

На правах рукописи

Медведева Евгения Александровна

**КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ
АКТИВНОСТИ МИКРОФЛОРЫ РОТОГЛОТКИ И КИШЕЧНИКА У
ДЕТЕЙ С РЕСПИРАТОРНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ**

14.01.09 – Инфекционные болезни

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва-2017

Работа выполнена в Государственном бюджетном учреждении здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Феклисова Людмила Владимировна

Официальные оппоненты:

Боковой Александр Григорьевич - доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры клинической подготовки Государственного учебно-научного учреждения Факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»

Харламова Флора Семеновна - доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры инфекционных болезней у детей ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России

Ведущая организация - Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России.

Защита состоится «___» _____ 2017 г. в ___ часов ___ минут на заседании диссертационного совета Д 208.114.01 ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора по адресу: 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора и на сайте института: www.crie.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2017 года

Ученый секретарь диссертационного совета,
член-корреспондент РАН,
доктор медицинских наук,
профессор

Горелов Александр Васильевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Острые респираторные заболевания (ОРЗ) являются одной из важнейших медико-социальных проблем во всем мире (А.Ю. Попова 2016, G.M. Allan 2014). В России ежегодно регистрируется более 50 миллионов случаев ОРЗ, обуславливая значительные экономические затраты (Ю.В. Лобзин 2015, В.К. Таточенко 2015).

Число педиатрических пациентов с частыми повторными ОРЗ остается по-прежнему высоким (до 70% в детской популяции), внося значительный вклад в общую заболеваемость (А.Л. Заплатников 2015, М.Г. Романцев 2010).

Среди многочисленных причин, обуславливающих повторную заболеваемость ОРЗ у детей, в последние годы уделяется основное внимание иммунной дезадаптации и микрoэкологическим нарушениям (В. И. Бессикало 2016, З.С. Макарова 2014 М. El-Azami-El-Idrissi 2013). Исследования показали, что принципиальное клиническое значение имеет не количество отдельных популяций Т-лимфоцитов или симбионтных бактерий, а функциональная активность клеток иммунной системы и бактериальных видов в составе микрофлоры. Предложенный в последние годы метод исследования функциональной активности микрофлоры с определением коротко-цепочечных жирных кислот (КЖК) может обеспечить новый взгляд на характер ее изменений и их роль в формировании респираторной заболеваемости у детей (М.Д. Ардатская 2014, О.Н. Минушкин 2013). Комплексный подход, включающий изучение иммунного реагирования и состояние функциональной активности микробиологических локусов у повторно болеющих ОРЗ детей, ранее не применялся. За последние годы накоплен большой опыт применения иммуномодулирующей терапии, разработанный и внедренный преимущественно у детей дошкольного возраста (Л.С. Намазова-Баранова 2015, В.Ф. Учайкин 2014, С.А. Ляликов 2013). Несмотря на достигнутые успехи, принципиально снизить заболеваемость ОРЗ не удастся. Дети старшего возраста незаслуженно обделены вниманием, хотя проблема для них также актуальна. Необходим поиск новых подходов, учитывающих наличие сопутствующей патологии.

В этой связи перспективным является применение пробиотиков как с профилактической, так и с лечебной целью, в том числе за счет доказанной их иммуностропной активности (Л.В. Феклисова 2015, Q. Hao 2015, В.Р. Dong 2015, Т. Wu 2015). Однако остается неизученной взаимосвязь профилактического эффекта пробиотиков с функциональной активностью иммунных клеток и микрофлоры различных локусов в остром периоде ОРЗ и межморбидном периоде.

Новый подход к оценке состояния микрофлоры пациентов с изучением метаболической функции биотопа позволит обосновать перспективные профилактические направления использования пробиотиков. Изучение роли сочетаний отягощающих факторов на состояние метаболической активности микрофлоры различных локусов может определить их влияние и дать возможность для разработки персонифицированной тактики лечения повторно болеющих ОРЗ детей.

Степень разработанности темы: на современном этапе доказана роль микрофлоры в развитии целого ряда хронических заболеваний у детей (R. Shamir 2015, A.B. Shreiner 2015, I.Vandenplas 2014). Установлено, что клиническое значение имеет нарушение соотношения различных популяций бактерий в микробиоме. Работы последних двух десятилетий свидетельствуют о влиянии кишечных комменсалов на формирование различных иммунных механизмов, обеспечивающих противoinфекционную защиту организма человека (F. Purchiaroni 2015, S. Frosali 2015). Подавляющее большинство результатов исследований основывается на изучении качественно-количественного состава микрофлоры и количественного определения соотношения популяций иммунных клеток, а не их функциональной активности (J. Qin 2011, A. Heger 2010, E. Sevenini 2010). В этой связи необходимо использование методов, позволяющих судить о функциональной активности микрофлоры (G. Besten 2013, V. Vuccigrossi 2013) и ее возможной ассоциации с респираторной патологией (D.R. Samuelson 2015, D.A. Welsh 2015, T. Wu 2015).

Основным методом коррекции микрофлоры является применение пробиотиков (A. Guarino 2014, I. Hojsak 2014). Пробиотическая терапия включена в руководящие принципы лечения и профилактики острых кишечных инфекций у детей и антибиотик-ассоциированной диареи (M. Lentze 2015, A. Guarino 2014). В последнее время появились обнадеживающие клинические доказательства эффективности пробиотиков в лечении и профилактике ОРЗ (Q. Nao 2015, B.R. Dong 2015, S. Weichert 2012). Однако результатов клинических исследований недостаточно для рекомендаций их использования в рутинной практике инфекционистов.

Цель исследования: разработать тактику применения пробиотиков для лечения и профилактики ОРЗ у повторно болеющих детей, на основании изучения изменений функциональной активности различных звеньев иммунной системы и микробиоты ротоглотки и кишечника.

Задачи исследования:

1. Оценить клиничко-лабораторные показатели детей 7-11 лет с повторными ОРЗ в межморбидном периоде.
2. Изучить состояние микрофлоры задней стенки ротоглотки и кишечника классическим бактериологическим и методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) у повторно болеющих ОРЗ детей в остром и межморбидном периоде.
3. Изучить показатели клеточного, мукозального и фагоцитарного звена иммунитета у повторно болеющих ОРЗ детей.
4. Определить влияние недавно перенесенного ОРЗ, хронической гастроэнтерологической патологии (ХГЭП) на состояние метаболической активности микрофлоры ротоглотки и кишечника.
5. Изучить эффективность и разработать тактику применения пробиотиков у повторно болеющих ОРЗ.

Научная новизна исследования

Впервые показано, что в остром периоде и периоде реконвалесценции ОРЗ обнаруживается значительное угнетение функциональной активности кишечной микрофлоры, главным образом, продукции масляной кислоты, что негативным образом влияет на тканевое энергообеспечение и восстановление иммунных реакций.

В остром периоде ОРЗ определена различная направленность микробиологических изменений микрофлоры ротоглотки при пневмонии и бронхите (угнетение всех популяций бактерий при пневмонии и активация аэробной флоры при бронхите), взаимосвязанная с выраженностью воспалительного процесса.

Впервые показаны аспекты патогенетической роли изменений метаболической активности микрофлоры ротоглотки в развитии респираторных инфекций нижних дыхательных путей у детей. У повторно болеющих ОРЗ детей в межморбидном периоде обнаружены увеличение функциональной активности протеолитической микрофлоры и маркеры присутствия токсических метаболитов симбионтных бактерий в ротоглотке и кишечнике.

Впервые у повторно болеющих ОРЗ детей в межморбидном периоде выявлен функциональный дефицит активности иммунных клеток, обеспечивающих реакции адаптивного иммунитета, а именно – обнаружены низкий уровень экспрессии активационного маркера HLA-DR на фоне умеренного субпопуляционного дисбаланса Т-лимфоцитов, а также сопутствующее существенное снижение фагоцитирующей активности нейтрофилов.

Доказано негативное влияние ведущих клинически значимых факторов (ХГЭП, недавно перенесенное ОРЗ) на метаболическую активность симбионтных бактерий ротоглотки и кишечника.

Патогенетически обосновано применение пробиотиков у повторно болеющих ОРЗ детей в межморбидном и остром периодах. Доказан положительный профилактический эффект сорбированного пробиотика и комплекса пробиотических штаммов с витаминно-минеральным премиксом на сокращение частоты и тяжести повторных эпизодов ОРЗ в течение не менее трех месяцев эпидемического сезона. Клинический эффект ассоциирован с восстановлением функциональной активности симбионтных бактерий и клеток иммунной системы.

