastroenteritis in the Netherlands: incidence and etiology. *American Journal of Epidemiology*, 154(7), 666–674.
48. Delaney, C. P., O'Neill, S., Manning, F., Fitzpatrick, J. M., & Gorey, T. F. (1999). Plasma concentrations of glutathione S-transferase isoenzyme are raised in patients with intestinal ischaemia. *British Journal of Surgery*, 86(10), 1349-1353.
  49. Derrick, B., Jelliffe, E. F., & Jelliffe, P. (1981). Breast milk and infection. *The Lancet*, 318(8243), 419.
  50. Dey, R. S., Ghosh, S., Chawla-Sarkar, M., Panchalingam, S., Nataro, J. P., Sur, D., Manna, B., & Ramamurthy, T. (2011). Circulation of a novel pattern of infections by enteric adenovirus serotype 41 among children below 5 years of age in Kolkata, India. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(2), 500–505.
  51. Diallo, A. F., McGlothen-Bell, K., Lucas, R., Walsh, S., Allen, C., Henderson, W. A., Cong, X., & McGrath, J. (2019). Feeding modes, duration, and diarrhea in infancy: Continued evidence of the protective effects of breastfeeding. *Public Health Nursing*, 37(2), 155-160.
  52. Dominguez-Bello, M. G., Costello, E. K., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Fierer, N., & Knight, R. (2010). Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(26), 11971-11975.
  53. Dong, J., Dong, L., Méndez, E., & Tao, Y. (2011). Crystal structure of the human astrovirus capsid spike. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(31), 12681–12686.
  54. Donnet-Hughes, A., Duc, N., Serrant, P., Vidal, K., & Schiffrin, E. J. (2000). Bioactive molecules in milk and their role in health and disease: the role of growth factor-beta. *Immunology and Cell Biology*, 78(1), 74–79.
  55. Donovan, M. S., Comstock, S. S. (2016). Human Milk: Lessons from Recent Research: Human Milk Oligosaccharides Influence, Neonatal Mucosal and Systemic Immunity. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 69(2), 42-51.
  56. Duffy, L. C., Byers, T. E., Riepenhoff-Talty, M., La Scolea, L. J., Zielezny, M., Ogra, P. L. (1986). The Effects of Infant Feeding on Rotavirus-Induced

- Gastroenteritis: A Prospective Study. *American Journal of Public Health*, 76(3), 259-63.
57. Eaton-Evans, J., Dugdale, A. E. (1987). Effects of feeding and social factors on diarrhea and vomiting in infants. *Archives of Disease in Childhood*, 62, 445-448.
  58. Esahli, H., Brebäck, K., Bennet, R., Ehrnst, A., Eriksson, M., & Hedlund, K. O. (1991). Astroviruses as a cause of nosocomial outbreaks of infant diarrhea. *The Pediatric Infectious Diseases Journal*, 10(7), 511–515.
  59. Fang, Z. Y., Sun, Y. P., Ye, X. H., Wang, H., Zhang, Q., Duan, Z. J., Xi, J., Steele, D., & Glass, R. (2006). Astrovirus infection among hospitalized children with acute diarrhea in seven regions of China, 1998-2005. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*, 27(8), 673–676.
  60. Fernandez, L., Langa, S., Martin, V., Jimenez, E., Martin, R., & Rodriguez, J. M. (2013). The microbiota of human milk in healthy women. *Cellular and Molecular Biology (Noisy-le-grand)*, 59(1), 31-42.
  61. Field, J. C. (2005). The Immunological Components of Human Milk and Their Effect on Immune Development in Infants. *The Journal of Nutrition*, 135(1), 1-4.
  62. Filho, E. P., da Costa Faria, N. R., Fialho, A. M., de Assis, R. S., Almeida, M. M., Rocha, M., Galvão, M., dos Santos, F. B., Barreto, M. L., & Leite, J. P. (2007). Adenoviruses associated with acute gastroenteritis in hospitalized and community children up to 5 years old in Rio de Janeiro and Salvador, Brazil. *Journal of Medical Microbiology*, 56(3), 313-319.
  63. Filipovic, D. (1997). *Ishrana zdrave I bolesne dece: Humano mleko*. Beograd: Nauka, 75-97
  64. Filipovic, D. (1995). *Decja Gastroenterologija: Akutni Gastroenteritis*. Beograd: Nauka, 127-144.
  65. France, G. L., Marmer, D. J., & Steele, R. W. (1980). Breast-feeding and Salmonella infection. *The American Journal of Diseases in Children*, 134(2), 147-152.
  66. Franco, M. A., & Greenberg, H. B. (2000). Immunity to homologous rotavirus infection in adult mice. *Trends in Microbiology*, 8(2), 50–52.
  67. Franco, M. A., & Greenberg, H. B. (1995). Role of B cells and cytotoxic T lymphocytes in clearance of and immunity to rotavirus infection in mice. *Journal of Virology*, 69(12), 7800-7806.

68. Frank, N. M., Lynch, K. F., Uusitalo, U., Yang, J., Lönnrot, M., Virtanen, S. M., Hyöty, H., & Norris, J. M. (2019). TEDDY Study Group. The relationship between breastfeeding and reported respiratory and gastrointestinal infection rates in young children. *BMC Pediatrics*, 19(1), 339.
69. Fuchs, S. C., Victora, C. G., Martines, J. (1996). Case-control Study of Risk of Dehydrating Diarrhoea in Infants in Vulnerable Period After Full Weaning. *British Medical Journal*, 313(7054), 391-394.
70. Gearhart, S. L., Delaney, C. P., Senagore, A. J., Banbury, M. K., Remzi, F. H., Kiran, R. P., & Fazio, V. W. (2003). Prospective assessment of the predictive value of alpha-glutathione S-transferase for intestinal ischemia. *The American Surgeon*, 69(4), 324-329.
71. Glass, R. I., Parashar, U. D., & Estes, M. K. (2009). Norovirus gastroenteritis. *New England Journal of Medicine*, 361(18), 1776-1785.
72. Glass, R. I., Svennerholm, A. M., Stoll, B. J., Khan, M. R., Hossain, K. M., Huq, M. I., & Holmgren, J. (1983). Protection against cholera in breast-fed children by antibodies in breast milk. *New England Journal of Medicine*, 308(23), 1389-1392.
73. Goldman, A. S. (1993). The immune system of human milk: antimicrobial, antiinflammatory and immunomodulating properties, *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 12(8), 664-671.
74. Goldman, A. S., Garza, C., Nichols, L. B., & Goldblum, M. R. (1982). Immunologic factors in human milk during the first year of lactation, *Journal of Pediatrics*, 100(4), 563-567.
75. Gonzalez, R., Maldonado, A., Martin, V., Mandomando, I., Fumado, V., Metzner, K. J., Saco, C., Fernández, L., Macete, E., Alonso, P. L., Rodríguez, J. M., & Menendez, C. (2013). Breast milk and gut microbiota in African mothers and infants from an area of high HIV prevalence. *Public Library of Science One*, 8(11), e80299.
76. Greenberg, H. B., & Estes, M. K. (2009). Rotaviruses: from pathogenesis to vaccination. *Gastroenterology*, 136(6), 1939-1951.
77. Groer, M., Davis, M., & Steele, K. (2004). Associations between human milk SIgA and maternal immune, infectious, endocrine, and stress variables. *Journal of Human Lactation*, 20(2), 153-158.

