

**Носырева Светлана Юрьевна**

**ПРОФИЛАКТИКА РАННЕЙ АЛЛЕРГОПАТОЛОГИИ У ДЕТЕЙ  
ПУТЕМ МОДУЛЯЦИИ МИКРОБНОГО ФАКТОРА  
ГИСТАМИНООБРАЗОВАНИЯ**

**14.01.08 – Педиатрия**

**АВТОРЕФЕРАТ**  
**диссертации на соискание ученой степени**  
**кандидата медицинских наук**

**Самара 2019**

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор

**Литяева Людмила Алексеевна**

**Официальные оппоненты:**

**Гончар Наталья Васильевна**, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра педиатрии и неонатологии, профессор

**Усенко Денис Валериевич**, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник, федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, клинический отдел инфекционной патологии, ведущий научный сотрудник

**Ведущая организация:** федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Саратов

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 г. в 1\_.00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.085.04 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (443079, г. Самара, пр. К. Маркса, 165 Б).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке (443001, г. Самара, ул. Арцыбушевская, 171) и на сайте (<http://www.samsmu.ru/scientists/science/referats/>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 года

**Ученый секретарь диссертационного совета,**

доктор медицинских наук, доцент

**Жирнов Виталий Александрович**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** В течение последних десятилетий отмечается устойчивый рост аллергических заболеваний, в том числе пищевой аллергии (Балаболкин И.И., 2010; Макарова С.Г., 2015; Ревякина В.А., 2017). Среди детей, страдающих атопическим дерматитом (АтД), частота пищевой аллергии (ПА) превышает 30% (Fioschi A., 2010; Koletzko S., 2012; Venter C., 2016). Эта проблема наиболее актуальна в раннем детском возрасте – периоде становления кишечного микробиома и иммунной системы (Намазова-Баранова Л.С., 2010-2011; Muraro A., Werfel T., Hoffmann-Sommergruber K., 2014).

Микробная экосистема кишечника, ассоциированная в биопленку, осуществляет регуляцию иммунного ответа как на локальном уровне – формирование оральной толерантности к пищевым аллергенам, так и на системном – за счет стимуляции продукции противовоспалительного ИЛ-10 и фактора роста TGF- $\beta$ , который переключает дифференцировку лимфоцитов с Th-2 на Th-1 (Tanata K., Sawamura S., Alba Y. et al., 1996; Knipe D.M., Howley P.M., 2013).

Именно для ранних проявлений аллергии у детей характерно наличие «не IgE-опосредованных форм заболеваний», в развитии которых большое значение имеет гистамин, а органами-мишенями наиболее часто становятся кожа и желудочно-кишечный тракт (Баранов А.А., Ревякина В.А., Короткий Н.Г., 2004; Согласительный документ АДАИР, 2010). При этом аллергическое поражение желудочно-кишечного тракта может манифестировать под маской острых кишечных инфекций (Усенко Д.В., Горелов А.В., Самарина А.Н., Шабалина С.В., 2012).

Микробиота кишечника, как физиологический регулятор пула гистамина, может участвовать в развитии псевдоаллергических реакций (Шендеров Б.А., 2013; Богданова Н.М., Булатова Е.М., 2013; Maintz L., Novak N., 2007; Bieber T., Cork M., Reitamo S., 2012).

**Степень разработанности темы исследования.** Установлена способность бактерий различных биотопов индуцировать выделение свободного гистамина при некоторых аллергических заболеваниях, а так же их способность к деструкции данного медиатора (Макарова С.Г., 1992; Воропаева Е.А., 2002; Матвеева Н.И., 2005; Ключева Л.А., 2008; Алешукина А.В., 2012; Кулакова Ю.В., 2013).

Выявлена ведущая роль лактобацилл в регулировании как всего пула гистамина, так и его свободной части (Ляшенко А.В., 2006; Sakurai T., Kataoka K., 2007; Callejón S., Sendra R., 2014).

Однако, имеющиеся в литературе сведения о роли микробного фактора в регуляции метаболизма гистамина и программировании аллергопатологии в системе «мать-плод-новорожденный» недостаточны.

Отсутствуют данные о степени выраженности гистидиндекарбоксилазной активности (ГДА) кишечной микробиоты у матерей с аллергическими заболеваниями и их новорожденных детей, о влиянии превентивной коррекции микробиологических нарушений кишечника на модуляцию содержания пула гистамина и снижение риска аллергопатологии.

**Цель исследования:** разработать эффективный метод первичной профилактики аллергопатологии путем модуляции микробного механизма гистаминообразования у новорожденных «группы риска».

**Задачи исследования:**

1. Проанализировать факторы риска нарушения здоровья и становления кишечной микробиоты у детей «группы риска» по аллергопатологии, их связь с развитием ранних проявлений аллергии.

2. Выявить особенности формирования микробиоценоза кишечника у новорожденных «группы риска» по аллергопатологии и их связь с микробиологическим статусом матерей.

3. Определить наличие гистидиндекарбоксилазной активности у штаммов, выделенных из кишечника пар «мать-дитя», выявить индикаторные группы кишечных штаммов.

4. Оценить влияние гистаминообразующей активности кишечной микробиоты на частоту развития гастроинтестинальных и кожных проявлений аллергии у детей.

5. Изучить эффективность применения пробиотической композиции с диаминооксидазной активностью для модуляции гистаминообразования и снижения частоты развития ранних аллергических проявлений у детей «группы риска».

**Научная новизна исследования.** Уточнено влияние особенностей становления кишечной микробиоты в системе «мать-плод-новорожденный» с аллергической настроенностью на реализацию аллергопатологии в первый год жизни.

Впервые у беременных женщин с аллергическими заболеваниями и их новорожденных детей выявлена высокая интенсивность продукции гистамина кишечными микроорганизмами, прогностически значимая в реализации аллергической настроенности в заболевание и установлена взаимосвязь степени интенсивности гистаминообразования кишечных штаммов у этих детей с частотой и сроками развития ранних проявлений аллергии.

Выявлены индикаторные группы кишечных штаммов, обнаружение которых ассоциируется с высокой степенью гистаминообразования.

Показана целесообразность и уточнена эффективность метода первичной профилактики аллергопатологии с использованием пробиотической композиции, содержащей в своем составе штамм лактобактерий с диаминооксидазной активностью, физиологически снижающей пул гистамина у новорожденных детей «группы риска».

**Теоретическая значимость работы.** Изучение особенностей становления кишечной микробиоты и степени интенсивности ГДА у детей «группы риска» позволило уточнить факторы, способствующие реализации аллергической настроенности в первый год жизни и предложить эффективный метод первичной профилактики путем модуляции механизмов гистаминообразования.

**Практическая значимость работы.** Результаты исследования определяют новый подход к профилактике аллергопатологии у детей «группы риска», заключающийся в определении гистидиндекарбоксилазной активности кишечных штаммов у беременных женщин и целенаправленной коррекции с использованием композиции штаммов лактобактерий с диаминооксидазной активностью, физиологически снижающей пул гистамина у новорожденных.

