



## ПРОФИЛАКТИКА ДИАРЕИ у детей грудного возраста с помощью кисломолочной смеси, обогащенной живыми бифидобактериями *bifidum*

Jean-Pierre Chouraki, Louis-Dominique van Egrou, Marie-Claire Ficheau  
Department of pediatric, CHU de Grenoble; Nestle France;  
Nestle Research Center, Lausanne

Гастроэнтерит остается достаточно частой патологией у детей во многих странах. В США диагноз «гастроэнтерит» устанавливается в 16% всех случаев заболеваний детей младше 5 лет [1]. Популяционная частота острой диареи у детей указанного возраста составляет 1,3-2,3 эпизода в год на одного ребенка, а среди детей, посещающих детские учреждения, этот показатель в 2-5 раз выше [1-3]. Кроме того, острая диарея как внутрибольничная инфекция может привести к увеличению продолжительности пребывания в стационаре и затрат на лечение [2]. Таким образом, разработка эффективных методов профилактики острого гастроэнтерита является важной задачей в улучшении состояния здоровья детей грудного возраста.

Известно, что грудное вскармливание эффективно предупреждает развитие инфекций желудочно-кишечного тракта отчасти за счет присутствия бифидобактерий, создающих кислую среду [4-7]. На рост патогенных микроорганизмов в желудочно-кишечном тракте оказывает влияние целый ряд факторов, одним из которых является состав непатогенной кишечной флоры. В связи с этим можно предположить, что путем обогащения кишечной микрофлоры индигенными бактериями за счет поступления их в организм извне можно предотвратить или лечить инфекционную диарею [8, 9]. В качестве потенциального пробиотического агента особого внимания заслуживают бифидобактерии, поскольку они доминируют в составе кишечной флоры детей, вскармливаемых грудным молоком и, как полагают, являются одним из факторов, благодаря которым вскармливание грудным молоком предупреждает диарею [4, 6, 7, 10]. Кроме того, бифидобактерии способны отсрочить развитие ротавирусной инфекции у лабораторных животных [11]. Кисломолочные смеси и продукты, содержащие различные бактериальные культуры, используются на протяжении многих лет ввиду их потенциального благоприятного действия на пищеварение и функциональное состояние и состав микробиоценоза кишечника [8, 9]. Эффективность добавки в питание непатогенных бактерий в целях предупреждения диареи у детей грудного возраста изучали в нескольких клинических исследованиях, проводившихся в контролируемых условиях, но только в одном из них оценивали эффект детской смеси, обогащен-

ной бифидобактериями [8, 9, 12-14].

В связи с этим мы провели двойное слепое исследование в контролируемых условиях в нескольких медицинских центрах, целью которого стала оценка эффективности и толерантности кисломолочной детской смеси с добавкой бифидобактерии для профилактики острой диареи у детей, посещающих детские дошкольные учреждения.

### Пациенты и методы

Протоколы исследования и порядок получения согласия на привлечение к участию в исследовании были утверждены Комитетом по этике Медицинского университета Гренобля. Франция (CCPPRB-1996/01/10). Исследование проводилось в период с февраля 1996 по февраль 1997 гг. в детских медицинских центрах, расположенных по всей стране.

Все дети в возрасте до 8 месяцев из числа поступивших в медицинские центры обследовались на предмет соответствия критериям включения, если продолжительность их пребывания в центре предположительно должна была составить не менее 4 мес. Детей не включали в исследование, если на момент обследования они получали грудное вскармливание, при наличии расстройств пищеварения или указаний на нарушение кишечного всасывания в анамнезе, получали антибиотики или им давали лечебные смеси, не содержавшие лактозы, на основе белковых гидролизатов или соевых белков. Таким образом, в число наблюдавшихся вошли дети, удовлетворившие перечисленным критериям, при условии получения согласия на привлечение их к исследованию от родителей или органов опеки.

Размер выборки определяли по результатам предыдущего исследования J.M.Saavedra et al., он составил 90 наблюдений [13]. Исследование продолжали до тех пор, пока не было достигнуто указанное число наблюдаемых детей. В каждом медицинском центре пациентов методом случайной выборки распределяли на две группы. В одной группе детям давали обогащенную питательную смесь, в другой, контрольной группе - обычную детскую молочную смесь на всем протяжении их пребывания в центре. Таким образом, дети получали либо биологически подкисленную



Таблица 1. Состав питательных смесей (на 100 мл)

	Смесь для детей в возрасте младше 5 мес.		Смесь для детей в возрасте старше 5 мес.	
	BbF1	CF1	BbF2	GF2
Энергетическая ценность (ккал)	67	67	73	72
Белок (г)	1,7	1,8	2,2	2,4
Казеин (%)	50	77	77	77
Углеводы (г), в том числе:	7,7	6,8	8,6	8,5
лактоза (г)	5,74	4,7	3,4	3,5
жиры (г)	3,22	3,6	3,3	3,2
Минеральные вещества (г):	0,25	0,4	0,5	0,54
фосфор (мг)	21	56	68	74
кальций (мг)	43	66	80	87
железо (мг)	0,8	0,8	1,3	1,3