78. Groome, M. J., Moon, S. S., Velasquez, D., Stphanie, J., Anthonet, K., Nadia, V. N., Boaming, J., Umesh, D. P., & Shabr, A. M. (2014). Effect of breastfeeding on immunogenicity of oral live-attenuated human rotavirus vaccine: a randomized trial in HIV-uninfected infants in Soweto, South Africa. *Bulletin of the World Health Organization*, 92(4), 238–245.
79. Grootjans, J., Thuijls, G., Verdam, F., Derikx, P. M. J., Lenaerts, K., & Buurman, A. W. (2010). Non-invasive assessment of barrier integrity and function of the human gut. *World Journal of Gastrointestinal Surgery*, 2(3), 61–69.
80. Guarino, A., Ashkenazi, S., Gendrel, D., Lo Vecchio, A., Shamir, R., & Szajewska, H. (2014). Evidence-based guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe: update 2014. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 59(1), 132-152.
81. Hanson, L. A. (1982). The mammary gland as an immunological organ. *Immunology Today*, 3(6), 168-172.
82. Haschke, F., Haiden, N., & Thakkar, K. S. (2016). Human Milk: Lessons from Recent Research: Nutritive and Bioactive Proteins in Breastmilk: Lactoferrin. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 69(2), 20.
83. Haschke, F., Haiden, N., Detzel, P., Yarnoff, B., Allaire, B., & Haschke-Becher, E. (2013). Feeding patterns during the first 2 years and health outcome. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 62(3), 16–25.
84. Hayani, K. C., Guerrero, M. L., Morrow, A. L., Gomez, H. F., Winsor, D. K., Ruiz-Palacios, G. M., & Cleary, T. G. (1992). Concentration of milk secretory immunoglobulin A against *Shigella* virulence plasmid-associated antigens as a predictor of symptom status in *Shigella*-infected breast-fed infants. *The Journal of Pediatrics*, 121(6), 852-856.
85. He, Y. Y., Lawlor, N. T., & Newburg, D. S. (2016). Human Milk Components Modulate Toll-Like Receptor-Mediated Inflammation. *Advances in Nutrition*, 7(1), 102-111.
86. Heikkila, M. P., & Saris, P. E. (2003). Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. *Journal of applied microbiology*, 95(3), 471–478.

87. Hye, S., Ahyong, J., & Doo-Sung, C. (2012). Epidemiology of astrovirus infection in children Korean. *The Journal of Pediatrics*, 55(3), 77–82.
88. Jatsyk, G. V., Kuvaeva, I. B., & Gribakin, S. G. (1985). Immunological protection of the neonatal gastrointestinal tract: the importance of breast feeding. *Acta Paediatrica*, 74(2), 246-249.
89. Jeurink, P. V., van Berghenhenegouwen, J., Jiménez, E., Knippels, L. M., Fernández, L., Garssen, J., Knol, J., Rodríguez, J. M., & Martín, R. (2013). Human milk: a source of more life than we imagine. *Beneficial Microbes*, 4(1), 17–30.
90. Jelliffe D. B. & Jelliffe E. F. P. (1981). Breast milk and infection. *The Lancet*, 318(8243), 419.
91. Johansen F. E., & Kaetzel C. S. (2011). Regulation of the polymeric immunoglobulin receptor and IgA transport: New advances in environmental factors that stimulate pIgR expression and its role in mucosal immunity. *Mucosal Immunology*, 4(6), 598–602.
92. Johansson, M. E., Phillipson, M., Petersson, J., Velcich, A., Holm, L., & Hansson G. C. (2008). The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(39), 15064–15069.
93. Jones, G., Steketee, R. W., Black, R. E., Bhutta, Z. A., & Morris, S. S. Bellagio Child Survival Study Group. (2003). How many child deaths can we prevent this year? *Lancet*, 362(9377), 65–71.
94. Kamada, N., Seo, S. U., Chen, G. Y., & Nunez, G. (2013). Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. *Nature Reviews Immunology*, 13(5), 321-335.
95. Kazemi, A., Tabatabaie, F., Agha-Ghazvini, M. R., & Kelishadi, R. (2006). The role of rotavirus in acute pediatric diarrhea in Isfahan, Iran. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 22(3), 282–285.
96. Kelly, N., Friend, K., Boyle, P., Zhang, X. R., Wong, C., Hackam, D. J., Zamora, R., Ford, H. R., & Upperman, J. S. (2004). The role of the glutathione antioxidant system in gut barrier failure in a rodent model of experimental necrotizing enterocolitis. *Surgery*, 136(3), 557–566.



