

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-196-12-44-52>

Персонафицированная симбионтная терапия детей с функциональными расстройствами органов пищеварения

Гончар Н.В.^{1,2}, Алехина Г.Г.³, Цапиева А.Н.³, Суворов А.Н.^{3,4}, Ермоленко Е.И.^{2,3}, Лавренова Н.С.³, Григорьев С.Г.^{1,5}, Лобзин Ю.В.^{1,2,5}, Скрипченко Н.В.^{1,6}, Хавкин А.И.^{7,8}, Ермоленко К.Д.¹, Ким С.²

¹ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России, 197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 9

² Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41, Россия

³ Институт экспериментальной медицины, 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12, Россия

⁴ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034, Университетская наб., 7/9, Россия

⁵ ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д.6, Россия

⁶ Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д.2, литера Ж, Россия

⁷ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова, 125412, Москва, ул. Талдомская, 2, Россия

⁸ Белгородский государственный исследовательский университет Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Россия, 308015, Белгородская область, Белгород, ул. Победы, д. 85

Для цитирования: Гончар Н.В., Алехина Г.Г., Цапиева А.Н., Суворов А.Н., Ермоленко Е.И., Лавренова Н.С., Григорьев С.Г., Лобзин Ю.В., Скрипченко Н.В., Хавкин А.И., Ермоленко К.Д., Ким С. Персонафицированная симбионтная терапия детей с функциональными расстройствами органов пищеварения. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2021;196(12): 44–52. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-196-12-44-52

✉ Для переписки:

Гончар Наталья Васильевна
nvgonchar@yandex.ru

Гончар Наталья Васильевна, д.м.н., профессор, и.о. руководителя отдела кишечных инфекций; ведущий научный сотрудник; профессор кафедры педиатрии и неонатологии

Алехина Галина Геннадьевна, к.м.н., старший научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии

Цапиева Анна Николаевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии Института экспериментальной медицины

Суворов Александр Николаевич, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, руководитель отдела молекулярной микробиологии Института экспериментальной медицины; зав. кафедрой фундаментальных проблем медицины и медицинских технологий

Ермоленко Елена Игоревна, д.м.н., профессор, зав. лабораторией, ведущий научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии; профессор кафедры микробиологии

Лавренова Надежда Сергеевна, младший научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии

Григорьев Степан Григорьевич, д.м.н., профессор, старший научный сотрудник научно-организационного отдела; ведущий научный сотрудник

Лобзин Юрий Владимирович, д.м.н., профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ; зав. кафедрой инфекционных болезней; главный научный сотрудник

Скрипченко Наталия Викторовна, д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ; заместитель директора по науке; зав. кафедрой инфекционных заболеваний у детей ФП и ДПО

Хавкин Анатолий Ильич, д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела гастроэнтерологии Научно-исследовательского клинического института педиатрии им. академика Ю.Е. Вельтищева

Ермоленко Константин Дмитриевич, к.м.н., научный сотрудник отдела кишечных инфекций

Ким София, студентка 5 курса лечебного факультета

Резюме

Цель исследования — выявить особенности влияния аутопробиотического и пробиотического штаммов *E. faecium* на клинико-лабораторные показатели у детей с функциональной гастроэнтерологической патологией.

Пациенты и методы. В период 2020–2021 г.г. амбулаторно наблюдали 35 детей старше 3 лет с функциональными расстройствами органов пищеварения (ФРОП), которым с лечебной целью назначали аутопробиотик или пробиотический штамм *E. faecium* и рекомендовали диетическое питание.

Протокол исследования предусматривал проведение клинико-anamnestического скрининга, диагностику ФРОП; анализ копрограмм и оценку состава микробиоты кишечника у детей до и после курса пробиотиков. Исследование микробиоты кишечника выполнено методом ПЦР-РВ в фекалиях с использованием набора праймеров «Колоно-флор». Из исследования был исключен 1 пациент по причине отказа от приема аутопробиотика.

Остальные пациенты образовали две группы: группа 1 (n=16) — дети, получавшие аутопробиотический штамм и группа 2 (n=18) — дети, получавшие условно «эталонный» штамм *E. faecium* L3. Пробиотики применяли в виде жидкой формы (представляющей собой закваску на основе изолятов белка сои, содержащую в 10⁹ КОЕ в 1 мл) в дозе по 25 мл 2 раза в день в течение 10 дней.

Результаты использования пробиотических штаммов оценивали на основании данных опроса родителей о состоянии детей и динамике клинических проявлений, а также по изменениям значений показателей копрограмм и состава микробиоты кишечника.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента, U-критерия Манна-Уитни; критерия Вилкоксона. Результаты считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты. Исследования влияния назначения детям с ФРОП штамма *E. faecium* L3 и аутопробиотического штамма выявили положительное воздействие на клиническую симптоматику заболевания (в 29,4% и в 25% соответственно) при отсутствии нежелательных побочных явлений. Анализ динамики копрограмм выявил равнозначную положительную динамику в виде улучшения большинства изучаемых характеристик стула. Исследование состава микробиоты кишечника у наблюдаемых детей обнаружило низкий уровень лактобацилл и энтерококка до и после назначения пробиотиков. После курса штамма *E. faecium* L3 отмечалось достоверное повышение содержания *F. prausnitzii*. Использование аутопробиотического штамма способствовало достоверному снижению частоты выделения условно-патогенных бактерий в большом количестве.

Заключение. Курсовое назначение аутопробиотического и пробиотического штаммов *E. faecium* у детей с ФРОП показало положительное воздействие на клиническую симптоматику, улучшению большинства показателей копрограмм и нормализации состава микробиоты кишечника.