Теоретическая и практическая значимость исследования

1. В ходе диссертационного исследования установлены корреляционные взаимосвязи нарушений качественно-количественного состава, метаболической активности микрофлоры ротоглотки и кишечника и иммунного ответа.

2. Представлено патогенетическое обоснование применения пробиотиков длительностью курса 3 недели в составе комплексной терапии для сокращения частоты и тяжести ОРЗ, так как их клиническая эффективность сочеталась с коррекцией функциональных нарушений микрофлоры и иммунитета.

3. Выделены клинически значимые факторы, влияющие на состояние повторно болеющих детей, и контингенты, нуждающиеся в дополнительных корригирующих мероприятиях в остром и межморбидном периоде, а именно: пациенты с ХГЭП, ОРЗ, перенесенным за предшествующие два месяца. Определены особенности изменений метаболической активности микрофлоры ротоглотки и кишечника у различных контингентов повторно болеющих детей.
4. Определено, что при ОРЗ развивается дефицит функциональной активности микрофлоры кишечника, сопровождающийся активацией протеолитической микрофлоры, способной, в свою очередь, повреждать эпителий. Обоснована необходимость применения пробиотиков в остром периоде респираторного заболевания.
5. Выявлена различная направленность изменений микробиоты ротоглотки в остром периоде ОРЗ в зависимости от глубины воспалительного процесса (при пневмонии и бронхите).
6. Разработана схема оздоровления повторно болеющих детей с применением пробиотиков в остром и межморбидном периоде.

Методология и методы исследования. В ходе диссертационного исследования осуществлено последовательное применение общенаучных и специальных методов научного познания. Работа выполнена в соответствии с поставленной целью и задачами, для решения которых были использованы современные клиничко-лабораторные, инструментальные, аналитические и статистические методы.

Личное участие соискателя в получении результатов состоит в том, что автором выполнены: подбор и наблюдение пациентов, сбор материалов для лабораторных исследований, создание базы данных, статистический анализ и оценка полученных результатов с определением их научной и клинической значимости, оформление работы.

Положения, выносимые на защиту:

Для повторно болеющих ОРЗ детей характерно изменение функциональной активности микрофлоры, а именно: глубокий дефицит маслянокислого брожения и активация строгих протеолитических бактерий в ротоглотке и кишечнике.

Для повторно болеющих ОРЗ детей характерно взаимообусловленное взаимодействие изменений функциональной активности микрофлоры и иммунной системы.

Применение пробиотиков в межморбидном и остром периодах ОРЗ способствует сокращению частоты и тяжести респираторных заболеваний за счет восстановления метаболической активности и состава микробиоты.

Достоверность выводов и рекомендаций обусловлена репрезентативностью групп включенных в исследование пациентов, достаточным объемом выборки, рандомизацией исследуемой когорты, использованием современных методов исследования и статистической обработки, комплексным подходом к научному анализу.

Внедрение результатов работы в практику. Полученные данные внедрены в практику детского инфекционного отделения ГБУЗ МО МОНКИ им М.Ф. Владимирского, детского инфекционного отделения ДГКБ св. Владимира ДЗМ, ФГБУЗ ЦКС «Малаховка»

ФМБА России, используются во время подготовки врачей на курсе детских инфекционных болезней при кафедре педиатрии ФУВ ГБУЗ МО МОНИКИ им М.Ф. Владимирского. Получен патент на изобретение №2608548 «Способ дифференциальной диагностики острого бронхита и острой пневмонии» от 19.01.2017 года. Опубликовано 20 печатных работ, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК.

Апробация работы. Материалы исследования доложены на VII, VIII Ежегодном Всероссийском конгрессе по инфекционным болезням, XIV Конгрессе детских инфекционистов России «Актуальные вопросы инфекционной патологии и вакцинопрофилактики» (2015); на VI Всероссийской научно-практической конференции «Инфекционные аспекты соматической патологии у детей» (2012); Междисциплинарной научно-практической конференции «Микробиологические аспекты диагностики и лечения заболеваний органов дыхания у детей и взрослых» (2013); Научно-практической конференции врачей-бактериологов Москвы и Московской области «Микробиологические аспекты диагностики и лечения воспалительных заболеваний ЛОР органов и органов дыхания» (2013), заседании научно-практического общества инфекционистов Московской области и заседании инфекционной секции научно-практического общества педиатров г. Москвы (2016).

Диссертация апробирована на совместной конференции сотрудников детского инфекционного и педиатрического отделений, кафедры педиатрии ФУВ ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, кафедры педиатрии ГБОУ ВПО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава РФ, ДГКБ Св. Владимира (протокол №16) 16 сентября 2016 г., а также на заседании Апробационного совета ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора 15 декабря 2016 года.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, шести глав, включающих обзор литературы, описание клинического материала и методов обследования, трех глав собственных исследований, а также из обсуждения полученных результатов, выводов и практических рекомендаций, списка литературы. Работа изложена на 210 страницах машинописного текста. Указатель литературы содержит 135 отечественных и 73 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 62 таблицами, 21 рисунком и двумя выписками из историй болезни.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В литературном обзоре подробно освещены современные данные о причинах и последствиях повторной заболеваемости ОРЗ, клиническом значении микробиоты человека в поддержании здоровья и развитии хронических заболеваний, методах изучения и управления для достижения лечебных и профилактических эффектов. Отражены современные подходы к профилактике ОРЗ у детей. Особое внимание уделено описанию результатов применения пробиотиков для лечения и профилактики ОРЗ. Аргументирована необходимость нового подхода к оценке состояния микрофлоры и получения доказательств эффективности использования пробиотиков для снижения респираторной заболеваемости у детей.

Материалы и методы. Для определения функционального состояния микробиоты ротоглотки и кишечника, иммунной системы и их взаимосвязи у повторно болеющих ОРЗ детей в исследование включено 216 детей. В связи с досрочной выпиской из санатория, нарушением протокола исследования исключено 13 детей (6%). В итоге исследование завершили 203 ребенка, в том числе в межморбидном периоде в санатории наблюдалось 125 (61,6%, 105 повторно и 20 эпизодически болеющих детей) и в остром периоде ОРЗ в стационаре – 78 (38,4%, 60 повторно и 18 эпизодически болеющих детей). Возрастной состав наблюдавшихся был следующим: от 3 до 7 лет – 78 (38,4%), с 7 лет – до 11 лет 125 (61,6%). В основу включения в группу повторно болеющих детей использовали критерии, разработанные В.Ю. Альбицким и А.А. Барановым. Дети, включенные в исследование, в течение месяца не получали пробиотики, витаминно-минеральные комплексы, гормональную терапию, иммуномодуляторы, не имели аномалий и пороков развития органов и систем, психоневрологических заболеваний, аутоиммунных, аллергических и наследственных заболеваний, документально подтвержденного иммунодефицита (дизайн исследования - табл.1). Скрининг пациентов и включение их в исследование проведено в первые сутки поступления в санаторий/стационар после подписания информированного согласия на проведение исследования законными представителями.

Таблица 1 -Описание исследуемых групп и дизайн исследования.

Межморбидный период	Острый период	Дизайн исследования
Анализ клинико-лабораторных показателей		
Повторно болеющие ОРЗ дети (n=105), группа сравнения - эпизодически болеющие ОРЗ дети (n=20)	Повторно болеющие ОРЗ дети (n=60) и эпизодически болеющие ОРЗ дети (n=18) в остром периоде ОРЗ с поражением нижних отделов дыхательного тракта. Для верификации нозоформы поражения нижних отделов дыхательного тракта проведено рентгенологическое исследование грудной клетки.	Наблюдательное сравнительное исследование, метод «случай-контроль»
Оценка эффективности пробиотической терапии в комплексном лечении у повторно болеющих детей		
1) Исследование 1. Дети (n=25), получавшие сорбированный бифидосодержащий пробиотик, группа сравнения - дети (n=19), не получавшие пробиотик. 2) Исследование 2. Дети (n=33), получавшие синбиотик, группа сравнения (n=28) - не получавшие пробиотик	1) Исследование 3. Дети в остром периоде респираторного заболевания с поражением нижних отделов дыхательного тракта, получавшие мультиштаммовый бифидосодержащий пробиотик (n=30), группа сравнения - дети, не получавшие пробиотик (n=30).	Контролируемое проспективное открытое рандомизированное (методом конвертов) исследование.