F1 - смесь для детей с рождения; F2 – последующая смесь

смесь с добавкой живых бифидобактерии (BbF), либо стандартную молочную смесь (CF) промышленного выпуска. Скваживание смеси (BbF) достигалось за счет ферментации белка в присутствии бактерий, вырабатывающих Ц+ молочную кислоту, а именно *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus helveticus*, после чего осуществляли сушку. Затем в сухую смесь добавляли бифидобактерии *bifidum* в количестве, обеспечивающем концентрацию живых микроорганизмов  $10^8$  на 1 г порошка. Показатель pH восстановленной смеси составлял 4,8. В каждой группе детям давали два вида смеси в зависимости от возраста: пациенты младше 4 месяцев получали «начальную» смесь (F1), старше 4 месяцев - последующую смесь (F2). Все четыре исследуемые смеси производились и поставлялись в сухом виде («Нан», Nesile). Перед кормлением смеси разводили стерильной минеральной водой в соответствии с рекомендациями Nestlé. Состав питательных смесей приводится в таблице 1. Врачам, медсестрам и наблюдателям не сообщалось о том, какую питательную смесь получал каждый конкретный ребенок.

У наблюдавшихся детей ежедневно оценивали консистенцию стула и еженедельно следующие показатели: массу тела, среднесуточное потребление питательной смеси, среднюю частоту стула, среднее количество эпизодов срыгивания или рвоты за день. Фиксировали также все изменения клинического состояния. Каждый месяц измеряли длину тела.

Острый гастроэнтерит определяли как внезапно и быстро развивающуюся диарею, сопровождающуюся (или не сопровождающуюся) тошнотой, рвотой, повышением температуры тела или болью в животе. Диарею определяли как три и более эпизода жидкого стула в день на

протяжении более чем 24 ч или при увеличении более чем на 50% числа актов дефекации, если ранее их было не более двух в день. Состояние определяли как диарею, если оно продолжалось в течение 7 дней и более.

Лечение диареи проводили в соответствии с рекомендациями Американской академии педиатрии и рабочей группы ESPGHAN, занимающейся проблемами острой диареи: ребенку продолжали давать питательную смесь вместе со стандартным регидратирующим раствором внутрь при условии, что у ребенка отсутствовали клинические признаки обезвоживания [15, 16]. Если такие признаки имелись или если диарея оказывалась более тяжелой, с очень частым жидким стулом, кормление питательной смесью прекращали на 8-12 ч, на протяжении которых ребенку давали только регидратирующий раствор внутрь, затем постепенно вводили безлактозную смесь. Такой режим кормления поддерживался до разрешения приступа диареи. После этого кормление исследуемой смесью возобновлялось.

В тяжелых случаях проводили микробиологическое исследование. С этой целью собирали образцы кала в течение 3 дней на протяжении эпизода диареи и проверяли их на наличие ротавируса и отдельных патогенных микроорганизмов (*J. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter* и *Yersinia*) с использованием стандартных микробиологических методов.

Статистически результаты представлены как среднее или частота  $\pm$  SD и 95% доверительный интервал в скобках. Статистический анализ про-

Таблица 2. Сравнение демографических показателей в группах до начала исследования

Показатели	Смеси		Достоверность различий (p)
	BbF	CF	
Число детей	46	44	
Возраст (мес)	3,9 $\pm$ 2,2	3,5 $\pm$ 2,1	НЗ
Масса тела (кг)	5,6 $\pm$ 2	5,1 $\pm$ 1,8	НЗ
Рост (см)	59,3 $\pm$ 5,4	56,6 $\pm$ 7,1	НЗ
Окружность головы (см)	39,4 $\pm$ 3,7	38,7 $\pm$ 3,6	НЗ
Наследственная отягощенность аллергическими заболеваниями (% детей)	30	41	НЗ
Грудное вскармливание в период новорожденности (% детей)	46	32	НЗ
Наличие в рационе твердой пищи (% детей)	57	46	НЗ

НЗ - разница незначимая



Таблица 3. Условия, в которых проводилось исследование

Показатели	Смеси		Достоверность различий (p)
	VbF	CF	
Пребывание в яслях-интернате, %	43	45	
В центре семейного ухода, %	57	55	НЗ
Продолжительность наблюдения (дни)	137 + 60,1	148,1+64,9	НЗ

водили на компьютере с помощью программы SASS. Двусторонние сравнения выполнялись с использованием точного критерия хи-квадрат, а сравнения распределений характеристик испытуемых - с использованием критерия хи-квадрат с поправкой Йэйтса для малых чисел. Накопленную частоту приступов оценивали по методу Каплана-Мейера, одномерные критерии значимости определяли с использованием логарифмического рангового критерия.