**Методология и методы диссертационного исследования.** Методология диссертационного исследования построена на изучении и обобщении литературных данных по формированию кишечной микробиоты и влиянию гистидиндекарбоксилазной активности ее представителей у новорожденных «группы риска» на развитие аллергопатологии; оценке степени разработанности и актуальности темы. В соответствии с поставленной целью и задачами был разработан план выполнения всех этапов диссертационной работы; выбраны объекты исследования и подобран комплекс современных методов исследования. Методологической основой стало применение комплекса анамнестических, клинических, микробиологических и статистических методов исследования. Математическая обработка данных проводилась с использованием современных компьютерных технологий.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Осложненное течение беременности и родов, а так же нарушения микрoэкологической системы кишечника у женщин с аллергопатологией, обусловленные наличием у них соматической и гинекологической патологии, негативно влияют на формирование кишечной микробиоты и состояние здоровья их новорожденных детей.

2. Нарушения становления микробиоты кишечника в системе «мать-плод-новорожденный» способствуют активной колонизации микроорганизмами с высокой гистидиндекарбоксилазной активностью и развитию гастроинтестинальных и кожных аллергических проявлений у детей в первые месяцы жизни.

3. Антенатальная коррекция с использованием пробиотика, содержащего штамм лактобактерий с диаминооксидазной активностью, уменьшая количественное содержание кишечных микроорганизмов с высокой гистидиндекарбоксилазной активностью и ее интенсивность, эффективно снижает частоту развития и степень выраженности ранних аллергических проявлений в первый год жизни.

**Апробация научных результатов.** Результаты проведенного исследования были представлены и обсуждены на международных, всероссийских и региональных конференциях: XV Конгрессе детских инфекционистов России (Москва, 2016), второе место в конкурсе молодых ученых в рамках работы Конгресса; V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием молодых ученых (Оренбург, 2016), получен диплом за лучший доклад по секции «Педиатрия»; Научно-практической конференции с международным участием «Молодые ученые – от технологий 21 века к практическому здравоохранению» (Самара, 2016), получен диплом за лучший доклад по секции «Педиатрия»; Межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы педиатрии на современном этапе» (Оренбург, 2016); Российской научно-практической конференции «Актуальные проблемы инфекционной патологии» (Санкт-Петербург, 2017), IX Ежегодном Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням с международным участием (Москва, 2017), участие в конкурсе молодых ученых в рамках Конгресса.

**Личный вклад автора.** Автор принимала непосредственное участие в организации и выполнении исследований по всем разделам диссертации: отбор пациентов, забор материалов, клиническое и микробиологическое обследование, наблюдение в динамике, анализ и статистическая обработка полученных данных, формулировка научных положений работы, подготовка патентов, научных публикаций и докладов.

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 14.01.08 – педиатрия по области исследования: 3. Физиология и патология детей периода новорожденности, раннего, дошкольного и школьного возраста.

**Внедрение результатов исследования в практику.** Результаты диссертационного исследования внедрены в работу консультативной детской

поликлиники ГАУЗ ГKB №2 г. Оренбурга, детских поликлиник №3 и №4 ГАУЗ «ДГКБ» г. Оренбурга, в лекционный курс и практические занятия для студентов и ординаторов на кафедре эпидемиологии и инфекционных болезней ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава России.

**Степень достоверности полученных результатов.** Достоверность полученных результатов и научных выводов подтверждена достаточным и репрезентативным объемом выборок обследуемых групп, использованием современных методов исследований, отвечающих задачам научного поиска. Полученные данные были подвергнуты обработке с применением адекватно подобранных методов статистического анализа.

**Связь темы диссертации с планом научно-исследовательских работ университета.** Диссертационная работа выполнена в ФГБОУ ВО ОрГМУ Минздрава РФ согласно плана НИР.

**Публикации по теме диссертации.** По материалам диссертации опубликовано 22 печатные работы, из них – 5 в журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, в том числе 1 статья в журнале, входящем в международную базу данных Scopus. Получены 2 патента РФ на изобретения.

**Объем и структура работы.** Диссертация изложена на 170 страницах машинописного текста и состоит из введения, пяти глав, заключения, списка литературы. Работа иллюстрирована 16 таблицами, 30 рисунками. Библиографический указатель включает 365 источников, из которых 148 опубликованы в отечественной и 217 в зарубежной литературе.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**Материалы и методы исследования.** В работе представлены результаты сравнительного клинко-микробиологического обследования 110 пар «мать-дитя» с отягощенным наследственным анамнезом по аллергопатологии (основная группа): из них 70 – с нарушениями репродуктивного и соматического здоровья у женщин (группа I); 40 – условно здоровые (группа II). Группу сравнения составили 20 пар «мать-дитя» без наследственной отягощенности по аллергопатологии.

**Критериями включения** в основную группу являлись: срок гестации 32-34 недели, наличие аллергопатологии в анамнезе у беременной женщины, наличие у беременной женщины соматического и/или гинекологического заболеваний в стадии обострения или ремиссии (группа I) или отсутствие у беременной женщины соматических и гинекологических заболеваний (группа II). **Критериями включения** в группу сравнения были – срок гестации 32-34 недели, отсутствие

аллергопатологии в анамнезе у беременной женщины, отсутствие соматических и гинекологических заболеваний у женщины.

Диагноз АтД ставился на основании критериев Российской ассоциации аллергологов и клинических иммунологов «Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению атопического дерматита» (Москва, 2013). Для определения степени тяжести АтД использовалась полуколичественная шкала SCORAD-TIS.

Кожные высыпания, не соответствующие этим критериям, учитывались как кожные проявления пищевой аллергии (L27.2). Учитывались гастроинтестинальные проявления аллергии – тошнота, рвота, диарея, боли в животе, вызванные приемом пищи, оценивались копрологические данные. Согласно клиническим рекомендациям «Пищевая аллергия» Союза педиатров России (2016), назначалась диагностическая элиминационная диета сроком 1-3 недели, диагностическое введение продукта.

Бактериологическое обследование женщин проводилось однократно на сроке 32-34 недели гестации, детей дважды – до 1 месяца жизни и после проведенной коррекции в соответствии с отраслевым стандартом (Приказ МЗ РФ № 231 от 2003 г.).

Гистидиндекарбоксилазная активность определялась у 551 идентифицированных штаммов, изолированных из кишечника детей (303 штаммов при первичном обследовании и 248 при повторном) и 425 штаммов матерей качественным методом на среде Moeller с 1% L-гистидином (методика освоена в ФБУН МНИИЗМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии). Интенсивность ГДА штамма оценивалась по степени изменения цвета индикатора (4-х бальная шкала) и учитывалась как высокая при обнаружении одного штамма на 3 или 4 балла, либо более двух на 1 или 2 балла. Низкая – не более двух штаммов на 1 или 2 балла.