В санатории все пациенты получали базисное оздоровительное лечение согласно стандартам санаторно-курортного лечения МЗ и СР РФ (2004г.). В остром периоде ОРЗ пациентам было назначено общепринятое комплексное лечение в соответствии со стандартами оказания специализированной медицинской помощи и Федеральными клиническими рекомендациями МЗ РФ 2015 года.

В соответствии с целью и задачами работы проведена оценка клинико-лабораторной эффективности включения пробиотиков в комплекс оздоровительного лечения в межморбидном периоде курсом 21 день. Используются: **бифидосодержащий**

сорбированный пробиотик (*B. bifidum* №1 (5×10^7 КОЕ), сорбированные на активированном угле, лактоза 0,20г) по 1 капсуле 3 раза в день; **синбиотик** (*L. gasseri*, *B. bifidum*, *B. longum* (1.0×10^7 КОЕ), минеральные вещества и витамины) по 1 таблетке 1 раз в сутки. В стационаре в комплексном лечении ОРЗ на весь период госпитализации использовали **мультиштаммовый бифидосодержащий пробиотик** (*B. breve* 79-88, *B. infantis* 79-43, *B. bifidum* 1, 791, *B. longum* В379М, Я-3 не менее (5×10^7 КОЕ), который назначался по 2 капсулы 3 раза в день. В качестве оценки эффективности пробиотической терапии приняты первичные критерии (динамика клинических проявлений у пациентов в санатории и в стационаре, частота возникновения ОРЗ, их продолжительность и форма тяжести, развитие осложнений в течение 12 недель от момента выписки из медицинского учреждения) и вторичные критерии (динамика функционального состояния микрофлоры и иммунной системы). Численность групп обследования и лечения представлена в таблице 1. Статистический сравнительный анализ проведен в репрезентативных группах.

Комплекс рутинных лабораторных исследований выполнен у всех пациентов. Для расшифровки этиологии в стационаре использован метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с определением нуклеиновых кислот риновирусов, респираторно-синцитиального, метапневмовирусов, аденовирусов, гриппа А и В, парагриппа в мазках со слизистой нижней носовой раковины.

Для решения поставленных в исследовании задач проведены: комплексная оценка микрофлоры ротоглотки и кишечника, включавшая качественно-количественное исследование (736 мазков со слизистой ротоглотки, 717 проб фекалий) и определение метаболической активности методом ГЖХ (1453 исследования) (Н.С. Иконников и соавт., 1999 г) с использованием хроматографа «Хроматек-Кристалл 5000». Оценивали следующие показатели ГЖХ: абсолютные концентрации уксусной (С2), пропионовой (С3), масляной (С4), изомаляной (iС4), валериановой (С5), изовалериановой (iС5), капроновой (С6), изокапроновой (iС6) кислот, которые являются продуктами бактерий, заселяющих изучаемый локус. Определяли расчетные показатели: общий уровень короткоцепочных жирных кислот (ОУ КЖК) - суммарное содержание КЖК, позволяющее судить об интегральной активности микрофлоры; анаэробный индекс (АИ) и индекс изокилот (ИИ). Значение АИ используют как показатель инфраструктуры микробиоценоза – соотношения анаэробных и факультативно анаэробных (аэробных) микроорганизмов. ИИ характеризует соотношение активности сахаролитической и протеолитической микрофлоры. В профиле КЖК рассчитывали относительные доли уксусной (С2), пропионовой (С3), масляной (С4) кислот, характеризующие сбалансированность микрофлоры. В работе использованы ранее предложенные критерии диагностической значимости метода (О.А. Кондракова и др., 2005г.). С целью унификации показателей (у детей различного возраста) каждый показатель был рассчитан в процентах по отношению к референсному значению. Исследования проведены в лаборатории группы диагностики анаэробных инфекций и эпидемиологии и диагностики

кишечных инфекций ФГУН МНИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского (руководитель: д.м.н. Е.П. Селькова).

Мукозальный иммунитет оценен на основании определения содержания иммуноглобулинов в нестимулированной слюне (IgA, IgM, IgG, Sc, sIgA) методом радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини (330 исследований) в иммунологической лаборатории ФГУН МНИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского (руководитель: д.б.н. А.В. Алешкин). Проведена оценка иммунологического статуса с изучением системы фагоцитоза нейтрофилов (206 исследований) на аппарате АТСС № 6538 (лаборатория клинической микробиологии ГБУЗ МО МОНКИ им. М.Ф. Владимирского, руководитель: к.б.н. Е.В. Русанова). Численность основных субпопуляций лимфоцитов методом трехцветной проточной цитометрии определена в межморбидном периоде (135 исследований) (прибор CytomixFC-500, BeckmanCoulter, реагенты BeckmanCoulter) с определением лимфоцитов (CD45+), В-лимфоциты (CD45+, CD19+), Т-лимфоциты (CD45+, CD3+), Т_H-клетки (CD45+, CD3+, CD4+), цитотоксические Тс-клетки (CD8+), регуляторные Т reg-клетки (CD4+ CD25+), природные клетки-киллеры (CD45+, CD56+, CD16+), активированные Т-лимфоциты (CD3+HLA-DR, CD45+, CD69+), экспрессия CD 69 в качестве маркера ранней активации, иммунорегуляторный индекс (соотношение Т_H/Ts - CD45+, CD4+/ CD8+) (Клинико-диагностическая лаборатория МедПолус, руководитель - к.б.н. И.Г. Дубинина).

Для оценки эффективности лечения наблюдавшиеся пациенты обследованы дважды - до начала и после окончания курса пробиотиков.

Статистический анализ результатов исследования проведен с использованием пакетов программ Microsoft Excel 2007, STATISTICA 6. Используются критерии параметрической и непараметрической статистики, рекомендуемые для решения конкретных аналитических задач. При оценке динамики лечения в нормально распределенных выборках использован парный критерий Стьюдента, а в выборках, отличных от нормальных – критерии Уилкоксона и Ранговый ДА (РДА). Качественные признаки сравнивались с помощью χ^2 Пирсона. Различия считались достоверными при $p < 0,05$. Для оценки эффективности лечения использованы следующие показатели: частота исходов (ЧИЛ и ЧИК) и отношение рисков события в сравниваемых группах (ОР); снижение относительного риска (СОР), снижение абсолютного риска (САР). Для оценки влияния факторов риска использовались критерии: абсолютный риск (АР), относительный риск (ОР), отношения шансов (ОШ).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Детям с повторными респираторными заболеваниями наряду с неоднократными ОРЗ свойственна высокая частота полиморбидности (М.Г. Романцев 2009, С.В. Зайков 2013). Подавляющее большинство детей из наблюдавшихся **в межморбидном периоде** имели отягощенные факторы анамнеза (95,4% повторно болеющих и 80% эпизодически болеющих). Ведущее место занимали: ХГЭП, регистрировавшаяся чаще у детей с повторными ОРЗ (56,4%, против 35% соответственно, $p=0,090$), вегетососудистая дистония (29,5 и 20%) заболевания

ЛОР органов (25,6% и 20%). Гиперплазия небных миндалин была диагностирована чаще у повторно болеющих (47,8 против 15,0% соответственно, $p < 0,05$).

В межморбидном периоде нарушения качественно-количественного состава микрофлоры ротоглотки при бактериологическом исследовании обнаружены у подавляющего числа пациентов вне зависимости от частоты перенесенных ОРЗ. Подтверждено снижение частоты высева облигатных (85,1 и 80%), увеличение – добавочных (61,7% и 40%) и транзиторных микроорганизмов (48,9 и 25% соответственно).

