



Согоян И.И.¹ ✉, Петрова Л.Г.²

¹ Медицинский центр «МедАвеню», Минск, Беларусь

² Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

Роль дисбиоза желудочно-кишечного тракта и носоглотки у детей в развитии рецидивирующих отитов

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования – Согоян И.И., Петрова Л.Г.; сбор материала, статистическая обработка данных, анализ и интерпретация результатов, написание текста – Согоян И.И.; редактирование – Согоян И.И., Петрова Л.Г.

Подана: 08.11.2024

Принята: 21.02.2025

Контакты: innasv90@mail.ru

Резюме

Введение. Дисбиотические сдвиги в составе микробиоценозов основных биотопов детского организма (толстый кишечник и носоглотка) являются ключевым звеном патогенеза постоянно повторяющихся респираторных инфекций у детей. В последние годы получены данные об эффективности использования пробиотиков в профилактике и лечении острых респираторных заболеваний, однако в отношении рецидивирующих отитов у детей данных недостаточно.

Цель. Определить состояние микробиоты желудочно-кишечного тракта и носоглотки у здоровых детей 3–11 лет и детей с рецидивирующими отитами и определить ее влияние на формирование рецидивирующего отита.

Материалы и методы. В исследование были включены 76 пациентов в возрасте от 3 до 11 лет (медиана 4 года, нижний-верхний квартили 4–5 лет). Среди пациентов, включенных в базу данных, 51 человек (67%) со средним отитом составили основную группу: 30 мальчиков (59%) и 21 девочка (41%). Контрольную группу составили 25 здоровых детей (33%): 12 мальчиков (48%) и 13 девочек (52%). Осуществлялись взятие и транспортировка материала (назофарингеальные пробы и фекалии) у детей с рецидивирующим острым средним и экссудативным отитом и здоровых детей по разработанной нами методике. Для оценки качественного и количественного состава кишечной и носоглоточной микробиоты использовали ПЦР в режиме реального времени с применением комплекта праймеров и гибридизационных зондов.

Результаты. На основе полученных результатов качественного и количественного анализа микробиоты носоглотки и кишечника пациентов с рецидивирующими средними отитами выявлены изменения носоглоточного и кишечного микробиоценоза, выражавшиеся в статистически значимом снижении количественного уровня основных компонентов защитной флоры (бифидо- и лактобактерии) и увеличении количественного уровня условно-патогенных бактерий (стрептококки, стафилококки и вейлонеллы) ($p < 0,05$).

Заключение. Показано наличие значимого дисбиотического сдвига в количественных показателях микробиоты кишечника и носоглотки у пациентов с рецидивирующими средними отитами. Следует считать наличие нарушения микробиоты

желудочно-кишечного тракта и носоглотки значимыми факторами риска в развитии рецидивирующих отитов у детей. В амбулаторной практике необходимо выявлять наличие дисбиоза желудочно-кишечного тракта на основании определенных жалоб и проводить коррекцию дисбиотических нарушений путем назначения пробиотиков.

Ключевые слова: рецидивирующий средний отит, факторы риска отитов у детей, дисбиоз желудочно-кишечного тракта и носоглотки, пробиотики, профилактика отитов

Inna I. Sogoyan¹ ✉, Ludmila G. Petrova²

¹ Medical Center "MedAvenue", Minsk, Belarus

² Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

Role of Gastrointestinal Tract and Nasopharynx Dysbiosis in Children in the Development of Recurrent Otitis

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: concept and design of the study – Inna I. Sogoyan, Ludmila G. Petrova; collection of material, statistical processing of data, analysis and interpretation of results, writing the text – Inna I. Sogoyan; editing – Inna I. Sogoyan, Ludmila G. Petrova.

Submitted: 08.11.2024

Accepted: 21.02.2025

Contacts: innasv90@mail.ru

Abstract

Introduction. Dysbiotic changes in the composition of microbiocenoses of the main biotopes of the child's body (large intestine and nasopharynx) are a key link in the pathogenesis of constantly recurring respiratory infections in children. In recent years, data have been obtained on the effectiveness of the use of probiotics in the prevention and treatment of acute respiratory diseases, but there is insufficient data regarding recurrent otitis media in children.

Purpose. To identify and determine the presence of gastrointestinal microbiota disorders in the development of recurrent otitis in children aged 3–11 years and to identify gastrointestinal dysbiosis as a significant risk factor.

Materials and methods. The study included 76 patients aged 3 to 11 years (median 4 years, lower-upper quartiles 4–5 years). Among the patients included in the database, 51 people (67%) with otitis media made up the main group: 30 boys (59%) and 21 girls (41%). The control group consisted of 25 healthy children (33%): 12 boys (48%) and 13 girls (52%). We collected and transported material (nasopharyngeal samples and feces) from children with recurrent acute otitis media and exudative otitis media and healthy children according to the method we developed. To assess the qualitative and quantitative composition of the intestinal and nasopharyngeal microbiota, real-time PCR was used using a set of primers and hybridization probes.

