

**РОССИЙСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ**

123480, Москва, Героев Панфиловцев, 28, Тушинская детская городская больница
Тел. 496-52-38, Факс 948-53-64

ОТЧЕТ

ПО КЛИНИЧЕСКОМУ ИССЛЕДОВАНИЮ

«Оценка клинической эффективности биокомплекса Нормофлорин-Д (ООО «Бифилюкс») в лечении антибиотик-ассоциированных диарей (ААД) у детей от года до 3 лет».

ИССЛЕДОВАТЕЛИ:

Коровина Нина Алексеевна - профессор, доктор медицинских наук, заведующая кафедрой педиатрии ГОУ ДПО Российской медицинской академии последипломного образования Росздрава

Захарова Ирина Николаевна - профессор, доктор медицинских наук, кафедра педиатрии ГОУ ДПО Российской медицинской академии последипломного образования Росздрава.

Овсянникова Елена Михайловна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры педиатрии ГОУ ДПО Российской медицинской академии последипломного образования Росздрава.

Москва 2007г.

ВВЕДЕНИЕ.

Микробиоценоз кишечника представляет собой высокоспециализированную систему, чутко реагирующую качественными и количественными нарушениями на изменения состояния организма человека и на неблагоприятные воздействия внешней среды. Среди разнообразных факторов, оказывающих влияние на микрофлору кишечника, особо нужно выделить антибактериальную терапию, непосредственно влияющую на микробную флору человека. Рациональная антибиотикотерапия является одной из важнейших составляющих в лечении детей с различными инфекционно-воспалительными заболеваниями. Однако широкое, не всегда обоснованное, применение антибиотиков в педиатрической практике нередко приводит к развитию разнообразных осложнений - аллергических и токсических реакций, дисбактериозов и др. В процессе транзита по желудочно-кишечному тракту антибиотики оказывают на него не только местное воздействие, но и губительное влияние на его микрофлору, подавляя рост не только патогенных, но и нормальных микроорганизмов. Известно, что способ назначения антибиотика особой роли не играет. Так, при приеме внутрь, помимо влияния на микроорганизмы, происходит местное воздействие антибиотика непосредственно на слизистую оболочку тонкой кишки. При парентеральном введении антибиотики воздействуют на микробиоценоз кишечника, выделяясь со слюной, желчью, секретами тонкой и толстой кишки. По данным различных авторов, частота развития антибиотик-ассоциированных диарей (ААД) у пациентов, госпитализированных в стационар, может колебаться от 3 до 29% [McFarland L.V. (1993)]. Причем ААД могут протекать в различных формах – от нетяжелой диареи до псевдомембранозного и фульминантного колита. Итогом является размножение сапрофитных микробов, обладающих не только высокой устойчивостью к лекарственным препаратам, но и приобретающих патогенные свойства. К таким микроорганизмам относятся стафилококки, протей, дрожжевые грибы, энтерококки, синегнойная палочка

и клебсиелла. Учайкин В.Ф. и Новокшенов А.А. (1999) подчеркивают, что до 20% всех антибиотико-ассоциированных диарей и 90-100% псевдомембранозных колитов обусловлено инфекцией *Clostridium difficile*. Большинство современных антибиотиков могут стать причиной кишечного дисбактериоза, хотя действие каждого из них имеет определенные особенности. В частности, ампициллин в значительной степени подавляет рост как аэробной, так и анаэробной микрофлоры, тогда как амоксициллин, лишь минимально подавляя активность большинства нормальных кишечных микроорганизмов, способствует некоторому увеличению популяции представителей рода *Enterobacteriaceae*. Аналогично на микробиоценоз кишечника влияет комбинированный препарат амоксициллина и клавулановой кислоты. При этом большинство современных пенициллинов не способствуют размножению грибов и *C. difficile*. Пероральные цефалоспорины, такие как цефподоксим, цефтибутен определенно способствуют росту численности представителей рода *Enterobacteriaceae* в кишечнике, тогда как цефаклор и цефрадин практически не оказывают влияния на кишечную микрофлору, а применение цефиксима ведет к значительному снижению анаэробных микроорганизмов. Важно, что большинство цефалоспоринов способствует росту численности энтерококков и *C. difficile*. Фторхинолоны в значительной степени угнетают рост микробов рода *Enterobacteriaceae* и в меньшей степени – энтерококков и анаэробных микроорганизмов, не способствуя при этом росту грибов и *C. difficile*. ААД наиболее часто вызывают клиндомицин, линкомицин, ампициллин, пенициллин, цефалоспорины, тетрациклин, эритромицин.