При значительной дисперсии показателей метаболической функции микрофлоры ротоглотки (от 15% до 900% от нормы) и отсутствии значительных изменений совокупной продукции КЖК С2 и С3 (60-91% от нормы) выявлены достоверные отличия между повторно и эпизодически болеющими детьми. Продукция С4 была значительно снижена у повторно болеющих детей (Me: 21,25 против 54,16% от нормы соответственно, $p = 0,021$). Особенностью повторно болеющих была преобладающая активность протеолитических микроорганизмов (Me ИИ: 223,9 против 128,32% от нормы у эпизодически болеющих, $p < 0,01$) и присутствие маркеров токсических метаболитов эндогенной микрофлоры (С6 и iС6, $p < 0,01$). У повторно болеющих определено большее соотношение iС4/С4 ($p < 0,001$), косвенно свидетельствующее об избыточном образовании слизи, причем при уровне лактобацилл менее 10^4 КОЕ/мл (84,2%) концентрация iС4 была достоверно большей ($p < 0,001$), чем у детей с нормальным их количеством. Существенные отличия повторно и эпизодически болеющих касались особенностей структуры микробных популяций. У 46,8% повторно болеющих обнаружен преимущественно уксуснокислый тип брожения, что в сочетании с угнетением маслянокислого брожения и без существенного снижения совокупности концентраций КЖК свидетельствовало о размножении аэробных бактерий в условиях слабо выраженной воспалительной реакции. Эти данные можно соотнести с более частым высевом микроорганизмов добавочной и транзиторной групп на фоне угнетения облигатной микрофлоры. У 60% редко болеющих детей структура микробиоты не была нарушена, в 30% наблюдений регистрировался пропионовокислый, в 10% - маслянокислый тип брожения.

У повторно болеющих детей в межморбидном периоде выявлены выраженные нарушения секторного иммунитета слизистых ротоглотки: высокие концентрации IgG (97,8% случаев), дефицит образования sIgA (61,5%), включая полное отсутствие синтеза sIgA (14,1%), причем концентрация С4 в слюне у последних не превышала 15% от нормы. Определена прямая корреляция концентрации sIgA с ОУ КЖК в слюне ($R = +0,343$; $p = 0,006$) и С4 ($R = +0,341$; $p = 0,02$), что позволяет обсуждать наличие взаимосвязи состояния эпителия и иммунных клеток, продуцирующих иммуноглобулины (дефицит С4 снижает способность эпителиальных и иммунных клеток к пролиферации и дифференцировке (J.M. Wong 2013, V.Сохам 2010).

Не выявлено также существенной разницы качественно-количественного состава фекальной микрофлоры у повторно и эпизодически болеющих детей с отягощенным преморбидным состоянием. У 92-90% обнаружено снижение на 1-2 порядка количества

бифидобактерий и у 71,2-70% - лактобацилл, увеличение частоты высева энтеробактерий, хотя у повторно болеющих грибы рода *Candida* обнаруживались достоверно чаще ($p < 0,05$). Нарушения функциональной активности микрофлоры кишечника вне зависимости от частоты ОРЗ были однонаправленными. Часто обнаруживались дефицит концентраций С4 (64-65%) и преобладание протеолитических бактериальных реакций над сахаролитическими (81-70%), структурный дисбаланс присутствовал у 45% и 35% детей соответственно. Однако у повторно болеющих изменения были более выраженными ($p < 0,01$).

У 60% повторно болеющих детей обнаружено нарушение субпопуляционного баланса Т-лимфоцитов. Высокий удельный вес НК-клеток выявлен у 50% пациентов. Получены свидетельства взаимосвязи функциональной активности состояния Т-лимфоцитов и метаболической активности микрофлоры кишечника. ОУ КЖК кала прямо положительно коррелировал с CD3+HLA-DR+ в крови ($R = +0,397$, $p < 0,05$). Низкие значения ОУ КЖК ($Me < 70\%$ от нормы) сопровождалось существенным ($< 50\%$) снижением уровня экспрессии CD3+HLA-DR+ на Т-лимфоцитах, что является признаком нарушенного иммунного гомеостаза и риском развития бактериальной инфекции (Ю.Г. Резниченко 2016). Определена обратная корреляция ($R = \text{минус } 0,301$, $p < 0,05$) ИИ и относительного уровня НК-клеток (CD3-CD16+CD56+). У всех повторно болеющих ОРЗ детей (100%) зарегистрированы сниженная ($< 60\%$) фагоцитарная активность нейтрофилов и недостаточный киллинг поглощенных бактерий.

У детей, недавно перенесших ОРЗ, имеющих ХГЭП выявлены более выраженные структурные и количественные микробиологические нарушения (рис. 1).

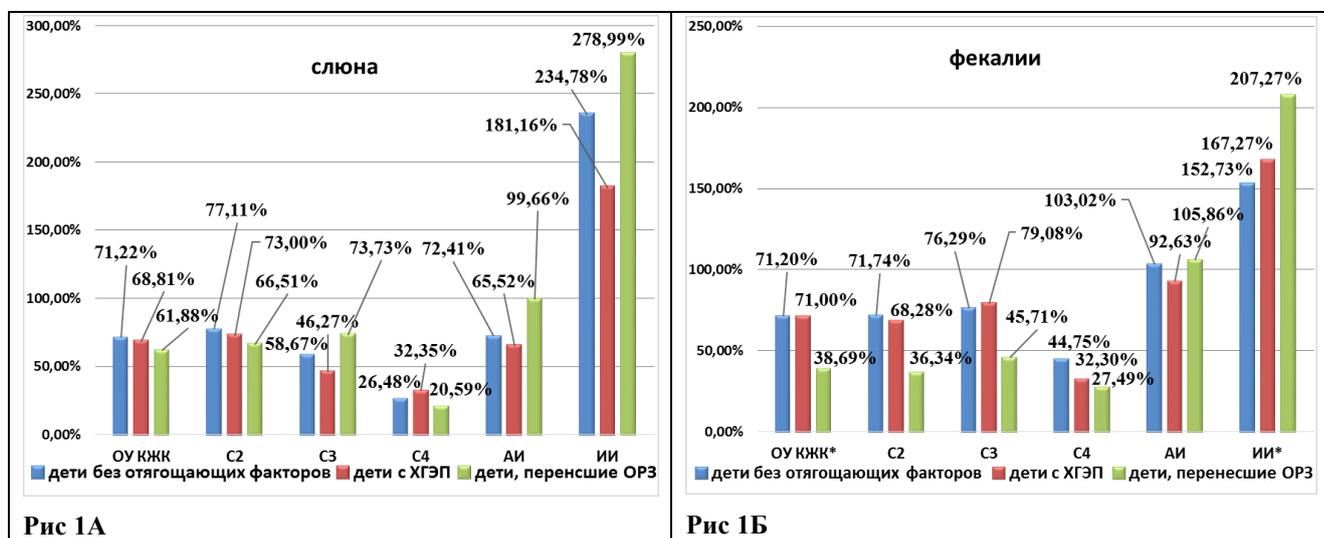


Рисунок 1 - Показатели ГЖХ (медиана в % от нормы) в слюне (1А) и фекалиях (1Б) в межморбидном периоде у детей с отягощающими факторами (* $p < 0,05$).

Особенностями недавно перенесших ОРЗ были более глубокое угнетение метаболической активности микрофлоры и преобладание в структуре протеолитических бактерий ($p < 0,05$) как в ротоглотке, так и в кишечнике (см. рис. 1). Для детей с ХГЭП была характерна более низкая степень активации протеолиза ($p < 0,05$) и выраженное угнетение

уксуснокислого и маслянокислого брожения в обоих локусах – факторов, способствующих реализации микроорганизмами своих патогенных свойств.

В нашей работе уделено особое внимание определению состояния функциональной активности микрофлоры у повторно болеющих детей с острыми респираторными инфекциями нижних дыхательных путей (бронхитом и пневмонией) - вопросам, ранее не освещенным в литературе.

Клиническая картина заболевания в момент госпитализации у 100% детей характеризовалась наличием лихорадки и соответствовала критериям диагностики бронхита и пневмонии. Этиология вирусной респираторной инфекции была расшифрована в трети случаев (33,3% - у 13,3% детей с бронхитом и 20% - с пневмонией).

Микрофлора ротоглотки в остром периоде бронхита или пневмонии характеризовалась угнетением роста облигатных бактерий (86,6% и 83,3% соответственно) и активацией группы транзиторных микроорганизмов (53,3 и 46,7% соответственно). У детей с бронхитом обсемененность слизистых ротоглотки *Enterobacteriaceae* была большей, чем при пневмонии ($p=0,050$). В ассоциации с этим по данным ГЖХ подтверждена умеренная активация аэробных бактерий, о чем свидетельствовал повышенный уровень С2, преобладающий уксуснокислый тип брожения на фоне сниженной концентрации С4 и активация бактериального протеолиза (рис.2А), более значительная у повторно болеющих в сравнении с эпизодически болеющими детьми (Ме ИИ 152,17% против 104,1% от нормы у редко болеющих, $p<0,01$; Ме iС4 200,14 против 113,11% от нормы, $p<0,01$; Ме iС6 600,18 против 416,05% от нормы соответственно, $p<0,001$).