Ключевые слова: функциональные расстройства органов пищеварения, дети, лечение, пробиотики, аутопробиотики, микробиота кишечника

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-196-12-44-52>



Personalized symbiotic therapy for children with functional digestive disorders

N. V. Gonchar^{1,2}, G. G. Alekhina³, A. N. Tsapieva³, A. N. Suvorov^{3,4}, E. I. Ermolenko^{2,3}, N. S. Lavrenova³, S. G. Grigoriev^{1,5}, Yu. V. Lobzin^{1,2,5}, N. V. Skripchenko^{1,6}, A. I. Khavkin^{7,8}, K. D. Ermolenko¹, S. Kim²

¹ Science Research Institute of Children's Infections, FMBA of Russia, 9, Professora Popova str., St. Petersburg, 197022, Russia

² North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, 41, Kirochnaya str., St. Petersburg, 191015, Russia

³ Institute of Experimental Medicine, 12, Academician Pavlova str., St. Petersburg, 197376, Russia

⁴ Saint Petersburg State University, 7–9 Universitetskaya Emb., St Petersburg 199034, Russia

⁵ Military Medical Academy named after S. M. Kirov, 6, Akademika Lebedev street, 194044, St. Petersburg, Russia

⁶ Saint Petersburg State Pediatric Medical University, 2 Litovskaya str., Saint-Petersburg, 194100, Russia

⁷ Pirogov Russian National Research Medical University them. N. I. Pirogova, 2, Taldomskaya str., Moscow, 125412, Russia

⁸ Belgorod State Research University Russian Federation, 85 Pobedy Street, Belgorod, the Belgorod region, 308015, Russia

For citation: Gonchar N. V., Alekhina G. G., Tsapieva A. N., Suvorov A. N., Ermolenko E. I., Lavrenova N. S., Grigoriev S. G., Lobzin Yu. V., Skripchenko N. V., Khavkin A. I., Ermolenko K. D., Kim S. Personalized symbiotic therapy for children with functional digestive disorders. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2021;196(12): 44–52. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-196-12-44-52

Natalia V. Gonchar, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Intestinal Infections Department, Leading Researcher; Professor of the Department of Pediatrics and Neonatology; ORCID: 0000–0002–5938–2934

Galina G. Alekhina, Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher, Department of Molecular Microbiology

Anna N. Tsapieva A. Candidate of Biological Sciences, Research Associate, Department of Molecular Microbiology; ORCID: 0000–0001–7878–6339

Aleksandr N. Suvorov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of Department of Molecular Microbiology; Head of the Department of Fundamental Problems of Medicine and Medical Technologies; ORCID: 0000–0003–2312–5589

Elena I. Ermolenko, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head Laboratory, Lead Researcher, Molecular Microbiology Department; Professor, Department of Microbiology; ORCID: 0000–0002–2569–6660

Nadezhda S. Lavrenova, Junior Researcher, Department of Molecular Microbiology

Stepan G. Grigoriev, Doctor of Medical Sciences, Professor, Senior Researcher, Scientific and Organizational Department; Leading Researcher of the Research Center; ORCID: 0000–0003–1095–1216

✉ Corresponding author:

Natalia V. Gonchar
nvgonchar@yandex.ru

Yuri V. Lobzin, Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Honored Scientist of the Russian Federation; Head of the Department of Infectious Diseases; Chief Researcher at the Research; *ORCID: 0000-0002-6934-2223*

Natalia V. Skripchenko, Doctor of Medical Sciences, Professor, Honored Scientist of the Russian Federation; Deputy Director for Science; Head of the Department of Infectious Diseases in Children, Faculty of Postgraduate and Additional Vocational Education; *ORCID: 0000-0001-8927-3176*

Anatoly I. Khavkin, MD, PhD, DSci, Professor, Chief researcher of the Department of gastroenterology, Academician Yu. E. Veltishchev Research and Clinical Institute of Pediatrics; *ORCID: 0000-0001-7308-7280*

Konstantin D. Ermolenko, Candidate of Medical Sciences, Researcher, Department of Intestinal Infections; *ORCID: 0000-0002-1730-8576*

Sofia Kim, 5th year student of the medical faculty

Summary

The aim of the study was to identify the features of the influence of autoprobiotic and probiotic *E. faecium* strains on clinical and laboratory parameters in children with functional gastroenterological pathology.

Patients and methods. In the period 2020–2021. 35 children over 3 years of age with functional gastrointestinal disorders (FGID) were observed on an outpatient basis, who were prescribed an autoprobiotic or probiotic strain *E. faecium* for therapeutic purposes and recommended a diet.

The study protocol provided for clinical and anamnestic screening, FGID diagnostics; analysis of coprograms and assessment of the composition of the intestinal microbiota in children before and after a course of probiotics. The study of intestinal microbiota was carried out by RT-PCR in feces using a set of primers "Colonoflor". One patient was excluded from the study due to refusal to take the autoprobiotic.

The rest of the patients formed two groups: group 1 (n = 16) — children who received the autoprobiotic strain and group 2 (n = 18) — children who received the conditionally "reference" strain *E. faecium* L3. Probiotics were used in the form of a liquid form (which is a starter culture based on soy protein isolates containing 10⁹ CFU in 1 ml) at a dose of 25 ml 2 times a day for 10 days.

The results of using probiotic strains were evaluated on the basis of data from a survey of parents about the state of children and the dynamics of clinical manifestations, as well as changes in the values of indicators of coprograms and the composition of the intestinal microbiota.

Statistical processing of the results was carried out using Student's t-test, Mann-Whitney U-test; Wilcoxon test. The results were considered reliable at a significance level of p < 0.05.