Профилактика ААД заключается в строгом соблюдении правил личной гигиены, а также в неукоснительном выполнении всех требований по соблюдению санитарно-противоэпидемического режима лечебных учреждений. Нельзя также недооценивать и такой фактор в профилактике *Clostridium difficile*-инфекции, как уменьшение частоты бесконтрольного и необоснованного использования антибиотиков. Таким образом, основными

резервами снижения заболеваемости у детей ААД являются улучшение санитарной культуры населения в целом и повышение профессионализма медицинских работников. Учитывая, что особое место среди антибиотико-индуцированных осложнений занимает дисбактериоз кишечника, сопровождающийся клинически значимой активацией условно-патогенных энтеробактерий, перспективным является применение пробиотиков для профилактики и лечения ААД у детей.

Целью настоящего исследования явилась оценка эффективности Нормофлорина Д (ООО «Бифиликс») у детей от 1 до 3 -х лет при антибиотик-ассоциированной диарее, определение его влияния на микрофлору кишечника, а также безопасность применения у детей от 1 года до 3-х лет.

Материалы и методы.

Под нашим наблюдением находились 28 детей (13 девочек и 15 мальчиков) в возрасте от 1 до 3-х лет, госпитализированных в 17отделение Тушинской детской городской больницы г. Москвы по поводу респираторной инфекции и инфекции мочевой системы. В исследование были включены пациенты, у которых развилась диарея на фоне антибактериальной терапии по поводу основного заболевания. В связи с этим в комплекс лечебных мероприятий был включен биокомплекс «Нормофлорин Д», созданный на основе культур *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* (содержание не менее 10^9 КОЕ/мл) и *Lactobacillus rhamnosus* (содержание не менее 10^8 КОЕ/мл), по 7,0 мл 2 раза в день в течение 30 дней.

Для оценки клинической эффективности «Нормофлорина Д» в лечении антибиотик-ассоциированной диареи у детей, был проведен анализ динамики купирования и средней продолжительности диспепсического (снижение аппетита, тошнота) и абдоминального (метеоризм, боли в животе, диарея) симптомов. С целью оценки влияния биокомплекса «Нормофлорин Д» на микробиоценоз кишечника проведено изучение динамики метаболитного статуса микрофлоры толстого кишечника методом газо-жидкостной

хроматографии. Возрастная характеристика пациентов, вошедших в исследование, представлена в таблице 1.

Таблица 1.

Характеристика пациентов, вошедших в исследование.

Возраст детей	Частота			
	Мальчики		Девочки	
	Абс.ч.	%	Абс.ч.	%
От 1 до 2 лет	14	50	9	32,2%
От 2 до 3 лет	1	3,5%	4	14,3%
Итого	15	53,5%	13	46,5%

Основным поводом для назначения антибиотиков у исследуемых больных было осложненное течение ОРВИ. Как видно из таблицы 2, подавляющее число больных (85,8% случаев) были госпитализированы в связи с осложненным течением ОРВИ и воспалительным процессом со стороны верхних и нижних дыхательных путей, остальные (14,2%) – по поводу инфекции мочевой системы. 25% больных получали антибиотикотерапию на фоне острого бронхита, 21,4% детей – по поводу ОРВИ с гипертермией и фебрильными судорогами, 17,8% больных – по поводу развившейся пневмонии, 17,8% пациентов – по поводу острого среднего отита, 14,2% больных – по поводу ОРВИ, осложненной инфекцией мочевой системы (таблица 2).

Таблица 2.

Структура диагнозов, по поводу которых в лечении больных применялась антибиотикотерапия.