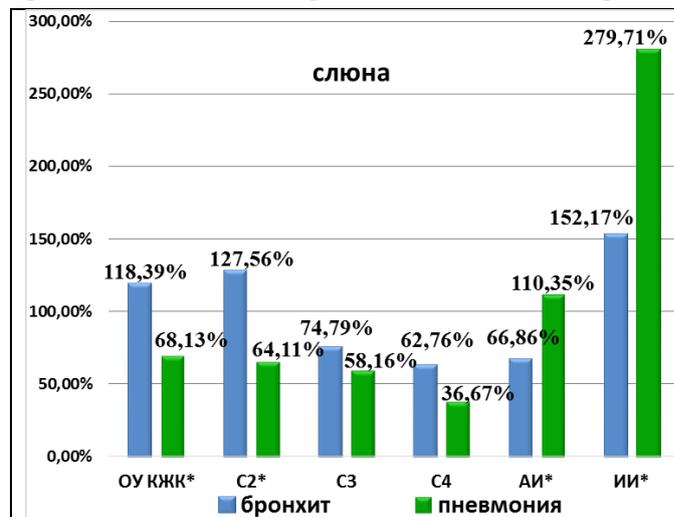


Рисунок 2А Достоверные отличия между группами * ($p<0,05$)



Рисунок 2Б Достоверных отличий между группами не выявлено

Рисунок 2 Показатели ГЖХ (медиана в % от нормы) в слюне (2А) и фекалиях (2Б) в остром периоде респираторной инфекции у повторно болеющих детей.

У детей с пневмонией отмечено подавление активности всех популяций бактерий в ротоглотке, значительное снижение С4 – свидетельство повреждения эпителия и глубоких микробиологических изменений (см. рис 2А). При пневмонии концентрации изо-кислот были значительно выше, чем при бронхите ($p=0,0001$).

В остром периоде ОРЗ у 70% детей с бронхитом и 100% с пневмонией регистрировался дефицит образования sIgA и IgG в слюне.

Бактериологический метод диагностики дисбиоза не выявил разницы состояния фекальной микрофлоры у детей с бронхитом и пневмонией. Нарушения обнаружены у 90% пациентов с умеренной частотой дефицита бифидобактерий и лактобацилл. Инфекции нижних дыхательных путей протекали в условиях существенного дефицита функциональной активности кишечной микрофлоры и, прежде всего, сахаролитических бактерий (рис. 2Б). Абсолютная концентрация С2 у 80 % наблюдавшихся была ниже нормы в 2 и более раз. В структуре микрофлоры преобладали анаэробы, способные к продукции токсических метаболитов как при бронхите, так и при пневмонии (см. рис.2Б; С6: Ме 440-535% и iС6:Ме 256-333% от нормы). Тот факт, что у детей, недавно перенесших ОРЗ выявлены более глубокий функциональный дефицит кишечных бактерий и более значительное преобладание протеолических бактериальных реакций над протеолитическими ($p < 0,001$), позволяет предполагать, что воспалительный процесс при инфекциях нижних дыхательных путей может оказывать негативное влияние на состояние кишечной микрофлоры, а дефицит С4, который этому сопутствует, – дополнительный фактор, способный поддерживать воспалительную реакцию в ЖКТ и влиять на иммунный ответ. Сам факт перенесенной ОРЗ может повышать восприимчивость ребенка к ОРЗ.

Так, по данным полученным в катамнезе у детей после лечения в санатории выявлено, что недавно перенесенное ОРЗ, наличие ХГЭП повышают риск развития повторной респираторной заболеваемости в течение последующих 12 недель наблюдения. Наличие недавно перенесенного ОРЗ увеличивает риск возникновения повторного респираторного заболевания на 35% (95%ДИ 12,0/58,0) $p < 0,05$, а относительный риск в 1,88 раза. Наличие ХГЭП увеличивает риск на 14,5% (95%ДИ 10,0/39,0), относительный риск в 1,36 раза.

Включение в комплекс реабилитационных мероприятий пробиотиков (сорбированного бифидосодержащего и синбиотика с витаминно-минеральным премиксом) в межморбидном периоде приводило к исчезновению активных жалоб, улучшению состояния кожи и слизистых, купированию болевого абдоминального синдрома (табл. 2).

Таблица 2 – Сравнительная характеристика клинического состояния пациентов, получавших и не получавших пробиотики в межморбидном периоде

Показатель	Исследование 1			Исследование 2		
	Частота регистрации признака (абс, %)		Р	Частота регистрации признака (абс, %)		Р
	Сорбированный бифидосодержащий пробиотик, n=25	группа сравнения, n=19		Синбиотик, n=33	группа сравнения, n=28	
1	2	3	4	5	6	7
Активные жалобы до лечения после лечения	18 (72,0)* 0*	13 (68,4)* 5 (26,3)*	0,967 0,050	24 (68,6)* 0*	15 (53,6)* 5 (17,9)*	0,223 0,009
1	2	3	4	5	6	7
Сухость кожи до лечения после лечения	11(44,0) 5 (20,0)	10 (52,6) 8 (42,1)	0,324 0,062	16 (45,7) 8 (22,9)	16 (57,1) 16 (57,1)	0,367 0,005
Запах изо рта до лечения после лечения	2 (8,0) 0	1 (5,2) 0	0,817 -	2 (5,7) 0	2 (7,1) 0	0,817 -

Налет на языке до лечения	18 (72,0)*	15(78,9)	0,923	21 (60)*	17 (60,7)	0,954
после лечения	5 (20,0)*	12 (63,1)	0,042	8 (22,9)*	12 (42,9)	0,090
Абдоминальный синдром до лечения	11 (44,0)*	6(31,6)	0,525	12 (34,3)*	7 (25,0)	0,425
после лечения	0*	2 (10,5)	0,215	0*	2 (7,1)	0,108
Запор до лечения	7 (28,0)*	7 (36,8)	0,974	8 (22,0)*	7 (25,0)	0,823
после лечения	0*	3(15,7)	0,108	0*	2 (7,1)	0,108

Примечание: * $p < 0,05$ при сравнении показателей в динамике наблюдения (t парный Стьюдента).

У детей, получавших в комплексе оздоровительного лечения пробиотики, в течение последующих 12 недель наблюдения ОРЗ реже регистрировались и протекали в более легкой форме ($p < 0,05$).

Расчет критериев риска пользы - вреда свидетельствует, что назначение бифидосодержащего пробиотика снижает риск возникновения ОРЗ на 28,8% (САР) или в 3 раза (ОР), а шансы у конкретного больного в 3,7 раза (табл. 3), а применение синбиотика снижает риск возникновения ОРЗ на 24,3% (САР) или в 3 раза (ОР), а шансы у конкретного больного в 4,1 раза (см. табл. 3).

Таблица 3 - Критерии риска пользы-вреда применения пробиотиков (бифидосодержащего сорбированного пробиотика и синбиотика) курсом 21 день у повторно болеющих детей в межморбидном периоде.