Results. Studies of the effect of prescribing *E. faecium* L3 strain and an autoprobiotic strain to children with FROP revealed a positive effect on the clinical symptoms of the disease (in 29.4% and 25%, respectively) in the absence of undesirable side effects. Analysis of the dynamics of coprograms revealed an equivalent positive dynamics in the form of improvement in most of the studied stool characteristics. The study of the composition of the intestinal microbiota in the observed children revealed a low level of Lactobacilli and Enterococcus before and after the administration of probiotics. After the course of the *E. faecium* L3 strain, a significant increase in the content of *F. prausnitzii* was noted. The use of an autoprobiotic strain contributed to a significant decrease in the frequency of isolation of conditionally pathogenic bacteria in large numbers

Conclusion. The course appointment of autoprobiotic and probiotic *E. faecium* strains in children with FGID has a positive effect on clinical symptoms, improvement of most coprogram indices and normalization of the intestinal microbiota composition.

Keywords: functional gastrointestinal disorders, children, treatment, probiotics, autoprobiotics, intestinal microbiota

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Введение

Функциональные нарушения занимают одно из ведущих мест в структуре патологии органов пищеварения у детей различных возрастных групп, представляя собой медицинскую и социальную проблему [1–4]. Важнейшим звеном патогенеза функциональных расстройств органов пищеварения (ФРОП), наряду с феноменом висцеральной гиперчувствительности и генетической предрасположенности, являются нарушения микробиоценоза

кишечника [5–8]. На коррекцию кишечной микробиоты нацелены пробиотики, которые широко применяются как компоненты функционального питания, так и в виде БАДов или лечебных препаратов практически при всех заболеваниях пищеварительной системы [9, 10].

Выбор пробиотических штаммов для лечения ФРОП у детей небольшой, доминируют почти исключительно штаммы лактобацилл и бифидобак-

терий, при этом их эффективность весьма умеренная [11, 12]. Сегодня специалистами осознана необходимость селективного подбора пробиотиков в зависимости от вида патологии и состояния иммунной системы [1, 3]. Например, применение определенных штаммов при воспалительных заболеваниях кишечника, гинекологических, стоматологических и других патологических состояниях.

Один из подходов решения этой проблемы – персонифицированная симбионтная терапия (ПЕРСТ), основанная на технологии аутопробиотиков, которая предполагает выделение отдельных представителей микробиоты в виде чистых культур, их генетический анализ и возвращение

бактерий обратно в желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) после размножения их вне организма [13]. Кроме того, возможность длительной персистенции аутопробиотических штаммов в организме и пролонгированного действия – то преимущество, которое выгодно их отличает от промышленных пробиотических штаммов [14, 15]. В педиатрической практике лечебное и профилактическое действие аутопробиотических штаммов до последнего времени не было изучено.

Цель исследования – выявить особенности влияния аутопробиотического и пробиотического штаммов *Enterococcus faecium* на клинико-лабораторные показатели у детей с ФРОП.

Пациенты и методы

В Детском научно-клиническом центре инфекционных болезней ФМБА России в период с июля 2020 г. по январь 2021 г. амбулаторно последовательно наблюдали 35 детей с ФРОП, которым с лечебной целью назначали аутопробиотик или пробиотический штамм *E. faecium* и рекомендовали диетическое питание, соответствующее диагностированной патологии. Назначение пробиотического штамма происходило в случае, если технологически не удавалось выделить из фекалий аутопробиотический штамм *E. faecium* [16]. Необходимо подчеркнуть, что положительный лечебный и профилактический эффекты условно «эталонного» штамм *E. faecium* L3 доказаны ранее в многочисленных исследованиях у детей [17, 18, 19].

Протокол исследования предусматривал проведение клиничко-анамнестического скрининга, диагностику ФРОП с учетом Римских критериев IV пересмотра (2016 г.), лабораторные исследования (копрограмма и оценка состава микробиоты кишечника) в динамике наблюдения детей – до и после курса пробиотиков. Копрограмма и исследование микробиоты кишечника проводились в медицинской научно-исследовательской лаборатории «Эксплана» (СПб) методом ПЦР-РВ в фекалиях с использованием набора праймеров «Колонофлор».

Критерии включения в исследование: возраст детей старше 3 лет, наличие характерных клинических проявлений ФРОП; отсутствие признаков воспалительных изменений по данным копрологического исследования (эритроцитов, лейкоцитов, обилия слизи); отсутствие тяжелой соматической, неврологической и эндокринной патологии; монотерапия: курсовой прием пробиотика в течение 10 дней; выполнение протокола исследования; подписание информированного согласия родителей детей на участие в исследовании.

Критерии исключения: невыполнение протокола исследования, появление нежелательных побочных явлений в процессе приема пробиотических штаммов *Enterococcus faecium*. Так, один пациент 13 лет был исключен из исследования на 5-й день по причине отказа от приема аутопробиотика из-за отрицательного отношения к его вкусовым качествам.

Остальные наблюдаемые пациенты, в зависимости от назначаемого аутопробиотического или пробиотического штаммов *E. faecium*, образовали две группы: группа 1 (n=16) – дети, получавшие аутопробиотический штамм и группа 2 (n=18) – дети, получавшие условно «эталонный» штамм *E. faecium* L3. Пробиотики применяли в виде жидкой формы (представляющей собой закваску на основе изолятов белка сои, содержащую в 10^9 КОЕ в 1 мл) в дозе по 25 мл 2 раза в день между приемами пищи в течение 10 дней. Жидкие формы пробиотических штаммов для пациентов готовили в лаборатории биомедицинской микробиологии «Микробиом» ИЭМ (СПб).

Результаты лечебного использования пробиотических штаммов у наблюдаемых пациентов оценивали на основании данных опроса родителей о состоянии детей и динамике клинических проявлений, а также по изменениям значений показателей копрограмм и состава микробиоты кишечника.