Диагнозы	Частота	
	Абс.ч.	%
ОРВИ, бронхит	7	25
ОРВИ, пневмония	5	17,8
ОРВИ, средний отит	5	17,8
ОРВИ, гипертермия с фебрильными судорогами	6	21,4

ОРВИ, гнойный конъюнктивит	1	3,57
ОРВИ, инфекция мочевой системы	4	14,2

Таблица 3.

Сроки госпитализации исследуемых больных от начала заболевания.

Сроки госпитализации от начала заболевания	Частота	
	абс.ч.	%
1 сутки	10	35,7
2 сутки	4	14,2
3 сутки	7	25
Более 4 суток	7	25

У 92,8% больных начало заболевания было острым, с повышением температуры до фебрильных цифр. Треть больных поступили в стационар в первые сутки заболевания, с острым началом заболевания. Четверть больных поступили позднее 4 суток от начала заболевания и периода лечения на участке по месту жительства.

Все пациенты с осложненным течением ОРВИ с первого дня госпитализации получали антибактериальную терапию парентерально: препараты группы природных и полусинтетических пенициллинов 22 ребенка (78,5%), цефалоспорины - 6 детей (21,5%). В анамнезе до настоящей госпитализации 6 детей (21,4%) получали антибактериальную терапию.

Нормофлорин Д был подключен к терапии при развитии диарейного синдрома. Средние сроки развития диареи от начала приема антибактериальной терапии составил $3,07 \pm 0,15$ суток.

Результаты исследования и их обсуждение.

Клиническое наблюдение за исследуемой группой больных, получивших Нормофлорин Д, позволило сделать заключение об его

безопасности и хорошей переносимости: ни у одного больного не было отмечено развития аллергических реакций или отказа от приема препарата.

Для оценки клинической эффективности Нормофлорина Д проведено динамическое наблюдение за характером диспепсического и абдоминального симптомов. Надо отметить, что анорексия на фоне течения основного заболевания наблюдалась у 100% детей, средняя продолжительность ее на фоне лечения составила $2,96 \pm 0,14$ сут. Реже встречался синдром тошноты и рвоты, их частота составила 28,5% и 14,2% (соответственно), а средняя продолжительность на фоне лечения составила от 6 до 12 часов (таблица 4).

Таблица 4.

Характеристика диспепсического симптома у исследуемых больных.

Симптомы	Характеристика диспептического синдрома	
	Частота (%)	Продолжительность (сутки) ($M \pm m$)
Снижение аппетита	100	$2,96 \pm 0,14$
Тошнота	28,5	$0,5 \pm 0,16$
Рвота	14,2	$0,25 \pm 0,12$

Анализируя динамику диспепсического симптома у исследуемых больных, нами показано, что анорексия купировалась концу третьего дня. Если в начале наблюдения снижение аппетита отмечалось у всех детей, то к концу 3-х суток она сохранялась только у 7 больных (25%). Другие синдромы купировались быстрее. К концу вторых суток тошнота наблюдалась только у одного ребенка (3,57%), а рвоты не было ни у одного пациента.

Таблица 5.

Динамика купирования диспепсического симптома у исследуемых больных.

Симптомы	Динамика купирования диспепсического симптома (дни)			
	1-й день	2-й день	3-й день	4-й день
Снижение аппетита	28 (100%)	28 (100%)	20 (71,4%)	7 (25%)

Тошнота	8 (28,5%)	5 (17,8%)	1 (3,5%)	-
Рвота	4 (14,2%)	3 (10,7%)	-	-

Таким образом, можно отметить, что использование Нормофлорина Д у детей раннего возраста при ААД, способствует быстрому купированию диспепсического симптома.

Нами проведена оценка выраженности и длительности абдоминального симптома у исследуемых больных. Следует отметить, что абдоминальный синдром у больных с ААД был более выражен, чем диспепсический. Нами проведена оценка динамики купирования диареи у исследуемых больных. У всех больных зарегистрирована диарея на фоне антибактериальной терапии. Средняя ее продолжительность на фоне лечения составила $2,42 \pm 0,17$ сут. (таблица 6, 7). При включении нормофлориина Д в терапию к концу вторых суток от начала диарейного синдрома у 10 детей (35,7%) отмечался кашицеобразный, полуоформленный стул. К концу 4 суток лечения, отмечалась нормализация стула у всех больных.