Results. Based on the obtained results of qualitative and quantitative analysis of nasopharyngeal and intestinal microbiota of patients with recurrent otitis media revealed changes in nasopharyngeal and intestinal microbiocenosis, expressed in a statistically significant decrease in the quantitative level of the main components of protective flora (bifido- and lactobacilli) and an increase in the quantitative level of opportunistic bacteria (streptococci, staphylococci and vilonella) ($p < 0.05$).

Conclusion. The presence of a significant dysbiotic shift in quantitative indicators of intestinal and nasopharyngeal microbiota in patients with recurrent otitis media has been shown. The presence of gastrointestinal and nasopharyngeal microbiota disorders should be considered as significant risk factors in the development of recurrent otitis media in children. In outpatient practice, it is necessary to detect the presence of gastrointestinal dysbiosis on the basis of certain complaints and to correct dysbiotic disorders by prescribing probiotics.

Keywords: recurrent otitis media, acute otitis, exudative otitis, risk factors of otitis in children, gastrointestinal dysbiosis, probiotics, prevention of otitis

■ ВВЕДЕНИЕ

Проблема часто и длительно болеющих рецидивирующими средними отитами детей в современных условиях сохраняет свою медицинскую и социальную значимость в связи с устойчиво сохраняющейся тенденцией к росту числа детей, относящихся к этой группе диспансерного наблюдения, и высоким риском раннего формирования у них хронической патологии и развития тугоухости. Под рецидивирующим острым средним отитом (РОСО) подразумевают наличие 3 или более отдельных эпизодов острого среднего отита (ОСО) за период 6 месяцев или 4 и более эпизода за период 12 месяцев [1].

Более 35% детей на первом году жизни переносят ОСО 1–2 раза, 7–8% детей – многократно, в возрасте до 3 лет более 65% детей переносят ОСО 1–2 раза, а 35% детей – многократно. К трехлетнему возрасту ОСО болеет 71% детей. РОСО в течение первых лет жизни встречается у 30% детей [1].

Патогенетической основой повторных отитов у детей дошкольного возраста в настоящее время принято считать преходящие нарушения иммунологической реактивности, развивающиеся на фоне дисфункции других адаптационных систем организма и изменения всего гомеостаза [2–6]. При этом основа для иммунопатологических реакций закладывается преимущественно в раннем возрасте, поскольку он является критическим периодом развития основных систем адаптации организма (нервная, эндокринная и иммунная системы), что обуславливает их высокую чувствительность к действию различных неблагоприятных факторов [4].

Микробиом организма человека играет важную роль в модулировании иммунного гомеостаза и восприимчивости к болезням [7].

В настоящее время доказано, что формирующаяся в первые годы жизни нормальная симбионтная микрофлора организма является одним из ведущих регуляторных факторов, обеспечивающих адаптацию ребенка к внеутробным условиям жизни, поддержание гомеостаза, морфофункциональное созревание иммунной системы и становление нейроэндокринной регуляции иммунного ответа. Микробиота

кишечника влияет на усвоение питательных веществ и метаболизм, а также предотвращает колонизацию патогенами [7, 8]. В то же время нарушения процесса становления микробиоты у детей раннего возраста неизбежно отражаются на их развитии, состоянии здоровья и резистентности. При этом дисбиотические сдвиги в составе микробиоценозов основных биотопов детского организма (толстый кишечник и носоглотка) являются предвестниками изменений в его физиологическом статусе, связанных с хронической интоксикацией, развитием метаболических расстройств, тканевой гипоксии, иммунных и нейрогуморальных нарушений [9–12].

С 2008 г. запущен международный проект «Микробиом человека» (Human Microbiome Project – HMP), задачей которого явилось всестороннее изучение микробных сообществ в различных участках тела человека с помощью современных методов метагеномного анализа. Авторы проекта планируют получить беспрецедентную информацию о сложности микробных сообществ. В рамках этого проекта был проведен метагеномный анализ (более 1 млн секвенирований) отделяемого носа и глотки здоровых индивидуумов. Показано доминирование 5 основных бактериальных филумов (типов): Firmicutes (44%), Proteobacteria (41%), Bacteroidetes (11%), Actinobacteria (3%) и Fusobacteria (около 1%).

Dickson R.P. (2014) акцентирует внимание на том, что воспаление при хронических заболеваниях респираторного тракта активно поддерживается дисбиотическими нарушениями на его слизистых оболочках, и обозначает это состояние как Dysbiosis-Inflammation Cycle. Особое значение автор вкладывает в цикличность процесса (своеобразного замкнутого патологического круга), где дисбиоз поддерживает воспаление, а воспаление – дисбиоз, что в итоге выражается в пролонгации локального воспаления [9, 13]. Соответственно, пролонгированное воспаление на слизистой оболочке верхних дыхательных путей и в миндалинах лимфоидного глоточного кольца будет клинически проявляться хроническим ринитом, риносинуситом, отитом, аденоидными вегетациями. Эта патология доминирует в диспансерной группе ЧДБД.

