

## СИСТЕМНЫЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ МИКРОБИОЦЕНОЗА ЖКТ ПРИ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ У ДЕТЕЙ

Плоскирева А.А., Горелов А.В.

*ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, antoninna@mail.ru*

В статье изложены новые методы оценки микробиоценоза ЖКТ при острых кишечных инфекциях у детей. Системный подход к оценке микробиоценоза позволяет проводить комплексный анализ микрoэкологических нарушений, вызванных острой кишечной инфекцией. Эффективность данной методики продемонстрирована на примере клинического исследования. Целью настоящего исследования было определение характеристик устойчивости системы микробиоценоза ЖКТ на фоне острой кишечной инфекции у детей при разных подходах к диетотерапии. Были получены данные об изменении места в биоценозе бифидо- и лактобактерий (доля численности, индекс доминирования, индекс биологического разнообразия и их модификации), смена доминирующих в остром периоде штаммов и процессы компенсаторного роста УПФ в процессе восстановления после стрессового для кишечного микробиоценоза воздействия (ОКИ). В статье продемонстрированы эффекты самовосстановления системы. Оценка динамики микробиологических нарушений ЖКТ, вызванных острой кишечной инфекцией, у пациентов, в диетотерапии которых использованы различные патогенетические подходы, показала преимущества назначения продуктов с пробиотиками.

Ключевые слова: острые кишечные инфекции, микробиоценоз, пробиотики.

## THE SYSTEMATIC ANALYSIS TO THE ASSESSMENT OF GASTROINTESTINAL MICROBIOCENOSIS AT ACUTE INTESTINAL INFECTIONS IN CHILDREN

Ploskireva A.A., Gorelov A.V.

*Federal Budget Institution of Science "Central Research Institute of Epidemiology" of The Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-being Surveillance, antoninna@mail.ru*

The article describes new methods for the assessment of intestinal microbiota in acute intestinal infections in children. A systematic approach to the assessment of microbiocenosis allows for a comprehensive analysis microecological disorders caused acute intestinal infection. The effectiveness of the method is demonstrated on the example of clinical research. The purpose of this study was to determine the characteristics of the system stability of intestinal microbiota on the background of acute intestinal infections in children of different approaches to diet. Data was collected about the change of place in the biocenosis of bifidobacteria and lactobacilli (share of population, index of dominance, index of biological diversity and their modifications), dominating in the acute period of strains and processes of compensatory growth of the AFPS in the process of recovery after stressful for intestinal microbiocenosis of exposure (acute intestinal infection). The paper demonstrated the effects of self-healing systems. Assessment of microbiological disorders of the gastrointestinal tract, caused by acute intestinal infection in patients in the diet which used different pathogenetic approaches, showed the benefits of having products with probiotics.

Keywords: acute intestinal infection, microbiocenosis, probiotics

Острые кишечные инфекции у детей являются одной из причин развития нарушений микрофлоры желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Было показано, что такие инфекции, как дизентерия Зонне становятся причиной микрoэкологических нарушений ЖКТ у 67,8 – 85,1% пациентов, сальмонеллез – 95,1% , иерсиниоз – 94,9%, ротавирусная инфекция – 37,2-62,8 % больных [3, 4].

Существуют различные методы оценки микрофлоры ЖКТ – прямые, косвенные, интегральные – каждый из которых имеет свои положительные и отрицательные стороны (таблица 1).

## Методы оценки микрофлоры желудочно-кишечного тракта

Методы	Плюсы	Минусы
<b>Прямые методы</b>		
Бактериологическое исследование кала	Идентификация видов и количества микробов. Идентификация живых микроорганизмов. Финансовая доступность, по сравнению с другими видами анализов.	Возможность оценки микроорганизмов, находящихся в конечном отделе толстой кишки. Идентификация ограниченного количества микроорганизмов (оценивается от 14 до 25 видов бактерий, хотя в кишечнике их более 400). Жесткие требования к забору, транспортировке и хранению биологического материала. Длительность получения результатов.
Посев биоптата стенки тонкой кишки или аспирата содержимого тонкого кишечника	Идентификация видов и количества микроорганизмов. Идентификация живых микроорганизмов.	Исследование травматично, требует технического оснащения, в том числе анестезиологического пособия. Высокая стоимость.
Молекулярно-генетические методы (секвенирование 16S рРНК)	Обладает высокой специфичностью (в исследуемом материале выявляется уникальный, характерный только для данного возбудителя фрагмент генетического материала), высокой чувствительностью (позволяет выявлять микроорганизмы, детекция которых другими методами затруднена). Малый объем биологического материала. Автоматизирован и позволяет получить результаты анализа в течение одного рабочего дня. Универсален.	Высокая стоимость. Высокая технологичность. Недоступность для широкой клинической практики. Аmplифицируется генетический материал как живого, так и погибшего микроорганизма. Возможны различия при использовании разных тест систем.
<b>Косвенные методы</b>		
Газожидкостная хроматография;	Диагностика анаэробных инфекций. Оценка живых и мёртвых микроорганизмов.	Косвенная оценка данных. Невозможность дифференцировать живых и мёртвых микробов.
Масс-спектрометрия.	Малые концентрации клеток микроорганизмов любого происхождения. Менее жесткие требования к забору, транспортировке и хранению биологического материала. Короткие сроки анализа.	Невозможность видовой идентификации микроорганизмов. Большая стоимость оборудования. Техническая сложность исследования.
<b>Интегральные методы</b>		
Расчет индекса колонизационной резистентности (по Горелову А.В., Плоскиревой А.А.)	Комплексная оценка микробиоценоза. Возможность сравнения с данными полученными в динамике, для разных пациентов, из разных лабораторий.	Требует математического расчета.