Таблица 6.

Характеристика абдоминального симптома у исследуемых больных ($M \pm m$)

Симптом	Характеристика абдоминального симптома	
	Частота (%)	Длительность (сутки).
Диарея	100	$2,42 \pm 0,17$
Боли в животе	46,4	$0,71 \pm 0,15$
Метеоризм	78,5	$1,53 \pm 0,18$

Помимо диарейного синдрома, у $\frac{3}{4}$ больных отмечался выраженный метеоризм. Средняя продолжительность данного симптома составила $1,53 \pm 0,18$ дней. Реже отмечался болевой синдром. Как видно из таблицы 6, в самом начале наблюдения боли в животе отмечали 13 больных (46,4%),

средняя продолжительность сохранения болевого синдрома на фоне лечения составила $0,71 \pm 0,15$ сут.

Таблица 7.

Динамика купирования абдоминального симптома у исследуемых больных на фоне применения Нормофлорина Д.

Симптомы	Динамика купирования абдоминального синдрома (дни)			
	1-й день	2-й день	3-й день	4-й день
Диарея	28 (100%)	25 (89,2%)	10 (35,7%)	3 (10,7)
Метеоризм	22 (78,5%)	17 (60,7%)	4 (14,2%)	-
Боли в животе	13 (46,4%)	6 (21,4%)	-	-

На фоне терапии биокомплексами Нормофлоринами Д отмечалось быстрое купирование болевого синдрома и метеоризма. Боли в животе в начале наблюдения отмечались у половины детей (46,4%), на вторые сутки в 2 раза сократилось количество больных с болевым синдромом (у 21,4%). На 3-й день наблюдения боли в животе не беспокоили ни одного ребенка. К третьему дню метеоризм сохранялся у 14,2% больных.

Для оценки микробиоценоз-корректирующей эффективности «Нормофлорина Д», методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ-анализа¹) нами изучено количественное и качественное содержание короткоцепочечных жирных кислот (КЖК²) в кале у 15 больных с антибиотико-ассоциированной диареей до и после приема препарата Нормофлорина Д. Исследование проводилось ООО «Унимед» (д.м.н.Ардатская М.Д.)

Результаты изучения абсолютного содержания КЖК в кале у больных исходно демонстрируют исходное снижение (в 2,7 раза) абсолютной

¹ Патент РФ «Способ разделения смеси жирных кислот фракции C₂-C₆ методом газожидкостной хроматографии» Ардатская М.Д., Иконников Н.С., Минушкин О.Н., № 2220755, дата выдачи 10.01.2004, приоритет от 23.07.2002

² К короткоцепочечным жирным кислотам (фракции C₂-C₆) с изомерами относят уксусную (C₂), пропионовую (C₃), изомасляную (изоC₄), масляную (C₄), изовалериановую (изоC₅), валериановую (C₅), изокапроновую (изоC₆) и капроновую (C₆) кислоты.

концентрации КЖК по сравнению с нормой (Норма $10,51 \pm 2,51 > 3,92 \pm 1,26$ мг/г). Это свидетельствует как о нарушении утилизации данных кислот колоноцитами вследствие измененной моторно-эвакуаторной функции кишечника, так и может являться следствием измененной активности и численности различных популяций микроорганизмов индигенной толстокишечной микрофлоры.

У пациентов, получавших Нормофлорин Д с целью терапии ААД, после проведенного курса лечения, выявлена тенденция к повышению абсолютного содержания КЖК -Σ (C2-C6) после лечения составила $7,08 \pm 2,04$ мг/г.

Таблица 8.

Качественное и количественное содержание короткоцепочечных жирных кислот в кале у больных с антибиотико-ассоциированной диареей до и после приема препарата Нормофлорин Д.