97. Khazenson, L. B., Nikolaeva, T. A., Romanenkova, N. I., & Gennad'eva, Tla. (1980). Mechanism of action of secretory IgA antibodies. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol Journal*, (11), 37-42.
98. Khodayar-Pardo, P., Mira-Pascual, L., Collado, M. C., & Martinez-Costa, C. (2014). Impact of lactation stage, gestational age and mode of delivery on breast milk microbiota. *Journal of perinatology*, 34(8), 599–605.
99. Khurana, S., Corbally, M. T., Manning, F., Armenise, T., Kierce, B., & Kilty, C. (2002). Glutathione S-transferase: A potential new marker of intestinal ischemia. *Journal of Pediatric Surgery*, 37(11), 1543-1548.
100. Kim, K. S., Keeney, E. S., Alpard, K. S., & Schmalstieg, C. F. (2003). Comparison of I-Selectin and CD11b on Neutrophils of Adults and Neonates during the First Month of Life. *Pediatric Research*, 53(1), 132–136.
101. King, C. K., Glass, R., Bresee, J. S., & Duggan, C. (2003). Managing acute gastroenteritis among children: oral rehydration, maintenance, and nutritional therapy. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recommendation Report*, 52(RR-16), 1-16.
102. Kong, C., Li, Shu-Min., Yang, H., Xiao, Wei-Dong., Cen, Yun-Yun., Wu, Y., Li, Wei-Ming., Sun, Da-Li., & Xu, Peng-Yuan. (2019). Screening and combining serum biomarkers to improve their diagnostic performance in the detection of intestinal barrier dysfunction in patients after major abdominal surgery. *Annals of Translational Medicine*, 7(16): 388.
103. Koopmans, M. P., Bijen, M. H., Monroe, S. S., & Vinje, J. (1998). Age-stratified seroprevalence of neutralizing antibodies to astrovirus types 1 to 7 in humans in The Netherlands. *Archive of Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 5(1), 33–37.
104. Koutras, A. K., & Vigorita, V. J. (1989). Fecal secretory immunoglobulin A in breast milk versus formula feeding in early infancy. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 9(1), 58-61.
105. Krawczyk, A., Lewis, M. G., Venkatesh, B. T., & Nair, S. N. (2016). Effect of Exclusive Breastfeeding on Rotavirus Infection among Children. *Indian Journal of Pediatrics*, 83(3), 220-225.

106. Kristensen, K., & Henriksen, L. (2016). Cesarean section and disease associated with immune function. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 137(2), 587-590.
107. Kuklin, N. A., Rott, L., Feng, N., Conner, M. E., Wagner, N., Muller, W., & Greenberg, H. B. (2001). Protective intestinal anti-rotavirus B cell immunity is dependent on alpha 4 beta 7 integrin expression but does not require IgA antibody production. *The Journal of Immunology*, 166(3), 1894-1902.
108. Kumar, M., Babaei, P., Ji, B., & Nielsen, J. (2016). Human gut microbiota and healthy aging: Recent developments and future prospective. *Nutritional and Healthy Aging*, 4(1), 3-16.
109. Kumar, V. B., Connors, T., & Farber, L. D. (2018). Human T cell development, localization, and function throughout life. *Immunity*, 48(2), 202–213.
110. Kurokawa, M., Ono, K., Nukina, M., Itoh, M., Thapa, U., & Rai, S. K. (2004). Detection of diarrheagenic viruses from diarrheal fecal samples collected from children in Kathmandu, Nepal. *Nepal Medical College Journal*, 6(1), 17-23.
111. Lamberti, M. L., Fischer Walker, L. C., Noiman, A., Cesar, V., & Black, E. R. (2011). Breastfeeding and the risk for diarrhea morbidity and mortality. *BMC Public Health*, 11(3), S15
112. Lauer, J. A., Betran, A. P., Barros, A. J., & de Onis, M. (2006). Deaths and years of life lost due to suboptimal breast-feeding among children in the developing world: a global ecological risk assessment. *Public Health Nutrition*, 9(6), 673–685.
113. Lawrence, R. A., & Lawrence, R. M. (2005). *Breastfeeding. A guide for the medical profession 6<sup>th</sup> edition: Biochemistry of human milk*. Philadelphia: Elsevier Mosby, 91-145.
114. Lawrence, R. A., & Lawrence, R. M. (2005). *Breastfeeding. A guide for the medical profession 6<sup>th</sup> edition: Factors and Immunologic Significance of Human Milk*. Philadelphia: Elsevier Mosby, 146–193.
115. Lawrence, R. A., & Lawrence, R. M. (2005). *Breastfeeding. A guide for the medical profession 6<sup>th</sup> edition: The Revolution of infant feeding*. Philadelphia: Elsevier Mosby, 1-33.

116. Le Doare, K., Holder, B., Bassett, A., & Pannaraj S. P. (2018). Mother's Milk: A Purposeful Contribution to the Development of the Infant Microbiota and Immunity. *Frontiers in immunology*, 9, 361.
117. LeBien, T. W., & Tedder, T. F. (2008). B lymphocytes: how they develop and function. *Blood*, 112(5), 1570-1580.
118. Lécuyer, E., Rakotobe, S., Lengliné-Garnier, H., Lebreton, C., Picard M., Juste, C., Fritzen, R., Eberl, G., McCoy, K. D., Macpherson, A. J., Reynaud, C. A., Cerf-Bensussan, N., & Gaboriau-Routhiau, V. (2014). Segmented filamentous bacterium uses secondary and tertiary lymphoid tissues to induce gut IgA and specific T helper 17 cell responses. *Immunity*, 40(4), 608–620.
119. Levy, A. G., Widerlite, L., Schwartz, C. J., Dolin, R., Blacklow, R. N., Gardner, D. J., Kimberg, V. D., & Trier, S. J. (1976). Jejunal adenylate cyclase activity in human subjects during viral gastroenteritis. *Gastroenterology*, 70, 321–325.
120. Lin, H. C., Kao, C. L., Lu, C. Y., Lee, C. N., Chiu, T. F., Lee, P. I., Tseng, H. Y., Hsu, H. L., Lee, C. Y., & Huang, L. M. (2000). Enteric adenovirus infection in children in Taipei. *Journal of Microbiology Immunology and Infection*, 33(3), 176-180.
121. Lonnerdal B. (2004). Human milk proteins: key components for the biological activity of human milk. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 554: 11– 25.
122. Lonnerdal B. (2003). Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 77(6), 1537S–1543S.
123. Lynch, J. P., & Kajon, A. E. (2016). Adenovirus: Epidemiology, Global Spread of Novel Serotypes, and Advances in Treatment and Prevention. *Seminars in Respiratory Critical Care Medicine*, 37(4), 586.
124. Macpherson, A. J., Köller, Y., & McCoy, K. D. (2015). The bilateral responsiveness between intestinal microbes and IgA. *Trends in immunology*, 36(8), 460–470.
125. Macpherson, A. J. & Uhr, T. (2004). Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. *Science*, 303(5664), 1662–1665.