При анализе данных копрологического исследования у детей в группах учитывали частоту отклонений изучаемых макроскопических (форма, консистенция, запах, цвет, реакция, слизь) и микроскопических (остатки непереваренной пищи, крахмал внутриклеточный, крахмал внеклеточный, мышечные волокна с исчерченностью, мышечные волокна без исчерченности, жир нейтральный, мыла, кристаллы, растительная клетчатка неперевариваемая, растительная клетчатка перевариваемая, детрит, иодофильная флора, почкующиеся формы) показателей от референсных значений.

Статистическую обработку результатов исследования выполняли с помощью программы Statistica for Windows, v. 10. Для качественных признаков вычисляли частоту встречаемости (в %), для количественных – среднее значение показателя (M), стандартное отклонение (σ), медиану (Me), верхний и нижний квартили. При определении достоверности различий использовали t-критерий Стьюдента, U-критерий Манна-Уитни; критерий Вилкоксона. Результаты считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Проведение исследования было одобрено Локальным этическим комитетом Детского научно-клинического центра инфекционных болезней ФМБА России.

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ клиничко-anamнестических данных пациентов показал, что в структуре ФРОП доминировал синдром раздраженного кишечника (n=26; 74,3%), в том числе постинфекционный синдром раздраженного кишечника (n=19; 54,3%), реже отмечались хронические запоры (n=6; 17,1%), функциональная диспепсия (n=2; 5,7%), функциональная диарея (n=1; 2,9%). Сочетание синдрома раздраженного кишечника (СРК) с дисфункцией билиарного тракта выявлено у 4 (11,4%) детей. Пищевая аллергия и проявления атопического дерматита отмечались у 14 (40%) детей. Хронические очаги инфекции имели 3 (8,6%) детей.

Пациенты группы 1 и группы 2 были сопоставимы по возрасту – $8,4 \pm 3,6$ лет. и $7,6 \pm 3,2$ лет соответственно ($p > 0,05$). В группе 1 преобладали девочки (87,5%), в группе 2 соотношение мальчиков и девочек было примерно одинаковым – 52,9% и 47,1%. Изучение характера клинических проявлений ФРОП после курсового использования пробиотиков выявило отчетливую положительную динамику у 4 (25%) детей в группе 1 и 5 (29,4%) в группе 2, что выражалось исчезновением абдоминального болевого синдрома, нормализацией частоты, формы и консистенции стула, уменьшением метеоризма. У остальных детей в группах наблюдения на фоне приема пробиотиков и в течение последующих 2 недель отчетливых положительных и каких-либо отрицательных изменений в состоянии не отмечалось.

Анализ данных копрограмм пациентов показал, что достоверных различий до и после назначения пробиотиков в самих группах и между группами не было (таблица 1). При этом до назначения

пробиотиков в группе 1 по сравнению с группой 2 отмечались более частое изменение формы стула (25% и 5,6% соответственно) и более частое наличие переваримой растительной клетчатки (37,5% и 16,7%). В обеих группах практически одинаково часто выявлялся внеклеточный крахмал (31,3% и 22,2%), мышечные волокна без исчерченности (62,5% и 50%), детрит (37,5% и 44,4%), что свидетельствовало о наличии признаков умеренной амилореи и креатореи, обусловленных, очевидно, моторными нарушениями, по причине которых отмечалось относительное снижение активности процессов всасывания в кишечнике.

После проведения курса пробиотиков в группе 1 по сравнению с группой 2 чаще выявлялся внеклеточный крахмал (28,6% и 13,3%), но реже отмечались слизь (7,1% и 20%) и мыла (14,3% и 26,7%). В обеих группах часто выявлялись мышечные волокна без исчерченности (64,3% и 46,7%), отмечаемые и до назначения пробиотиков, что косвенно отражало сохранение моторных нарушений кишечника. Кроме того, в обеих группах практически одинаково часто выявлялись нейтральный жир (35,7% и 20%) и детрит (21,4% и 26,7%).

Изучение изменений копрограммы в результате приема пробиотиков в обеих группах детей обнаружило положительную динамику в виде улучшения большинства макроскопических, а также положительную динамику микроскопических характеристик стула таких, как крахмал внеклеточный, переваримая растительная клетчатка, детрит. Отмечены негативные тенденции изменений копрограммы в виде повышения частоты обнаружения нейтрального жира в группе 1 на 16,9%, в группе 2 – на 8,9%,

Таблица 1.

Сравнительная оценка результатов копрологического исследования детей группы 1 и группы 2 до и после курса пробиотических штаммов *Enterococcus faecium*

Table 1.

Comparative assessment of the results of a coprological study of children in group 1 and group 2 before and after a course of probiotic strains *Enterococcus faecium*

Изучаемые показатели	Частота отклонения показателей от референсных значений			
	до курса пробиотика		после курса пробиотика	
	Группа 1 (n=16)	Группа 2 (n=18)	Группа 1 (n=14)	Группа 2 (n=15)
Форма	4/25%	1/5,6%	2/14,3%	0
Консистенция	1/6,2%	1/5,6%	1/7,1%	0
Запах	0	1/5,6%	1/7,1%	0
Цвет	0	1/5,6%	1/7,1%	0
Реакция	2/11,8%	0	0	0
Слизь	3/18,8%	2/11,1%	1/7,1%	3/20%
Остатки непереваренной пищи	0	0	1/7,1%	1/6,7%
Крахмал внутриклеточный	3/18,8%	0	1/7,1%	0
Крахмал внеклеточный	5/31,3%	4/22,2%	4/28,6%	2/13,3%
Мышечные волокна с исчерченностью	3/18,8%	3/16,7%	3/21,4%	3/20%
Мышечные волокна без исчерченности	10/62,5%	9/50%	9/64,3%	7/46,7%
Жир нейтральный	3/18,8%	2/11,1%	5/35,7%	3/20%
Мыла	2/11,8%	1/5,6%	2/14,3%	4/26,7%
Кристаллы	1/6,2%	1/5,6%	0	2/13,3%
Растительная клетчатка непереваримая	3/18,8%	1/5,6%	2/14,3%	1/6,7%
Растительная клетчатка переваримая	6/37,5%	3/16,7%	2/14,3%	0
Детрит	6/37,5%	8/44,4%	3/21,4%	4/26,7%
Иодофильная флора	1/6,2%	1/5,6%	1/7,1%	0
Почкующиеся формы	0	0	0	1/6,7%