В настоящее время метод оценки состояния микробиоценоза ЖКТ на основе секвенирования 16S рРНК бактерий в образцах кала является одним из самых

современных. Однако высокая стоимость и технологичность, требующая специального оборудования, данного метода делает его пока недоступным для рутинной клинической практики.

Поэтому, не смотря на наличие в арсенале возможностей лабораторной диагностики целого спектра методов установления нарушений микрофлоры ЖКТ, в рутинной клинической практике наиболее частым методом является бактериологическое исследование кала. При этом в практическом здравоохранении наиболее часто оценка показателей, полученных данным методом, осуществляется шаблонно, без учета степени и характера выраженности изменений. В этой связи представляется наиболее оптимальным интегративный подход к оценки микробиоценоза ЖКТ. Наиболее перспективным является использование методов теории систем, который подразумевает подход к оценке микрофлоры, как комплексу элементов, находящихся во взаимодействии между собой, макроорганизмом и внешней средой, при этом уровень их взаимодействия должен описываться не использованием классического аналитического подхода, а требует специальных методов изучения системы в целом, так как целое не может быть описано теми же зависимостями, какими могут быть описаны процессы в элементах системы [5].

Следовательно, данный тезис общей теории систем предполагает необходимость особых методов для целостного изучения системы.

Общим законом для систем является принцип, сформулированный Ле-Шателье: «Всякая система подвижного равновесия под действием внешнего воздействия изменяется так, что эффект внешнего воздействия сводится к минимуму» [5]. Этот важный аспект функционирования систем становится актуальным при оценке системы микробиоценоза, так как позволяет определить конечные задачи исследования – определение устойчивости системы по определенным параметрам.

Это становится особенно актуальным при внешнем стрессорном воздействии на систему микробиоценоза, в частности при острых кишечных инфекциях (ОКИ), особенно у детей, для которых в целом характерна меньшая устойчивость данной системы.

Изменение микробиоценоза кишечника является одним из ключевых факторов патогенеза воспалительного процесса при острых кишечных инфекциях. В связи с этим представляется актуальным совершенствование диагностических подходов, разработка новых методов комплексной оценки микробиома и поиск путей коррекции нарушений микробиоценоза ЖКТ при острых кишечных инфекциях.

**Целью настоящего исследования** было определение характеристик устойчивости системы микробиоценоза ЖКТ на фоне острой кишечной инфекции у детей при разных подходах к диетотерапии.

## **Пациенты и методы**

Под наблюдением находилось 60 детей первого года жизни, больных ОКИ ротавирусной этиологии, госпитализированных в профильный стационар (Детская инфекционная больница №5 города Москвы, главный врач Золотавин С.В.) в 2009 – 2011гг.

Критериями включения пациентов в исследование были:

- дети первого года жизни, находящиеся на искусственном вскармливании;
- установленный диагноз ОКИ ротавирусной этиологии;
- сроки поступления в стационар – первые 72 часа от начала заболевания.

Критерии не включения в исследования:

- дети первого года жизни, находящиеся на грудном вскармливании;
- наличие показаний к антибактериальной терапии;
- наличие указаний в анамнезе на аллергию к белкам коровьего молока и/или другим компонентам смеси НАН кисломолочный;
- установленные тяжелые сопутствующие заболевания центральной нервной, сердечнососудистой, эндокринной, иммунной, мочевыводящей и других систем;
- ВИЧ-инфекция, в том числе в случае неустановленного статуса ребенка при рождении от ВИЧ-инфицированной матери.

Все пациенты были рандомизированы случайным образом, методом вскрытия конвертов, на группы: 30 детей в составе комплексной диетотерапии получали смесь НАН кисломолочный с пробиотиками (основная группа) и 30 – обычное питание без содержания пробиотиков (группа сравнения).

НАН кисломолочный с пробиотиками предназначен для питания детей с первых дней жизни и является тем продуктом, который показал свою эффективность в диетотерапии ОКИ у детей [2, 6]. НАН кисломолочный с пробиотиками получают путем сквашивания смесью молочнокислых бактерий *L. helveticus* и *S. thermophilus*, а затем с помощью особой технологии высушивают, сохраняя при этом жизнеспособность микроорганизмов закваски, и обогащают бифидобактериями. Отличительными особенностями данного продукта являются:

1. запатентованный способ биологической ферментации молочнокислыми бактериями;
2. оптимальный для детей первого года жизни белковый состав;
3. наличие живых бифидобактерий, для которых показана антагонистическая активность в отношении патогенных возбудителей, повышение колонизационной резистентности собственной микрофлоры и благотворное влияние на иммунную систему ребенка.

С целью установления нормальных значений показателей оценки микрофлоры ЖКТ методами теории систем была изучена группа 20 здоровых детей в возрасте до 12 месяцев, не имевших клинических и лабораторных признаков нарушения микрофлоры ЖКТ и не болевших ОКИ на протяжении первого года жизни.