Критерии(%)	Исследования			
	Исследование 1 (сорбированный пробиотик и группа сравнения)		Исследование 2 синбиотик и группа сравнения)	
	Значения	95% ДИ	Значения	95% ДИ
Частота исхода в группе лечения (%)	8	3,0-26	11,4	3,2-26,7
Частота исхода в группе сравнения (%)	36,8	17,6-56,1	35,7	18,6-55,9
Сокращение абсолютного риска (%)	28,8	7-51	24,3	4-45
Относительный риск (ед)	0,33		0,32	
Сокращение относительного риска (ед)	0,67	0,11-0,93	0,68	0,09-0,89
Число больных, которых нужно лечить, чтобы предотвратить неблагоприятный исход (ед)	3,7	2,5-12,4	4,1	2,22-27,4
Отношение шансов события к отсутствию события (ед)	0,33	0,12-0,86	0,23	0,06-0,85

Применение бифидосодержащего сорбированного пробиотика способствовало восстановлению типичных для ротоглотки бактерий. После лечения альфа-гемолитический стрептококк выделялся у всех пациентов (против 78,9% в группе сравнения, $p < 0,05$), а нейссерии – у подавляющего числа пациентов (88,0% против 57,9% в группе сравнения, $p = 0,045$). Применение сорбированного пробиотика приводило к снижению частоты выделения бактерий транзиторной группы (от 56,0 до 24,0%, $p = 0,044$) и обсемененности *S. aureus* слизистых ротоглотки ($p = 0,022$). Указанная положительная динамика сопровождалась нормализацией совокупной функциональной активности бактерий (97,2%) в ротоглотке, в том числе концентрации С4 (с 23 до 62,41 % от нормы, $p = 0,05$), а также выравниванием баланса сахаролитически/протеолитических бактерий (снижение ИИ с 217,11 до 159,33% от нормы, $p < 0,05$). В группе сравнения положительной динамики не выявлено, обнаруживались достоверно более низкая концентрация С4 (Ме С4 62,11 против 20,0% от нормы в сравниваемых группах соответственно, $p = 0,031$) и более высокие значения ИИ (159,33 против 234,4% от нормы в сравниваемых группах соответственно, $p = 0,042$). Назначение сорбированного бифидосодержащего пробиотика способствовало также приросту среднего

содержания эшерихий ($p=0,05$), бифидобактерий ($p=0,05$), и лактобацилл ($p=0,05$) в составе фекальной микрофлоры, нормализации продукции кишечными бактериями С4 (Ме 49,86 до 78,54% от нормы, $p=0,042$) и восстановлению доли сахаролитических микроорганизмов в структуре микрофлоры ($p=0,086$).

Назначение синбиотика приводило к снижению частоты выделения транзиторной группы бактерий со слизистой ротоглотки ($p=0,012$), нормализации уровня ее метаболической активности, с достоверным приростом концентрации С4 в слюне (с Ме 21,23 до 58,11 % от нормы, $p=0,050$) и тенденцией к снижению активности протеолитических бактерий (ИИ с Ме 235,21 до 194,98% от нормы, $p=0,101$). В группе сравнения достоверной динамики не выявлено. В качестве преимуществ назначения синбиотика следует отметить прирост количества лактобацилл в фекалиях ($p=0,024$), уменьшение частоты высева грибов рода *Candida* ($p=0,039$), а также улучшение структуры кишечной микробиоты (Ме относительного содержания С4 100,05 против 71,42% от нормы в группе сравнения, $p<0,05$).

После оздоровительного лечения отмечено улучшение показателей мукозального иммунитета во всех группах наблюдавшихся. Однако у получавших пробиотики положительная динамика была выражена значительно (табл. 4).

Таблица 4 - Уровень иммуноглобулинов (мг/мл) в слюне у получавших и не получавших пробиотики в динамике наблюдения.

Показатели	Среднее количество иммуноглобулинов в слюне (мг/мл, медиана, нижний-верхний квартиль)					
	Исследование 1			Исследование 2		
	Сорбированный пробиотик, n=25	группа сравнения, n=19	p	Синбиотик, n=33	группа сравнения, n=28	p
1	2	3	4	5	6	7
IgG до лечения после лечения Р, Уилкоксона	0,198 (0,110-0,322) 0,109 (0,077-0,184) 0,049	0,174 (0,059-0,278) 0,196 (0,101-0,311) 0,052	0,914 0,011	0,188 (0,117-0,326) 0,112 (0,066-0,229) 0,044	0,154 (0,062-0,295) 0,198 (0,116-0,395) 0,005	0,533 0,008
sIgA до лечения после лечения Р, Уилкоксона	0,071 (0,051-0,102) 0,126 (0,083-0,194) 0,024	0,061 (0,052-0,099) 0,082 (0,044-0,136) 0,054	0,618 0,041	0,084 (0,050-0,117) 0,134 (0,083-0,191) 0,017	0,057 (0,052-0,092) 0,078 (0,052-0,132) 0,043	0,395 0,029
Суммарный IgA до лечения после лечения Р, Уилкоксона	0,069 (0,045-0,129) 0,128 (0,071-0,192) 0,022	0,062 (0,052-0,096) 0,078 (0,044-0,147) 0,121	0,892 0,036	0,090 (0,055-0,123) 0,134 (0,063-0,191) 0,002	0,061 (0,052-0,092) 0,098 (0,052-0,154) 0,034	0,453 0,024
Свободный Sc до лечения после лечения Р, Уилкоксона	0,294 (0,094-0,418) 0,513 (0,295-0,791) 0,031	0,261 (0,143-0,374) 0,293 (0,191-0,456) 0,074	0,629 0,011	0,321 (0,094-0,532) 0,671 (0,295-0,821) <0,001	0,251 (0,143-0,388) 0,293 (0,187-0,423) 0,074	0,460 0,003
IgA/IgG до лечения после лечения Р, Уилкоксона	0,466 (0,399-0,574) 0,551(0,459-1,357) 0,047	0,478 (0,387-0,689) 0,422 (0,286-0,593) 0,328	0,912 0,043	0,436 (0,379-0,558) 0,572 (0,459-1,357) 0,021	0,468 (0,387-0,712) 0,433 (0,286-0,653) 0,719	0,834 0,002

Применение синбиотика с витаминно-минеральным премиксом способствовало нарастанию относительного и абсолютного содержания Т-хелперов, НК-клеток и Т-НК-лимфоцитов (ЕКТ) и препятствовало угнетению экспрессии маркеров ранней и поздней активации иммунных клеток (Т-лимфоциты CD3+HLA-DR и лимфоциты CD45+CD69+). Напротив, у детей из группы сравнения отмечено снижение численности НК-клеток и Т-НК-лимфоцитов (разница направленности динамики достоверна, $p<0,05$ - $p<0,001$). В итоге у

получавших синбиотик отмечены тенденции к выравниванию баланса субпопуляций Т-лимфоцитов с достоверным повышением абсолютного количества Т-хелперов и нормализацией активности Т-лимфоцитов CD8+, в группе сравнения численность последних осталась на прежнем уровне, выявлена активация маркера ранней активации лимфоцитов (CD45+CD69+).

Применение пробиотиков способствовало улучшению фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови, нарастанию способности нейтрофилов поглощать и переваривать бактериальные клетки (табл. 5).

Таблица 5 - Фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови в динамике наблюдения у детей, получавших и не получавших пробиотики.

Показатели	Средние показатели фагоцитарной активности нейтрофилов (M±m)			
	Исследование 1		Исследование 2	
	Сорбированный пробиотик, n=25	группа сравнения, n=19	Синбиотик, n=33	группа сравнения, n=28
Абсолютное число фагоцитирующих нейтрофилов (абс. ед.×10 ⁹ /л) до лечения	1,40±0,08	1,41±0,10	1,42±0,08	1,49±0,10
после лечения	1,49±0,09	1,44±0,14	1,45±0,09	1,50±0,14
Фагоцитарная активность нейтрофилов через 30 мин до лечения	41,1±1,3 ¹⁾	41,2±1,1 ¹⁾	42,3±1,3 ¹⁾	41,8±1,6 ¹⁾
после лечения	49,6±1,5 ¹⁾	45,9±1,4 ¹⁾	46,7±1,5 ¹⁾	45,7±1,4 ¹⁾
Фагоцитарная активность нейтрофилов через 120 мин до лечения	43,6±1,5	43,9±1,6	42,7±1,5	43,7±1,5
после лечения	*40,8±2,9	*44,1±2,2	*41,4±1,2	*44,4±1,8
Фагоцитарный индекс через 30 мин до лечения	4,4±0,12 ²⁾	4,5±0,24	4,3±0,12 ²⁾	4,5±0,19
после лечения	*5,2±0,23 ²⁾	*4,5±0,16	*5,0±0,11 ²⁾	*4,6±0,11
Фагоцитарный индекс через 120 мин до лечения	4,1±0,17	4,4±0,16	4,1±0,13	4,5±0,20
после лечения	4,0±0,18	4,3±0,12	4,0±0,13	4,3±0,12
Индекс переваривания (ИП, ед) до лечения	0,985±0,018 ²⁾	0,988±0,018	1,0±0,018 ²⁾	0,99±0,018
после лечения	1,071±0,020 ²⁾	1,024±0,030	1,064±0,020 ²⁾	1,04±0,030

Примечание: * $p < 0,05$ при сравнении групп получавших и не получавших пробиотик (*t* Стьюдента); ¹⁾ $p < 0,05$; ²⁾ $p < 0,01$; ³⁾ $p < 0,001$ – при сравнении показателей в динамике наблюдения (*t* парный Стьюдента).