126. Macpherson, A. J., Lamarre, A., McCoy, K., Harriman, G. R., Odermatt, B., Dougan, G., Hengartner, H., Zinkernagel, R. M. (2001). IgA production without mu or delta chain expression in developing B cells. *Nature immunology*, 2(7):625-631.
127. Macpherson, A. J., Gatto, D., Sainsbury, E., Harriman, G. R., Hengartner, H., & Zinkernagel, R. M. (2000). A primitive T cell-independent mechanism of intestinal mucosal IgA responses to commensal bacteria. *Science*, 288(5474), 2222–2226.
128. Mantis, J. N., Rol, N., & Corthésy, B. (2011). Secretory IgA's Complex Roles in Immunity and Mucosal Homeostasis in the Gut. *Mucosal Immunology*, 4(6), 603–611.
129. Maranhão, S. H., Medeiros, M. C. C., Scaletsky, I. C. A., Fagundes-Neto, U., Morais, M. B. (2008). The Epidemiological and Clinical Characteristics and Nutritional Development of Infants With Acute Diarrhoea, in North-Eastern Brazil. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 102(4), 357-365.
130. Mardesic, D. (2003). *Pedijatrija: Prehrana: Dojenje*. Zagreb: Skolska knjiga, 240-260.
131. Mardesic, D. (2003). *Pedijatrija: Imunost I imunodeficiencije: Razvoj I funkcija imunskog sustava*. Zagreb: Skolska Knjiga, 397-400.
132. Maruyama, K., Hida, M., Kohgo, T., & Fukunaga, Y. (2009). Changes in salivary and fecal secretory IgA in infants under different feeding regimens. *Pediatric International*, 51(3),342-345.
133. Mathias A., & Corthésy B. (2011). N-Glycans on secretory component: Mediators of the interaction between secretory IgA and gram-positive commensals sustaining intestinal homeostasis. *Gut Microbes*, 2(5), 287–293.
134. McGuckin, M. A., Linden, S. K., Sutton, P., & Florin, T. H. (2011). Mucin dynamics and enteric pathogens. *Nature reviews. Microbiology*, 9(4), 265–278.
135. McGuire, W., & Anthony, M. Y. (2003). Donor human milk versus formula for preventing necrotising enterocolitis in preterm infants: systematic review. *Archives of diseases in childhood Fetal and Neonatal Edition*, 88(1), F11-4.
136. McLean, B., & Holmes, I. H. (1980). Transfer of Antitrotaviral Antibodies From Mothers to Their Infants *Journal of Clinical Microbiology*, 12(3), 320-325.

137. McMonagle, M. P., Halpenny, M., McCarthy, A., Mortell, A., Manning, F., Kilty, C., Mannion, D., Wood, A. E., & Corbally, M. T. (2006). Alpha glutathione S-transferase: a potential marker of ischemia-reperfusion injury of the intestine after cardiac surgery? *Journal of Pediatric Surgery*, 41(9), 1526–1531.
138. Mestecky, J., & Russell, M. W. (2009). Specific antibody activity, glycan heterogeneity and polyreactivity contribute to the protective activity of S-IgA at mucosal surfaces. *Immunology letters*, 124(2), 57–62.
139. Miranda, R., Saravia, N. G., Ackerman, R., Murphy, N., Berman, S., & McMurray D. N. (1983). Effect of maternal nutritional status on immunological substances in human colostrum and milk. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 37(4), 632-640.
140. Misra, S., Sabui, K. T., Basu, S., Pal, N. (2007). A Prospective Study of Rotavirus Diarrhea in Children Under 1 Year of Age. *Clinical Pediatrics*, 46(8), 683-388.
141. Mitchell, D. K., Matson, D. O., Cubitt, W. D., Jackson, L. J., Willcocks, M. M., Pickering, L. K., & Carter, M. J. (1999). Prevalence of antibodies to astrovirus types 1 and 3 in children and adolescents in Norfolk, Virginia. *The Pediatric Infectious Diseases Journal*, 18(3), 249–254.
142. Mitchell, D. K., Van, R., Morrow, A. L., Monroe, S. S., Glass, R. I., & Pickering, L. K. (1993). Outbreaks of astrovirus gastroenteritis in day care centers. *The Journal of Pediatrics*, 123(5), 725-32.
143. Modares, S., Rahbarimanesh, A., Faghihzadeh, S., Jamafzon, F., & Karimi, M. (2005). The role of Rotavirus in acute gastroenteritis and molecular epidemiology pattern of Rotavirus infection in hospitalized children in Tehran. *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine*, 10(29), 21–29.
144. Moens, E., & Veldhoen M. (2012). Epithelial barrier biology: good fences make good neighbours. *Immunology*, 135(1), 1-8.
145. Moirasgenti, M., Doulougeri, K., Panagopoulou, E., & Theodoridis, T. (2019). Psychological stress reduces the immunological benefits of breast milk. *Stress and Health: Journal of the International Society for the investigation and stress*, 35(5), 681-685.