Доказано, что повторяющиеся респираторные инфекции также ассоциированы с изменениями микробиома верхних дыхательных путей. Можно предположить, что Dysbiosis-Inflammation Cycle является ключевым звеном патогенеза постоянно повторяющихся респираторных инфекций у детей, через которое может происходить трансформация рецидивирующих инфекционных заболеваний респираторного тракта в хронические заболевания лор-органов и респираторного тракта [14, 15].

Известно, что различные факторы, включая возраст ребенка, диету, пол, расу, этническую принадлежность, наличие ожирения, формируют и изменяют микробные сообщества, составляющие микробиом человека [16].

В течение первых нескольких месяцев жизни наиболее распространенными бактериями детского микробиома являются анаэробные бактерии, такие как Bacteroides, Lactobacillus и Bifidobacterium. Эти бактерии принадлежат к типам Bacteroidetes, Firmicutes и Actinobacteria соответственно и наряду с Proteobacteria из грудного молока доминируют в микробиоме в течение первого года жизни. Основная диверсификация происходит в возрасте 4–6 месяцев с введением твердой пищи и продолжается до достижения ребенком возраста 2–3 лет. Это совпадает с увеличением относительной численности бактерий, продуцирующих бутират, в том числе бактерий семейств Ruminococcaceae и Lachnospiraceae, которые принадлежат к типу Firmicutes. Появление бактерий типа Verrucomicrobia также происходит в возрасте

около 2 лет. Микробиом кишечника ребенка начинает стабилизироваться и формировать относительно постоянный состав между 2 и 5 годами до полового созревания или позже. Окружающая среда и диета считаются важными факторами, формирующими микробиом в детстве [17].

В микробиоте кишечника детей школьного возраста преобладают таксоны Bacteroidetes и Actinobacteria (Bifidobacterium).

Кишечный микробиом здорового ребенка предпубертатного возраста состоит в основном из бактерий, принадлежащих к родам Bacteroidetes и Firmicutes, также определялись такие представители классов микроорганизмов, как Actinobacteria, Proteobacteria, Verrucomicrobia и др. [8].

По данным некоторых авторов, кишечная микрофлора здоровых детей в возрасте от 2 до 18 лет характеризуется наличием таких родов, как Bifidobacterium, Blautia, Clostridiales, Coprococcus, Gemmiger и Ruminococcus [17–19].

В исследовании Kane E. Deering et al. (2019) определены особенности микробного спектра кишечника детей в зависимости от расы и этнической принадлежности. В целом преобладали представители типа Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria и Proteobacteria. Также были обнаружены представители типов Verrucomicrobia, Tenericutes и Fusobacteria. Доля Firmicutes и Bacteroidetes была ниже у детей Африки и Центральной Америки по сравнению с Европой и Северной Америкой [17].

Микробиом носоглотки здоровых детей, как и микробиом желудочно-кишечного тракта, изменяется и становится более разнообразным по мере роста ребенка.

В исследовании Jennifer Jorissen et al. микробиом носоглотки здоровых детей составляли такие роды микроорганизмов, как Streptococcus, Staphylococcus, Rothia, Moraxella, Corynebacterium [7].

Колонизация носоглотки (НП) потенциальными бактериальными респираторными патогенами является частым явлением в раннем детстве и начальным, необходимым этапом в патогенезе респираторных бактериальных инфекционных заболеваний, таких как ОСО, конъюнктивит, синусит, хроническая обструктивная болезнь легких и пневмония у детей [20].

Нарушения в микробиоценозах организма человека играют ведущую роль в возникновении патологий инфекционного и неинфекционного характера. Полученные в последние годы экспериментальные и клинические данные свидетельствуют о том, что совокупность микробиоценозов различных тканей организма человека является своеобразным экстракорпоральным органом, обеспечивающим защитный эффект в отношении чужеродных микроорганизмов. Формирование дисбиотических нарушений на определенном участке слизистой неизбежно будет распространяться на другие отделы, нарушая функционирование системы иммунного гомеостаза и повышая вероятность возникновения иммунодезадаптационных состояний [21].

Согласно сформулированной научной концепции микробиом кишечника оказывает значимое влияние на поддержание нормального биоценоза дыхательных путей.

Имеются данные, что первые этапы патогенеза хронического воспаления глоточной миндалины могут быть связаны с дисбиотическими нарушениями микрофлоры хозяина в первую очередь в микрофлоре желудочно-кишечного тракта [22].

Мониторинг видового разнообразия, количественного соотношения различных видов и штаммов микроорганизмов в норме и при различных патологических состояниях необходим для последующей разработки подходов к восстановлению микробиоценоза с помощью микробной терапии – введения в организм отдельных видов микроорганизмов или их консорциумов в зависимости от типа патологии [23, 24]. В последние годы получены данные об эффективности использования пробиотиков в профилактике и лечении острых респираторных заболеваний (ОРЗ), однако в отношении рецидивирующих отитов у детей данных недостаточно. Предполагается, что применение пробиотиков будет способствовать уменьшению эпизодов среднего отита и, следовательно, ограничению использования антимикробных лекарственных средств [25–31].