В зависимости от вида превентивной коррекции I группа пар «мать-дитя» были разделены на три подгруппы, репрезентативные по степени выраженности микробиологических нарушений кишечника: подгруппа IA (n=24) – антенатальная профилактика, подгруппа IB (n=28) – постнатальная, подгруппа IB (n=18) – не получившие по разным причинам биокоррекции.

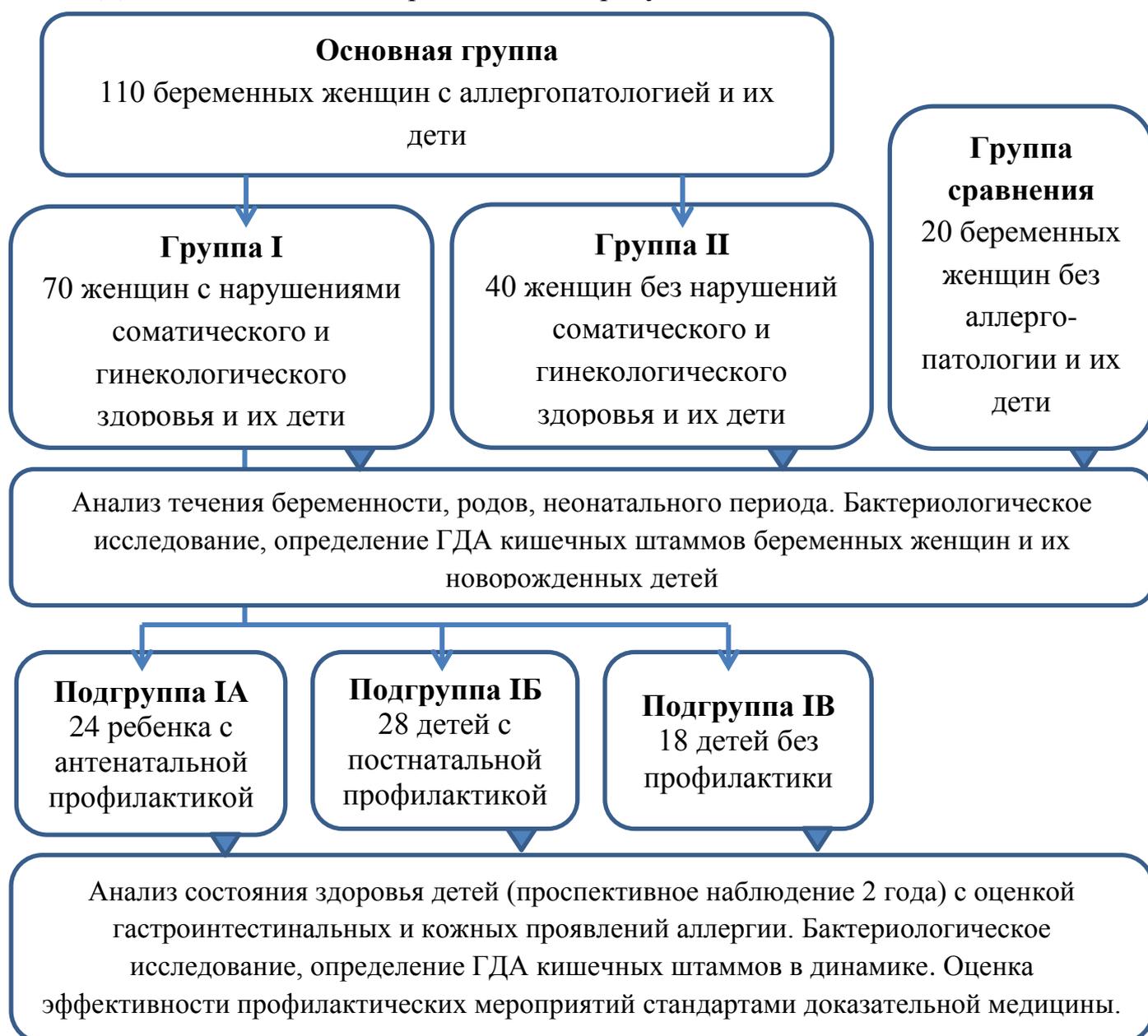
У беременных (32-34 недели гестации) использовали пробиотический комплекс, разрешенный к применению у данной категории женщин, содержащий *L.acidophilus* NK-1 с доказанной диаминооксидазной активностью, *L.plantarum*, *L.casei*, *B.bifidum*, *B.longum*, *B.adolescentis*, инулин, олигофруктозу, курсом 14 дней

по 1 капсуле 3 раза в день во время еды («Normospectrum for adults»). Свидетельство о государственной регистрации №: 77.99.88.003.Е.002283.05.16).

У детей (1-3 месяца) использовали препарат, разрешенный к применению с 1 месяца жизни, содержащий штаммы *Lactobacillus rhamnosus* GG и фруктоолигосахариды, по 1 саше в день 14 дней («Normobact L»). Свидетельство о государственной регистрации №: 16.01.78.003.Е.002243.08.13).

Оценка эффективности корригирующей терапии проводилась суммарно по клинико-микробиологическим данным. Проспективное наблюдение осуществлялось до достижения детьми двухлетнего возраста.

Дизайн исследования представлен на рисунке 1.



**Рисунок 1 – Дизайн исследования**

Математическая обработка данных проводилась методами параметрической и непараметрической статистики. Определяемые величины: средняя арифметическая (M), ошибка средней арифметической (m). Критерии достоверности –  $\chi^2$  Пирсона, угловой критерий Фишера. Вычислялись показатели отношения шансов (ОШ) и его 95% доверительный интервал (ДИ). Направление и сила корреляции оценивалась с помощью анализа ранговой корреляции по Spearman (r). Общее направление сдвига исследуемых признаков оценивалось по G-критерию знаков. Статистически достоверными считались результаты при p не более 0,05.

### Результаты исследования и их обсуждение

Мониторинг течения беременности и родов женщин группы I выявил наличие осложнений у большинства из них (85,8%) относительно женщин группы II (36,8%).

Оценка степени влияния выделенных факторов риска на развитие кожных аллергических проявлений показала, что наиболее существенными факторами были: хроническая внутриутробная гипоксия плода; фето-плацентарная недостаточность; гестоз; кесарево сечение; раннее искусственное вскармливание; антибиотикотерапия (таблица 1).