146. Molberg, O., Nilsen, E. M., Sollid, L. M., Scott, H., Brandtzaeg, P., Thorsby, E., & Lundin, K. E. (1998). CD4+ T cells with specific reactivity against astrovirus isolated from normal human small intestine. *Gastroenterology*, 114(1), 115–122.
147. Moon, S. S., Wang, Y., Shane, A. L., Nguyen, T., Ray, P., Dennehy, P., Baek, L. J., Parashar, U., Glass, R. I., & Jiang, B. (2010). Inhibitory effect of breast milk on infectivity of live oral rotavirus vaccines. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 29(10), 919–923.
148. Moser, L. A., Carter, M., & Schultz-Cherry, S. (2007). Astrovirus increases epithelial barrier permeability independently of viral replication. *Journal of Virology*, 81(21), 11937–11945.
149. Muller, C. A., Autenrieth, I. B., & Peschel, A. (2005). Innate defenses of the intestinal epithelial barrier. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62(12), 1297–1307.
150. Newburg, S. D., & Walker, E. A. (2007). Protection of the Neonate by the Innate Immune System of Developing Gut and of Human Milk. *Pediatric Research*, 61(1), 2–8.
151. Nijhoff, W. A., Bosboom, M. A., Smidt, M. H., & Peters, W. H. (1995). Enhancement of rat hepatic and gastrointestinal glutathione and glutathione S-transferases by alpha-angelicalactone and flavone. *Carcinogenesis*, 16(3), 607-612.
152. Noakes, P. S., Hale, J., Thomas, R., Lane, C., Devadason, S. G., & Prescott, S. L. (2006). Maternal smoking is associated with impaired neonatal toll-like-receptor-mediated immune responses. *European Respiratory Journal*, 28(4), 721-729.
153. Noguera-Obenza M., & Cleary T. G. (2001). The Role of Human Milk Secretory IgA in Protecting Infants from Bacterial Enteritis. *Advances in Nutritional Research*, 10, 213-229
154. Norderhaug, I. N., Johansen, F. E., Schjerven, H., & Brandtzaeg, P. (1999). Regulation of the formation and external transport of secretory immunoglobulins. *Critical Reviews in Immunology*, 19(5-6), 481–508.

155. Olivares, M., Albrecht, S., De Palma, G., Ferrer, M. D., Castillejo, G., Schols, H. A., & Sanz, Y. (2015). Human milk composition differs in healthy mothers and mothers with celiac disease. *European journal of nutrition*, 54(1), 119–128.
156. Olortegui, M. P., Rouhani, S., Yori, P. P., Salas, M. S., Trigos, D. R., Mondal, D., Bodhidatta, L., Platts-Mills, J., Samie, A., Kabir, F., Lima, A., Babji, S., Shrestha, S. K., Mason, C. J., Kalam, A., Bessong, P., Ahmed, T., Mduma, E., Bhutta, Z. A., Lima, I., Ramdass, R., Moulton, L. H., Lang, D., George, A., Zaidi, A. K. M., Kang, G., Houpt, E. R., & Kosek, M. N.; MAL-ED Network. (2018). Astrovirus Infection and Diarrhea in 8 Countries. *Pediatrics*, 141(1), e20171326.
157. Onwuezobe, I. A., Oshun, P. O., & Odigwe, C. C. (2012). Antimicrobials for treating symptomatic non-typhoidal *Salmonella* infection. *Cochrane Database Systematic Review*. John Wiley & Sons, Ltd.11 (CD001167), 1-39.
158. Ozawa, K., Oka, T., Takeda, N., & Hansman, G. S. (2007). Norovirus infections in symptomatic and asymptomatic food handlers in Japan. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(12), 3996–4005.
159. Özer, T. T., Yula, E., Deveci, Ö., Tekin, A., Durmaz, S., Gülenç, M., & Yanık, K. (2011). Frequency of Rotavirus and Enteric Adenoviruses among children with acute gastroenteritis in a district hospital. *Journal of Microbiology and Infectious Diseases*, 1(2), 64-67.
160. Ozsari, T., Bora, G., Kaya, B., & Yakut, K. (2016). The Prevalence of Rotavirus and Adenovirus in the Childhood Gastroenteritis. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 9(6): e34867.
161. Pabst, O., Cerovic, V., & Hornef, M. (2016). Secretory IgA in the Coordination of Establishment and Maintenance of the Microbiota. *Trends in immunology*, 37(5), 287–296.
162. Palm, N. W., de Zoete, M. R., Cullen, T. W., Barry, N. A., Stefanowski, J., Hao, L., Degnan, P. H., Hu, J., Peter, I., Zhang, W., Ruggiero, E., Cho, J. H., Goodman, A. L., & Flavell, R. A. (2014). Immunoglobulin A coating identifies colitogenic bacteria in inflammatory bowel disease. *Cell*, 158(5), 1000–1010.
163. Pang, K. Y., Bresson, J. L., & Walker, W. A. (1983). Development of the gastrointestinal mucosal barrier. Evidence for structural differences in microvillus

- membranes from newborn and adult rabbits. *Biochimica et Biophysica Acta*, 727(1), 201-208.
164. Parashar, U. D., Hummelman, E. G., Bresee, J. S., Miller, M. A., & Glass, R. I. (2003). Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerging Infectious Diseases Journal*, 9(5), 565–72.
  165. Parashar, U. D., Bresee, J. S., Gentsch, J. R., & Glass, R. I. (1998). Rotavirus. *Emerging Infectious Disease Journal*, 4(4), 561–570.
  166. Parrino, T. A., Schreiber, D. S., Trier, J. S., Kapikian, A. Z., & Blacklow, N. R. (1977). Clinical immunity in acute gastroenteritis caused by Norwalk agent. *New England Journal of Medicine*, 297(2), 86–89.
  167. Peitersen, B., Bohn, L., & Andersen, H. (1975). Quantitative determination of immunoglobulins, lysozyme, and certain electrolytes in breast milk during the entire period of lactation, a 24-hour period, and in milk from the individual mammary gland. *Acta Paediatrica*, 64(5), 709-717.
  168. Perez-Vilar J.(2007). Mucin granule intraluminal organization. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 36(2), 183–190.
  169. Peters, H. M. W., Roelofs, M. J. H., Nagengast, M. F., & Van Tongeren, H. M. J. (1989). Human intestinal glutathione s-transferases. *The Biochemical Journal*, 257(2), 471-476.
  170. Pham, H. O., & McSorley, J. S. (2015). Protective host immune responses to *Salmonella* infection. *Future Microbiology*, 10(1), 101–110.
  171. Plenge-Bönig, A., Soto-Ramírez, N., Karmaus, W., Petersen, G., Davis, S., & Forster J. (2010). Breastfeeding protects against acute gastroenteritis due to rotavirus in infants. *European journal of Pediatrics*, 169(12), 1471-1476.
  172. Polak-Charcon, S., Shoham, J., & Ben-Shaul, Y. (1980). Tight junctions in epithelial cells of human fetal hindgut, normal colon, and colon adenocarcinoma. *The Journal of National Cancer Institute*, 65 (1), 53–62.
  173. Prameela, K. K., & Mohamed, A. K. (2010). Breast milk immunoprotection and the common mucosal immune system: a review. *Malaysian Journal of Nutrition*.16(1), 1-11.
  174. Prasad, B. V., & Chiu, W. (1994). Structure of rotavirus. *Current Topics of Microbiology and Immunology*, 185, 9-29.
  175. Prasetyo, D., Sabaroedin, I. M., Ermaya, Y. S., Soenarto, Y. (2015). Association Between Severe Dehydration in Rotavirus Diarrhea and Exclusive