Все пациенты получали одинаковую базисную терапию, включающую в себя оральную регидратацию, сорбенты (диоктаэдрический смектит), нестероидные противовоспалительные лекарственные средства (с целью купирования лихорадочного синдрома).

Всем пациентам в остром периоде заболевания (2-3 сутки от начала заболевания) и в динамике (12±2 суток) проводилось изучение качественного и количественного состава микрофлоры ЖКТ с использованием стандартного микробиологического исследования кала. Здоровым детям данное исследование проводилось однократно [9].

Оценка микробиоценоза ЖКТ осуществлялась на основе принципов теории систем и проводилась путем расчета частоты встречаемости вида, относительного среднего для каждого вида, индекса доминирования Арнольди для каждого вида и расчета коэффициента биологического разнообразия по формуле Шеннона [1, 5, 8, 10].

Был модифицирован подход к оценке биологического разнообразия путем расчета нового индекса значимости каждого вида, выраженной в процентах, что позволило установить структуру доминирования видов в популяции и более полно описать систему микробиоценоза ЖКТ в динамике течения инфекционного процесса.

Расчет нового разработанного метода оценки относительной частоты видов позволил установить формы доминирования для каждого вида.

**Таблица 2**

Методы оценки микробиоценоза с позиции теории систем

Параметр оценки	Клиническое значение	Формула расчета
<b>Существующие методы оценки микробиоценоза с позиции теории систем</b>		
Частота встречаемости вида микроорганизмов	Отражает долю пациентов, у которых данный вид микроорганизмов обнаружен	$ЧВ = \frac{n_i}{N} 100$ <p><math>n_i</math> – число пациентов с выявленным <math>i</math>-м видом микроорганизма  <math>N</math> – общее число пациентов</p>
Относительное среднее для каждого вида микроорганизмов	Отражает долю микроорганизма в исследуемой популяции	$ОСр = \frac{АСр_i}{N} 100$ <p><math>АСр_i</math> – абсолютное среднее для <math>i</math>-го микроорганизма  <math>N</math> – число микроорганизмов в популяции</p>
Индекс доминирования Арнольди для каждого вида микроорганизмов	Характеризует степень доминирования микроорганизма в популяции	$ИД = \sqrt[3]{N \times p}$ <p><math>N</math> – численность, <math>p</math> – встречаемость,</p>

		выраженные в процентах от общих величин
Коэффициент биологического разнообразия по формуле Шеннона	Оценка видовой плотности и выравненности популяции	$H_N = \sum \frac{n_i}{N} \log_2 \frac{n_i}{N}$ <p>Где <math>n_i</math> – общая численность вида, <math>N</math> – общая численность популяции</p>
<b>Новые методы оценки микробиоценоза с позиции теории систем</b>		
Относительная частота вида	Установление формы доминирования вида	$\text{ОтнЧ} = \frac{\sum n_i}{\sum N}$ <p><math>n_i</math> – суммарная численность вида, <math>N</math> – суммарная численность популяции</p>
Индекс значимости вида	Установление структуры доминирования видов в популяции	$\text{ИЗВ} = \frac{H_i * 100}{H}$ <p><math>H_i</math> – индекс Шеннона для <math>i</math>-го вида <math>H</math> – индекс Шеннона для популяции</p>

### Результаты исследования и обсуждение

Частота встречаемости вида отражает долю пациентов, у которых данный вид микроорганизмов обнаружен. Из всех показателей системной характеристики биоценозов данный критерий можно отнести к низко информативным, так как он подразумевает биполярную систему оценки «да-нет». Однако он позволяет комплексно описать структуру видового состава, в частности в остром периоде ОКИ и в периоде реконвалесценции.

В остром периоде заболевания частота встречаемости таких видов, как бифидо-, лактобактерии и эшерихии, составила 100%, что соответствует показателям нормы. Однако доля пациентов с выявлением видов УПФ значительно возрастает и превышает референсные значения от 100 до 700% (таблица 3).

**Таблица 3**

Частота встречаемости видов в остром периоде ОКИ в группах сравнения, в %.

Микроорганизмы	Острый период					Норма
	Основная группа		Группа сравнения		Достоверность различий, p	
	Частота встречаемости вида, %	Дельта отклонений от нормы, %	Частота встречаемости вида, %	Дельта отклонений от нормы, %		
Бифидобактерии	100±0,0	0,0	100±0,0	0,0	0	100
Лактобактерии	100±0,0	0,0	90±2,7	-10,0	1,3	100
Энтерококки	40±4,5	700,0	30±4,2	500,0	0,3	5
E.coli	100±0,0	0,0	100±0,0	0,0	0	100
Грибы рода Candida	25±4,0	400,0	20±3,7	300,0	0,2	5
St.aureus	30±4,2	500,0	20±3,7	300,0	0,3	5
Клебсиеллы	10±2,7	100,0	10±2,7	100,0	0,0	5

Энтеробактеры	10±2,7	100,0	20±3,7	300,0	-0,5	5
Протеи	10±2,7	100,0	20±3,7	300,0	-0,5	5
Цитробактеры	5±2,0	0,0	10±2,7	100,0	-0,4	5

В периоде реконвалесценции отмечается снижение частоты встречаемости видов УПФ в обеих группах. Однако частота встречаемости грибов рода *Candida* в группе сравнения не только не уменьшается, но и увеличивается в два раза по сравнению с острым периодом у пациентов этой группы и по сравнению с пациентами основной группы в периоде реконвалесценции (таблица 4).