В остром периоде ОРЗ у получавших мультиштаммовый бифидосодержащий пробиотик отмечена элиминация вируса в 92,9% против 50% - в группе сравнения, выявлено достоверное сокращение длительности аускультативных изменений в легких (сухих хрипов 2,85±0,25 против 3,79±0,22 дня в группе сравнения, $p < 0,05$), длительности кашля (7,18±0,15 и 7,98±0,15 дня, $p < 0,05$), сроков применения антибактериальной терапии (7,6±0,25 и 8,35±0,3 дня, $p < 0,05$).

Расчет критериев риска пользы-вреда свидетельствует, что назначение мультиштаммового бифидосодержащего пробиотика в остром периоде снижает риск возникновения ОРЗ в течении 12 недель катарального наблюдения на 20,0% (САР) или в 3 раза (ОР)(табл. 6).

Таблица 6. Показатели риска развития ОРЗ в течение 12 недель наблюдения после включения мультиштаммового бифидосодержащего пробиотика в комплекс лечения ОРЗ

Критерии	Значения	95% ДИ
Частота исхода в группе лечения (%)	40,0	20,3-63,3
Частота исхода в группе сравнения (%)	60,0	22,6-86,7
Сокращение абсолютного риска (%)	20,0	7,6-50
Относительный риск (ед)	0,66	
Сокращение относительного риска (ед)	0,34	0,11-0,78
Число больных, которых нужно лечить, чтобы предотвратить неблагоприятный исход (ед)	5	3,5-15,0
Отношение шансов события к отсутствию события (ед)	0,44	0,17-0,96

Применение мультиштаммового бифидосодержащего пробиотика способствовало снижению частоты высева со слизистой ротоглотки энтеробактерий ($p < 0,05$), грибов рода *Candida* ($p \leq 0,05$), восстановлению функциональной активности микрофлоры ротоглотки и снижению активности протеолитических бактерий в ее составе, в том числе продуцентов *iC4* ($p < 0,05$). Мультиштаммовый бифидосодержащий пробиотик способствовал увеличению уровня *sIgA* ($p < 0,01$) и нормализации уровня *IgG* ($p < 0,05$) в слюне. При назначении пробиотика восстанавливалась структура микрофлоры кишечника – снижались значения ИИ (Ме с 161,94 до 131,66% от нормы, $p = 0,102$), концентрации *S6* и *iC6* (Ме *S6* с 424,81 до 116,19% от нормы, $p = 0,005$; Ме *iC6* с 300,11 до 138,98% от нормы, $p = 0,012$) и *iC4* (Ме *iC4* с 128,83 до 92,33% от нормы, $p = 0,150$).

ВЫВОДЫ

1. Повторно болеющим детям 7-11 лет наряду с неоднократными ОРЗ свойственны: высокая частота полиморбидности (95,4%), в том числе, хронической гастроэнтерологической патологии (56,4%), структурный дисбиоз ротоглотки и кишечника, нарушенное реагирование различных звеньев иммунной системы.

2. Метаболическая активность микрофлоры в межморбидном периоде у повторно болеющих детей 7-11 лет характеризуется дефицитом синтеза масляной кислоты (до 21,3% от нормы в ротоглотке и до 47,9% от нормы в кишечнике), преобладанием в большинстве наблюдений (86,2% в ротоглотке и 80,8% в кишечнике) метаболитов протеолитических бактерий над сахаролитическими, высокой концентрацией продуктов деградации аминокислот, обладающих токсическими свойствами.

3. Иммунными нарушениями у повторно болеющих детей в межморбидном периоде являются: дефицит синтеза *sIgA* и дисбаланс *IgA/IgG* на слизистых ротоглотки (100% наблюдений), значительное снижение функциональной активности антигенпрезентирующих клеток, обеспечивающих реакции адаптивного иммунитета – фагоцитирующих нейтрофилов периферической крови (97,8%) и Т-лимфоцитов HLA-DR (81,7%). Концентрация *sIgA* в слюне прямо коррелировала с ОУ КЖК и *C4* ($R = +0,343$; $p < 0,01$) и *C4* ($R = +0,341$; $p < 0,05$) в ротоглотке. Экспрессия маркеров ранней активации иммунных клеток *CD3+HLA-DR* прямо коррелирует с совокупной продукцией КЖК и уровнем бутирата в фекалиях ($R = +0,397$, $p < 0,05$), а индекс

изокислот находится в обратной корреляции с относительным количеством НК-клеток CD3-CD16+CD56+ ($R = \text{минус}0,301$, $p < 0,05$).

4. Хроническая патология ЖКТ и недавно (за 2 месяца) перенесенные ОРЗ способствуют более глубокому метаболическому дефициту и структурному дисбалансу микробиоты двух локусов.

5. В остром периоде инфекций нижних дыхательных путей у повторно болеющих детей регистрируется значительный дефицит маслянокислого брожения и активация строгих протеолитических бактерий в ротоглотке и кишечнике. Состояние функциональной активности микрофлоры ротоглотки ассоциируется с выраженностью локального воспалительного процесса – активацией аэробных бактерий при бронхите, но угнетением бактериального роста и относительным преобладанием протеолитических анаэробов при пневмонии.

6. Включение пробиотиков в комплекс лечения повторно болеющих детей снижает риск повторных ОРЗ в течение трех месяцев наблюдения: синбиотика с витаминно-минеральным премиксом – на 24,3% (95%ДИ 5-45%) в координации с восстановлением функциональной активности фагоцитирующих нейтрофилов и Т-лимфоцитов, а сорбированного бифидосодержащего пробиотика – на 28,8% (95%ДИ 7-51%) в сочетании с увеличением численности сахаролитических бактерий и уровня sIgA на слизистых ротоглотки.

7. Использование мультиштамового бифидосодержащего пробиотика у повторно болеющих детей в лечении инфекций нижних дыхательных путей сокращает продолжительность заболевания и риск повторного ОРЗ в течение трех месяцев наблюдения на 20,0% (95%ДИ 5,6-60%), что сочетается с положительной динамикой микробиологических показателей и реструктуризацией микрофлоры.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Повторно болеющим детям рекомендовано проводить комплексную микробиологическую оценку микрофлоры, включающую бактериологическое исследование и определение метаболической активности микрофлоры ротоглотки и кишечника.

2. Рекомендуется учитывать наличие у повторно болеющих детей следующих факторов. Наличие в анамнезе ХГЭП свидетельствует в пользу более глубоких структурных микробиологических нарушений. ОРЗ, регистрируемые с частотой менее двух месяцев, признак глубокого функционального дефицита микрофлоры ротоглотки и кишечника и высокой вероятности пролонгированного локального воспалительного процесса умеренной степени выраженности.

3. С целью снижения респираторной заболеваемости у повторно болеющих детей в межморбидном периоде в комплексе оздоровительных мероприятий рекомендовано включать пробиотики, а именно: сорбированный бифидосодержащий пробиотик по одной капсуле три раза в день или синбиотик с витаминно-минеральным премиксом по одной жевательной таблетке один раз в день курсом 21 день.

4. Повторно болеющим детям в остром периоде ОРЗ с поражением нижних отделов дыхательного тракта с целью сокращения сроков клинических проявлений заболевания и снижения повторной респираторной заболеваемости рекомендовано в сочетании с общепринятой терапией применение мультиштаммового бифидосодержащего пробиотика по две капсулы три раза в день в течение всего острого периода ОРЗ.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

1. Полученные данные диктуют необходимость дальнейшего изучения клинической роли полиморбидности в формировании склонности к повторным ОРЗ, в том числе протекающим с бактериальными осложнениями и внебольничными пневмониями.
2. Целесообразно изучение эффективности лечения функциональной и хронической патологии у детей в качестве меры профилактики повторных ОРЗ, особенно у детей старше 7 лет.
3. Необходима разработка комплексного междисциплинарного подхода к лечению повторно болеющих детей, принимая во внимание полиморбидность, для достижения максимально возможного клинического эффекта.
4. Требуется определение подбор оптимальных пробиотиков для конкретных категорий пациентов, имеющих сопутствующую патологию, так как подтверждены различия клинико-лабораторных эффектов применения определенных пробиотиков.

Список опубликованных работ.