- Breastfeeding Among Infants at Dr. Hasan Sadikin General Hospital, Bandung, Indonesia. *Journal of Tropical Medicine*, 862578.
176. Quan, P. L., Wagner, T. A., Briese, T., Torgerson, T. R., Hornig, M., Tashmukhamedova, A., Firth, C., Palacios, G., Baisre-De-Leon, A., Paddock, C. D., Hutchison, S. K., Egholm, M., Zaki, S. R., Goldman, J. E., Ochs, H. D., & Lipkin W. I. (2010). Astrovirus encephalitis in boy with X-linked agammaglobulinemia. *Emerging Infectious Diseases Journal*, 16(6), 918–925.
177. Quigley, M. A., Kelly, Y. J., & Sacker, A. (2007). Breastfeeding and hospitalization for diarrheal and respiratory infection in the United Kingdom Millenium Cohort Study. *Pediatrics*, 119(4), e837–e842.
178. Rai, D., Adelman, A. S., Zhuang, W., Rai, G. P., Boettcher, J., & Lönnerdal, B. (2014). Longitudinal changes in lactoferrin concentrations in human milk: a global systematic review. *Critical Reviews in Food Sciences an Nutrition*, 54(12), 1539–1547.
179. Rajendra, S., Yang, Y., Sharma, A., Awasthi, S., & Awasthi, Y. C. (2004). Antioxidant Role of Glutathione S-Transferases: Protection Against Oxidant Toxicity and Regulation of Stress-Mediated Apoptosis. *Antioxidants and Redox Signaling*, 6(2), 289-300.
180. Ramig, R. F. (1997). Genetics of the rotaviruses. *Annual Review of Microbiology*, 51(10), 225-255.
181. Reikvam, D. H., Derrien, M., Islam, R., Erofeev, A., Grcic, V., Sandvik, A., Gaustad, P., Meza-Zepeda, L. A., Jahnsen, F. L., Smidt, H., & Johansen, F. E. (2012). Epithelial-microbial cross-talk in polymeric Ig receptor deficient mice. *European journal of immunology*, 42(11), 2959–2970.
182. Relić, T., Begović-Lazarević, I., Pavlović, N., Ilić, N., Kacarević, H., Jovanović, D., Kostić, G., & Lazarević, I. (2015). Characteristics of norovirus infection in Serbia. *Vojnosanitski Pregled*, 72(4), 328-333.
183. Rios, D., Wood, M. B., Li, J., Chassaing, B., Gewirtz, A. T., & Williams, I. R. (2016). Antigen sampling by intestinal M cells is the principal pathway initiating mucosal IgA production to commensal enteric bacteria. *Mucosal immunology*, 9(4), 907–916.

184. Rivas, R. A., el-Mohandes, A. A., & Katona, I. M. (1994). Mononuclear phagocytic cells in human milk: HLA-DR and Fc gamma R ligand expression. *Biology of the Neonate*, 66(4), 195-204.
185. Robertson, M. (1998). Innate Immunity. *Current Biology*, 8(17), 595-597.
186. Rodriguez, J. M., Murphy, K., Stanton, C., Ross, R. P., Kober, O. I., Juge, N., Avershina, E., Rudi, K., Narbad, A., Jenmalm, M. C., Marchesi, J. R., & Collado, M. C. (2015). The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microbial Ecology in Health and Diseases*, 26, 26050.
187. Rogier, W. E., Frantz, L. A., Maria ECB, Maria EC., & Kaetzel, SC. (2014). Secretory IgA is Concentrated in the Outer Layer of Colonic Mucus along with Gut Bacteria. *Pathogens*, 3(2), 390–403.
188. Rongsen-Chandola, T., Strand, A. T., Goyal, N., Flem, E., Rathore, S. S., Arya, A., Winje, B., Lazarus, R., Shanmugasundaram, E., Babji, S., Sommerfelt, H., Vainio, K., Kang, G., & Bhandari, N. (2014). Effect of withholding breastfeeding on the immune response to a live oral rotavirus vaccine in North Indian infants. *Vaccine*, 32(1), A134–A139.
189. Rooks M. G., & Garrett W. S. (2016). Gut microbiota, metabolites and host immunity. *Nature reviews Immunology*, 16(6), 341-352.
190. Rose, A. M. (2014). Mucosal Immunity and acute viral gastroenteritis. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*, 10 (7), 2112-2114.
191. Ruiz-Palacios, G. M., Calva, J. J., Pickering, L. K., Lopez-Vidal, Y., Volkow, P., Pezzarossi, H., & West, M. S. (1990). Protection of breast-fed infants against *Campylobacter* diarrhea by antibodies in human milk. *Journal of Pediatrics*, 116(5), 707-713.
192. Ruvoën-Clouet, N., Mas, E., Marionneau, S., Guillon, P., Lombardo, D., & Le Pendu, J. B. (2006). Salt-stimulated lipase and mucins from milk of 'secretor' mothers inhibit the binding of Norwalk virus capsids to their carbohydrate ligands. *Biochemical Journal*, 393(3), 627-34.
193. Sadeharju, K., Knip, M., Virtanen, S. M., Savilahti, E., Tauriainen, S., Koskela, P., Akerblom, H. K., & Hyoty, H. (2007). Finnish TRIGR Study Group. Maternal antibodies in breast milk protect the child from enterovirus infections. *Pediatrics*, 119(5), 941–946