**Таблица 4**

Частота встречаемости видов в периоде реконвалесценции ОКИ в группах сравнения, в %.

Микроорганизмы	Период реконвалесценции				
	Основная группа		Группа сравнения		Достоверность различий, p
	Частота встречаемости вида, %	Дельта отклонений от нормы, %	Частота встречаемости вида, %	Дельта отклонений от нормы, %	
Бифидобактерии	100±0,0	0,0	90±2,7	-10,0	1,3
Лактобактерии	100±0,0	0,0	100±0,0	0,0	0
Энтерококки	20±3,7	300,0	30±4,2	500,0	-0,3
<i>E.coli</i>	100±0,0	0,0	100±0,0	0,0	0
Грибы рода <i>Candida</i>	0±0,0	0,0	40±4,5	700,0	<b>-2,0*</b>
<i>St.aureus</i>	15±3,3	200,0	10±2,7	100,0	0,3
Клебсиеллы	5±2,0	0,0	10±2,7	100,0	-0,4
Энтеробактеры	0±0,0	0,0	0±0,0	0,0	0
Протеи	10±2,7	100,0	10±2,7	100,0	0,0
Цитробактеры	5±2,0	0,0	10±2,7	100,0	-0,4

Проведенное модифицирование параметра оценки системы биоценоза – частота встречаемости видов – в относительную частоту, рассчитываемую как суммарное количество выявленных в популяции представителей вида по отношению к общему числу выявленных микроорганизмов в группе, позволяет более подробно описать место каждого вида в общей видовой структуре исследуемой популяции.

Как видно из таблицы 5 в остром периоде острой кишечной инфекции характерной особенностью является преобладание энтерококков, снижение доли бифидо- и лактобактерий, а так же кишечной палочки.

**Таблица 5**

Доля численности видов в группах сравнения в динамике, в %

Виды микроорганизмов	Основная группа (НАН кисломолочный с бифидобактериями)		Группа сравнения		Достоверность, p			
	1	2	3	4				
	Острый период	Период реконвалесценции	Острый период	Период реконвалесценции	11-2	22-4	11-3	33-4
	%	%	%	%				
Бифидобактерии	5,4±1,3	29,5±2,6	5,2±1,3	7,5±1,5	<b>-8,2**</b>	<b>7,3**</b>	0,1	-1,1

Лактобактерии	0,3±0,3	3,0±1,0	0,5±0,4	0,7±0,5	<b>-2,6*</b>	<b>2,1*</b>	-0,4	-0,2
Энтерококки	82,8±2,2	14,8±2,0	77,1±2,9	24,9±2,5	<b>22,7**</b>	<b>-3,1**</b>	1,6	<b>13,7**</b>
E.coli	0,32±0,32	2,55±0,91	1,25±0,64	0,68±0,47	<b>-2,3*</b>	1,8	-1,3	0,7
Грибы рода Candida	0,2±0,3	0,0±0,0	0,2±0,3	33,2±2,7	0,8	<b>-12,2**</b>	0,0	<b>-12,1**</b>
St.aureus	4,4±1,2	4,4±1,2	9,4±2,7	8,3±1,6	0,0	-1,9	-1,6	0,3
Клебсиеллы	2,1±0,8	14,8±2,0	1,7±0,8	8,3±1,6	<b>-5,7**</b>	<b>2,5*</b>	0,3	<b>-3,7**</b>
Энтеробактеры	3,9±1,1	0,0±0,0	4,3±1,2	0,0±0,0	<b>3,5**</b>	0	-0,3	<b>3,7**</b>
Протеи	0,4±0,4	16,2±2,1	0,2±0,3	8,3±1,6	<b>-7,3**</b>	<b>3,0**</b>	0,4	<b>-5,0**</b>
Цитробактеры	0,2±0,3	14,8±2,0	0,2±0,2	8,3±1,6	<b>-7,1**</b>	<b>2,5*</b>	0,1	<b>-5,0**</b>

В периоде реконвалесценции отмечается повышение уровня бифидо- и лактобактерий, достоверно более выраженное у пациентов основной группы. Так же в периоде реконвалесценции отмечается снижение энтерококков, достоверно для обеих групп и более выраженное у пациентов основной группы. Рост уровня клебсиелл, протеев и микробов рода цитробактер, отмечаемого в периоде реконвалесценции в обеих группах, можно расценивать как компенсаторное реагирование системы биоценоза на стрессовое воздействие. При этом отмечаемый рост доли численности грибов рода Candida в периоде реконвалесценции у пациентов группы сравнения так же является проявлением постстрессорной реакции биоценоза, однако в основной группе данный процесс не был зарегистрирован, что позволяет говорить о биоценозсберегающих технологиях диетотерапии с пробиотиками.

На основании оценки численности вида в теории систем предусмотрена 5-балльная квадратично-трансформированная шкала, которая обеспечивает математически закономерное нарастание линейной неравномерности с учетом двумерной сущности покрытия, проецируемого на одномерную шкалу Е.Л. Любарского (рисунок 1)[7].

Балл	Границы классов по численности, в %	Степень доминирования вида
1	$0 < N \square 4$	Малозначимый вид
2	$4 < N \square 16$	Второстепенный
3	$16 < N \square 36$	Субдоминант
4	$36 < N \square 64$	Доминант
5	$64 < N \square 100$	Абсолютный доминант

*Рис.1. Шкала доминирования по численности (N- доля вида в общей численности, в %)*

На основе данной шкалы все виды по их относительной численности в сравниваемых группах были разделены на классы степени доминирования (рисунок 2).