### Результаты исследования

#### Исследуемая популяция

Питательную смесь, обогащенную бифидобактериями *bifidum*, получали 46 из 90 наблюдавшихся детей. Исследование проводили в 11 медицинских центрах. В среднем число детей, наблюдавшихся в каждом центре, составило 8,2 + 5 (5-11). До начала исследования группы практически не различались по своим показателям - возрасту, массе тела, росту, окружности головы, отягощенности аллергическими заболеваниями или заболеваниями органов пищеварения (табл. 2). Условия проживания детей в обеих группах также были сходными (табл. 3).

В раннем грудном периоде грудное молоко получали 46% детей в группе VbF и 32% в группе CF (p = 0,16). На момент включения в исследование прикорм (твердую пищу) получали 57% детей в группе VbF и 46% в группе CF (p = 0,29). 70% детей начали получать прикорм в возрасте 3-4 месяцев, и этот показатель был практически одинаковым в обеих группах. «Также были сходными в группах средние показатели продолжительности наблюдения и, следовательно, количества дней приема одной из исследуемых питательных смесей - 137,1 ± 60,1 (119,5-154,7) дня в группе VbF и 148,1 ± 64,9 (129,1-167,1) - в группе CF.

#### Влияние смеси, обогащенной бифидобактериями *bifidum*, на заболеваемость диареей

В период пребывания в медицинских центрах в группе VbF острая диарея отмечалась реже (28,3%), чем в группе CF (38,6%). Однако различия не достигли статистической значимости (p = 0,3). Для того чтобы выявить такую разницу методом

Casagrande и Pike для двустороннего критерия с  $\alpha = 0,5$  и  $\beta = 0,2$ , объем выборки в каждой группе должен был составить 300 испытуемых. Методом логистического регрессионного анализа не удалось выявить различия в эффекте смеси в зависимости от режима предшествующего лечения, возраста на момент включения в исследование или частоты стула до начала исследования.

Частота развития диареи у детей, получавших VbF, статистически не отличалась от аналогичного показателя в группе CF (p = 0,325). В контрольной группе первый приступ диареи отмечен раньше (122,3 ± 5,8 и 132,1 + 9,5 дня, p = 0,33).

Тяжесть диареи, которую определяли по частоте стула, была практически одинаковой в обеих группах (табл. 4). В то же время, в группе VbF приступы были несколько короче по продолжительности (табл. 4) (p = 0,273). Показатель количества приступов диареи в расчете на одного ребенка был сходным в обеих группах.

Общая продолжительность диареи была значительно меньше в группе VbF, даже с учетом поправки на возраст (p=0,0002). С помощью логистического анализа в применении к кривой изменения количества дней (с нарастающим итогом), в течение которых отмечалась диарея, по мере наблюдения определяли вероятность диареи в обеих группах. Оказалось, что в группе VbF этот показатель был достоверно ниже (табл. 4). Таким образом, риск диареи у детей в период пребывания их в центре при кормлении обычной детской молочной смесью (контрольная группа) был в 1,9 (1,33-2,6) раза выше, чем при кормлении кисломолочной смесью, обогащенной бифидобактериями.

Микробиологическое исследование кала проводили в 18 случаях, когда диарея отличалась особой тяжестью. В 1 из 6 образцов, взятых у детей из группы VbF, и в 5 из 12 образцов, взятых у детей из группы CF, был обнаружен ротавирус (p = 0,6).

Таблица 4. Результаты изучения заболеваемости диареей

Показатели	Смеси		Достоверность различий (p)
	VbF (n=46)	CF (n=44)	
Число детей с диареей	13 (28,3%)	17(38,7%)	НЗ
Кол-во эпизодов на 1 ребенка	0,4 + 0,9	440,5 ± 0,8	НЗ
Кол-во дней с диареей на 1 ребенка	1,15 ± 2,5	2,3 + 4,5	0,0002
Ежедневная вероятность диареи	0,084	1,55	0,0014
Средняя продолжительность эпизода (дни)	5,1 ± 3,3	5,0 + 5,5	0,273
Средняя частота стула в день	4,0 ± 1,6	3,9 + 1,3	НЗ



### Толерантность

В обеих группах показатели роста и развития детей были нормальными и сходными. Серьезных неблагоприятных реакций, которые можно было бы связать с получаемым питанием, не отмечено ни в одной из групп. Единственной клинической проблемой было срыгивание, которое отмечено у 11% детей в группе BbF и 13% детей в группе CF ( $p = 0,49$ ).

### Обсуждение результатов исследования

Полученные нами результаты согласуются с данными более ранних исследований и свидетельствуют о том, что бифидобактерии *bifidum* способны оказать антагонистическое воздействие на возбудителей острого энтерита аналогично грудному молоку [4-7, 13]. Четко показано снижение вероятности диареи в группе BbF с уменьшением ее продолжительности. Кроме того, вскармливание смесью BbF позволяет отсрочить развитие первого приступа диареи. Хотя разница между группами не достигла статистической значимости, эти результаты заслуживают внимания, поскольку, по данным отчета из Бангладеш, грудное вскармливание, по-видимому, просто задерживает развитие, но не предотвращает диарею, вызываемую ротавирусом [17].

Механизмы, посредством которых бифидобактерии тормозят развитие острого энтерита, многообразны [8, 9]. Эти бактерии действительно являются преобладающими микроорганизмами в кале детей, вскармливаемых грудным молоком [6, 10]. Бифидобактерии - анаэробные, неподвижные, палочковидные, грамположительные бактерии, в норме присутствующие в толстой кишке человека [18]. Они участвуют в ферментации лактозы, глюкозы и фруктозы [19]. Кислая среда в кишечнике, образующаяся в результате сбраживания лактозы, обычно присутствующей в детских смесях и выступающей в качестве питательного субстрата, подавляет развитие гнилостных бактерий и отчасти объясняет сопротивляемость организма детей, вскармливаемых грудью, к инфекционному гастроэнтериту [5,8]. Установлено потенциальное иммуностимулирующее действие бифидобактерии [8].

Ранее было показано, что кормление кисломолочными смесями, содержащими бифидобактерии *bifidum*, способствует приживлению этих микроорганизмов в кишечнике и, следовательно, снижению pH кала у детей грудного возраста [20]. В организме здоровых взрослых людей бифидобактерии *bifidum*, поступающие в составе кисломолочных продуктов, выживают при прохождении через желудочно-кишечный тракт [18]. Более того, J.M.Langhendries et al. (1995) удалось подтвердить, что частота и степень колонизации бифидобактериями у детей, получающих кисломолочную смесь на основе сывороточных белков с добавкой бифидобактерии *bifidum* в количестве  $10^6$  на 1 г сухой

смеси, сопоставимы с аналогичными показателями у детей, вскармливаемых грудным молоком [19]. Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что количество бифидобактерии *bifidum* в кале детей грудного возраста увеличивается при поступлении этих бактерий в организм ребенка с пищей и что любой потенциальный пробиотический эффект может быть, скорее, прямым следствием их присутствия в кишечнике, а не изменений в объеме популяций существующих аэробных или анаэробных микроорганизмов [8, 19]. По данным J.M.Saavedra, вскармливание кисломолочной смесью, содержащей бифидобактерии *bifidum* и *Streptococcus thermophilus*, пациентов детских больниц позволило снизить частоту диареи с 31 до 7% по сравнению с использованием стандартной детской смеси. Исследователь также отмечает снижение частоты диареи, вызванной ротавирусом, с 19 до 7%, а также достоверное снижение частоты его выделения [13]. То, что в наших исследованиях не удалось обнаружить достоверных различий между группами в частоте острой диареи, может быть связано с низким содержанием бифидобактерии в исследуемой смеси ( $10^6$  вместо  $10^8$ ). Количество микробиологических анализов было недостаточным для того, чтобы получить достоверную информацию о выделении вируса. У детей, прошедших лечение антибиотиками по поводу тяжелой диареи и получавших йогурт, содержащий бифидобактерии *bifidum*, в течение недели была отмечена нормализация состава кишечной микрофлоры, в которой преобладали бифидобактерии *bifidum*, и улучшение клинического состояния [21]. Таким образом, бифидобактерии *bifidum* удовлетворяют критериям, позволяющим рассматривать их как пробиотические агенты [22]. Низкое содержание казеина и фосфата в сочетании с высоким уровнем лактозы и низким pH смеси BbF, по всей вероятности, способствуют жизнедеятельности бифидобактерии в кишечнике аналогично вскармливанию грудным молоком [4]. В этом отношении исследуемая смесь могла действовать также и как пребиотик [9]. Доказано, что питательная смесь, подкисленная в результате присутствия в ней *Lactobacillus helveticus* и *Streptococcus thermophilus*, предупреждает развитие диареи [12].

Принимая во внимания относительно невысокую стоимость исследуемой кисломолочной смеси, содержащей живые бифидобактерии *bifidum*, результаты исследований по ее применению, можно ожидать ее благоприятного действия как клинической, так и с экономической точки зрения. Профилактический эффект исследуемой смеси может быть объяснен особенностями ее состава и присутствием в ней бифидобактерий. Для того чтобы определить, какой из упомянутых двух факторов играет решающее значение, необходимо провести дополнительные проспективные рандомизированные исследования.