194. Salerno-Goncalves, R., Safavie, F., Fasano, A., & Sztein, M. B. (2016). Free and complexed-secretory immunoglobulin A triggers distinct intestinal epithelial cell responses. *Clinical and experimental immunology*, 185(3), 338–347.
195. Salim, A. F., Phillips, A. D., & Farthing, M. J. (1990). Pathogenesis of gut virus infection. *Baillieres Clinical Gastroenterology*, 4(3), 593-607.
196. Salzman, N. H., Underwood, M. A., & Bevins, C. L. (2007). Paneth cells, defensins, and the commensal microbiota: a hypothesis on intimate interplay at the intestinal mucosa. *Seminars in Immunology*, 19(2), 70–83.
197. Samarbafzadeh, A., Tehrani, E. M., Makvandi, M., & Taremi, M. (2005). Epidemiological aspects of rotavirus infection in Ahwaz, Iran. *Journal of health, population and nutrition*, 23(3), 245-249.
198. Samiec, P. S., Dahm, L. J., & Jones, D. P. (2000). Glutathione S-Transferase in Mucus of Rat Small Intestine. *Toxicological Sciences*, 54(1), 52-59.
199. Santos, F. S., Santos, F. C., Santos, L. H., Leite, A. M., & Mello, D. F. (2015). Breastfeeding and protection against diarrhea: an integrative review of literature. *Einstein (Sao Paulo)*, 13(3), 435-440.
200. Schack, L., Lange, A., Kelsen, J., Agnholt, J., Christensen, B., Petersen, T. E., & Sørensen, E. S. (2009). Considerable variation in the concentration of osteopontin in human milk, bovine milk, and infant formulas. *Journal of Dairy Science*, 92(11), 5378–5385.
201. Schroeder, W. H., & Cavacini, L. (2010). Structure and Function of Immunoglobulins. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(202), S41–S52.
202. Sdiri-Loulizi, K., Gharbi-Khélifi, H., de Rougemont, A., Chouchane, S., Sakly, N., Ambert-Balay, K., Hassine, M., Guédiche, M. N., Aouni, M., & Pothier, P. (2008). Acute infantile gastroenteritis associated with human enteric viruses in Tunisia. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(4), 1349-1355.
203. Sebire, N. J., Malone, M., Shah, N., Anderson, G., Gaspar, H. B., & Cubitt, W. D. (2004). Pathology of astrovirus associated diarrhoea in a paediatric bone marrow transplant recipient. *Journal of Clinical Pathology*, 57(9), 1001–1003.
204. Sharifi-Rad, J., Alfatemi, S. M. H., Sharifi-Rad, M., & Miri, A. (2015). Frequency of adenoviruses, rotaviruses and noroviruses among diarrhea samples collected

- from infants of Zabol, Southeastern Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 8(3), e15440.
205. Sherratt, J. P., & Hayes, D. J. (2001). *Enzyme Systems that Metabolise Drugs and Other Xenobiotics: Glutathione S-transferases*. New Jersey: John Wiley and Sons Ltd, 319-352
206. Sherif L. S, Abdel Raouf, R. K, El Sayede, R. M, El Wakkadd, A. S, Shoaib, A. R, Ali, H. M., & El-Refay, S. A. (2015). Glutathione Transferase as a Potential Marker for Gut Epithelial Injury versus the Protective Role of Breast Milk sIgA in Infants with Rota Virus Gastroenteritis. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 3(4), 676–680.
207. Shimizu, H., Phan, T. G., Nishimura, S., Okitsu, S., Maneekarn, N., & Ushijima, H. (2007). An outbreak of adenovirus serotype 41 infection in infants and children with acute gastroenteritis in Maizuru City, Japan. *Infection Genetics and Evolution Journal*, 7(2), 279–284.
208. Shimizu, H., Li, L., Mitamura, K., Okuyama, K., Hirai, Y., & Ushijima, H. (2001). Evaluation of immunochromatography based rapid detection kit of rotavirus and adenovirus. *Kansenshogaku Zasshi. The Journal of Japanese Association for Infectious Diseases*, 75(12), 1040-1046.
209. Sitarik, A. R., Bobbitt, K. R., Havstad, S. L., Fujimura, K. E., Levin, A. M., Zoratti, E. M., Kim, H., Woodcroft, K. J., Wegienka, G., Ownby, D. R., Joseph, C. L. M., Lynch, S. V., & Johnson, C. C. (2017). Breast milk transforming growth factor beta is associated with neonatal gut microbial composition. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 65(3), e60–67.
210. Slade, B. H., & Schwartz, A. S. (1987). Mucosal immunity: The immunology of breast milk. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 80(3), 348-358
211. Sommer, F., & Backhed, F. (2013). The gut microbiota—masters of host development and physiology. *Nature Reviews. Microbiology*, 11(4), 227-238.
212. Soto, A., Martin, V., Jimenez, E., Mader, I., Rodriguez, J. M., & Fernandez, L. (2014). Lactobacilli and bifidobacteria in human breast milk: influence of antibiotherapy and other host and clinical factors. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 59(1), 78–88.

213. Stuebe, A. (2009). The risks of not breastfeeding for mothers and infants. *Reviews in obstetrics and gynecology*, 2(4), 222-231.
214. Sutherland, D. B., Suzuki, K., & Fagarasan, S. (2016). Fostering of advanced mutualism with gut microbiota by Immunoglobulin A. *Immunological reviews*, 270(1), 20–31.
215. Takiishi, T., Ideli Morales F. C., & Saraiva Câmara, N. O. (2017). Intestinal barrier and gut microbiota: Shaping our immune responses throughout life. *Tissue Barriers*, 5(4), e1373208.
216. Tate, J. E., Parashar, U. D., (2014) Rotavirus vaccines in routine use. *Clinical Infectious Diseases*, 59(9), 1291–1301.
217. Tate, J. E., Burton, A. H., Boschi-Pinto, C., Steele, A. D., Duque, J., & Parashar, U. D. (2012). 2008 estimate of worldwide rotavirus-associated mortality in children younger than 5 years before the introduction of universal rotavirus vaccination programmes: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases*, 12(2), 136 –141.
218. Topkaya, A. E., Aksungar, B., Özakkafı, F., & Çapan, N. (2006). Examination of rotavirus and enteric adenovirus in children with acute gastroenteritis. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 36 (4), 210-213.
219. Triveni, K. (2014). Novel human astroviruses: challenges for developing countries. *VirusDisease*, 25(2), 208–214.
220. Tsuruta, T., Inoue, R., Nojima, I., Tsukahara, T., Hara, H., & Yajima. T. (2009). The amount of secreted IgA may not determine the secretory IgA coating ratio of gastrointestinal bacteria. *FEMS Immunology and medical microbiology*, 56(2),185–189.
221. van der Waai, L. A., Harmsen, H. J., Madjipour, M., Kroese, F. G., Zwieters, M., van Dullemen, H. M., de Boer, N. K., Welling, G. W., & Jansen, P. L. (2005). Bacterial population analysis of human colon and terminal ileum biopsies with 16S rRNA-based fluorescent probes: commensal bacteria live in suspension and have no direct contact with epithelial cells. *Inflammatory bowel diseases*, 11(10), 865–871.