Заболевание	Σ (C2-C6) мг/г	Уксусная кислота	Пропионовая кислота	Масляная кислота	АИ	iC5/C5	pИзоCn
Норма	$10,51 \pm 2,51$	$0,624 \pm 0,009$	$0,189 \pm 0,008$	$0,186 \pm 0,004$	$-0,600 (\pm 0,012)$	До 2,1 ед	$0,059 \pm 0,01$ 1
Группа ААД до лечения	$3,92 \pm 1,12$	$0,725 \pm 0,010^*$	$0,156 \pm 0,008^*$	$0,119 \pm 0,007^*$	$-0,456 \pm 0,012^*$	$3,35 \pm 0,3$	$0,068 \pm 0,01$ 1
Группа ААД после лечения	$7,08 \pm 2,04$	$0,639 \pm 0,010^{**}$	$0,197 \pm 0,010^{**}$	$0,163 \pm 0,008^{**}$	$-0,598 \pm 0,012^{**}$	$2,31 \pm 0,2^*, **$	$0,060 \pm 0,01$ 0

Примечание: $M \pm m$ - $p < 0,05$, * $p <$ по сравнению показателей с группой нормы;
 ** $p <$ по сравнению показателей исследуемых групп до и после лечения

Повышение абсолютной концентрации КЖК в основной группе свидетельствует о тенденции к восстановлению функциональной активности и численности толстокишечной микрофлоры, вследствие купирования клинических симптомов, нормализации моторно-эвакуаторной функции кишечника и т.д. и «заместительного» эффекта препарата «Нормофлорин Д».

Нами изучены профили С2-С4 кислот³, вносящих основной вклад в общий пул КЖК, и значения анаэробных индексов⁴ (АИ), характеризующих окислительно-восстановительный потенциал внутриполостной среды, у больных ААД исходно и на фоне лечения. Результаты представлены в таблице 8. Показано, что у больных ААД (N=11) исходно отмечается достоверное повышение относительного содержания уксусной кислоты при снижении долей пропионовой и масляной кислот по сравнению с группой здоровых детей.

Возрастание уровня уксусной кислоты связано с резкой активизацией аэробных микроорганизмов, представителей факультативной и остаточной (условно-патогенной) микрофлоры. Снижение уровня пропионовой и масляной кислот данных кислот свидетельствует об уменьшении численности и угнетении активности анаэробного звена микрофлоры, представленного в основном популяциями микроорганизмов родов *Bacteroides*, *Clostridium*, эубактерий, фузобактерий и др., что согласуется с данными Готтшалк Г.(1982).

После курса лечения пациентов с ААД Нормофлорином Д отмечается формирование нормального профиля содержания КЖК, что демонстрирует восстановление активности и численности представителей молочнокислой флоры (бифидо- и лактобактерий), облигатных штаммов анаэробных микроорганизмов при снижении активности факультативных и остаточных

³ Под профилем КЖК подразумевается, присущий набор частот (удельных концентраций) отдельных кислот, т.е. долевое участие отдельной кислоты (rCn):

$$rCn = \frac{Cn}{C2 + C3 + C4}$$

С2 + С3 +С4

Профиль КЖК в норме не зависит ни от количества продуцирующих и утилизирующих метаболиты микроорганизмов, ни от числа клеток (эпителиоцитов) всасывающей поверхности.

⁴ АИ - отношение суммы концентраций (С) более восстановленных кислот к менее восстановленным (АИ=(Спропионовая+Смасляная)/Суксусная)) - (Гунзалус И., Стайнер Р., 1963)

аэробов. Результаты изучения значений анаэробных индексов также представлены в таблице 8, из которой видно, что исходно у пациентов ААД наблюдается смещение значений АИ в область слабо отрицательных значений по сравнению с нормой ($-0,456 \pm 0,012$ ед при норме $-0,600 \pm 0,012$ ед.), что способствует активизации аэробных популяций микроорганизмов и приводит к увеличению продукции токсичных форм кислорода и «аэробизации» среды. На этом фоне начинают активно продуцировать условно-патогенные штаммы аэробных микроорганизмов, что отображается на изменении профиля С2-С4 кислот. Кроме того, при данных значениях окислительно-восстановительного потенциала происходит угнетение жизнедеятельности облигатных анаэробов (что подтверждает факт, описанный выше).