1. Медведева, Е.А. Состояние микрофлоры кишечника у часто болеющих детей с сопутствующей соматической патологией, направленных в санаторий / Е.А. Медведева, Л.В. Феклисова, Л.В. Пожалостина, Е.А. Лиханская, Л.И. Елизова // Сборник докладов VI Всероссийской науч.-практ. конференции «Инфекционные аспекты соматической патологии у детей», Москва.- 2013.- С. 55-57.
2. Русанова, Е.В. Состояние микробиоты слизистых оболочек ротоглотки детей при поступлении в санаторий / Е.В. Русанова, Л.В. Феклисова, Е.А. Медведева, Л.И. Елизова // Сборник докладов VI Всероссийской науч.-практ. конференции «Инфекционные аспекты соматической патологии у детей», Москва.-2013.- С.93-95.
3. Бочкарева, Н.М. Исходы острых кишечных инфекций у детей старше года / Н.М. Бочкарева, Е.Р. Мескина, Е.А. Медведева, А.Ю. Ушакова, А.А. Долгинова // Сборник докладов VI Всероссийской науч.-практ. конференции «Инфекционные аспекты соматической патологии у детей», Москва.-2013.- С.15-17.
4. Медведева, Е.А. Применение Бион3Кид для профилактики рекуррентных заболеваний у ЧБД / Е.А. Медведева, Л.В. Феклисова, Л.И. Елизова // Всероссийский ежегодный конгресс «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика, Москва. -2015.- С. 109.
5. Феклисова, Л.В. Состояние микрофлоры кишечника у ЧБД в межморбидный период / Л.В. Феклисова, Е.А. Медведева, Е.В. Русанова, Л.И. Елизова // Сборник докладов науч.-практ.

конференция для врачей-бактериологов Москвы и Московской области «Микробиологические аспекты диагностики и лечения воспалительных заболеваний ЛОР органов и органов дыхания, Москва.- 2013.- С. 16-17.

6.Феклисова, Л.В. Состояние заболеваемости острыми респираторными инфекциями в закрытых детских учреждениях в период 2009-2012гг./ Л.В. Феклисова, И.Б. Репина, Е.Е. Целипанова, Л.А. Галкина, Е.Р. Мескина, Н.М. Бочкарева, Е.А. Медведева, А.М. Меленин, Г.В. Тамазян// Сборник материалов V Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням, Москва.-2013. - С. 416.

7.Феклисова, Л.В. Результаты изучения состояния микрофлоры кишечника у ЧБД в межморбидный период / Л.В. Феклисова, Е.А. Медведева, А.М. Затевалов, Л.В. Пожалостина // Сборник материалов X Российской конференции «Педиатрия и детская хирургия в Приволжском федеральном округе», 26 - 28 ноября 2013. - Казань, 2013. - С. 77 - 78.

8.Затевалов, А.М. Исследование динамики фагоцувствительности условно-патогенной микрофлоры ротоглотки и кишечника у часто и эпизодически болеющих детей /А.М. Затевалов, С.С. Афанасьев, Е.П. Селькова, А.В. Алешкин, Е.А. Воропаева, И.А. Киселева, Л.В. Феклисова, Е.Р. Мескина, Е.А. Медведева //Инфекция и иммунитет. Вторая НПК с международным участием «Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности», Москва.-2014 - Специальный выпуск. – С. 81.

9.Феклисова, Л.В. Показатели противoinфекционной резистентности у часто болеющих детей/ Л.В. Феклисова, Е.А. Медведева// Сборник материалов VI Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням, Москва. - 2014.- С.324.

10. Феклисова, Л.В.Применение БионЗКид для профилактики рекуррентных заболеваний у часто болеющих детей/ Л.В. Феклисова, Е.А. Медведева// Сборник материалов Всероссийского Ежегодного Конгресса инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика, Спб.-2015.-С.109.

11.Медведева Е.А. Состояние метаболической активности микрофлоры ротоглотки по результатам исследования короткоцепочных жирных кислот (КЖК) у ЧБД при эпизоде острого респираторного заболевания/ Е.А. Медведева, Л.В. Феклисова, А.М. Затевалов// Сборник материалов VII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием, Москва.- 2015.- С.217.

12.Феклисова, Л.В. Эффективность применения витаминно-пробиотического комплекса при проведении оздоровительных мероприятий у ЧБД в периоде реабилитации /Л.В. Феклисова, Е.А. Медведева, Л.В. Пожалостина, Л.И. Елизова // Сборник материалов VII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием,Москва.- 2015. С. 345.

13.Мескина, Е.Р. Респираторные инфекции у часто болеющих детей: новый взгляд на проблему /Е.Р. Мескина, Е.А. Медведева, Е.В. Русанова, А.М. Затевалов //Лечение и профилактика. – 2015. – № 4 (16). – С. 47 - 54.*

14. Феклисова, Л.В. Перспективная клиническо-микробиологическая оценка реабилитации часто болеющих детей в условиях детского санатория /Л.В. Феклисова, Е.А. Медведева, Л.И. Елезова, Е.В. Русанова, А.М. Затевалов //Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. - 2015. - № 6. - С. 20 - 26.*
15. Медведева, Е.А. Метаболическая активность микрофлоры ротоглотки у детей с бронхитом и внебольничной пневмонией/ Е.А.Медведева, Е.Р. Мескина //Альманах клинической медицины.-2015.-№42.-С 72-79.*
16. Meskina E.R. State of metabolic activity of microflora of the orofarynx in children with bronchitis and pneumonia/ E.R. Meskina, E.A. Medvedeva// Materials of the conference High medical technologies in XXI century, Spain Benidorm.-2015.- P.59-60.
17. Медведева, Е.А. /Состояние метаболической активности кишечника у ЧБД с ХГЭП в межморбидном периоде /Е.А. Медведева, Г.В. Рубцова, Н.М. Бочкарева, Т.В. Сташко, А.Н. Антоненко// Сборник материалов VIII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием, Москва.- 2016 - С 179.
18. Медведева Е.А Микробиоценоз слизистых оболочек ротоглотки у детей с рекуррентными заболеваниями./ Е.А. Медведева, Л.В. Феклисова, Е.В. Русанова, А.А. Долгинова, Л.И. Елезова, Н.С. Матвиевская //Материалы VIII Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням с международным участием, Москва.- 2016.-С 179.
19. Феклисова, Л.В. Дисбиотические нарушения слизистых оболочек ротоглотки у детей с рекуррентными респираторными заболеваниями в различные периоды/ Л.В.Феклисова, Е.А. Медведева// Инфекционные болезни. – 2016.-№14(2).-С. 24–28. *
20. Феклисова, Л.В. Оценка назначения бифидумбактерин форте у часто болеющих детей для профилактики острых респираторных заболеваний/ Л.В.Феклисова, Е.А. Медведева, Л.И. Елезова// Материалы юбилейной X межрегиональной поволжской научно-практической конференции педиатров, Ульяновск.-2016-С.123-125.

*работы поименованы в перечне ВАК.

Список сокращений

ГЖХ	Газожидкостная хроматография
ДИ	95% Доверительный интервал
КЖК	Короткоцепочные (летучие) жирные кислоты
ОРЗ	Острое респираторное заболевание
Показатели, определяемые методом газожидкостной хроматографии	
C2	уксусная кислота
C3	пропионовая кислота
C4	масляная кислота
iC4	изомасляная кислота
C5	валериановая кислота
iC5	изовалериановая кислота
C6	капроновая кислота
iC6	изокапроновая кислота
сумма iCn (Σ iCn)	сумма изокислот
ОУ КЖК	суммарная концентрация КЖК
ИИ	индекс изокислот (суммарное отношение изо-форм кислот к сумме соответствующих кислот)
АИ	анаэробный индекс (отношение суммы концентраций кислот, кроме уксусной, к концентрации уксусной кислоты)
ОР	отношение рисков события в группах
ОШ	отношение шансов события к отсутствию шансов события в сравниваемых группах
САР	сокращение абсолютного риска
СОР	сокращение относительного риска
ЧИЛ	частота исхода в группе лечения
ЧИК	частота исхода в группе сравнения
ЧБНЛ	число больных, которых нужно лечить, чтобы предотвратить неблагоприятный исход
ФА	Фагоцитарная активность
ИП	Индекс переваривания
ФИ	Фагоцитарный индекс
ЕКТ	Естественные киллерные Т-лимфоциты
ХГЭП	Хроническая гастроэнтерологическая патология