222. van Oudheusden, R. T., Aerts, A. C. B., de Hingh, H. J. T. I., & Luyer, D. P. M. (2013). Challenges in diagnosing adhesive small bowel obstruction. *World Journal of Gastroenterology*, 19(43), 7489–7493.
223. Velazquez, F. R., Matson, D. O., Calva, J. J., Guerrero, L., Morrow, A. L., Carter-Campbell, S., Glass, R. I., Estes, M. K., Pickering, L. K., & Ruiz-Palacios, G. M. (1996). Rotavirus infection in infants as protection against subsequent infections. *New England Journal of Medicine*, 335(14), 1022-1028.
224. Velcich, A., Yang, W., Heyer, J., Fragale, A., Nicholas, C., Viani, S., Kucherlapati, R., Lipkin, M., Yang, K., & Augenlicht, L. (2002). Colorectal cancer in mice genetically deficient in the mucin Muc2. *Science*, 295(5560), 1726–1729.
225. Victoria, C. G., Smith, P. G., Vaughan, J. P., Nobre, L. C., Lombardi, C., Teixeira, A. M., Fuchs, S. M., Moreira, L. B., Gigante, L. P., & Barros, F. C. (1987). Evidence for protection by breastfeeding against infant deaths from infectious diseases in Brazil. *Lancet*, 2(8554), 319-322.
226. Wafa, I. E., Humodi, A. S., El Fadhil, E. O., & Abdelwahid, S. A. (2013). Prevalence of rotavirus and adenovirus associated with diarrhea among displaced communities in Khartoum, Sudan. *BMC Infectious Diseases*, 13(209).
227. Wang, F., & Shi, C. (1995). Secretory immunoglobulin A in human milk and infants' feces at 1-4 months after delivery. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*, 30(10), 588-590.
228. Weinberg, R. J., Tipton, G., Klish, W. J., Brown, M. R. (1984). Effect of Breast-Feeding on Morbidity in Rotavirus Gastroenteritis. *Pediatrics*, 74(2), 250-253
229. Weitzel, T., Reither, K., Mockenhaupt, P. F., Stark, K., Ignatius, R., Saad, E., Seidu-Korkor, A., Bienzle, U., & Schreier, E. (2007). Field Evaluation of a Rota- and Adenovirus Immunochromatographic Assay Using Stool Samples from Children with Acute Diarrhea in Ghana. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(8), 2695–2697.
230. WHO position paper. (2013). Rotavirus vaccines. *The Weekly Epidemiological Record*, 88(5), 49–64.
231. WHO Summary of WHO position paper on rotavirus vaccines. (2013). Превземено на 17 септември 2019г. [https://www.who.int/immunization/position\\_papers/PP\\_rotavirus\\_january\\_2013\\_summary.pdf?ua=1](https://www.who.int/immunization/position_papers/PP_rotavirus_january_2013_summary.pdf?ua=1)

232. WHO Strategic Advisory Group of Experts (SAGE) on Immunization. Detailed Review Paper on Rotavirus Vaccines (2009). Преземено на 17 септември 2019 година  
[https://www.who.int/immunization/sage/3\\_Detailed\\_Review\\_Paper\\_on\\_Rota\\_Vaccines\\_17\\_3\\_2009.pdf](https://www.who.int/immunization/sage/3_Detailed_Review_Paper_on_Rota_Vaccines_17_3_2009.pdf)
233. Wilhelmi, I., Colomina, J., Martín-Rodrigo, D., Roman, E., & Sánchez-Fauquier, A. (2001). New Immunochromatographic Method for Rapid Detection of Rotaviruses in Stool Samples Compared with Standard Enzyme Immunoassay and Latex Agglutination Techniques. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 20(10), 741–743.
234. Yarnoff, O. B., Allaire, T. B., & Detzel, P. (2013). Associations between infant feeding practices and length, weight, and disease in developing countries. *Frontiers in Pediatrics*, 1, 21.
235. Yashroy, R. C. (2000). Salmonella 3, 10: r: toxicity in rabbit ileum and liver by light and electron microscopy. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, 43(1), 17-22.
236. Zarnani, A., Modarres, S., Jadali, F., Sabahi, F., Moazzeni, S., & Vazirian, F. (2004). Role of rotaviruses in children with acute diarrhea in Tehran, Iran. *Journal of Clinical Virology*, 29(3), 189–193.
237. Ивановски, Љ., Миленковиќ, З., (2007). Инфективни болести: Инфективни проливи: Вирусни проливи: Ротавирусен ентероколит Тримакс, (187-188), ISBN - 9989-940-66-5.
238. Ивановски, Љ., Миленковиќ, З. (2007). Инфективни болести: Специфични инфекции: Бактериски инфекции: Тифусни салмонелози, Нетифусни салмонелози Тримакс, 288-294 ISBN - 9989-940-66-5.
239. Ивановски, Љ., Миленковиќ, З. (2007). Инфективни болести: Специфични инфекции: Бактериски инфекции: Бациларна дизентерија Тримакс, 297-299 ISBN - 9989-940-66-5.
240. Ивановски, Љ., Миленковиќ, З. (2007). Инфективни болести: Специфични инфекции: Бактериски инфекции: Јерсениоза Тримакс, 316-318 ISBN - 9989-940-66-5.

241. Ивановски, Лъ., Миленковиќ, З., (2007). Инфективни болести: Инфективни проливи: Вирусни проливи: Калицивирусни проливи. Тримакс, 188 ISBN - 9989-940-66-5.