**Таблица 1 – Оценка степени влияния выделенных факторов риска на развитие кожных аллергических проявлений у детей**

Анализируемый фактор	Кожные аллергические проявления		ОШ (ДИ); $\chi^2$ ; p
	есть (n=39) Абс.; M±m, %	нет (n=71) Абс.; M±m, %	
Ранний токсикоз	22 56,4±7,9	33 46,4±5,9	1,6 (0,8-3,6); $\chi^2=1,1$ ; p=0,289
Угроза прерывания	21 53,8±8,0	27 38,1±7,8	2 (0,9-4,5); $\chi^2=2,3$ ; p=0,127
Кровотечения	4 10,2±4,8	3 4,2±2,4	2,6 (0,5-12,2); $\chi^2=0,7$ ; p=0,406
Гестоз*	9 39,1±7,8	4 5,6±2,7	5 (1,4-17,6); $\chi^2=5,8$ ; p=0,016
Хроническая внутриутробная гипоксия плода*	18 46,1±8,0	15 21,1±4,8	3,2 (1,4-7,5); $\chi^2=6,4$ ; p=0,012
Фето-плацентарная недостаточность*	19 48,7±8,0	18 25,3±5,2	3,2 (1,4-7,4); $\chi^2=6,7$ ; p=0,01

Анализируемый фактор	Кожные аллергические проявления		ОШ (ДИ); $\chi^2$ ; p
	есть (n=39) Абс.; M±m, %	нет (n=71) Абс.; M±m, %	
Длительный безводный период	7 17,9±6,1	6 8,5±3,3	2,4 (0,7-7,6); $\chi^2=1,4$ ; p=0,243
Кесарево сечение*	12 30,8±7,4	9 12,7±4,0	3,1 (1,2-8,1); $\chi^2=4,2$ ; p=0,040
Инфекционно-воспалительные заболевания	17 43,6±7,9	18 25,3±5,2	2,2 (1-5); $\chi^2=2,7$ ; p=0,098
Мекониальные воды	9 39,1±7,8	8 11,3±3,8	2,1 (0,8-6,1); $\chi^2=1,4$ ; p=0,238
Раннее искусственное вскармливание*	26 66,6±7,6	24 33,8±5,6	3,6 (1,6-8); $\chi^2=8,5$ ; p=0,004
Антибиотикотерапия *	12 30,8±7,4	6 8,5±3,3	4,3 (1,5-12,7); $\chi^2=6,5$ ; p=0,011

\* – разница статистически значима ( $\chi^2 > 3,84$ ; p < 0,05)

Большинство детей «группы риска» по аллергопатологии на первом месяце жизни получали исключительно грудное молоко без статистически достоверной разницы по группам сравнения. К трем месяцам количество таких детей значительно уменьшилось, составив 45,8% в группе I и 52,5% в группе II ( $\chi^2=0,4$ ; p=0,528).

У детей группы I уже в раннем неонатальном периоде наблюдались: 18,6% инфекция кожных покровов, 32,9% – инфекция глаз, 5,8% – неудовлетворительное состояние пупочной ранки, 55,8% – кишечные дисфункции, 15,8% детей получали антибактериальную терапию. В группе II течение раннего неонатального периода было более благоприятным: у 10,7% новорожденных отмечался конъюнктивит, у 7,5% – единичные гнойничковые элементы сыпи, антибактериальную терапию получали 5,0% детей.

У большинства детей группы I уже на первом месяце жизни отмечались гастроинтестинальные проявления в виде обильных срыгиваний (62,3%), диареи (48,8%), запора (12,9%), кишечных колик (42,3%), метеоризма (38,6%), наличия в кале большого количества прозрачной слизи (22,9%), воды (18,6%), пены (8,6%), зелени (7,2%). Гастроинтестинальные проявления у детей II группы наблюдались достоверно реже 17,5% ( $\chi^2=28,3$ ; p < 0,001).

Кожные аллергические проявления были зарегистрированы у 44,3% детей группы I (из них АтД у 14,3%): до 3-х месяцев – 35,5%, 3-6 месяцев – 38,7%, во втором полугодии – у четверти (19,4%), на втором году жизни – только у некоторых из них (6,4%).

У детей группы II кожные проявления аллергии отмечались достоверно реже – 20,0% (из них АтД у 7,5%) ( $\chi^2=5,5$ ;  $p=0,019$ ) и в более поздние сроки: до 3-х месяцев у 1 ребенка, 3-6 месяцев у 2 детей, во втором полугодии у 3 детей, на втором году жизни у 2 детей.

По степени тяжести у 67,7% детей группы I было легкое течение ( $11\pm 1,76$  балла), у 25,8% – среднетяжелое ( $31,03\pm 1,45$  балла), у 6,4% – тяжелое ( $57,24\pm 2,64$  балла). В группе II: у 6 детей – легкое, у 2 детей – среднетяжелое, тяжелого течения не было.

Бактериологический анализ фекалий беременных группы I выявил статистически достоверную разницу относительно женщин группы II в виде снижения количественного уровня бифидобактерий ( $\chi^2>3,84$ ;  $p<0,05$ ) и активной пролиферации различных условно-патогенных бактерий.

Аналогичную закономерность показало первоначальное бактериологическое исследование фекалий детей. У большинства младенцев группы I (78,6%) не произошло формирования популяционного уровня бифидо-, лактобактерий. Снижение количества кишечных палочек с типичными свойствами было у 64,3% детей, у половины из них (54,3%) отмечался избыточный рост кишечных палочек с измененными свойствами.

На фоне нарушений нормобиоты у детей группы I регистрировалась высокая колонизационная активность грамотрицательных (Гр-) микроорганизмов: *Klebsiella* spp. (35,8%), *Proteus* spp. (20,0%), *Enterobacter* spp. (18,6%), *Citrobacter freundii* (11,5%), кишечные палочки с измененными свойствами (55,8%), среди которых кишечные палочки с гемолизирующими свойствами составили 17,2%, лактозонегативные и лактозодефективные эшерихии – 20,0% и 17,2% соответственно.

Из аэробных грамположительных (Гр+) бактерий наиболее часто обнаруживались *Staphylococcus* spp. (47,2%). Из них золотистый стафилококк – в 20,0% случаев, эпидермальный стафилококк – в 27,2%. Пролиферация дрожжеподобных грибов отмечена у 11,5%. У половины из них (54,3%) регистрировался ассоциативный рост условно-патогенных бактерий (УПБ): двухкомпонентный (41,5%), многокомпонентный (25,8%).

При первичном исследовании кишечной микробиоты детей группы II было обнаружено: снижение количественного уровня бифидобактерий у 45,0%,

лактобактерий у 37,5%, дефицит кишечных палочек с типичными свойствами у 22,5% детей. Среди УПБ преобладали: *Klebsiella* spp. (17,5%), атипичные *Esherichia coli* (27,5%), *Staphylococcus* spp. (25,0%), *Streptococcus* spp. (7,5%).