Следует отметить, что для острого периода острой кишечной инфекции характерно наличие одного абсолютного доминантного вида – энтерококка, который в норме относится к

категории малозначимых видов. Бифидобактерии, в норме являющиеся абсолютным доминантным видом, при развитии стрессорной реакции системы микробиоценоза на фоне острой кишечной инфекции становятся второстепенным видом по степени доминирования. В периоде реконвалесценции в основной группе уровень значимости бифидобактерий значительно возрастает (до уровня субдоминантного вида), а в группе сравнения значимость данного вида в биоценозе не меняется и остается на уровне второстепенного вида.

Степень значимости энтерококков в группах сравнения в периоде реконвалесценции значительно снижается – до уровня второстепенного вида в основной группе и субдоминантного уровня в группе сравнения.

В периоде реконвалесценции значимость грибов рода *Candida* в группе сравнения возрастает до уровня субдоминантного вида.

Уровень значимости для лактобактерий, кишечной палочки, стафилококка, клебсиелл, протей, цитробактеров в группах сравнения носит однонаправленный характер и отражает постстрессорную реакцию микробиоценоза.

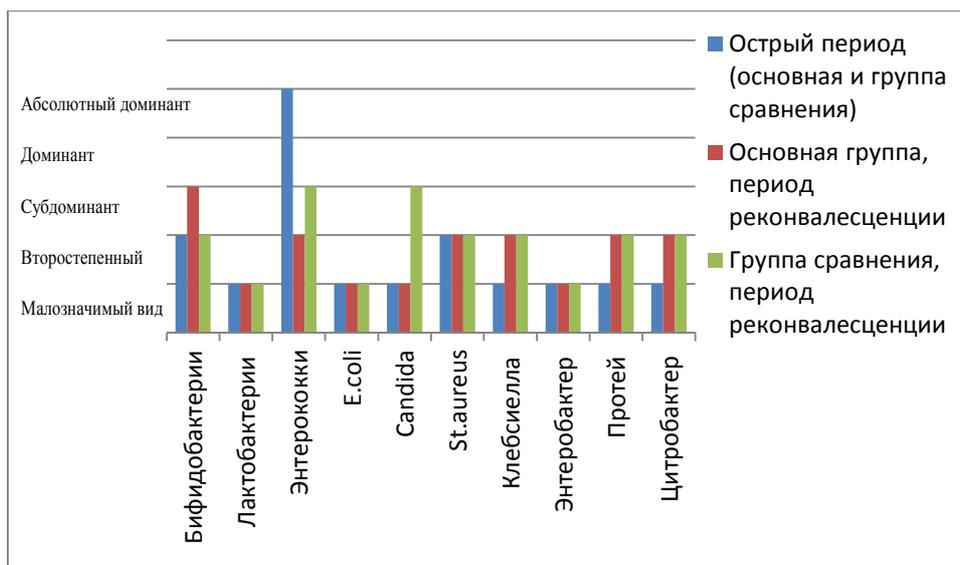


Рис.2. Степени доминирования по относительной численности видов в группах сравнения в динамике, в баллах

Одним из более точных методов описания доминирования видов в биоценозе является расчет индекса доминирования (ИД) по Арнольди [1]. Значения ИД в остром периоде заболевания представлены в таблице 6.

Таблица 6

Индекс доминирования видов в остром периоде ОКИ в группах сравнения, в ЕД

Микроорганизмы	Основная группа		Группа сравнения		Норма	Достоверность различий, р
	Индекс доминирования, ЕД±ошибка, ЕД	Дельта отклонения от нормы, ЕД	Индекс доминирования, ЕД±ошибка, ЕД	Дельта отклонения от нормы, ЕД	Индекс доминирования, ЕД±ошибка, ЕД	
Бифидобактерии	8,1±0,2	-13,3	8,0±0,3	-13,4	21,4±0,2	0,3
Лактобактерии	3,1±0,5	-2,9	3,6±0,3	-2,4	6,0±0,2	-0,8
Энтерококки	14,9±0,2	14,9	14,6±0,3	14,6	0±0,1	0,7

E.coli	5,3±0,2	2,8	5,0±0,3	2,5	2,5±0,2	0,7
Грибы рода Candida	3,5±0,2	3,5	2,8±0,3	2,8	0±0,1	1,7
St.aureus	10,2±0,5	10,2	9,8±0,5	9,8	0±0,1	0,5
Клебсиеллы	2,5±0,2	2,5	2,6±0,3	2,6	0±0,1	-0,2
Энтеробактеры	4,7±0,2	4,7	4,4±0,3	4,4	0±0,1	0,8
Протеи	1,8±0,2	1,8	1,6±0,3	1,6	0±0,1	0,5
Цитробактеры	2,0±0,2	2,0	2,0±0,3	2,0	0±0,1	0,0

Как видно из таблицы 4 характерной особенностью острого периода ОКИ является снижение ИД бифидо- и лактобактерий практически в два раза. При этом уровень ИД кишечной палочки наоборот по сравнению с нормой повышен в 2 раза. Так же повышен ИД для энтерококков (самый высокий показатель) и других видов, относящихся к УПФ.