Пробиотики оказывают положительное воздействие на состав микробиоты ротовой полости, верхних дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта. Пробиотики участвуют в ингибировании патогенов, поддержании проницаемости кишечника, модулировании иммунной системы, уменьшении воспаления, облегчении непереносимости лактозы, усилении перистальтики кишечника, снижении концентрации холестерина и др. [32]. Согласно определению Всемирной гастроэнтерологической организации (2017), пробиотики представляют собой живые микроорганизмы, приносящие пользу хозяину при введении в адекватных количествах [25].

Средний отит является основной причиной обращений родителей детей за медицинской помощью, и, благодаря исследованиям микробиоты методом ПЦР, наши знания о патогенезе этого заболевания неуклонно растут. В рамках проекта «Микробиом человека» уже приложены значительные усилия для стандартизации исследований, ориентированных на изучение микробиоты человека. Исследования микробиома дают информацию об относительной численности условно-патогенных и комменсальных микроорганизмов, что необходимо учитывать при назначении пробиотиков и/или антимикробных лекарственных средств [32].

Вместе с тем в доступной нам литературе практически отсутствует информация об исследованиях, в которых дисбиотическим нарушениям в составе микробиоты кишечника и носоглотки отводилась бы роль фактора, определяющего формирование контингента ЧДБД рецидивирующими отитами.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить состояние микробиоты желудочно-кишечного тракта и носоглотки у здоровых детей 3–11 лет и детей с рецидивирующими отитами и определить ее влияние на формирование рецидивирующего отита.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В 2021–2022 гг. осуществлялось взятие и транспортировка материала (назофарингеальные пробы и фекалии) у детей с рецидивирующим острым средним и экссудативным отитом и здоровых детей по разработанной нами методике.

Без предварительной анестезии под визуальным контролем и фиксацией ребенка неподвижным одним из родителей и медицинской сестрой в одну из половин полости носа ребенка вводился стерильный ватный тампон таким образом, чтобы он не соприкасался с латеральными стенками полости носа, с помощью носового зеркала

на глубину, необходимую для того, чтобы стерильный ватный тампон соприкасался с задней стенкой носоглотки.

В день взятия биологического материала из носоглотки обязательным условием было: отсутствие применения капель/спреев в нос с лечебной и увлажняющей целью, в том числе промывание носа солевыми растворами, а также важно было не очищать нос самостоятельно (не высмаркиваться).

Кал собирался самостоятельно родителями пациентов в домашних условиях в стерильный контейнер перед визитом к врачу для взятия биологического материала из носоглотки и до момента доставки его в РНПЦ. Помещался в холодильник при температуре +5 °С.

Обязательного временного фактора сбора биологического материала кишечника (фекалий) не предусматривалось: сбор материала зависел от естественных физиологических реакций каждого ребенка.

Неотъемлемым условием было: отсутствие приема антибактериальных лекарственных средств (местного и системного действия) и пробиотиков в течение 1 месяца до взятия биологических материалов (мазков из носоглотки и фекалий).

После получения 2 нативных материалов от каждого пациента до доставки в лабораторию Научно-исследовательского института гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья» материалы своевременно помещались на хранение.

Взятие материала выполнялось после информирования родителей/опекунов ребенка о проведении исследования со взятием информированного согласия в устной и письменной форме.

Все пробы были своевременно доставлены в РНПЦ эпидемиологии и микробиологии для дальнейших исследований. Выделялись ДНК из бактериальной фракции нативных фекалий и пул ДНК/РНК из назофарингеальных мазков с использованием набора реагентов для одновременного выделения ДНК и РНК из образцов биологического материала методом преципитации «НК-экстра» и комплекта реагентов «НуклеСорб».

Для проведения сравнительного анализа выделения ДНК из биологического материала (назофарингеальные мазки, пробы фекалий) использовали методы с применением различных способов экстракции ДНК из анализируемых образцов: преципитация, кипячение и сорбция целевого материала с применением колонок с сорбирующей мембраной.

Для анализа микрофлоры кишечника использовались пробы фекалий, из которых выделялась бактериальная фракция с целью выявления бактериальных агентов. В соответствии с данными литературы, наибольшее количество микроорганизмов присутствует в дистальном отделе толстой кишки (10^9 – 10^{12} микробов). Наибольшая плотность обсемененности наблюдается в прямой кишке, и микрофауна кала является фактически микрофауной дистального отдела толстой кишки [7]. Дисбактериоз кишечника характеризуется нарушением состава и количественного соотношения бактериальных и грибковых микроорганизмов желудочно-кишечного тракта, а также повышением количества условно-патогенных микроорганизмов [7, 28, 29]. В связи с этим качественный и количественный состав анализируемого материала имеет большое значение, а следовательно, и использование методов выделения

бактериальной ДНК, позволяющих получать максимально очищенные и полноценные по составу препараты ДНК.