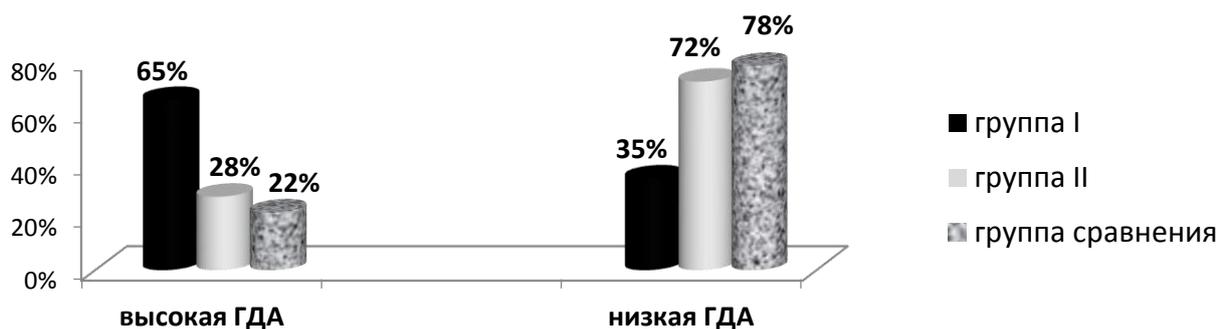
Сравнение микробного пейзажа детей обеих групп показало, что у младенцев группы II в первый месяц жизни видовой состав и концентрация УПБ были достоверно ниже ( $\chi^2=5,8$ ;  $p=0,016$ ), в 4 раза реже у них был ассоциативный рост, причем количество микроорганизмов в ассоциациях не превышало двух.

Было установлено, что выраженность микробиологических изменений кишечника младенцев достоверно коррелировала с выраженностью таковых у их матерей по таким показателям, как количество бифидобактерий ( $r=0,71$ ;  $p<0,05$ ), лактобактерий ( $r=0,78$ ;  $p<0,05$ ), количество типичной *E.coli* ( $r=0,69$ ;  $p=0,64<0,05$ ), гемолизирующей *E.coli* ( $r=0,72$ ;  $p<0,05$ ), *Klebsiella* spp. ( $r=0,74$ ;  $p<0,05$ ), *Proteus* spp. ( $r=0,68$ ;  $p<0,05$ ), *Citrobacter freundii* ( $r=0,71$ ;  $p<0,05$ ).

Видовой состав УПБ у большинства пар «мать-дитя» был практически идентичным.

Гистидиндекарбоксилазная активность была выявлена у 23,0% кишечных штаммов беременных женщин без достоверной разницы по группам сравнения. Однако интенсивность продукции гистамина кишечными штаммами у женщин с аллергопатологией достоверно превышало таковую у женщин, не имеющих ее (ОШ=3,3 (ДИ=1,2-8,8);  $\chi^2=4,6$ ;  $p=0,032$ ).

Аналогичная закономерность отмечалась и у их новорожденных детей с достоверным различием по группе I и группе II (ОШ=2,8 (ДИ=1,1-7,2);  $\chi^2=3,9$ ;  $p=0,049$ ) (рисунок 2).



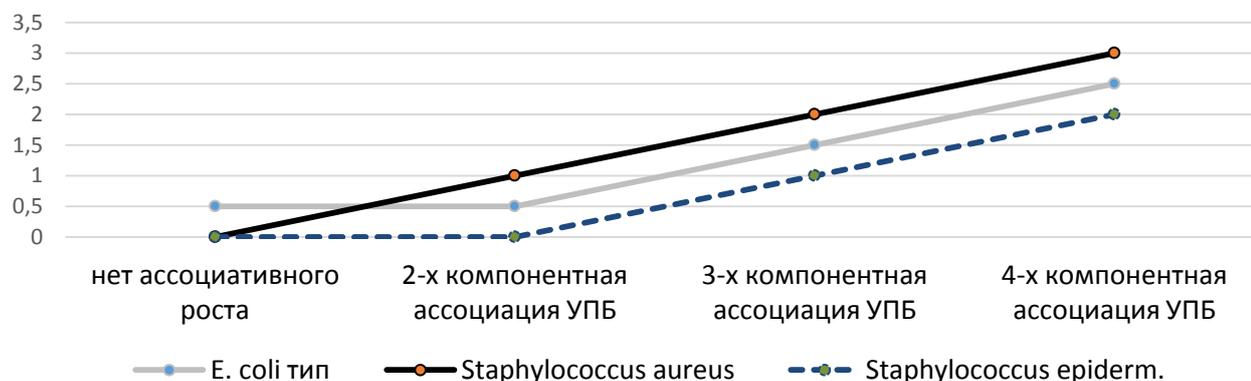
**Рисунок 2 – Интенсивность гистидиндекарбоксилазной активности кишечной микробиоты детей исследуемых групп**

Установлена корреляция интенсивности гистаминообразования кишечными штаммами у матерей с данным показателем их новорожденных детей ( $r=0,761$ ;  $p<0,05$ ).

Частота обнаружения признака гистаминообразования у кишечных штаммов

была различной. Наиболее выраженным этот признак был у аэробных Гр- бактерий (56% – 100%), значительно менее выраженным у Гр+ бактерий и грибов (14% – 32%).

Установлено, что интенсивность гистаминообразования кишечных штаммов достоверно зависела от выраженности микрoэкологических нарушений ( $\chi^2=4,5$ ;  $p=0,035$ ), особенно по такому параметру, как ассоциативный рост УПБ (рисунок 3).



**Рисунок 3 – Зависимость интенсивности гистаминообразования кишечными штаммами (средний балл) от компонентности ассоциаций УПБ**

Выявлены индикаторные группы кишечных штаммов, обнаружение которых ассоциируется с высокой степенью гистаминообразования (таблица 2).

**Таблица 2 – Сила и достоверность корреляции выделенных групп кишечных штаммов с интенсивностью их гистаминообразования**

Группа кишечных штаммов	Корреляция с высокой ГДА, $r$ ; $p$
E. coli гемол.+K. pneumonia *	$r=0,76$ ; $p<0,05$
E. coli гемол.+P. mirabilis *	$r=0,74$ ; $p<0,05$
E. coli гемол.+K. oxytoca *	$r=0,72$ ; $p<0,05$
K. pneumonia+Citrobacter freundii *	$r=0,72$ ; $p<0,05$
Staphylococcus aureus +Citrobacter freundii *	$r=0,72$ ; $p<0,05$
Citrobacter freundii +P. mirabilis	$r=0,68$ ; $p<0,05$
K. pneumonia + P. mirabilis	$r=0,58$ ; $p<0,05$
K. oxytoca +Staphylococcus aureus	$r=0,56$ $p<0,05$

\* – сильная достоверная связь ( $r>0,7$ ;  $p<0,05$ )

Микроэкологические нарушения кишечника и высокая способность к гистаминообразованию регистрировались уже на доклиническом этапе аллергопатологии и имели прогностическое значение. У таких детей кожные аллергические проявления манифестировали достоверно чаще в ранние сроки (таблица 3).

**Таблица 3 – Частота манифестации кожных аллергических проявлений у детей в зависимости от интенсивности гистидиндекарбоксилазной активности кишечных штаммов**

<b>Интенсивность ГДА до манифестации заболевания</b>	<b>Есть поражение кожи (n=39) Абс.; М±m, %</b>	<b>Нет поражения кожи (n=71) Абс.; М±m, %</b>	<b>ОШ (ДИ); <math>\chi^2</math>; p</b>
Высокая*	21 53,9±8,0	15 21,2±4,8	4,4 (1,9-10,2); $\chi^2=10,8$ ; p=0,001
Низкая	11 28,2±7,2	29 40,8±5,8	0,5 (0,2-1); $\chi^2=2,8$ ; p=0,095
Отсутствие ГДА активности*	7 17,9±6,1	27 38±5,8	2,8 (1,1-7,2); $\chi^2=3,9$ ; p=0,049

\* – разница статистически значима ( $\chi^2 > 3,84$ ; p < 0,05)

При этом выраженность ГДА кишечных штаммов соответствовала тяжести аллергического поражения кожи: при среднетяжелом и тяжелом течении продукция гистамина кишечными штаммами была более выраженной, чем при легком ( $\chi^2=4,5$ ; p=0,035).