В периоде реконвалесценции (таблица 7) отмечается повышение уровня ИД бифидо- и лактобактерий, достоверно более выраженное в основной группе. Также отмечается достоверно более выраженное снижение ИД энтерококков и повышение уровня кишечной палочки. При этом ИД для стафилококков, клебсиелл, протей и цитробактеров остается выше нормы, но является сопоставимым между группами, что подтверждает полученные ранее данные о типичности реагирования системы микробиоценоза на стрессорное воздействие.

**Таблица 7**

Индекс доминирования видов в периоде реконвалесценции ОКИ в группах сравнения, в ЕД

Микроорганизмы	Основная группа		Группа сравнения		Достоверность различий, р
	Индекс доминирования, ЕД±ошибка, ЕД	Дельта отклонения от нормы, ЕД	Индекс доминирования, ЕД±ошибка, ЕД	Дельта отклонения от нормы, ЕД	
Бифидобактерии	14,3±0,2	-7,1	8,8±0,3	-12,6	<b>14,4**</b>
Лактобактерии	6,7±0,2	0,7	4,1±0,3	-1,9	<b>6,9**</b>
Энтерококки	6,7±0,2	6,7	9,1±0,3	9,1	<b>-6,1**</b>
E.coli	6,4±0,2	3,9	4,1±0,3	1,6	<b>6,0**</b>
Грибы рода Candida	0,0±0,2	0,0	11,0±0,3	11,0	<b>-28,4**</b>
St.aureus	4,1±0,2	4,1	4,4±0,3	4,4	-0,7
Клебсиеллы	4,2±0,2	4,2	4,4±0,3	4,4	-0,4
Энтеробактеры	0,0±0,2	0,0	0,0±0,3	0,0	0,0
Протеи	5,5±0,2	5,5	4,4±0,3	4,4	<b>2,9*</b>
Цитробактеры	4,2±0,2	4,2	4,4±0,3	4,4	-0,4

**Таблица 8**

Индекс доминирования видов в основной группе в динамике, в ЕД

Микроорганизмы	Острый период	Период реконвалесценции	Достоверность различий, р
	Индекс доминирования, ЕД±ошибка, ЕД	Индекс доминирования, ЕД±ошибка, ЕД	
Бифидобактерии	8,1±0,2	14,3±0,2	<b>-19,6**</b>
Лактобактерии	3,1±0,5	6,7±0,2	<b>-5,1**</b>
Энтерококки	14,9±0,2	6,7±0,2	<b>25,9**</b>
E.coli	5,3±0,2	6,4±0,2	<b>-3,5**</b>
Грибы рода Candida	3,5±0,2	0,0±0,2	<b>11,1**</b>

St.aureus	10,2±0,5	4,1±0,2	<b>8,6**</b>
Клебсиеллы	2,5±0,2	4,2±0,2	<b>-5,5**</b>
Энтеробактеры	4,7±0,2	0,0±0,2	<b>14,9**</b>
Протеи	1,8±0,2	5,5±0,2	<b>-11,8**</b>
Цитробактеры	2,0±0,2	4,2±0,2	<b>-7,2**</b>

В таблице 8 наглядно продемонстрированы основные эффекты биоценозсберегающего воздействия диетотерапии с пробиотиками. Так, ИД бифидо- и лактобактерий достоверно повышается в 1,8 и 2,2 раза соответственно. При этом уровень ИД повышенного в остром периоде для энтерококков в периоде реконвалесценции снижается в 2,2 раза, St.aureus – в 2,5 раза, а грибов рода Candida до нуля. Повышение уровня ИД для клебсиелл, протея, цитробактеров носит дезадаптационный характер и является однотипным для обеих групп сравнения.

Расчет доли ИД для каждого вида в общей структуре биоценоза позволил выявить смену доминирования штаммов в динамике. Бифидо- и лактобактерии, а так же кишечная палочка не изменили своего положения в доле ИД в остром периоде и периоде реконвалесценции (рисунок 3). Оппозитно направленные изменения доли ИД были получены для грибов рода Candida, St.aureus, клебсиелл, протея и цитробактеров, степень значимости которых возросла в периоде реконвалесценции, что может быть расценено как системная реакция микробиоценоза на стрессорное воздействие. Уровень значимости энтерококков, являвшихся субдоминантным видом в остром периоде заболевания, снизился до уровня второстепенного вида, что подчеркивает возможности саморегуляции системы микробиоценоза.