После курса лечения отмечается смещение АИ в область нормальных значений [из слабо отрицательной области в более отрицательную с $-0,456$ ед до $-0,598$ ед. соответственно, Δ (дельта) АИ(лечение) составляет $-0,142$ ед], что обеспечивает условия для нормальной и эффективной жизнедеятельности облигатной микрофлоры.

Необходимо отметить, что у 4 пациентов исходно в профиле С2-С4 кислот было выявлено повышение пропионовой кислоты (макс до $0,391$ ед) (2 чел), масляной кислоты (до $0,263$ ед) (1 чел) и сочетанного повышения пропионовой и масляной кислот (до $0,290$ ед и $0,202$ ед соответственно) (1 чел), что свидетельствует об активизации остаточных анаэробных микроорганизмов, продуцирующих данные кислоты. У этих пациентов исходно отмечено отклонение значений АИ в область резко отрицательных значений, при которых отмечается блокирование жизнедеятельности облигатной микрофлоры. После лечения отмечается тенденция к нормализации профиля С2-С4 кислот и значений АИ, что также свидетельствует о восстановлении кишечного микробиоценоза.

Результаты изучения суммарного относительного содержания изокислот (р(изоСп) и отдельно отношения изовалериановой кислоты к валериановой

кислоте (iC5/C5) у больных ААД до и после проводимой терапии также представлены в таблице 8.

Как видно из таблицы, у больных ААД в целом исходно отмечается недостоверное повышение суммарного относительного содержания изокислот, что нивелируется отчасти тем, что у части больных (N=5 чел) исходно было отмечено снижение данного показателя.

Как известно, изомеры КЖК образуются в результате жизнедеятельности микроорганизмов, утилизирующих пептиды. Кишечные палочки, фекальные стрептококки и стафилококки, некоторые бациллы рассматриваются как сильнейшие протеолитики.

Таким образом, в первом случае увеличение данного показателя свидетельствует о повышении активности вышеуказанных микроорганизмов, а во втором случае об их угнетении за счет лишения источника пептидов – слизи, в результате повышенной экскреции ее с каловыми массами.

Увеличение продукции отдельно изовалериановой кислоты при ААД связано с активизацией «микроорганизмов-гемолитиков» (в частности гемолитических штаммов аэробов-*E.coli*, стрептококков и др. микроорганизмов).

На фоне лечения значения данных параметров достоверно изменяются в сторону нормальных показателей, что свидетельствует о восстановлении нормальной активности микроорганизмов - протеолитиков и снижении активности (или полной элиминации) условно-патогенной гемолитической флоры.

Таким образом, основным поводом для назначения антибиотиков у детей раннего возраста является осложненное течение ОРВИ (пневмонии, отиты, инфекции мочевой системы, бронхиты). Средние сроки дебюта диарейного синдрома на фоне антибактериальной терапии составляют 3,07 суток. Назначение биокомплекса Нормофлорина Д детям от года до 3 лет сопровождается быстрым купированием анорексии (к концу 3 суток), тошноты (через 0,5 суток), метеоризма (через 1,5 суток), диареи (через 2,42

дня). Включение препарата Нормофлорин Д в терапию ААД у детей от года до 3 лет приводит к быстрому купированию абдоминального синдрома, восстановлению окислительно-восстановительного потенциала внутриполостной среды кишечника, положительным изменениям толстокишечного микробиоценоза, выражающихся в повышении численности и активности облигатной микрофлоры, снижении активности условно-патогенных штаммов микрофлоры, нормализации баланса аэробно/анаэробных популяций микроорганизмов. Клиническое наблюдение за детьми от года до 3 лет, получивших Нормофлорин Д, позволило сделать заключение об его безопасности и хорошей переносимости: ни у одного больного не было отмечено развития аллергических реакций или отказа от приема препарата.

Зав. кафедрой педиатрии профессор, дм.н.
Профессор, д.м.н.




Коровина Н.А.
Захарова И.Н.