Установлено, что у большинства детей гастроинтестинальные проявления предшествовали появлению кожного аллергического процесса, а частота их возникновения достоверно коррелировала с интенсивностью гистаминообразования кишечными штаммами – обильные срыгивания (r=0,72; p<0,05), боли в животе после приема пищи (r=0,78; p<0,05), диарея (r=0,76; p<0,05).

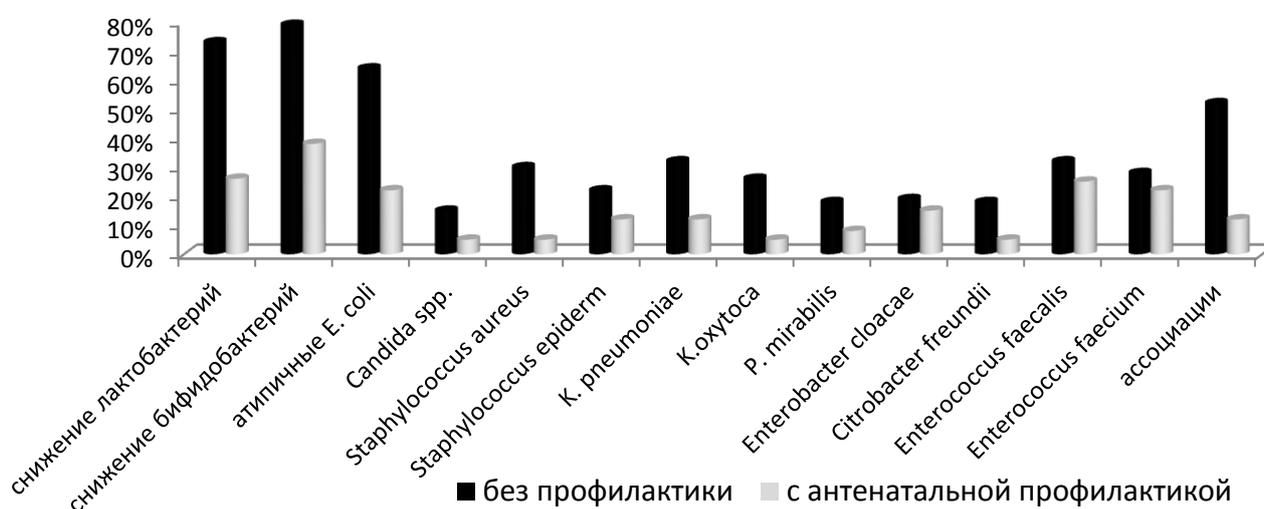
Бактериологическое исследование фекалий новорожденных, получивших антенатальную профилактику, показало, что у большинства из них микроэкологические нарушения кишечника были достоверно менее выраженными относительно детей с постнатальной профилактикой (ОШ=3,2 (ДИ=1,1-8,8);  $\chi^2=4,1$ ; p=0,0433) и особенно детей, не получивших ее (ОШ=4,3 (ДИ=1,2-15,6);  $\chi^2=4,4$ ; p=0,037).

Так, у большинства младенцев после антенатальной профилактики микроэкологические нарушения были незначительными, у более половины из них

был оптимальный количественный уровень бифидобактерий (62,3%) и лактобактерий (78,6%), практически отсутствовал многокомпонентный ассоциативный рост УПБ.

После постнатальной коррекции позитивные сдвиги были статистически не достоверны, с тенденцией к повышению количественного уровня бифидобактерий и лактобактерий на фоне сохраняющейся активной колонизации УПБ (72,4%).

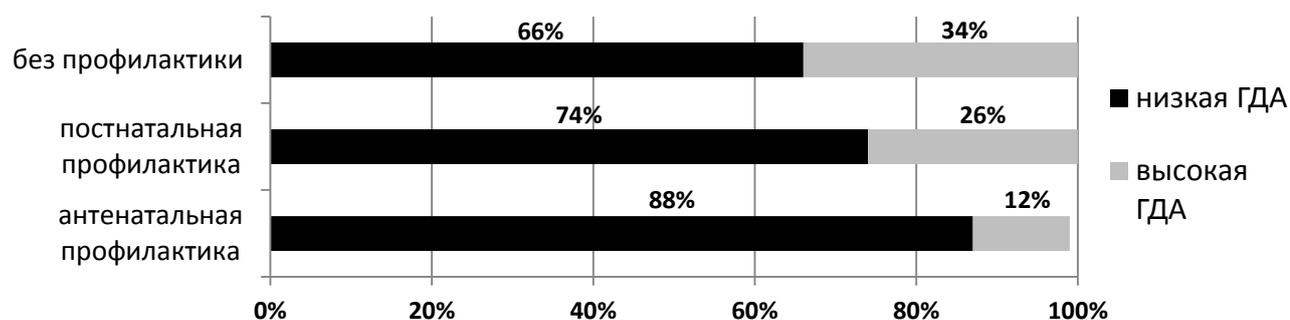
У детей, не получивших коррекции, микробиологические нарушения кишечника стали более выраженными по сравнению с первичным исследованием – значительное снижение бифидобактерий (78,6%), лактобактерий (72,5%), типичных *E. coli* (52,3%), увеличение *E. coli* с гемолитической активностью (64,4%), активная колонизация различных видов УПБ (82,5%) в многокомпонентных ассоциациях (рисунок 4).



**Рисунок 4 – Кишечная микробиота детей, получивших различные виды коррекции**

Степень интенсивности гистаминообразования представителями микробиоты кишечника детей с антенатальной профилактикой, была достоверно ниже детей, не получивших коррекции (ОШ=5,4 (ДИ=1,7-17,4);  $\chi^2=5,7$ ;  $p=0,017$ ). Кишечные штаммы с высокой ГДА определялись лишь у 12,4%.

У детей, получивших постнатальную профилактику, позитивные сдвиги были менее заметными, в виде тенденции к снижению интенсивности гистаминообразования и не носили достоверный характер ( $\chi^2=1,4$ ;  $p=0,245$ ) (рисунок 5).



**Рисунок 5 – Интенсивность гистидиндекарбоксилазной активности кишечных штаммов у детей, получивших различную коррекцию**

У детей, получивших антенатальную профилактику, гастроинтестинальные проявления аллергии отмечались достоверно реже (15,2%) по сравнению с детьми с постнатальной профилактикой (ОШ=3,4 (ДИ=1,5-7,9);  $\chi^2=7,4$ ;  $p=0,006$ ) и особенно с детьми, не получившими коррекции (ОШ=5,4 (ДИ=1,7-17,4);  $\chi^2=7,8$ ;  $p=0,0054$ ). Частота развития гастроинтестинальных проявлений в подгруппе детей с постнатальной коррекцией была практически одинаковой (32,4%) с подгруппой детей, не получивших коррекции (36,5%) ( $\chi^2=1,4$ ;  $p=0,243$ ).

Аналогично различились и кожные проявления аллергии, составив 20,8% после антенатальной коррекции, 53,6% после постнатальной коррекции, 61,1% в подгруппе без коррекции, показав статистически значимые отличия по частоте развития между подгруппами IA и IB ( $\chi^2=4,6$ ;  $p=0,033$ ), подгруппами IA и IB ( $\chi^2=5,5$ ;  $p=0,019$ ). Между подгруппами IB и IB различия статистически незначимы ( $\chi^2=0$ ;  $p=0,842$ ) (таблица 4).

**Таблица 4 – Частота возникновения кожных аллергических проявлений в исследуемых подгруппах детей**

Исследуемые подгруппы	Наличие кожных проявлений аллергии (n=31) Абс.; М±m, %	Отсутствие кожных проявлений аллергии (n=39) Абс.; М±m, %
Антенатальная коррекция, подгруппа IA (n=24)	5 20,8±8,3	19 79,2±8,3
Постнатальная коррекция, подгруппа IB (n=28)	15 53,6±9,4*	13 46,4±9,4
Отсутствие коррекции, подгруппа IB (n=18)	11 61,1±11,5*	7 38,9±11,5

\* – разница статистически значима по сравнению с подгруппой IA ( $\chi^2>3,84$ ;  $p<0,05$ )

Частота реализации кожного аллергического процесса в первом полугодии жизни коррелировала с видом профилактики – при антенатальной 1 ребенок, при постнатальной – 7, без достоверной разницы с подгруппой без профилактики – 8 детей.

Результаты оценки шкалы SCORAD-TIS показали, что у всех детей подгруппы IA кожные проявления АД были легкими. В подгруппе IB у 88,3% – легкими, у 12,4% – среднетяжелыми. В подгруппе IB у 68,6% – легкими, у 22,5% – среднетяжелыми и у 10,2% – тяжелыми.

## ВЫВОДЫ

1. Установлено, что факторами, способствующими нарушению становления кишечной микробиоты и развитию ранних аллергических проявлений у детей «группы риска», являются: раннее искусственное вскармливание ( $\chi^2=8,5$ ;  $p=0,004$ ), фето-плацентарная недостаточность ( $\chi^2=6,7$ ;  $p=0,01$ ), хроническая внутриутробная гипоксия плода ( $\chi^2=6,4$ ;  $p=0,012$ ), антибиотикотерапия ( $\chi^2=6,5$ ;  $p=0,011$ ), гестоз ( $\chi^2=5,8$ ;  $p=0,016$ ), кесарево сечение ( $\chi^2=4,2$ ;  $p=0,040$ ), обусловленные совокупностью нарушений гинекологического и соматического здоровья беременных женщин.

2. У новорожденных «группы риска» с неблагоприятным течением ante/перинатального периода с рождения регистрируется активная колонизация кишечника аэробными грамотрицательными бактериями с пролонгированием сроков их активности и медленное формирование нормобиоты ( $\chi^2>3,84$ ;  $p<0,05$ ).

3. Выявлена корреляция выраженности микрoэкологических изменений кишечника младенцев с выраженностью таковых у их матерей по таким показателям, как количество бифидобактерий ( $r=0,71$ ;  $p<0,05$ ), лактобактерий ( $r=0,78$ ;  $p<0,05$ ), снижение количества кишечной палочки с типичными свойствами ( $r=0,69$ ;  $p<0,05$ ), избыточная пролиферация кишечной палочки с гемолизующими свойствами ( $r=0,72$ ;  $p<0,05$ ), клебсиелл ( $r=0,74$ ;  $p<0,05$ ), протеев ( $r=0,68$ ;  $p<0,05$ ), цитробактерий ( $r=0,71$ ;  $p<0,05$ ).

4. Установлена корреляция интенсивности гистаминообразования кишечных штаммов матерей с аллергопатологией с данным показателем их новорожденных детей ( $r=0,761$ ;  $p<0,05$ ) и выявлены индикаторные группы кишечных штаммов, обнаружение которых ассоциируется с высокой степенью гистаминообразования ( $r>7,0$ ;  $p<0,05$ ).

5. Установлено влияние степени выраженности микрoэкологических нарушений кишечника и интенсивности гистаминообразования у младенцев «группы риска» на частоту развития гастроинтестинальных и кожных проявлений аллергии ( $\chi^2>3,8$ ;  $p=0,05$ ).

6. Антенатальное применение композиции из лактобактерий, содержащей штамм с доказанной диаминооксидазной активностью, снижая количество кишечных микроорганизмов с высокой гистидиндекарбоксилазной активностью и ее интенсивность, более эффективно снижает частоту развития гастроинтестинальных и кожных проявлений аллергии по сравнению с постнатальной коррекцией ( $\chi^2=4,6$ ;  $p=0,033$ ) или без проведения таковой ( $\chi^2=5,5$ ;  $p=0,019$ ).

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Женщины с аллергическими заболеваниями, имеющие отклонения соматического и репродуктивного здоровья, должны быть отнесены в «группу высокого риска» по нарушению формирования кишечной микробиоты у их детей и взяты на учет с первых дней беременности для проведения биокоррекции уже в период внутриутробного развития плода.

2. Новорожденных «группы высокого риска» по аллергопатологии целесообразно обследовать на наличие гистидиндекарбоксилазной активности кишечных штаммов как прогностического признака развития гастроинтестинальных и кожных аллергических проявлений в первые месяцы жизни.

3. Беременным женщинам с аллергопатологией целесообразно назначать пробиотические композиции, содержащие штаммы лактобактерий с доказанной диаминооксидазной активностью, снижающие пул гистамина («Normospectrum for adults»), для ранней профилактики аллергии у их детей.

### **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Проведенное исследование убедительно показало эффективность использования пробиотической композиции с доказанной диаминооксидазной активностью для первичной профилактики ранних проявлений аллергии. Однако таких препаратов, разрешенных к применению с рождения, на отечественном рынке нет, что определяет перспективность разработки безопасных и эффективных пробиотических композиций с заданными свойствами.

**СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Литяева, Л.А. Клинические особенности атопического дерматита у детей, получающих функциональное питание / Л.А. Литяева, С.Ю. Носырева // В сб.: материалы VII Конгресса детских инфекционистов России. – Москва, 2008. – С.80.
2. Литяева, Л.А. Оптимизация питания детей с атопическим дерматитом / Л.А. Литяева, С.Ю. Носырева // В сб.: материалы межрегиональной научно-практической конференции «Современные вопросы аллергологии и клинической иммунологии в педиатрии». – Оренбург, 2008. – С.130-134.
3. Носырева, С.Ю. Характеристика кишечного синдрома у детей с атопическим дерматитом / С.Ю. Носырева, Л.А. Литяева // В сб.: материалы VI научно-практической конференции «Педиатрия и детская хирургия в Приволжском Федеральном округе». – Казань, 2009. – С.68.
4. Литяева, Л.А. Функциональное питание детей с атопическим дерматитом бифидосодержащей смесью / Л.А. Литяева, С.Ю. Носырева // В сб.: материалы 2-го Международного конгресса по пробиотикам. – Санкт-Петербург, 2009. – С.24.
5. Литяева, Л.А. Состояние микробиоценоза кишечника у детей с атопическим дерматитом / Л.А. Литяева, С.Ю. Носырева // В сб.: материалы VIII Конгресса детских инфекционистов России. – Москва, 2009. – С.76.
6. Литяева, Л.А. Рациональный подход к нутритивной поддержке детей с атопическим дерматитом / Л.А. Литяева, С.Ю. Носырева // **Вопросы детской диетологии.** – 2012. – Т. 10. – №3. С. 64-68.
7. Литяева, Л.А. Оптимизация пробиотической коррекции микробиоценоза кишечника при атопическом дерматите у детей / Л.А. Литяева, С.Ю. Носырева // В сб.: материалы XII Конгресса детских инфекционистов России. – Москва, 2013. – С.42.
8. Носырева, С.Ю. Роль кишечной микробиоты в формировании пула свободного гистамина у детей с атопическим дерматитом / С.Ю. Носырева, Л.А. Литяева // **Детские инфекции.** – 2016. – Т. 15. – № 3. – С.46-50.
9. Литяева, Л.А. Гистидиндекарбоксилазная активность кишечной микробиоты у детей с атопическим дерматитом / Л.А. Литяева, С.Ю. Носырева // В сб.: материалы VIII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием. – Москва, 2016. – С. 165.
10. Носырева, С.Ю. Кишечная микробиота и ее гистидиндекарбоксилазная активность у детей с атопическим дерматитом / С.Ю. Носырева // В сб.: материалы V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием студентов и молодых ученых. – Оренбург, 2016. – С. 286-287.

11. Носырева, С.Ю. Кишечная микробиота и ее гистаминообразующая активность у детей с наследственной предрасположенностью к аллергическим заболеваниям / С.Ю. Носырева // В сб.: материалы научно-практической конференции с международным участием «Молодые ученые – от технологий 21 века к практическому здравоохранению». – Самара, 2016. – С. 157-159.
12. Литяева, Л.А. Оценка гистидиндекарбоксилазной активности кишечной микробиоты у детей с наследственной предрасположенностью к аллергическим заболеваниям / Л.А. Литяева, С.Ю. Носырева // В сб.: материалы IV Конгресса Евро-Азиатского Общества по инфекционным болезням. – СПб, 2016. – С.64.
13. Литяева, Л.А. Особенности формирования кишечной микробиоты у детей с наследственной предрасположенностью к аллергическим заболеваниям / Л.А. Литяева, С.Ю. Носырева // В сб.: материалов конференций журнала «Актуальная инфектология». – Луганск, 2016. – С. 151-152.
14. Литяева, Л.А. Интегральные гематологические индексы у детей с наследственной предрасположенностью к аллергическим заболеваниям / Л.А. Литяева, С.Ю. Носырева // В сб.: материалы Всероссийского ежегодного конгресса «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика». СПб, 2016. – С.85.
15. Носырева, С.Ю. Гистидиндекарбоксилазная активность кишечной микробиоты как дополнительный критерий тяжести атопического дерматита у детей / С.Ю. Носырева, Л.А. Литяева // В сб.: материалы XV Конгресса детских инфекционистов России. – Москва, 2016. – С.34-35.
16. Литяева, Л.А. Влияние нарушений формирования кишечной микробиоты на процесс гистаминообразования и развитие аллергопатологии в раннем детском возрасте / Л.А. Литяева, С.Ю. Носырева // **Журнал инфектологии.** – 2017. – Т. 9. – №1. – С.55-61.
17. Носырева, С.Ю. Экспресс-оценка видового состава кишечной микробиоты методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии при аллергопатологии у детей / С.Ю. Носырева, Л.А. Литяева, О.Г. Жиленкова // В сб.: материалы Российской научно-практической конференции «Актуальные проблемы инфекционной патологии». – СПб, 2017. – С. 110-111.
18. Литяева, Л.А. Оптимизация стратегических подходов к профилактике аллергопатологии у детей группы высокого риска / Л.А. Литяева, С.Ю. Носырева, Д.Р. Кушкенбаева // **Детские инфекции.** – 2017.- Т. 16.- № 2. С. 29-34.
19. Носырева, С.Ю. Способность кишечной микробиоты к гистаминообразованию и значимость ее оценки у детей / С.Ю. Носырева, Л.А. Литяева // В сб.: материалы

IX Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием. – Москва, 2017. – С.201.

20. Литяева, Л.А. Эпигенетические факторы риска внутриутробной сенсибилизации к аллергенам в системе «мать-плод-новорожденный» / Л.А. Литяева, С.Ю. Носырева // **Детские инфекции.** – 2017.- Т. 16.- № 4. С. 25-29.

21. Носырева, С.Ю. Факторы внутриутробной сенсибилизации плода от матерей с аллергопатологией / С.Ю. Носырева, Л.А. Литяева // Журнал инфектологии. – Приложение 2. – 2017. – Т. 9. – №4. – С.77-78.

22. Носырева, С.Ю. Влияние нарушений кишечной микробиоты матерей на сроки развития аллергопатологии у их детей / С.Ю. Носырева, Л.А. Литяева // В сб.: материалы XVI Конгресса детских инфекционистов России. – Москва, 2017. – С.31.

### Патенты

1. **Патент РФ на изобретение № 2635768.** Способ прогнозирования развития атопического дерматита у младенцев / С.Ю. Носырева, Л.А. Литяева // Зарегистрирован в Государственном реестре изобретений 15 ноября 2017 г.

2. **Патент РФ на изобретение № 2665173.** Способ профилактики атопического дерматита у младенцев путем модуляции микробного механизма гистаминообразования / С.Ю. Носырева, Л.А. Литяева // Зарегистрирован в Государственном реестре изобретений 28 августа 2018г.

### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

**АтД** – атопический дерматит

**ГДА** – гистидиндекарбоксилазная активность

**Гр-** – грамотрицательные микроорганизмы

**Гр+** – грамположительные микроорганизмы

**ДИ** – доверительный интервал

**ЖКТ** – желудочно-кишечный тракт

**ИВЗ** – инфекционно-воспалительные заболевания

**ЛД** – лактозодефективные

**ЛН** – лактозонегативные

**ОШ** – отношение шансов

**ПА** – пищевая аллергия

**УПБ** – условно-патогенные бактерии

**ФПН** – фето-плацентарная недостаточность

**ХВГП** – хроническая внутриутробная гипоксия плода