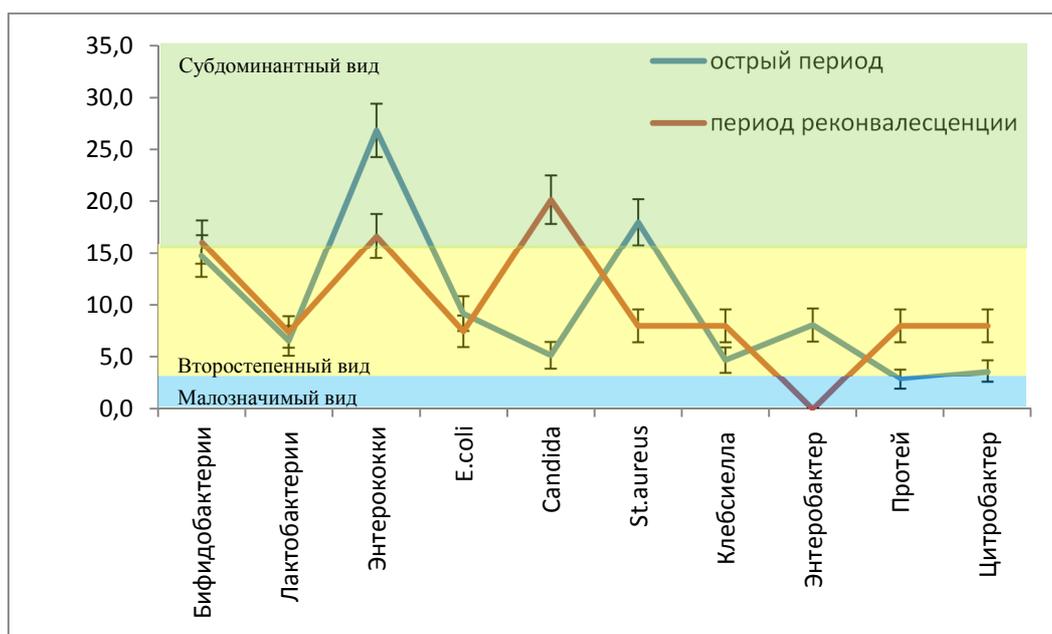


Рис.3. Динамика изменения доли ИД в группы сравнения, в %

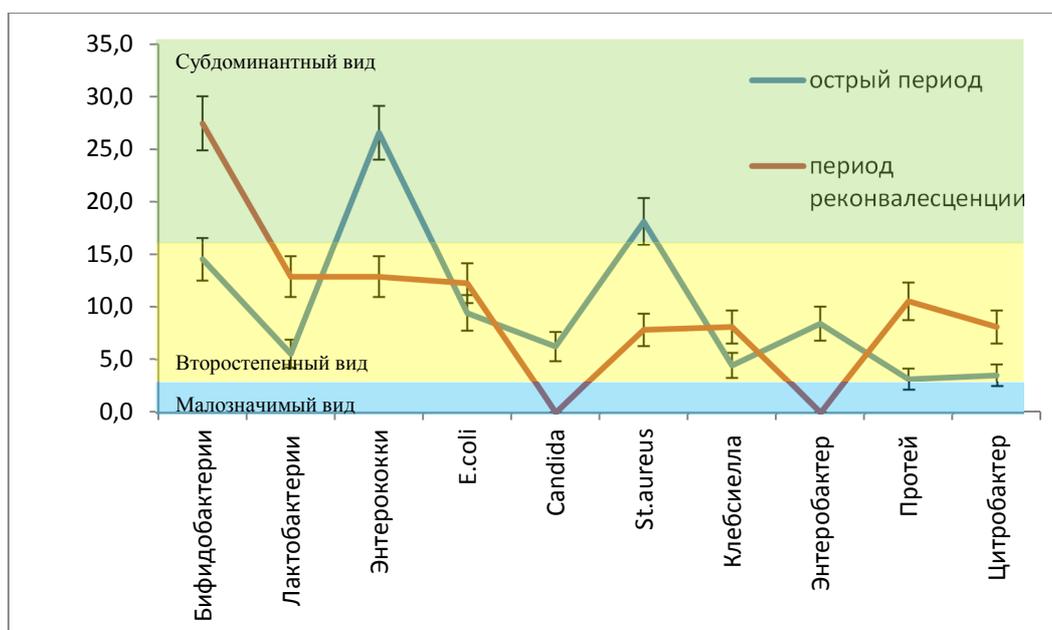


Рис.4. Динамика изменения доли ИД в основной группе, в %

На рисунке 4 видна смена доминирования штаммов в динамике у пациентов основной группы – энтерококки уступили место в доминировании бифидобактериям. Так же в периоде реконвалесценции повысилась степень доминирования лактобактерий и кишечной палочки. Повышение доли ИД для клебсиелл, протей и цитробактеров не выходило за рамки второстепенного вида как в остром периоде заболевания, так и периоде реконвалесценции. Такая динамика степени доминирования видов подчеркивает, что пробиотики повышают возможности системы микробиоценоза к самовосстановлению.

Одной из важных характеристик систем является индекс Шеннона, применительно к биоценозам – индекс биологического разнообразия (ИБР).

В таблице 9 представлены значения ИБР в группах сравнения в динамике. Как видно из таблицы динамика данного показателя носит однонаправленный и достоверно не различимый характер. Это указывает на то, что после стрессорного воздействия система микробиоценоза стремится к самовосстановлению.

Таблица 9

Индекс биологического разнообразия Шеннона в динамике в группах сравнения, в ЕД

	Индекс Шеннона, ЕД		Достоверность различий, p
	Острый период	Период реконвалесценции	
Основная группа (НАН кисломолочный с бифидобактериями)	1,1±0,2	2,7±0,2	<b>-6,2**</b>
Группа сравнения	1,7±0,3	2,6±0,3	<b>-2,1*</b>
Достоверность различий, p	0,3	-1,7	

Расчет индекса значимости для каждого вида в общей структуре биоценоза позволил выявить динамику структурных изменений биологического разнообразия в группах сравнения (таблица 10).