Показатели	№ п/п	Группа 1 (n=16)			Группа 2 (n=16)			Уровень значимости различия гр.1 и гр.2, p
		Медиана	Нижний квартиль	Верхний квартиль	Медиана	Нижний квартиль	Верхний квартиль	
Общая бактериальная масса	1	10 ¹²	5×10 ¹¹	10 ¹²	10 ¹²	4×10 ¹¹	10 ¹²	0,57
	2	10 ¹²	7×10 ¹¹	10 ¹²	10 ¹²	6×10 ¹¹	10 ¹²	0,88
<i>Lactobacillus</i> spp.	1	10 ⁵	10 ⁴	5,5×10 ⁵	10 ⁵	10 ⁴	10 ⁶	0,77
	2	10 ⁴	10 ⁴	1,45×10 ⁶	5×10 ⁴	10 ⁴	2×10 ⁶	0,75
<i>Bifidobacterium</i> spp	1	3,5×10 ⁹	6×10 ⁸	9×10 ⁹	6×10 ⁹	2×10 ⁹	9×10 ⁹	0,31
	2	2×10 ⁹	6,5×10 ⁸	4×10 ⁹	5×10 ⁹	2×10 ⁹	10 ¹⁰	0,09
<i>Escherichia coli</i>	1	2×10 ⁷	4,5×10 ⁶	6,5×10 ⁷	10 ⁷	3×10 ⁶	7×10 ⁷	0,51
	2	5×10 ⁶	3×10 ⁶	4,5×10 ⁷	5×10 ⁶	3×10 ⁶	2×10 ⁷	0,75
<i>Bacteroides</i> spp.	1	9×10 ¹¹	4×10 ¹¹	10 ¹²	6×10 ¹¹	2×10 ¹¹	10 ¹²	0,40
	2	10 ¹²	7×10 ¹¹	10 ¹²	10 ¹²	6×10 ¹¹	10 ¹²	0,88
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	1	10 ¹⁰	2×10 ⁹	5,5×10 ¹⁰	10 ¹⁰	9×10 ⁹	5×10 ¹⁰	0,67
	2	3×10 ⁹	2×10 ⁹	9,5×10 ⁹	1,5×10 ¹⁰	9×10 ⁹	6×10 ¹⁰	0,004
<i>Bacteroides thetaomicon</i>	1	1,9×10 ⁸	0	1,4×10 ⁹	9,5×10 ⁷	6×10 ⁶	5×10 ⁸	0,75
	2	3,5×10 ⁷	0	7,5×10 ⁸	3,5×10 ⁷	4×10 ⁵	10 ⁸	0,91
<i>Akkermansia muciniphila</i>	1	1,3×10 ⁷	0	7,5×10 ⁹	6,5×10 ⁷	0	2×10 ¹⁰	0,67
	2	1,85×10 ⁸	0	2,5×10 ⁹	5×10 ⁷	0	2×10 ¹⁰	0,85
<i>Enterococcus</i> spp.	1	0	0	10 ⁵	0	0	0	0,55
	2	0	0	0	0	0	3×10 ⁵	0,27

Таблица 2.

Сравнительные данные значений показателей состава микробиоты кишечника (в КОЕ/г) у детей группы 1 и группы 2 по данным исследования фекалий методом ПЦР-РВ до и после курсового приема пробиотических штаммов *Enterococcus faecium*

Примечание:

№ п/п – номера исследований: 1 – до назначения пробиотиков, 2 – после назначения пробиотиков

Table 2.

Comparative data on the values of indicators of the composition of the intestinal microbiota (in CFU/g) in children of group 1 and group 2 according to the study of feces by RT-PCR before and after a course intake of probiotic strains *Enterococcus faecium*

а также повышения частоты обнаружения мыл в группе 2 на 21,1%, которые были расценены как проявления ускорения транзита пищевых веществ у детей с диагнозом «СРК с запорами».

Исследование состава микробиоты кишечника до и после назначения пробиотиков (исследования № 1 и № 2 соответственно) в обеих группах детей выявило низкий уровень лактобацилл и энтерококков по сравнению с референсными значениями (таблица 2). Сравнение полученных данных между группами с использованием U-критерия Манна-Уитни выявило достоверно более высокое содержание *F. prausnitzii* у детей группы 2 после курсового назначения пробиотика, что свидетельствует о более выраженном положительном воздействии на индигенную микробиоту кишечника пробиотического штамма *E. faecium* L3 по сравнению с аутопробиотическими штаммами.

Анализ результатов исследования микробиоты кишечника до и после назначения пробиотиков

в группе 1 и группе 2 с использованием критерия Вилкоксона достоверных различий не выявил. Однако после назначения пробиотиков отмечена тенденция снижения количества *F. prausnitzii* у детей группы 1 ($p=0,088$), а также тенденции снижения количества *E. coli* ($p=0,096$) и повышения количества *Enterococcus* spp. у детей группы 2 ($p=0,063$).

Изучение частоты значимого повышения содержания условно-патогенных бактерий (УПБ) в фекалиях (КОЕ не менее 10⁵/г) по данным ПЦР-РВ у детей группы 1 и группы 2 в динамике наблюдения обнаружило, что на фоне более частого исходного выявления УПБ в группе 1 ($p<0,05$) отмечалась достоверно более высокая частота их «эрадикации» по сравнению с группой 2 ($p<0,001$) (рисунки 1 и 2). Полученные данные свидетельствуют о целесообразности использования аутопробиотических штаммов энтерококка при наличии выраженного дисбиоза кишечника у детей с функциональной гастроэнтерологической патологией.

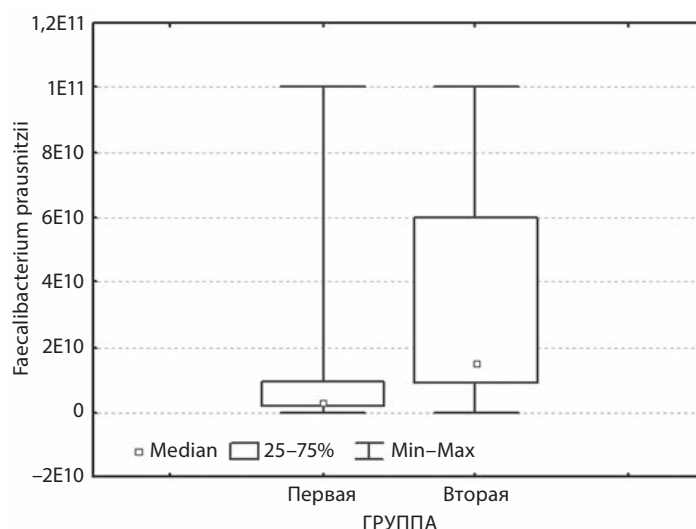


Рисунок 1.

Динамика содержания *F. prausnitzii* в составе микробиоты кишечника (КОЕ/г фекалий) у детей с функциональной гастроэнтерологической патологией, получавших с лечебной целью пробиотический штамм *E. faecium* L3.

Figure 1.

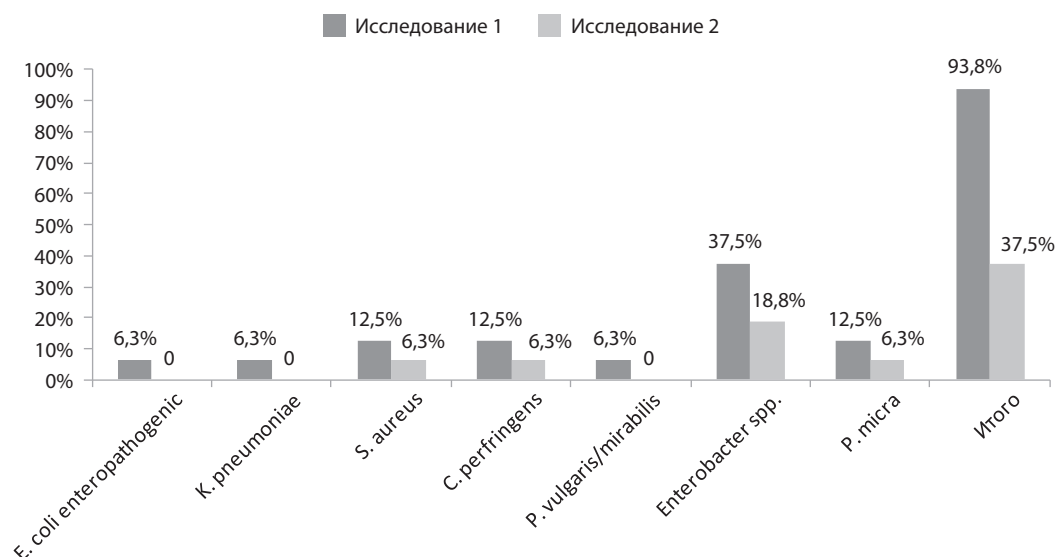
Dynamics of the content of *F. prausnitzii* in the intestinal microbiota (CFU/g of feces) in children with functional gastroenterological pathology who received the probiotic strain *E. faecium* L3 for therapeutic purposes.

Рисунок 2.

Частота выявления значимого повышения содержания условно-патогенных бактерий в фекалиях (КОЕ не менее 10^5 /г) методом ПЦР-РВ у детей группы 1 в динамике наблюдения.

Figure 2.

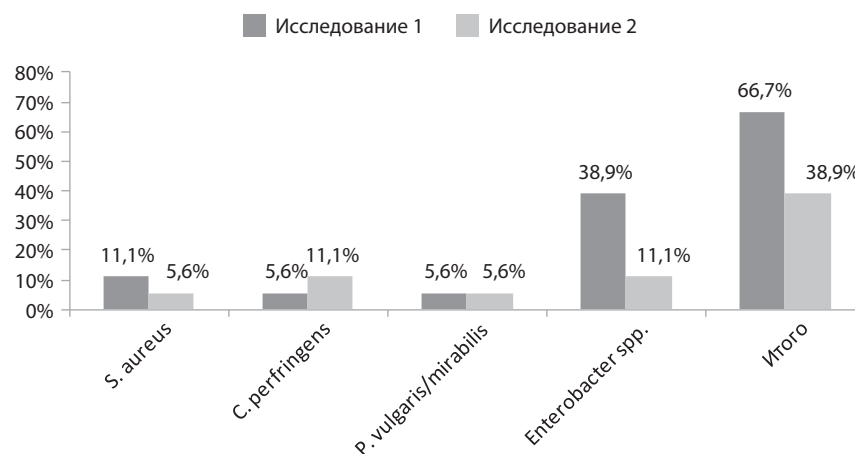
The frequency of detecting a significant increase in the content of opportunistic bacteria in feces (CFU not less than 10^5 / g) by RT-PCR in children of group 1 in the dynamics of observation.

**Рисунок 3.**

Частота выявления значимого повышения содержания условно-патогенных бактерий в фекалиях (КОЕ не менее 10^5 /г) методом ПЦР-РВ у детей группы 2 в динамике наблюдения.

Figure 3.

The frequency of detecting a significant increase in the content of opportunistic bacteria in feces (CFU not less than 10^5 / g) by RT-PCR in children of group 2 in the dynamics of observation.



Заключение

Исследования влияния двух различных подходов назначения штаммов энтерококка детям с ФРОП – условно «эталонного» штамма *E. faecium* L3 и аутопробиотических штаммов с одинаковой частотой (в 29,4% и в 25% случаев соответственно) выявили положительное воздействие на клиническую симптоматику заболевания, что выражалось исчезновением абдоминального болевого синдрома, нормализацией частоты, формы и консистенции стула, уменьшением метеоризма, при отсутствии нежелательных побочных явлений. Анализ динамики копрограмм, в результате приема пробиотиков, также не выявил достоверных различий: имела место равнозначная положительная динамика в виде улучшения большинства макроскопических и микроскопических характеристик стула. Исследование состава микробиоты кишечника у наблюдаемых детей обнаружило низкий

уровень лактобацилл и энтерококка до и после назначения пробиотиков, что подтверждает необходимость пробиотической терапии при ФРОП. Действительно, после курса назначения пробиотического штамма *E. faecium* L3 отмечалось достоверное повышение содержания патогенетически значимого индигенного *F. prausnitzii* в составе микробиоты кишечника. Курсовое использование аутопробиотических штаммов способствовало достоверному снижению частоты выделения условно-патогенных бактерий, это позволяет предполагать санирующее воздействие аутопробиотиков при «упорном» дисбактериозе кишечника (многократном выделении из фекалий условных патогенов в большом количестве) и длительном реконвалесцентном выделении сальмонелл и других бактериальных возбудителей кишечных инфекций у детей.

Литература | References

1. Kapustin A.V., Khavkin A.I., Izachik Yu. A. Funktsional'nyye zabollevaniya organov pishchevareniya u detey. Opyt al'ternativnogo lecheniya. [Functional diseases of the digestive system in children. Experience with alternative treatment]. Almaty. "Kazakhstanskaya pravda", 1994. 191 p. (In Russ.)
Капустин АВ, Хавкин АИ, Изачик ЮА. Функциональные заболевания органов пищеварения у детей. Опыт альтернативного лечения. 1994. Алматы, Коммерческий отдел газеты «Казахстанская правда», 191 с.
2. Belmer S.V., Khavkin A.I., Pechkurov D. V. Functional disorders of the digestive system in children. Diagnostic and Treatment Principles. Moscow. "GEOTAR-Media" Publ., 2018, 160 p. (In Russ)
Бельмер СВ, Хавкин АИ, Печкуров ДВ. Функциональные нарушения органов пищеварения у детей. Принципы диагностики и лечения (В свете Римских критериев IV). Сер. Библиотека врача-специалиста. М.: "ГЕОТАР-Медиа", 2018, 160 с.
3. Omelchenko M. S. Clinical variants of irritable bowel syndrome in children. *Russian Pediatric Journal*. 2020; 23 (6): 407–408. (In Russ.)
Омельченко М. С. Клинические варианты синдрома раздраженного кишечника у детей. Российский педиатрический журнал. 2020; 23(6): 407–408.
4. Belmer S.V., Volynets G. V., Gurova M. M., et al. Draft clinical guidelines of the Russian Society of Paediatric Gastroenterologists, Hepatologists and Nutritionists on diagnosis and treatment of functional gastrointestinal disorders in children. *Vopr. det. dietol. (Pediatric Nutrition)*. 2019;17(6):27–48. (In Russ). doi: 10.20953/1727–5784–2019–6–27–48.
Бельмер С. В., Волюнец Г. В., Гурова М. М., и соавт. Проект клинических рекомендаций российского общества детских гастроэнтерологов, гепатологов и нутрициологов по диагностике и лечению функциональных расстройств органов пищеварения у детей. Вопросы детской диетологии. 2019; 17 (6):27–48. doi: 10.20953/1727–5784–2019–6–27–48.
5. Pechkurov Dmitry V., Turti Tatiana V., Belyaeva Irina A., Tjazheva Alena A. Intestinal Microflora in Children: from Formation Disturbances Prophylaxis to Preventing Non-Infectious Diseases. *Pediatricheskaya farmakologiya – Pediatric pharmacology*. 2016; 13 (4): 377–383. (In Russ). doi: 10.15690/pf.v13i4.1611.
Печкуров Д. В., Турти Т. В., Беляева И. А., Тяжева А. А. Микробиота кишечника у детей: от профилактики нарушений становления к предупреждению неинфекционных заболеваний. Педиатрическая фармакология. 2016; 13 (4): 377–383. doi: 10.15690/pf.v13i4.1611.
6. Uspensky Yu.P., Mirzoev O. S., Fominykh Yu. A., Ivanov S. V. Modern view on problem of combined functional diseases of gastrointestinal tract. *Meditinskiy alfavit*. 2018; 7(344): 42–47. (In Russ.)
Успенский Ю. П., Мирзоев О. С., Фоминых Ю. А., Иванов С. В. Современный взгляд на проблему сочетанных заболеваний органов пищеварения. Медицинский алфавит. 2018; 7(344): 42–47.
7. Khavkin A.I., Volynets G. V., Nikitin A. V. The relationship of the gut microbiome and metabolism of bile acids. *Voprosy prakticheskoy pediatrii (Clinical Practice in Pediatrics)*. 2020; 15(1): 53–60. (In Russ.) doi: 10.20953/1817–7646–2020–1–53–60.
Хавкин А. И., Волюнец Г. В., Никитин А. В. Взаимосвязь кишечного микробиома и метаболизма желчных кислот. Вопросы практической педиатрии 2020; 15(1): 53–60.
8. Komarova O.N., Khavkin A.I. Correlation Between Stress, Immunity and Intestinal Microbiota. *Pediatricheskaya farmakologiya (Pediatric pharmacology)*. 2020; 17(1): 18–24. (In Russ.) doi: 10.15690/pf.v17i1.2078.
Комарова О. Н., Хавкин А. И. Взаимосвязь стресса, иммунитета и кишечной микробиоты. Педиатрическая фармакология 2020; 17(1): 18–24. [
9. Suvorov A. N. Mir mikrobov i chelovek. [The microbial world and man.] *Priroda = Nature*, 2015; 5: 11–19. (In Russ.)
Суворов А. Н. Мир микробов и человек. Природа, 2015; 5: 11–19.
10. Khavkin A.I., Blat S. F. Intestinal microbiocenosis and immunity. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*. 2011;56(1): 159–174. (In Russ.)
Хавкин АИ, Блат СФ. Микробиоценоз кишечника и иммунитет. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2011. Т. 56. № 1. С. 159–174.
11. Bel'mer S.V., Razumovskij A.YU., Khavkin A. I., et al. Bowel disease in children. Moscow. MEDPRAKTIKA-M, 2018; 2: 496. (In Russ.)
Бельмер СВ, Разумовский АЮ, Хавкин АИ, Алхасов АБ, Бехтерева МК, Волюнец Г., и др. Болезни кишечника у детей. Том 2, Москва: МЕДПРАКТИКА-М, 2018; 2: 496.
12. Maccaferri S., Candela M., Turrone S., Centanni M., Severgnini M., Consolandi C., Cavina P., Brigidi P. IBS-associated phylogenetic unbalances of the intestinal microbiota are not reverted by probiotic supplementation. *Gut Microbes*. 2012; 3(5): 406–13. doi: 10.4161/gmic.21009.
13. Il'in V.K., Suvorov A. N., Kiryukhina N. V., et al. [Autoprotobiotics as a means of preventing infectious and inflammatory diseases in humans in an artificial environment]. *Vestnik RAMN*. 2013; 2: 56–62. (In Russ.)
Ильин В. К., Суворов А. Н., Кирюхина Н. В., Усанова Н. А., Старкова Л. В., Бояринцев В. В., Карасева А. Б. Аутопробиотики как средство профилактики инфекционно-воспалительных заболеваний у человека в искусственной среде обитания. Вестник РАМН. 2013; 2: 56–62.
14. Ermolenko E.I., Svirido D. A., Kotyleva M. P., et al. Correction of rats intestinal dysbiosis using indigenous recombinant strains of enterococci and duration of their persistence in intestinal microbiocenosis. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2016;(12):65–69. (In Russ.)
Ермоленко Е. И., Свиридо Д. А., Котылева М. П., Карасева А. Б., Ермоленко К. Д., Соловьева О. И., Симаненков В. И., Суворов А. Н. Коррекция дисбиоза кишечника крыс индигенными рекомбинантными штаммами энтерококков и длительность их персистенции в составе кишечного микробиоценоза. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2016; 136(12): 65–69.
15. Solovieva O.I., Simanenko V. I., Suvorov A. N., Ermolenko E. I., Shumikhina I. A., Svirido D. A. Use of probiotics and autoprotobiotics in the treatment of irritable bowel syndrome. *Experimental and clinical gastroenterology*. 2017; 143 (7): 115–120. (In Russ.)
Соловьева О. И., Симаненков В. И., Суворов А. Н., Ермоленко Е. И., Шумихина И. А., Свиридо Д. А.

- Использование пробиотиков и аутопробиотиков в лечении синдрома раздраженной толстой кишки. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2017;143(7): 115–120.
16. Metod autoprobioticheskoy profilaktiki i lecheniya dysbioticheskikh rasstroystv. Meditsinskaya tekhnologiya. [A method of autoprobiotic prevention and treatment of dysbiotic disorders. Medical technology]. SPb. GOU DPO SPb MAPO Roszdruva, 2011. 14 p. (In Russ.)
- Метод аутопробиотической профилактики и лечения дисбиотических расстройств. Медицинская технология. СПб: ГОУ ДПО СПб МАПО Росздрава, 2011; 14 с.
17. Gonchar N.V., Alekhina L. A., Suvorov A. N. Probiotic strains of enterococci as a means of therapy and prevention of intestinal diseases in children. *Experimental and clinical gastroenterology*. 2013; 1: 74–78. (In Russ.)
- Гончар Н. В., Алехина Л. А., Суворов А. Н. Пробиотические штаммы энтерококков как средства терапии и профилактики заболеваний кишечника у детей. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2013; 1: 74–78.
18. Gonchar N.V., Lo Skiavo L. A., Suvorov A. N., Grigor'ev S.G Current technologies for preventing infectious complications in premature infants. *Zhurnal infektologii*. 2016; 8 (1): 32–37. (In Russ.)
- Гончар Н. В., Ло Скиаво Л. А., Суворов А. Н., Григорьев С. Г. Современные технологии профилактики инфекционных осложнений у недоношенных детей. Журнал инфектологии. 2016; 8(1): 32–37. /
19. Khavkin A. I. The microflora of the digestive tract. Moscow. Fond sotsial'noy pediatrii Publ., 2006. 416 P. (In Russ.)
- Хавкин А. И. Микрофлора пищеварительного тракта. М.: Фонд социальной педиатрии, 2006; 416.