Для оценки качественного и количественного состава кишечной и носоглоточной микробиоты использовали ПЦР в режиме реального времени с использованием комплекта праймеров и гибридизационных зондов, позволяющих определить содержание комменсальных («защитных») микроорганизмов: *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp. (тип *Bacteroidetes*), *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp. и условно-патогенных («провоспалительных») микроорганизмов: *Fusobacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Enterobacteriaceae*, *Peptostreptococcus* spp., *Veillonella* spp.

Подбор олигонуклеотидов (праймеров) и гибридизационных зондов к диагностически значимым участкам бактериальных геномов микроорганизмов, присутствующих в микробиоте носоглотки и кишечника человека, осуществляли с использованием нуклеотидных последовательностей, имеющихся в международной базе данных GenBank NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Поиск и анализ последовательностей проводили online-сервисом BLAST. Для количественной оценки исследуемых микроорганизмов использовались стандартные образцы с рассчитанным содержанием количества копий геномных ДНК (ГЭ/мл).

В наше исследование были включены 76 пациентов.

Среди пациентов, включенных в базу данных, 51 человек (67%) со средним отитом составили основную группу: 30 мальчиков (59%) и 21 девочка (41%).

Из них:

- 21 пациент (41%) с рецидивирующим острым средним отитом;
- 12 пациентов (24%) с рецидивирующим экссудативным средним отитом;
- 18 пациентов (35%) с рецидивирующим острым и экссудативным средним отитом.

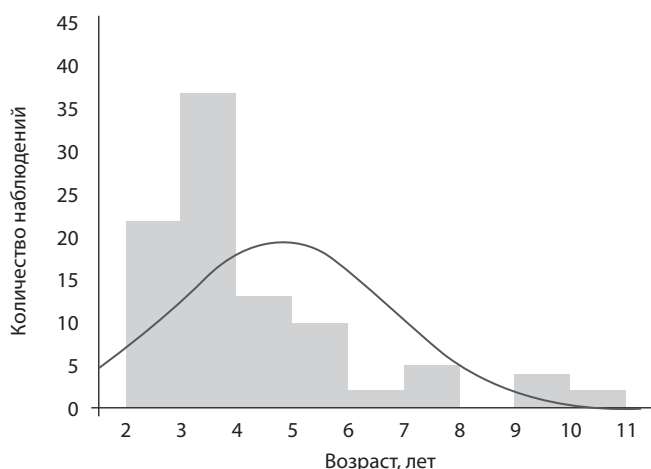
Контрольную группу составили 25 здоровых детей (33%): 12 мальчиков (48%) и 13 девочек (52%). Обследованы дети в возрасте от 3 до 11 лет.

В табл. 1 представлено распределение пациентов по полу и возрасту. Медиана среднего возраста пациентов составила 4 (4,83).

Таблица 1
Распределение пациентов в исследуемых группах по полу и возрасту

Table 1
Distribution of patients in the study groups by gender and age

Исследуемые группы	Количество	Возраст, лет			Пол	
		Медиана (среднее значение)	Нижний и верхний квартили (LQ–UQ)	Минимум и максимум (min–max)	Мальчиков, чел. (%)	Девочек, чел. (%)
Рецидивирующий острый средний отит	21	4 (4,3)	4–4,5	3–8	11 (52)	10 (48)
Рецидивирующий экссудативный средний отит	12	4 (4,6)	3–5	3–11	8 (67)	4 (33)
Рецидивирующий острый и экссудативный средний отит	18	4 (4,4)	3–5	3–10	13 (72)	5 (28)
Здоровые пациенты	25	5 (5,7)	4–7	3–11	12 (48)	13 (52)
По всей когорте	76	4 (4,83)	4–5	3–11	54 (57)	41 (43)



Распределение пациентов в исследуемых группах по возрасту
Distribution of patients in the study groups by age

На рисунке представлена кривая распределения детей по возрасту.

Проведен анализ полученных результатов данных проб ДНК микроорганизмов кишечника и носоглотки, выделенных от здоровых детей и пациентов с рецидивирующими отитами, проведена статистическая обработка данных.

Статистический анализ полученных данных осуществлялся с общепринятыми требованиями к медико-биологическим исследованиям. В описательной статистике данных, имеющих нормальное распределение, приведены средние значения и стандартное отклонение. Для показателей, не имеющих нормального распределения, представлены медиана, нижний и верхний квартили, минимум и максимум.

Сравнение долей и частот осуществлялось с использованием критерия χ^2 , критерия χ^2 с поправкой Йетса и точного критерия Фишера.

Критическое значение уровня значимости принималось равным 5%. Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием пакета прикладных программ Statistica 10 (StatSoft, Inc., США, лицензия № AXXR012E839529FA). Выборочные параметры, приводимые в таблицах, имеют следующие обозначения: m – средняя величина, δ – стандартное отклонение, p – достигнутый уровень статистической значимости. Различия считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате анализа проб ДНК микроорганизмов кишечника и носоглотки, выделенных от здоровых детей и пациентов с рецидивирующими отитами методом количественной ПЦР в режиме реального времени, были получены показатели количественного состава содержащейся микрофлоры в образцах фекалий и назофарингеальных пробах. Полученные данные о количественном составе микробиоты носоглотки и кишечника пациентов с рецидивирующими отитами представлены в табл. 2.

Таблица 2

Результат количественной ПЦР носоглоточной и кишечной микрофлоры пациентов с рецидивирующими отитами

Table 2

The result of quantitative PCR of nasopharyngeal and intestinal microflora of patients with recurrent otitis

Микроорганизмы	Носоглотка n – количество положительных проб	Носоглотка m±δ* (логарифм копий ГЭ/мл)	Кишечник n – количество положитель- ных проб	Кишечник m±δ (лога- рифм копий ГЭ/мл)
Staphylococcus spp.	19	6,38±0,99	12	3,55±1,51
Enterobacteriaceae	8	2,83±0,6	8	6,25±0,89
Bacteroides spp.	13	3,73±0,78	15	7,67±0,98
Enterococcus spp.	12	5,48±0,95	5	6,22±0,43
Lactobacillus spp.	19	5,87±0,27	24	8,74±1,76
Streptococcus spp.	7	5,99±0,97	2	7,96±0,58
Peptostreptococcus spp.	3	7,99±0,72	6	9,12±0,59
Prevotella spp.	15	4,47±0,86	17	3,52±0,74
Bifidobacterium spp.	13	2,75±0,48	15	5,92±2,19
Fusobacterium spp.	15	7,14±0,49	19	9,2±1,17
Veillonella spp.	4	6,01±2,32	2	5,4±1,75

Примечания: * расчет среднего значения производился только в положительных по данному микроорганизму пробах; m – средняя величина, δ – стандартное отклонение.

Данные о количественном составе микробиоты носоглотки и кишечника контрольной группы пациентов представлены в табл. 3.

Таблица 3

Результат количественной ПЦР носоглоточной и кишечной микрофлоры здоровых лиц

Table 2

The result of quantitative PCR of nasopharyngeal and intestinal microflora of healthy individuals

Микроорганизмы	Носоглотка n – количество положительных проб*	Носоглотка m±δ* (логарифм копий ГЭ/мл)	Кишечник n – количе- ство положи- тельных проб	Кишечник m±δ (лога- рифм копий ГЭ/мл)
Staphylococcus spp.	12	4,86±0,76	10	4,54±0,98
Enterobacteriaceae	6	2,75±0,14	11	6,57±1,13
Bacteroides spp.	7	3,25±0,48	16	7,87±1,39
Enterococcus spp.	19	5,09±0,68	11	6,92±0,46
Lactobacillus spp.	24	7,52±0,52	25	8,15±0,98
Streptococcus spp.	21	4,48±0,74	17	6,06±0,79
Peptostreptococcus spp.	22	8,08±0,30	18	9,44±0,49
Prevotella spp.	14	5,19±0,73	17	3,66±0,53
Bifidobacterium spp.	9	4,22±1,33	12	9,55±0,48
Fusobacterium spp.	14	7,61±0,82	18	9,36±0,57
Veillonella spp.	21	4,8±1,04	22	3,91±1,23

Примечания: * расчет среднего значения производился только в положительных по данному микроорганизму пробах; m – средняя величина, δ – стандартное отклонение.

В результате сравнительного и статистического анализа качественных и количественных показателей для микроорганизмов, присутствующих в микробиоте пациентов здорового детского населения и микробиоте детей с рецидивирующими средними отитами, выявлено:

- комменсальные микроорганизмы, представленные *Bifidobacterium* spp., присутствуют в пробах фекалий и назофарингеальных пробах в статистически значимо меньшем количестве у детей с рецидивирующими отитами: показатели среднего значения (в log копий ГЭ/мл) для носоглотки $2,75 \pm 0,48$ и $5,92 \pm 2,19$ для кишечника, по сравнению со здоровыми лицами – $4,22 \pm 1,33$ и $9,55 \pm 0,48$ для носоглотки и кишечника соответственно ($p < 0,05$);
- выявлено статистически значимое снижение показателей количественного содержания комменсальных микроорганизмов, представленных *Lactobacillus* spp., в носоглоточной микрофлоре детей с рецидивирующими отитами: среднее значение (в log копий ГЭ/мл) составляет $5,87 \pm 0,27$ по сравнению с таковым показателем для носоглоточной микрофлоры здоровых детей – $7,52 \pm 0,52$ ($p < 0,05$);
- условно-патогенные микроорганизмы, представленные *Streptococcus* spp., в микробиоте носоглотки и кишечника детей с рецидивирующими отитами выявлены в статистически значимо большем количестве по сравнению со здоровыми детьми: средние значения (в log копий ГЭ/мл) составили для носоглотки $5,99 \pm 0,97$ и $7,96 \pm 0,58$ для кишечника по сравнению со здоровыми лицами – $4,48 \pm 0,74$ и $6,06 \pm 0,79$ для носоглотки и кишечника соответственно ($p < 0,05$);
- условно-патогенные микроорганизмы, представленные *Veillonella* spp., у детей с рецидивирующими отитами представлены в пробах с отделяемым носоглотки и фекалий в статистически значимо большем количестве по сравнению со здоровыми лицами: среднее значение (в log копий ГЭ/мл) для носоглотки $6,01 \pm 2,32$ и $5,4 \pm 1,75$ для кишечника у детей с рецидивирующими отитами по сравнению с таковыми показателями для микрофлоры здоровых детей – $4,8 \pm 1,04$ и $3,91 \pm 1,23$ соответственно ($p < 0,05$);
- отмечено статистически значимое превышение показателей количественного содержания условно-патогенных микроорганизмов, представленных *Staphylococcus* spp., в носоглоточной микрофлоре детей с рецидивирующими отитами: среднее значение (в log копий ГЭ/мл) составило $6,38 \pm 0,99$ по сравнению с таковыми показателями для микрофлоры здоровых детей – $4,86 \pm 0,76$ ($p < 0,05$);
- при анализе средних значений показателей количественного состава микрофлоры носоглотки и кишечника прочих микроорганизмов (*Enterococcus* spp., *Enterobacteriaceae*, *Prevotella* spp., *Fusobacterium* spp., *Bacteroides* spp., *Peptostreptococcus* spp.) не выявлено статистически значимых отклонений у пациентов с рецидивирующими отитами по сравнению со здоровыми детьми ($p > 0,05$).

Таким образом, на основе полученных результатов качественного и количественного анализа микробиоты носоглотки и кишечника пациентов с рецидивирующими средними отитами выявлены изменения носоглоточного и кишечного микробиоценоза, выразившиеся в статистически значимом снижении количественного уровня основных компонентов защитной флоры (бифидо- и лактобактерии) и увеличении количественного уровня условно-патогенных бактерий (стрептококки, стафилококки и вейлонеллы) ($p < 0,05$).

Показано наличие значимого дисбиотического сдвига в количественных показателях микробиоты кишечника и носоглотки у пациентов с рецидивирующими средними отитами. Этой группе пациентов необходимо назначать пробиотики, содержащие лактобактерии для нормализации микробного состава носоглотки и кишечника.

■ ВЫВОДЫ

1. Проведенные нами исследования микрофлоры желудочно-кишечного тракта и носоглотки у детей с рецидивирующими отитами методом количественной и качественной ПЦР-диагностики в режиме реального времени с использованием комплекта праймеров и гибридизационных зондов продемонстрировали нарушение микробиоты данных органов у всех пациентов с отитами, выражавшееся в статистически значимом снижении количественного уровня основных компонентов защитной флоры (бифидо- и лактобактерии) и увеличении количественного уровня условно-патогенных бактерий (стрептококки, стафилококки и вейлонеллы) ($p < 0,05$).
2. Нарушения микробиоты желудочно-кишечного тракта и носоглотки являются значимыми факторами риска в развитии рецидивирующих отитов у детей.
3. В амбулаторной практике необходимо выявлять наличие дисбиоза желудочно-кишечного тракта у детей с рецидивирующими отитами на основании определенных жалоб с целью последующей коррекции путем назначения пробиотиков.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Kochetkov P.A., Kosyakov S.Y., Lopatin A.S. Acute otitis media. *Practical pulmonology*. 2005;4:10–14. (in Russian)
2. Bogomilsky M.R. Children's otolaryngology in Russia realities – problems and prospects. *Vestnik otolaryngologii*. 2006;1:4. (in Russian)
3. Elzinga HBE, van Oorschot HD, Stegeman I. Relation between otitis media and sensorineural hearing loss: a systematic review. *BMJ Open*. 2021;11(8). doi: 10.1136/bmjopen-2021-050108
4. Palchun V.T. *Otorhinolaryngology. National guide*. 2016. 1024 p. (in Russian)
5. Kosyakov S.Y., Lopatin A.S. Acute prolonged and recurrent otitis media in children. *Medical Panorama*. 2005;1:19–21. (in Russian)
6. Zaplatnikov A.L., Girina A.A., Lokshina E.E. Frequently ill children: is everything solved? *Medical Council*. 2018;17:206–214. (in Russian)
7. Xu Qingfu, et al. Comparative Analysis of Microbiome in Nasopharynx and Middle Ear in Young Children With Acute Otitis Media. *Frontiers in genetics*. 2019;10:1176. doi: 10.3389/fgene.2019.01176
8. Muriel Derrien, Anne-Sophie Alvarez, Willem M. de Vos. The Gut Microbiota in the First Decade of Life. *Trends Microbiol*. 2019;27(12):997–1010. doi: 10.1016/j.tim.2019.08.001
9. Ugyshova Sh.E., Daniyarova A.B., Begadilova T.S. Nasopharyngeal microbiome in healthy children under 5 years of age in megapolis. *Vestnik KazNMU*. 2020;1:173. (in Russian)
10. Haberg S.E., Bentdal Y.E., London S.J. Prenatal and postnatal parental smoking and acute otitis media in early childhood. *Acta Paediatr.* 2010;99(1):99–105. doi: 10.1111/j.1651-2227.2009.01506
11. Folino F, Ruggiero L, Capaccio P. *Upper Respiratory Tract Microbiome and Otitis Media*. Intertalk: Lessons from the Literature. 2020. Doi: 10.3390/jcm9092845
12. Di Pierro F., Rizzo P., Poggi E. Use of Streptococcus salivarius K12 to reduce the incidence of pharyngo-tonsillitis and acute otitis media in children: a retrospective analysis in not-recurrent pediatric subjects. *Minerva Pediatr*. 2018;70:240–245.
13. Dickson, Robert P, et al. The role of the microbiome in exacerbations of chronic lung diseases. *Lancet*. 2014;384(9944):691–702. doi: 10.1016/S0140-6736(14)61136-3
14. Gurov A.V., Yushkina M.A. Opportunities of therapy of atrophic rhinitis of different etiology. *Medical Council*. 2018;20:100–106. (in Russian)
15. Eremenko I.I. Human microbiome and its participation in the pathogenesis of diseases. *Young Scientist*. 2019;22(260):220–221. (in Russian)
16. Hollister E.B., Riehle K., Luna R.A. Structure and function of the healthy pre-adolescent pediatric gut microbiome. *Microbiome*. 2015;3(36). doi: 10.1186/s40168-015-0101-x
17. Deering KE, Devine A, O'Sullivan TA. Characterizing the Composition of the Pediatric Gut Microbiome: A Systematic Review. *Nutrients*. 2020;12(1):16. doi.org/10.3390/nu12010016
18. Kowalska-Duplaga K., Gosiewski T., Kapusta P., et al. Differences in the intestinal microbiome of healthy children and patients with newly diagnosed Crohn's disease. *Sci Rep*. 2019;9(18880). doi: 10.1038/s41598-019-55290-9
19. Jö rissen J, van den Broek MFL, De Boeck I. Case-Control Microbiome Study of Chronic Otitis Media with Effusion in Children Points at Streptococcus salivarius as a Pathobiont-Inhibiting Species. *ASM Journals*. 2021;6(2). doi: 10.1128/mSystems.00056-21
20. Nikolaeva S.V., Usenko D.V., Khlyupovka Yu.N. Probiotics in the comprehensive prevention of respiratory infections in children. Probiotics in the complex prevention of respiratory infections. *Lechaschy Vrach*. 2021;9(24):22–27. doi: 10.51793/OS.2021.24.9.004. (in Russian)

21. Stolyarov D.I. Development of complex diagnostics and control of treatment of chronic adenoiditis associated with intestinal dysbiosis (PhD Theses). 2010. P. 4–5/ (in Russian)
22. Kardymon O.L., Kudryavtseva A.V. Molecular genetic methods for the study of the intestinal microbiome. *Ros. zhurn. gastroenterol. gepatol. koloproktol.* 2016;26(4):4. (in Russian)
23. Wilcox C.R., Stuart B., Leaver H. Effectiveness of the probiotic *Streptococcus salivarius* K12 for the treatment and/or prevention of sore throat: a systematic review. *Clinical Microbiology and Infection.* 2019;25(6):673–680. doi: 10.1016/j.cmi.2018.12.031
24. Ruah C.B., Schachern P.A., Zelterman D. Age-related morphologic changes in the human tympanic membrane. A light and electron microscopic study. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 1991;117(6):627–634.
25. Kurano Y., Tomonaga K., Mogi Y. *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* in otitis media with effusion. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 1988;114(11):1262–1265.
26. Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW. The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell.* 2012;148(6):1258–1270. doi: 10.1016/j.cell.2012.01.035
27. Andreeva I.V., Stetsyuk O.U. New probiotic strain *Streptococcus salivarius* K12 in clinical practice. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy.* 2019;21:92–99. (in Russian)
28. Kaur R., Casey J., Pichichero M. Differences in innate immune response gene regulation in the middle ear of children who are otitis prone and in those not otitis prone. *American journal of rhinology & allergy.* 2016;30(6):218–223. doi: 10.2500/ajra.2016.30.4393
29. Xu Q, Casey JR, Newman E, Pichichero ME. Otitis-prone Children Have Immunologic Deficiencies in Naturally Acquired Nasopharyngeal Mucosal Antibody Response after *Streptococcus pneumoniae* Colonization. *Pediatr Infect Dis J.* 2016;35(1):54–60. doi: 10.1097/INF.0000000000000949
30. Galić MZ, Klančnik M. Adenoid size in children with otitis media with effusion. *Acta Clin Croat.* 2022;60(3):532–539. doi: 10.20471/acc.2021.60.03.25
31. Zaplatnikov A.L., Girina A.A., Lepiseva I.V. To the question of rational therapy of acute respiratory infections in children in conditions of growing antibiotic resistance. *Pediatrics. Consilium Medicum.* 2018;4:37–41. (in Russian)
32. Sitkin I.S., Vakhitov T.Y., Demyanova E.V. Microbiome, colon dysbiosis and inflammatory bowel disease: when function is more important than taxonomy. *Almanac of Clinical Medicine.* 2018;46(5):396–425. (in Russian)