**Таблица 10**

Индекс значимости для каждого вида в динамике в группах сравнения, в %

Микроорганизмы	Основная группа		Группа сравнения		Достоверность различий, p			
	Острый период	Период реконвалесценции	Острый период	Период реконвалесценции				
	1	2	3	4				
	ИЗВ%±%	ИЗВ%±%	ИЗВ%±%	ИЗВ%±%	1-2	2-4	1-3	3-4
Бифидобактерии	16,2±2,4	19,6±2,3	13,0±1,9	10,8±1,8	-1,0	<b>3,0**</b>	1,1	0,8
Лактобактерии	2,3±0,9	5,7±1,3	2,3±0,9	1,9±0,8	<b>-2,1*</b>	<b>2,5*</b>	0,0	0,4
Энтерококки	22,1±2,4	15,4±2,1	28,7±2,6	19,2±2,3	<b>2,1*</b>	-1,3	-1,9	<b>2,7*</b>
E.coli	2,5±0,9	5,1±1,3	4,6±1,2	1,9±0,8	-1,7	<b>2,1*</b>	-1,5	1,9
Грибы рода Candida	1,8±0,8	0,0±0,0	1,1±0,6	20,3±2,3	<b>2,3*</b>	<b>-8,8**</b>	0,7	- <b>8,0**</b>
St.aureus	22,7±2,3	7,5±1,5	27,0±2,7	11,5±1,8	<b>5,6**</b>	-1,7	-1,2	<b>4,8**</b>
Клебсиеллы	11,0±1,8	15,4±2,1	9,9±1,4	11,5±1,8	-1,6	1,4	0,5	-0,7
Энтеробактеры	16,9±2,2	0,0±0,0	11,4±1,8	0,0±0,0	<b>7,8**</b>	0	1,9	<b>6,2**</b>
Протеи	2,9±1,0	16,1±2,1	1,0±0,6	11,5±1,8	<b>-5,7**</b>	1,6	1,7	- <b>5,4**</b>
Цитробактеры	1,6±0,7	15,4±2,1	0,9±0,6	11,5±1,8	<b>-6,2**</b>	1,4	0,8	- <b>5,5**</b>

Как видно из таблицы 10, повышение доли в биологическом разнообразии бифидобактерий у пациентов основной группы, получавших пробиотики, в периоде реконвалесценции приводит к менее выраженным компенсаторным изменениям УПФ.

Таким образом, полученные данные об изменении места в биоценозе бифидо- и лактобактерий (доля численности, ИД, ИБР и их модификации), смена доминирующих в остром периоде штаммов и процессы компенсаторного роста УПФ в процессе восстановления после стрессового для кишечного микробиоценоза воздействия (ОКИ) подчеркивают, что тезис о стремлении системы к самовосстановлению и наличию собственных ресурсов для этого можно считать подтвержденным. При этом использование пробиотиков, а в частности диетотерапии адаптированными смесями с пробиотиками, позволяет повысить возможности саморегуляции системы микробиоценоза.

### Список литературы

1. Арнольди, Л.В. Материалы по количественному изучению зообентоса Черного моря. Каркитинский залив [Журнал] // Тр. Севаст. биол. станции.. - 1949 г. - Т. 7. - стр. 127-192.

2. Горелов, А.В., Плоскирева, А.А. Кисломолочные продукты в питании детей 1-го года жизни, больных острыми кишечными инфекциями . [Журнал] // Российский педиатрический журнал. - 2004 г.. - №4. - стр. 51-54.
3. Железнова, Л.И. Клинико-лабораторные особенности микробиологических нарушений слизистой толстой кишки при острых кишечных инфекциях у детей. [Книга]. - Санкт-Петербург : Автореферат на соиск. уч. ст.канд. биол.наук, 2006. - стр. 24.
4. Крамарь, Л.В., Родионова, Н.В., Арова, А.А. Микробиологические особенности кишечного биоценоза детей первого года жизни при острых кишечных инфекциях // [Журнал] // Фундаментальные исследования. . - 2014 г.. - №2. - стр. 90-93..
5. Лебедева, Н.В., Криволицкий, Д.А., Пузаченко, Ю.Г. География и мониторинг биоразнообразия. [Книга]. - Москва : Издательство НУМЦ, 2002. - стр. 432.
6. Лукушкина, Е.Ф., Кутилова, Н.В., Нетребенко, О.К. Кисломолочные смеси в питании грудных детей [Журнал] // Вопросы современной педиатрии. - 2010 г.. - №1 : Т. 9. - стр. 136-141.
7. Любарский, Е.Л. К методике экспресс-квалификации и сравнения описаний фитоценозов [Раздел книги] // Количественные методы анализа растительности. - Уфа : БФАН СССР, 1974.
8. Песенко, Ю.А. Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. [Книга]. - Москва : Наука, 1982. - стр. 287.
9. Применение бактериальных биологических препаратов в практике лечения больных кишечными инфекциями. Диагностика и лечение дисбактериоза кишечника. Метод. рекомендации [Книга]. - Москва: Минздрав СССР, 1986. - Т. № 10-11/31. : стр. 14-23.
10. Терещенко, В.Г., Терещенко, Л.И., Сметанин, М.М. Оценка различных индексов для выражения биологического разнообразия сообщества [Раздел книги] // Биоразнообразие: Степень таксономической изученности. - Москва: Наука, 1994.

**Рецензенты:**

Макашова В.В., д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва;

Понежева Ж.Б., д.м.н., ведущий научный сотрудник ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва.