

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Коновалова Анна Михайловна  
КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД К ДИАГНОСТИКЕ ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНОЙ  
ПИЩЕВОЙ АЛЛЕРГИИ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА С ХРОНИЧЕСКОЙ  
ДИАРЕЕЙ

3.1.21 - Педиатрия

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель – доктор  
медицинских наук, профессор Д.В. Печкуров

Самара 2023

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
1.1. Хроническая диарея у детей: спектр причин и последствий .....	13
1.2. Пищевая аллергия у детей: определение, эпидемиология, факторы риска .....	19
1.3. Проблемы диагностики пищевой аллергии у детей на современном этапе и пути их решения.....	29
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.	
2.1. Общая характеристика дизайна исследования, групп детей.....	40
2.2. Общеклинические методы исследования .....	42
2.3. Специальные методы исследования.....	44
2.4. Методы статистической обработки полученных результатов .....	45
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ	
3.1. Факторы риска хронической диареи .....	48
3.2. Клинико-лабораторные ассоциации при хронической диарее, протекающей с повышенным уровнем эозинофильного нейротоксина в кале.....	62
3.3. Возможности диагностики гастроинтестинальной аллергии у детей раннего возраста с хронической диареей с использованием теста на эозинофильный нейротоксин в кале.....	73
Заключение ....	91
Выводы .....	104
Практические рекомендации.....	106
Перспективы дальнейшего изучения темы .....	106
Список сокращений .....	107
Список литературы .....	108

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность.**

Одной из актуальных проблем педиатрии и детской гастроэнтерологии является хроническая диарея (ХД) – жидкий стул чаще обычного, продолжительностью 28 и более дней [270, 147]. В педиатрической практике для суждения о наличии диареи важно учитывать возрастные особенности частоты дефекаций и консистенции стула. Так для младенца первых месяцев жизни характерен жидкий стул частотой до 6-8 раз. После года и на протяжении всей жизни стул в норме должен быть оформлен, а его частота не превышает 3 раз в сутки [270, 147]. Еще одним из критериев диареи в педиатрической практике является суточный объем каловых масс - объем испражнений не должен превышать 10 мл/кг/сут [220].

При ХД первично, либо вторично, как правило, имеет место синдром нарушенного кишечного всасывания основных нутриентов в связи с чем, развиваются дефицитные состояния (снижение резистентности, анемия, полигиповитаминоз, остеопороз), трофические изменения кожи и слизистых, задержка физического развития и когнитивные нарушения [95].

Не подлежит сомнению, что ХД в значительной мере оказывает влияние на качество жизни детей. Установлено, что дети с ХД более беспокойные, трудно адаптируются к новым условиям, чаще болеют, имеют нарушения сна, у них чаще возникают затруднения во время игровой деятельности и при общении [242]. Хроническая диарея ведет к формированию ограничительного поведения, резко снижая качество жизни детей. Пациенты жалуются на абдоминальные боли, вздутие живота, метеоризм, которые связаны как нарушением химизма кишечного содержимого, так и с синдромом избыточного бактериального роста (СИБР), дисбактериозом кишечника [129, 130, 281, 242].

Данные о распространенности ХД у детей немногочисленные, согласно одному из источников ХД составляет 10% от всех случаев диарейного синдрома, а

частота ее у детей в европейской популяции колеблется от 3 до 8% [152]. Показатель распространенности ХД в разных странах среди взрослых варьирует от 7 до 20% [24, 18]. Согласно данным экспертов ВОЗ 13,2% случаев летальности в детском возрасте обусловлены диареей, при этом половина из них приходится на ХД [24, 92].

Существует проблема дифференциальной диагностики ХД, она может быть вызвана множеством причин, которые принято делить на инфекционные и неинфекционные [62], инфекционный генез диарейного синдрома необходимо исключить в первую очередь [63]. Неинфекционными причинами могут быть аллергическая и неаллергическая пищевая непереносимость, воспалительные заболевания кишечника, панкреатическая недостаточность и другие, более редкие причины [14, 18].

Особое внимание в этом отношении привлекает гастроинтестинальная пищевая аллергия (ГИПА), которая особенно часто встречается у детей раннего возраста [75]. Хроническая диарея является одним из наиболее постоянных симптомов ПА, она имеет сложный генез и связана с секрецией биологически активных веществ, дисбиозом, воспалением слизистой оболочки ЖКТ, нарушением процессов переваривания и всасывания.

Диагностика гастроинтестинальной ПА на современном этапе затруднительна. Симптомы со стороны ЖКТ малоспецифичны и нередко трактуются либо как функциональные расстройства ЖКТ, либо как инфекционное поражение или нарушение биоценоза кишечника [21]. Из лабораторных тестов наиболее распространены исследования на общий IgE и пищевую панель, которые позволяют верифицировать ПА не более чем в половине случаев, так как в остальных имеют место иные типы иммунных реакций [65]. Морфологическое исследование слизистой отделов ЖКТ является инвазивным и малодоступным в широкой клинической практике [233].

Диагностика гастроинтестинальной ПА при ХД детей раннего возраста требует разработки дополнительных неинвазивных методов и обоснования последовательности их применения. В последние годы привлекают внимание различные маркеры воспаления и нарушения проницаемости кишечной стенки к которым относят кальпротектин, зонулин и эозинофильный нейротоксин (EDN). Последний является специфическим маркером аллергического процесса в ЖКТ, паразитарных инвазий, эозинофильного воспаления и высвобождается из гранул эозинофилов при их разрушении, повышение его концентрации в копрофильtrate может отражать участие ЖКТ в аллергическом процессе [175, 176, 197]. Таким образом, EDN, не являясь специфическим маркером, может использоваться в комплексе с клиническими, анамнестическими и другими лабораторными признаками ПА для первичной диагностики гастроинтестинальной аллергии, в дифференциальной диагностике между ПА и пищевой непереносимостью иной природы, а также для оценки эффективности элиминационной диеты, что и определило актуальность нашего исследования.

### **Степень разработанности темы**

Проблеме диагностики гастроинтестинальных форм пищевой аллергии у детей в последние годы уделяется значительное внимание. В работах С.В. Богдановой, Т.В. Турти, И.В. Борисовой и других исследователей изучены факторы риска и основные причины роста распространенности пищевой аллергии (ПА), эксперты ВОЗ и ведущие зарубежные ученые, в частности Y. Vandenplas подчеркивают глобальный характер проблемы. Европейская академия аллергии и клинической иммунологии (ЕААСI) прогнозирует, что к 2029 году более половины европейской популяции будет страдать от аллергии.

Иммунологами-аллергологами изучен спектр пищевых аллергенов, раскрыты многие механизмы развития ПА, в том числе и генетические (А. Irvine). Профессорами Ю.С. Смолкиным, В.А. Ревякиной показаны особенности

иммунопатогенеза гастроинтестинальных форм ПА, в частности, высокий удельный вес аллергических реакция замедленного типа. Типичными формами поражения ЖКТ аллергического генеза является энтерит и колит, проявляющиеся симптомами в виде хронической диареи, обилия слизи в стуле, абдоминальных болей (K. Jarvinen, Goldberg ±.).

Однако, по мнению академиков РАН А.А. Баранова, Л.С. Намазовой-Барановой и других ученых совершенно очевидно, что здравоохранение далеко от решения проблем диагностики, профилактики и лечения ПА. Несмотря на то, постоянно предлагаются подходы к диагностике этого состояния, они либо недостаточно надежные, либо трудно реализуемые на практике (Т.Н. Макарова). Оральный провокационный тест - «золотой стандарт» диагностики ПА по мнению N.J. Osborne, на территории РФ не получил распространения.

Поэтому в настоящее время активно изучаются доступные на практике и надежные маркеры аллергического воспаления ЖКТ. По данным E. Ridolo в качестве маркера обострения аллергических заболеваний может быть использован эозинофильный нейротоксин (EDN). Связь выраженности клинических проявлений с повышением уровня эозинофильного нейротоксина в кале при аллергической энтеропатии обнаружена Kalach N., et al.

Сведения об эпидемиологии, патогенетических механизмах и влиянии на состояние здоровья детей хронической диареи, особенно аллергического генеза, крайне ограничены. При этом ведущие отечественные детские гастроэнтерологи, в частности С.В. Бельмер, Е.А. Корниенко полагают, что своевременная диагностика ХД аллергической природы, установление и элиминация аллергенов, противоаллергическая терапия могут не только остановить диарейный синдром, но и предотвратить формирование хронической гастроэнтерологической патологии. В связи с распространенностью проблемы ПА и существенными пробелами в ее решении, мы полагаем актуальным настоящее исследование.

**Цель исследования** на основе сравнительного многофакторного анализа разработать комплексный подход к диагностике гастроинтестинальной пищевой аллергии у детей раннего возраста с хронической диареей, включающий определение эозинофильного нейротоксина в копрофильtrate.

### **Задачи:**

1. Определить особенности состояния здоровья и факторы риска хронической диареи у детей раннего возраста по данным обращения в педиатрические отделения СОКБ им. В. Д. Середавина.

2. В общем пуле детей с ХД установить долю пациентов с высоким уровнем EDN в кале и провести сравнительный анализ анамнестических, клинических и лабораторных данных в подгруппах детей с нормальным и высоким уровнем EDN как факторов, ассоциированных с пищевой аллергией.

3. Путем регрессионного анализа определить диагностическую значимость факторов, ассоциированных с хронической диареей аллергического генеза.

4. Предложить алгоритм диагностики гастроинтестинальной пищевой аллергии у детей раннего возраста с хронической диареей, включающий предварительный отбор по клинико-анамнестическим факторам и количественное определение эозинофильного нейротоксина в копрофильtrate.

### **Научная новизна**

Впервые дана комплексная оценка состояния здоровья детей раннего возраста с ХД, определены факторы риска, способствующие развитию этого патологического состояния. На основании полученных данных разработаны программа для ЭВМ «Диагностика хронической диареи у детей первого года жизни» (свидетельство о государственной регистрации №2021615660 от

05.04.2021) и «Диагностика хронической диареи у детей старше 1 года жизни» (свидетельство о государственной регистрации №2021615771 от 05.04.2021).

Впервые проведен анализ частоты копрологических симптомов и нарушений микробиоценоза у детей раннего возраста с ХД как факторов, ассоциированных с пищевой аллергией.

В ходе исследования впервые в пуле детей с ХД была установлена доля пациентов с повышенным уровнем EDN в кале, определены клинико-лабораторные особенности ХД, протекающей с повышенным уровнем EDN. Путем многофакторного регрессионного анализа выделены наиболее значимые для диагностики ПА признаки, определена их связь с повышенным уровнем EDN в кале.

С учетом полученных при статистическом анализе данных разработан комплексный подход к диагностике гастроинтестинальной пищевой аллергии у детей с хронической диареей, включающий определение в кале эозинофильного нейротоксина.

### **Практическая значимость**

Полученные данные о состоянии здоровья детей раннего возраста с ХД конкретизируют мероприятия по диспансеризации этой клинической группы. Определение группы риска по формированию ХД позволяет проводить таким детям профилактические мероприятия в определенных клинических ситуациях, таких как острые кишечные инфекции, антибиотикотерапия, направленные на предупреждение реализации предрасположенности. Использование разработанных диагностических программ для ЭВМ оптимизирует диагностику ХД на первичном этапе, что обеспечивает раннее назначение дифференцированной терапии.

Выявленные нами особенности нарушений пищеварения и микробиоценоза у детей с ХД обосновывают введение деконтаминации кишечника и заместительной ферментной терапии в комплексном лечении ХД.

Установленные клинико-лабораторные особенности ХД, обусловленной ПА, а также разработанный нами комплексный подход к диагностике с использованием теста на EDN в кале оптимизирует первичную диагностику ПА и дифференциальную диагностику между диареей аллергического и неаллергического генеза, своевременное назначение и контроль за эффективностью гипоаллергенной диеты.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Состояние здоровья детей раннего возраста с хронической диареей характеризуется снижением показателей физического развития, анемией, нарушениями переваривания и всасывания, наличием коли-дистального синдрома копрологически, дисбиозом кишечника с уменьшением численности облигатной флоры и контаминацией условно-патогенной флорой *Klebsiella* spp., *E. coli* с гемолизирующими свойствами.

2. Факторами, увеличивающие риск ХД у детей раннего возраста являются наличие у матери хронической урогенитальной инфекции, роды путем Кесарева сечения, раннее искусственное вскармливание; антибиотикотерапия в неонатальном периоде, эпизоды острых кишечных инфекций на первом году жизни, а также отягощённая наследственность по аллергическим заболеваниям, патологии ЖКТ.

3. Повышение уровня EDN в кале отмечается у 54,3% детей раннего возраста с ХД, оно ассоциируется с отягощённостью семейного анамнеза по аллергии, нерациональным введением прикорма, младенческой дисхезией в анамнезе, наличием у ребенка атопического дерматита и примеси крови и слизи в стуле, повышенного уровня в сыворотке крови IgE и эозинофилии крови.

4. При регрессионном анализе установлено, что наиболее высоким диагностическим коэффициентом для гастроинтестинальной пищевой аллергии обладают следующие признаки: кровь в стуле или эритроциты в копрограмме,

отягощенная по аллергии наследственность, раннее искусственное вскармливание, нерациональное введение прикорма и младенческая дисхезия, наличие крови и слизи в кале, атопический дерматит и повышенный уровень IgE, при пороговой точке 20 баллов, чувствительность комплекса составляет 76%, специфичность 78%, последовательное определение уровня EDN кала при пороговой точке 10 баллов позволяет повысить чувствительность комплекса до 95%, специфичность до 80%.

### **Степень достоверности и апробация результатов работы**

Достоверность полученных данных обеспечивается достаточным объемом выборки, а также использованием современных методов статистической обработки. Основные результаты диссертационной работы были представлены на следующих научных конференциях и Конгрессах: 20-й Юбилейный международный Славяно-Балтийский научный форум «Санкт-Петербург – Гастро-2018» XIX Съезд научного общества гастроэнтерологов России (16-18 мая 2018г, г. Санкт-Петербург), Межрегиональная НПК «Национальная школа по инфекционным болезням» (9 февраля 2019 г, Самара), 23-й международный медицинский Славяно-Балтийский научный форум «Санкт-Петербург-Гастро 2021» (21 мая 2021г, г. Санкт Петербург.), 22-я Российская научная конференция «Актуальные вопросы детской гастроэнтерологии и питания», 8-й межрегиональный НОФ по вопросам педиатрии: «Детский врач. Инновации. Наука. Практика» (19 ноября 2021г., г. Самара), Всероссийская НПК «Актуальные вопросы педиатрии. 100 лет педиатрическому образованию в Самарской губернии» (30 сентября 2021 год, г. Самара), 4-ая Поволжская НОК «Мультидисциплинарный подход к лечению болезней органов пищеварения» (15 сентября 2021г, г. Самара), 24-й международный медицинский Славяно-Балтийский научный форум «Гастро 2022» (13 мая 2022г, г. Санкт Петербург).

Апробация работы проведена на совместном заседании кафедр детских болезней, госпитальной педиатрии, педиатрии ИПО, факультетской педиатрии,

детских инфекций, акушерства и гинекологии №1, акушерства и гинекологии ИПО «14» февраля 2023 года.

### **Внедрение результатов диссертационной работы в практику**

Результаты исследования внедрены в повседневную клиническую работу педиатрического корпуса ГБУЗ СОКБ им. В.Д. Середавина в форме комплексного алгоритма диагностики гастроинтестинальной пищевой аллергии.

Программа диагностики хронической диареи у детей применяется в процессе оказания амбулаторной помощи детям в ГБУЗ СО СГБ №7.

### **Личный вклад автора**

Личный вклад автора состоит в детальном анализе отечественных и зарубежных научных трудов по изучаемой проблеме. Сформулированы цель и задачи исследования, разработана методология и проработаны все этапы исследования. Автором самостоятельно проведены обследование и выборка пациентов, включенных в исследование. Материал, представленный в настоящей диссертационной работе, получен, обработан и проанализирован лично автором. Автор лично готовила статьи к публикации, содействовала внедрению результатов, полученных в ходе исследования, в лечебно-диагностический процесс. Автором самостоятельно сформулированы достоверно обоснованные выводы и даны практические рекомендации.

### **Связь темы диссертации с планом основных научно-исследовательских работ университета**

Работа выполнена в соответствии с комплексной научной темой кафедры детских болезней ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России «Механизмы коморбидности и сочетанной патологии органов и систем в детском возрасте». Номер государственного учета НИОКТР АААА-А19-119102390077-0.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертация соответствует шифру научной специальности: 3.1.21 – «Педиатрия» в области клинической медицины, изучающей физиологию и патологию детского возраста, разрабатывающей методы диагностики, профилактики и лечения детских болезней, в частности хронической диареи и гастроинтестинальной пищевой аллергии.

### **Публикации по теме диссертации**

Автором по теме диссертации опубликовано 13 печатных работ, в том числе 5 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, 3 статьи в журналах, входящих в базу данных SCOPUS.

Получено 2 свидетельства о государственной регистрации на программу для ЭВМ «Диагностика хронической диареи у детей первого года жизни» (свидетельство о государственной регистрации №2021615660 от 05.04.2021) и «Диагностика хронической диареи у детей старше 1 года жизни» (свидетельство о государственной регистрации №2021615771 от 05.04.2021).

### **Структура диссертации**

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, глав «Материал и методы исследования» и полученных результатов с их обсуждением, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы. Объем работы составляет 141 страницы текста и включает 17 таблиц и 15 рисунков. Список использованной литературы представлен 294 источниками из которых 105 отечественных и 189 зарубежных.

## **ГЛАВА 1. ХРОНИЧЕСКАЯ ДИАРЕЯ КАК ПРОЯВЛЕНИЕ ПИЩЕВОЙ АЛЛЕРГИИ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА: ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ, ПРОБЛЕМЫ ДИАГНОСТИКИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

### **1.1. Хроническая диарея у детей раннего возраста: спектр причин и последствий**

Диарея, по определению всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) – это жидкий стул чаще обычного для конкретного человека [24]. В педиатрической практике для суждения о наличии диареи важно учитывать возрастные особенности частоты дефекаций и консистенции стула. Так для младенца первых месяцев жизни характерен жидкий стул частотой до 6-8 раз. После года и на протяжении всей жизни стул в норме должен быть оформлен, а его частота не превышает 3 раз в сутки [270, 147]. Еще одним из критериев диареи в педиатрической практике является суточный объем каловых масс - объем испражнений не должен превышать 10 мл/кг/сут при том, что у детей в ЖКТ в общем обращается приблизительно 285 мл/кг/сут жидкости [220].

В большинстве случаев медицинские работники и родители сталкиваются с острой диареей у детей как с проявлением кишечной инфекции. Острые кишечные инфекции (ОКИ) по данным ВОЗ стабильно входят в десятку самых частых причин смерти населения, ежегодно в мире регистрируется до 1,5 млн случаев летальных исходов ОКИ. Наиболее высокие показатели заболеваемости и смертности от этой патологии приходится на младший детский возраст от 1 до 3 и от 4 до 6 лет [43, 251].

Обычно продолжительность эпизода ОКИ не превышает 7-10 дней; если диарея сохраняется свыше 14 дней о ней говорят, как о персистирующей. Хронической считается диарея (ХД) продолжительностью более 28 или, по другим источникам, более 30 дней [291, 115]. Рядом отечественных авторов диарея рассматривается как хроническая при длительности более 3 недель [95].

Данных о распространенности ХД у детей мало. Согласно одному из источников, ХД составляет 10% от всех случаев диарейного синдрома, а частота ее у детей в европейской популяции колеблется от 3 до 8% [152]. Показатель распространенности ХД в разных странах среди взрослых с различными заболеваниями варьирует от 7 до 20% [24, 18]. Согласно данным экспертов ВОЗ, 13,2% летальности в детском возрасте обусловлены диареей, при этом 50% из них при хроническом ее течении [24, 92].

В основе патогенеза ХД могут лежать различные патогенетические механизмы – дисбаланс секреции и всасывания воды и электролитов, синдром мальабсорбции, накопление в просвете кишечника осмотически активных веществ и повышение осмолярности, воспаление кишечной стенки, ускорение транзита кишечного содержимого [41]. Как правило, при ХД речь идет о сочетании 2 и более патогенетических механизмов вследствие формирования «порочного круга» [292].

Хроническая диарея может быть вызвана множеством причин, которые принято делить на инфекционные и неинфекционные. Инфекционные причины в свою очередь делят на вирусные, бактериальные, паразитарные и инфекционно-опосредованные исходы ОКИ, в частности постинфекционный вариант синдрома раздраженного кишечника. При дифференциальной диагностике заболеваний, протекающих с ХД, в первую очередь необходимо исключить инфекционный генез диарейного синдрома [139].

По данным Национального института педиатрии, акушерства и гинекологии АМН Украины, перенесенные ОКИ являются причиной развития ХД у детей в 42,2% случаев. Трансформация острой диареи в хроническую после ОКИ или паразитарных инвазий может быть обусловлена неблагоприятным преморбидным фоном (гипотрофия, дефицит микронутриентов, иммунодефицит), а также неадекватной терапией. Как следствие длительного воспаления, развивается атрофия слизистой оболочки тонкой кишки с вторичным нарушением ее функций [165].

Одним из проявлений патоморфоза ОКИ на современном этапе является затяжное и хроническое течение. Хронизации ОКИ может способствовать неблагоприятный иммунологический фон ребенка (персистирующие инфекции, иммунодефицитные состояния), хроническая гастроэнтерологическая патология, сочетанные инфекции, а также нерациональная терапия ОКИ, прежде всего необоснованное применение антибиотиков [32, 156]. В связи с этим в диагностический поиск при ХД включают посев калового материала на основные патогенные кишечные бактерии, методом ИФА тестируют кал на вирусы – возбудители ОКИ (ротавирус, норовирус, бокавирус, аденовирус 40,41 типов). При диагностике ХД инфекционного или инфекционно–опосредованного генеза важно обнаружение в анамнезе острого дебюта заболевания [196].

Кроме этого, необходимо исследование кала на яйца гельминтов и цист лямблий методами микроскопии, ИФА и ПЦР, посеvy кала, копрологическое исследование кала, исследование кала на скрытую кровь [114, 95].

Широкий спектр неинфекционных причин можно подразделить на генетические детерминированные дефекты переваривания и всасывания; иммунопатологические заболевания (целиакия, болезнь Крона, язвенный колит, интестинальная ПА); алиментарные и ятрогенные, а также двигательные нарушения [42].

Лактазная недостаточность исключается после проведения различных тестов: рН кала  $< 5,5$ , прирост уровня водорода в выдыхаемом воздухе выше 20 ppm, прирост уровня глюкозы не более 25% при нагрузке лактозой (2,0 г на кг массы тела, но не более 50,0 г). После исключения лактазной недостаточности необходимо исключить мальабсорбцию фруктозы, с этой целью проводится исследование кала на экскрецию сахаров после нагрузки фруктозой. При проведении нагрузки наблюдается усиление диареи, а гликемическая кривая уплощена. При выявлении соответствующей непереносимости у ребенка из рациона исключается установленный нутриент [12, 13, 55, 242].

Для врожденной аномалии строения энтероцитов характерно обнаружение в биоптате феномена «выключения микроворсин» или «пучковой дисплазии» энтероцитов. При световой микроскопии отмечается атрофия ворсин, скопление PAS-положительного материала на апикальном полюсе энтероцита [76].

Для целиакии (глютеновой энтеропатии) характерна диарея со стеатореей, которая проявляется объемным зловонным, жирным на вид стулом, плохо отмывающимся от горшка и белья. Развернутая копрограмма позволяет различить два типа диареи со стеатореей: с нейтральным жиром – симптом недостаточности поджелудочной железы, с жирными кислотами – патология тонкой кишки [26].

В диагностике целиакии важно определение серологических маркеров непереносимости глютена - антиглиадиновых антител (Ig A,G), антител к тканевой трансглутаминазе (Ig A,G) и эндомизию, окончательный этап диагностики - морфологическое исследование дистального отдела двенадцатиперстной или проксимального отдела тощей кишки [71]. Истинная панкреатическая недостаточность так же проявляется диареей со стеатореей и полифекалией, она характерна, например, для хронического панкреатита, муковисцидоза; ее можно подтвердить с помощью теста на эластазу-1 в кале (снижение менее 200мг/г) [11].

При воспалительных заболеваниях кишечника (болезнь Крона и язвенный колит) для диарейного синдрома характерно наличие слизи и крови в стуле, многократно повышается уровень фекального кальпротектина; также необходимо проведение диагностики с помощью иммунологических методов на наличие неспецифических аутоантител против ядер, ДНК, гладкой мускулатуры или митохондрий и эндоскопических методов – характерны эрозии, язвы, стертость сосудистого рисунка, «зернистость» слизистой оболочки, контактная кровоточивость [14, 22].

В ряде зарубежных статей для диагностики генетических обусловленных хронических диарей предлагают секвенирование по Сэнгеру либо секвенирование всего экзона, что позволит сократить время для выявления энтеропатий [114].

Частый, жидкий стул, появляющийся после приема причинно-значимого пищевого аллергена, является одним из наиболее распространенных клинических симптомов ПА - как у взрослых, так и у детей (особенно при аллергии к молоку) [108, 116].

Диарея при ПА носит хронический или рецидивирующий характер и часто сочетается с такими симптомами, как метеоризм, вздутие живота и абдоминальная боль. При IgE-опосредованной ПА, вследствие нарушения толерантности к пищевым антигенам плазматические дендритные клетки начинают вырабатывать sIgE, отражая процесс сенсibilизации [23, 123]. При повторном поступлении пищевого аллергена в действие вступает эффекторная фаза- sIgE-антитела связываются с высокоаффинными рецепторами IgE на базофилах и тучных клетках. Происходит индукция Th2-клеток с активацией В-лимфоцитов и последующей их трансформацией в плазматические клетки. Все это является пусковым механизмом формирования аллергического воспаления в стенке желудочно-кишечного тракта.

Вследствие повреждения структурных компонентов тонкой кишки, с нарушением полостного и пристеночного пищеварения, в просвете кишечника скапливается большое количество неабсорбированных нутриентов, по осмотическому градиенту в просвет кишечника начинает поступать жидкость.

Индукцированный пищей энтероколит (Food protein-induced enterocolitis syndrome) протекает по не IgE-опосредованному механизму и чаще встречается у детей до 3 месяцев жизни. В патогенезе, возможно, играет роль повышение уровня ФНО- $\alpha$  [272]. В 2011 г. по результатам двухлетнего проспективного исследования в Израиле, определили его частоту как 3 случая на 1 тысячу новорожденных (0,34%) [272]. В популяционном исследовании, проведенном на большой когорте новорожденных, выявлены признаки индуцированного пищей энтероколита: вялость, бледность и диарея. Перечисленные симптомы появляются через 20 мин - 4 часа после приёма причинно-значимого продукта. Чаще всего им является молоко

или соя, реже овёс, «оранжевые» продукты, яичный белок, бобовые [200]. У 20% детей наблюдается гипотензия вследствие гиповолемии, бледность кожных покровов и цианоз [272].

В копрограмме обнаруживаются эритроциты, нейтрофилы, эозинофилы, иногда - умеренная стеаторея. При биопсии слизистой оболочки тонкой кишки выявляются признаки воспаления (отёк, микрогеморрагии), в собственной пластинке - лимфоциты, тучные и плазматические клетки, содержащие IgM и IgA, в ряде случаев - частичная атрофия ворсинок. Выраженность симптомов значительно снижается через 72 часа после элиминации аллергена. Критериями диагностики являются возраст до 9 месяцев на момент постановки диагноза, неоднократное воздействие причинно-значимого продукта, наличие у больного ребёнка исключительно гастроинтестинальных симптомов, элиминация пищевого белка приводит к купированию симптомов в течение 24 часов [272].

Наличие ХД у детей, как правило, свидетельствует об отягощенном соматическом фоне и требует ступенчатого подхода к диагностике на различных этапах оказания медицинской помощи, а также особой тактики ведения таких пациентов [18].

Не подлежит сомнению, что ХД в значительной мере оказывает влияние на состояние здоровья, развитие и качество жизни детей. Установлено, что дети с ХД более беспокойные, труднее адаптируются к новым условиям, чаще болеют, имеют нарушения сна, у них чаще возникают затруднения во время игровой деятельности и при общении [242]. Хроническая диарея ведет к формированию ограничительного поведения, резко снижая качество жизни детей. Такие пациенты жалуются на абдоминальные боли, вздутие живота, метеоризм, которые связаны как нарушением химизма кишечного содержимого, так и с синдромом избыточного бактериального роста (СИБР), дисбактериозом кишечника [185, 186, 281, 242]. В одной из работ показано, что у детей, длительно соблюдающих безмолочную диету, достоверно чаще регистрируется СИБР [218].

Кроме того, при ХД первично, либо вторично, как правило, имеет место синдром нарушенного кишечного всасывания основных нутриентов, в связи с чем при длительном течении заболевания развиваются признаки гипотрофии, полигландулярной недостаточности, трофических изменений кожи, полигиповитаминоза, остеопороза [10, 30, 64]. Научно-доказанные низкие показатели ретинола в сыворотке крови у детей с хронической диареей способствуют в свою очередь, нарушению микробного состава кишечника с преобладанием энтерококков [124, 285].

Таким образом, ХД является серьезной клинической проблемой детского возраста. Не преуменьшая значения прочих причин развития ХД, следует признать, что у детей раннего возраста, особенно первого года жизни, ведущей как по частоте, так и по влиянию на растущий организм является ПА. Своевременная диагностика аллергической природы ХД, установление и элиминация причинно - значимых аллергенов, противоаллергическая терапия могут не только остановить диарейный синдром, но и предотвратить формирование хронической аллергической патологии органов и систем [11, 105]. В связи с этим представляется актуальным исследование, направленное на оптимизацию диагностики ПА у детей с хронической диареей.

## **1.2. Пищевая аллергия у детей: определение, эпидемиология, факторы риска**

Пищевая аллергия (ПА) – иммунологически опосредованное клиническое проявление гиперчувствительности сенсibilизированного организма, возникающее после поступления пищевого антигена в пищеварительный тракт [15, 183].

Пищевая аллергия – распространенное явление в детской популяции, с наибольшей частотой она встречается у детей раннего возраста [39, 76, 83, 132]. Данные о распространённости пищевой аллергии в различных регионах мира

разноречивы. По сведениям Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ПА регистрируется у 6-8% детей раннего возраста и 2-4% подростков [180, 191].

Согласно систематическому обзору электронных баз данных исследований за 12 лет (2000-2012гг), распространенность ПА в Европе составляет 5-8% среди детей, 1-2% у взрослого населения, а в США – у 5% детей младше трех лет и 4% взрослого населения [254, 258, 268]. Европейская академия аллергии и клинической иммунологии (ЕААСИ) прогнозирует, что к 2029 году более половины европейской популяции будет страдать от аллергии и связанных с ней заболеваний [153, 154, 179].

В Италии по данным мета-анализа почти 10% детского населения наблюдаются с ПА, и лишь у 3% она подтверждена после проведения «орального провокационного теста» [133, 183, 226, 257]. По данным канадских исследователей распространённость ПА среди детей составила 2,53% [278].

Пик распространенности ПА приходится на 1-й год жизни, а наиболее частым аллергеном в Европейской популяции является белок коровьего молока (БКМ) [16, 138]. У детей до 1 года частота аллергии на молочный белок составляет 4,2%, у детей 2–5 лет 3,75%, к 3 годам толерантность к БКМ развивается более чем у 75% таких детей, а к 6 годам - более чем у 90% [151, 173].

В исследовании, проведенном в Австралии с применением провокационных проб и прик-тестов, установлена частота ПА на яйцо, арахис, белок коровьего молока, моллюски более 10% у детей первого года жизни, 1-2% у подростков и 1,3% у взрослых [1, 28, 233].

Точная оценка распространённости пищевой аллергии среди детского населения проблематична, это связано, во-первых, с переоценкой, токсических реакций на продукты питания, пищевого отравления, дефицита ферментов, во-вторых, с отсутствием точных данных о количестве детей с диагнозом пищевой аллергии, выставленным на основании «золотого стандарта» - орального

провокационного теста, который на территории РФ не получил распространения [4, 5, 233].

К основным причинам роста распространенности аллергической патологии относят неблагоприятное течение беременности, ухудшение состояния здоровья женщин и прием медикаментов будущими матерями, «городской» образ жизни, использование химических веществ в быту и сельском хозяйстве [12, 13, 25, 29, 34]. Пищевая аллергия (ПА) играет огромную роль в формировании и последующем развитии большинства кожных, гастроинтестинальных и респираторных проявлений аллергии [162]. У 65% детей появление ПА приходится на первый год жизни [98].

На течение и развитие ПА у детей сказывается влияние ряда экзогенных и эндогенных факторов: наследственная предрасположенность к атопии, некоторые факторы окружающей среды: курение, социально-экономический статус, детские инфекции, стиль жизни [3, 15].

В одном из исследований, проведенном в североамериканской популяции, были выявлены гены аллергии, локализованные в 11 хромосомах человека, это гены  $\beta$ -цепи рецепторов для ИЛ-4 и ИЛ-13, гены ИЛ-9,  $\beta$ -адренорецепторов, триптазы тучных клеток,  $\beta$ -цепи Т-клеточного рецептора. Ген FcRI, определяющий реакцию на взаимодействие аллергена с фиксированными IgE-антителами, локализуется в 11 хромосоме. В 5 хромосоме находится кластер цитокиновых генов, включая ген интерлейкина 4 (ИЛ-4), важной функцией которого является активация экспрессии высокоаффинного рецептора к IgE Fc RI на В-лимфоцитах и стимуляция продукции В-лимфоцитами адгезивных молекул [199].

До настоящего момента не определен ни один генетический маркер, который предопределил вероятность развития аллергических заболеваний. По данным исследований последних лет найдены свидетельства, что эпителиальные клетки кишечного тракта экспрессируют молекулы МНС (HLA) класса II и могут действовать как неспециализированные антигенпрезентирующие клетки, которые

не имеют ко-стимулирующих молекул и способствуют развитию анергии или толерантности [199]. Также на данное время нет убедительных данных за гендерную предрасположенность к ПА у детей [229].

В развитии ПА могут быть задействованы несколько генетических вариаций, самая сильная ассоциация связана с геном FLG, который определяется у 20-30% людей с атопическим дерматитом; его мутация приводит к образованию аномально короткого белка профилаггрина, и в результате к нарушению барьерной функции кожи [182, 199].

В 2013 г. была обнаружена корреляция между полиморфизмом гена IL-10 и аллергией к белку коровьего молока [138].

Состояние кишечного микробиома новорождённого и ребёнка грудного возраста так же играет немаловажную роль в созревании кишечника, иммунной системы, развитии мозга, метаболизма, что в свою очередь способствует развитию аллергических заболеваний. В пренатальном периоде причинами нарушения колонизации кишечника у плода считают использование антибиотиков беременными женщинами. Продемонстрировано, что в результате использования антибиотиков группы линкозамидов (клиндамицина) происходит снижение численности бактерий рода *Bacteroides*, напротив носительство *Prevotella copri* у матери во время беременности было связано со снижением риска пищевой аллергии в младенчестве [143, 211].

Способ родоразрешения влияет на процесс первичной колонизации кишечника младенца. Наиболее благоприятным считают естественные роды, во время прохождения плода по родовому каналу происходит заселение нормофлоры кишечника ребёнка микробиотой влагалища матери. При рождении путем кесарева сечения, кишечник новорождённого заселяется микробиотой ротовой полости и кожных покровов матери, персонала больницы и других новорождённых [35, 148]. Однако нет четких исследований о связи кесарева сечения с повышенным риском ПА [140]. Было замечено, что кесарево сечение связано с другими аллергическими

заболеваниями, такими как аллергический ринит (ОШ 1,23 95% ДИ 1,12,-1,35), астма (ОШ 1,18 95% ДИ 1,05,- 1,32) и аллергическая сенсibilизация к продуктам питания (ОШ 1,32 95% ДИ 1,12, -1,55) [122, 271].

Высокий уровень соотношения кишечной микробиоты *Enterobacteriaceae* / *Bacteroidaceae* в раннем неонатальном возрасте, а также низкое видовое разнообразие микробов у новорожденных могут быть предикторами сенсibilизации к яйцам, молоку и арахису, определяемой прик-тестом в возрасте одного года [1, 28, 202].

Естественное вскармливание ребёнка грудным молоком матери имеет важные преимущества в развитии и становлении нормальной кишечной микрофлоры, которая в свою очередь имеет значение в развитии оральной толерантности, и чем раньше ребенок приложен к груди, тем выше уровень бактерий родов *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* [36, 52, 74]. Новорождённые дети, находящиеся исключительно на грудном вскармливании и (или) на смешанном вскармливании чаще были колонизированы бактериями *Enterococcus*, *S. coccoides*, *V. vulgatus* и *V. Longum* [157, 159]. В международных и российских рекомендациях указано, что с целью профилактики аллергия продолжительность грудного вскармливания должна составлять не менее 4-6 мес. [56, 57, 96, 136, 154, 179]. Протективный эффект грудного молока в отношении развития аллергии полностью не доказан. Много противоречивых данных о связи грудного молока и снижении риска развития пищевой аллергии. Недавний систематический обзор показывает, что при проведении исследований, касающихся вопроса вскармливания, не учитываются различия в составе грудного молока между женщинами [190, 217, 253].

В физиологических условиях слизистая оболочка кишечника покрыта бактериальным гликокаликсом (биопленка). Слизь, которой покрыта биопленка, обеспечивает барьерную функцию слизистой оболочки (снижение скорости всасывания пищевых нутриентов, способность к бактериальной адгезии) за счет

содержания в ней особого класса гликопротеинов – муцина и секреторного иммуноглобулина А (sIg А). У детей первого месяца жизни низкий уровень sIg А компенсируется sIg А грудного молока матери. В свою очередь, заселение кишечника нормофлорой также способствует синтезу секреторного Ig А. В норме у новорождённого ребёнка при первом контакте с пищевым аллергеном в организме синтезируются Ig А, при повторном попадании пищевого продукта формируется иммунологическая толерантность [117]. В противном случае формируется истинная иммунологически опосредованная реакция пищевой непереносимости – ПА [44, 45].

В индукции первичного иммунного ответа на вторжение чужеродных антигенов наиболее важную роль играют антигенпрезентирующие клетки: клетки Лангерганса и дендритные клетки. Особенность всех антигенпрезентирующих клеток состоит в том, что они несут на своей поверхности высокоаффинные рецепторы для IgE [93].

Оральная толерантность к пищевым белкам относится к состоянию периферической иммунной невосприимчивости, возникающей при связи антигена, вводимого пероральным путем, с лимфоидной тканью кишечника (GALT-системе – пейеровы бляшки, изолированные лимфоидные фолликулы, мезентериальные лимфатические узлы). После переноса через эпителий тонкой кишки поглощенные антигены поглощаются антигенпрезентативными клетками. Уникальная иммунная среда GALT способствует толерогенному представлению резидентных APC к антигенспецифическим Т-лимфоцитам, что приводит к индукции толерантности. Оральная толерантность, по-видимому, опосредована различными иммунными механизмами, к числу которых относятся анергия, клональная делеция, генерация регуляторных Т-клеток [93].

На этом основании в ряде исследований Американского национального института аллергии и инфекционных заболеваний рекомендуется введение прикормов, содержащих арахис, и яйца, детям с атопическим дерматитом между 4

и 6 месяцами жизни [113, 158]. Разнообразие рациона в течение первого года жизни играет положительную роль в снижении риска развития пищевой аллергии [195, 235].

Пищевые аллергены – экзоаллергены, к которым можно отнести продукты питания животного (молоко, яйца, рыба) и растительного (орехи, злаки, бобовые) происхождения, пищевые добавки (консерванты, эмульгаторы, красители). Пищевые добавки являются причиной развития пищевой непереносимости, развивающейся неиммунным путем [67, 72].

В зависимости от способности сохранять антигенные свойства при термической обработке и протеолизе выделяют 2 класса пищевых аллергенов. Первый – это белки, устойчивые к перевариванию и термической обработке (аллергены молока, яиц, рыбы, арахиса и растительных продуктов, содержащих липид- переносящие белки), сенсibilизация к ним развивается в желудочно-кишечном тракте, поэтому для них чаще всего характерны генерализованные клинические проявления. Второй - это термолабильные белки (белки фруктов и овощей), сенсibilизация к ним формируется опосредованно за счет предшествующей аллергизации пациента гомологичными растительными белками через респираторный тракт (Bet v1-гомологичные белки, профилины) [44, 45, 161].

Основными источниками белков животного происхождения для детей первого года жизни являются молоко (в виде адаптированных молочных смесей, блюд прикорма), яйца (блюдо прикорма), рыба (блюдо прикорма), растительного происхождения – пшеница, соя (в виде соевых смесей), которые по данным метанализа 51 публикации являются наиболее распространенными аллергенами ПА [135].

Антигенными свойствами обладают далеко не все простые и сложные генетически чужеродные белки, а лишь те, чья молекулярная масса достигает 10-70 кДа. Антигенность белков зависит от наличия эпитопов (часть белкового

аллергена, которая распознаётся иммунной системой) и пространственной конфигурации молекулы [44, 45, 67].

Коровье молоко - наиболее распространённый пищевой аллерген у детей первого года жизни, находящихся на искусственном и грудном вскармливании [145, 244]. Среди детей первого года жизни аллергия к белкам коровьего молока встречается у 0,5–1,5% младенцев, находящихся на естественном вскармливании, и у 2–7% детей, находящихся на искусственном вскармливании [17, 145].

У детей, находящихся на естественном вскармливании, аллергия на БКМ может быть связана с чрезмерным потреблением молока и молочных продуктов матерью как в период беременности (внутриутробная сенсibilизация), так и при кормлении грудью [44, 45, 141, 149, 181].

Специфические антитела выявляются к различным белковым фракциям молока - бычьему сывороточному альбумину, казеину, лактоальбумину, лактоглобулинам. Бычий сывороточный альбумин имеет перекрестную реактивность с говядиной и телятиной [118]. Сходство строения этих белков в коровьем молоке и молоке других млекопитающих обуславливает возможность развития синдрома перекрестной реакции (для козьего молока вероятность равна 92%) [68, 118, 254].

Следующими по частоте возникновения аллергических реакций у детей младшего возраста являются белки яйца (овоальбумин, овомукоид, лизоцим). В состав куриного яйца входит много видонеспецифичных антигенов, что предопределяет сенсibilизацию к яйцам других птиц и непереносимость мяса птицы [274]. Наибольшая активность овомукоида обусловлена его способностью длительно сохранять свои антигенные свойства в кишечнике, ингибируя активность трипсина. Аллергенные свойства желтка выражены в меньшей степени, чем белка, что следует помнить при проведении прививок вакцинами, содержащими примесь тканей куриного эмбриона или различных частей плодного яйца птицы [77].

Наиболее сильные аллергены рыбы: степень сенсibilизации к ним с возрастом не уменьшается и сохраняется у взрослых [72]. Установлено, что большинство пациентов с ПА на рыбу сенсibilизированы только к определенным видам рыб (чаще к треске), морская рыба более аллергена, чем речная [254].

Аллергия к злакам представляет собой большую проблему, поскольку в ежедневном рационе детей занимают значительную часть [78]. Из белков пшеничной муки выделено более 40 аллергенов, способных вызывать аллергию у человека (альбумин, глобулин,  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\omega$ -глиадин и др.). Чаще всего это аллергия к пшенице, реже – к ячменю, ржи и овсу. Непереносимость злаков может проявляться как в виде пищевой аллергии, так и глютенковой энтеропатии (целиакии), что вызывает трудности диагностики и лечения [46].

Аллергические реакции на пищевые продукты отмечаются: у больных атопическим дерматитом — в 48% случаев, у больных поллинозом — в 45%, у больных бронхиальной астмой и у больных аллергическим ринитом — в 15% случаев [44, 45, 121]. ПА у большинства детей имеет транзиторное течение - к трем годам её течение облегчается у 70-90% детей с проявлениями в виде атопического дерматита [7, 8, 82, 83].

Несмотря на то, что в большинстве случаев ПА носит преходящий характер и ее проявления исчезают к 6-7 летнему возрасту у 90% детей, в этой клинической группе в 2-4 раза выше риск развития хронической аллергической патологии, такой как атопический дерматит, БА, аллергический ринит [36, 74].

В развитии патологического процесса могут принимать участие IgE-опосредованные (I тип) и иммунокомплексные реакции (III тип), а также гиперчувствительность замедленного типа (IV тип). Согласно литературным данным, патогенетическую основу пищевой аллергии в большинстве случаев составляет сочетание различных типов иммунологических реакций [58, 73, 85, 86].

Наиболее изученный IgE-опосредованный механизм встречается у большинства (50-80%) детей с пищевой аллергией [15, 79, 80, 290]. В его основе

лежит дисбаланс Th2- и Th1-лимфоцитов с преобладанием Th2-клеточного ответа с активацией синтеза IL-4, IL-5, IL-13 и недостаточностью Th1-иммунного ответа с проявлением сниженной продукции IFN- $\gamma$ . При взаимодействии с пищевыми аллергенами синтезируются специфические IgE-антитела, с последующей их фиксацией на клетках мишенях (тучные клетки, базофилы). При повторном поступлении причинно-значимых аллергенов (антигенов) в сенсibilизированный организм происходит их взаимодействие с фиксированными на поверхности клеток-мишеней специфическим IgE и высвобождением медиаторов гранул тучных клеток и базофилов – гистамина и др. [60, 61].

Не-IgE-опосредованная пищевая аллергия (IgG/IgM – обусловленная) вызвана взаимодействием IgG/IgM с антигенами, фиксированными на мембранах собственных клеток (измененные участки собственной мембраны клетки или комплекс мембран с полным антигеном). Медиаторами этого типа реакций являются комплемент, супероксидный анион радикал и лизосомальные ферменты фагоцитов.

T-зависимые (замедленные) аллергические реакции обусловлены взаимодействием сенсibilизированных T-лимфоцитов с причинными аллергенами через 24-48 часов после контакта, с последующей секрецией растворимых эффекторных молекул (лимфокинов), которые опосредуют прямое цитотоксическое действие, мобилизацию и активацию макрофагов [85].

Накапливаются данные о влиянии нарушений кишечной микробиоты в формировании аллергической патологии. Доказана роль микробиоты в формировании направленности иммунных реакций, балансе Th1/Th2, становлении толерантности организма пищевым продуктам [37, 51, 66, 89].

Особое место в процессе формирования и функционирования иммунной системы отводится лактобактериям, их средой обитания являются все отделы пищеварительной трубки - от полости рта до толстой кишки. Они способны образовывать молочную кислоту, перекись водорода, продуцировать лизоцим и

другие вещества с бактерицидной активностью (реутерин, плантарицин, лактоцидин, лактолин) [21, 52, 81, 88, 94, 101, 102, 106, 107, 109, 129, 160, 163, 193, 246, 251].

Дефицит витамина Д усугубляет сенсibilизацию, гиперреактивность бронхов и течение диареи при пищевой аллергии, данное утверждение было основным выводом исследования, проведенного на мышинной модели [286]. На данный момент есть много работ, касающихся связи дефицита витамина Д и развития ПА, но использование его в виде добавки к пище во время беременности было безуспешно [231]. По другим данным приём добавки витамина Д в течение первого года жизни у детей привело к снижению риска развития ПА [287], хотя достоверность этого исследования очень мала [288].

Таким образом, пищевая аллергия является онтогенетически первой по времени развития сенсibilизацией, оказывает огромное влияние на формирование и последующее развитие всех аллергических заболеваний у детей. Развитие её определяется широким спектром причинно-значимых аллергенов, воздействием генетических и наследственных факторов, сроков начала и продолжительности грудного вскармливания, состояния кишечного микробиома, проницаемости слизистой оболочки ЖКТ, способа родоразрешения и изменениями в системе врождённого и приобретенного иммунитета.

### **1.3. Проблемы диагностики пищевой аллергии у детей на современном этапе и пути их решения**

Диагностика ПА начинается с тщательного анализа анамнестических данных и клинических проявлений, что подчеркивается во многих российских и зарубежных клинических рекомендациях [110, 132, 154, 179]. При сборе пищевого анамнеза следует обращать пристальное внимание на сроки развития аллергической реакции после приёма пищи, особенности течения клинических симптомов, длительность течения реакции, возможные изменения в состоянии

больного после устранения виновного пищевого продукта. Данные пищевого анамнеза должны сопоставляться с результатами анализа пищевого дневника [44, 45].

В зависимости от «шокового» органа ПА может манифестировать различными формами: от желудочно-кишечных расстройств до поражения органов дыхания и кожных проявлений, таких как крапивница, отёк Квинке и дерматит [184, 192].

Местно пищевая аллергия может выражаться в виде орального аллергического синдрома, характерного для подростков и взрослых. Появление клинических симптомов пищевой аллергии при употреблении овощей и фруктов в этом случае будет зависеть от наличия у них гомологичных эпитопов, ответственных за перекрестную реакцию с аэроаллергенами [44, 45, 161].

Кожные проявления ПА могут быть обусловлены IgE-медируемыми реакциями (крапивница/отек Квинке), не IgE-медируемыми реакциями (герпетиформный дерматит), а также сочетанием IgE- и не IgE-медируемых реакций (атопический дерматит). Крапивница/отек Квинке – появляются в течение нескольких минут после приёма пищи и сопровождаются зудом кожи, уртикарными высыпаниями и отёком век, губ. Причинно-значимыми продуктами являются чаще всего молоко, яйцо, морепродукты, соя, арахис.

Атопический дерматит (в англоязычной литературе также используется термин «экзема») – заболевание со сложным этиопатогенезом, проявляется выраженными экзематозными проявлениями в виде гиперемии, отёка, зуда и экссудации. Чаще всего высыпания локализуются на лице, а затем распространяются по всему телу, при отсутствии адекватной терапии заболевание приобретает хроническое рецидивирующее течение [4, 5]. Исследования показывают, что 35-40% больных со средней и тяжёлой формой атопического дерматита имеют IgE-опосредованную ПА [180, 191].

Гастроинтестинальная ПА может проявляться в виде IgE-опосредованных реакций: немедленная гастроинтестинальная гиперчувствительность, оральная аллергический синдром. Немедленная гастроинтестинальная гиперчувствительность проявляется в виде тошноты, рвоты, боли в животе, диареи во время приема пищи или спустя несколько минут после употребления «причинного» продукта, может сочетаться с кожными, респираторными проявлениями. Основные аллергены – причинные факторы IgE-опосредованных реакций - коровье молоко, яйцо, соя, морепродукты [290].

При оральном аллергическом синдроме (ОАС) – аллергическая реакция обусловлена перекрестной реактивностью между белками свежих фруктов, овощей и пыльцы (пыльцы березы с яблоком, лесным орехом, сельдереем). Чаще всего пациенты с ОАС реагируют на яблоки, также описан синдром «полынь-сельдерей-морковь-специи». Симптомы носят легкий транзиторный характер: отёк и зуд в области губ, языка, глотки, твердого и/или мягкого неба после употребления определённого пищевого аллергена. Почти все пациенты, страдающие ОАС, имеют в анамнезе аллергический ринит/конъюнктивит. Верификация диагноза ОАС основана на анамнезе болезни, иногда для его подтверждения проводят аллергологическое обследование с использованием прик-теста, что более информативно, чем определение sIgE к фруктам и овощам [47, 48, 49].

Эозинофильный эзофагит и эозинофильный гастроэнтерит (IgE/не IgE опосредованная ПА) - заболевания, при которых в биоптатах слизистой оболочки пищевода и желудка обнаруживают эозинофильную инфильтрацию слизистой оболочки, гиперплазию базальной зоны, увеличение ворсинок [104, 112, 222]. В 14-75% случаев эозинофильный эзофагит сопровождается другими проявлениями аллергии (бронхиальная астма, атопический дерматит), в анамнезе некоторых больных имеется пищевая анафилаксия [104, 137, 169, 228].

Коликообразные боли в животе могут наблюдаться сразу после приёма причинно-значимого продукта или спустя несколько часов, и обусловлены спазмом

гладкой мускулатуры кишечника, связанным со специфической или неспецифической либерацией медиаторов аллергии. Почти у 10% детей на искусственном вскармливании колики являются проявлением аллергии на БКМ [284]. Боли в животе интенсивного характера, иногда дают картину «острого живота», сопровождаются наличием слизи в стуле, снижением аппетита и другими диспепсическими расстройствами. Нарушения стула, как запоры, так и диарея, также достаточно частые проявления ПА [54,70].

Однако, наиболее частой причиной диареи с наличием крови и слизи в кале детей раннего возраста является аллергический колит, прежде всего проктосигмоидит. В крови может быть повышен IgE, но не во всех случаях, иногда гастроинтестинальная аллергия может протекать по клеточному механизму сенсибилизации. Диагностически значимым является метод орального провокационного теста, с употреблением в пищу пищевого аллергена [82, 83].

Аллергический ринит при пищевой аллергии характеризуется появлением обильных слизисто-водянистых выделений из носа, иногда заложенностью носа и затруднением носового дыхания. При риноскопии обнаруживается отёчность слизистой оболочки носовых раковин, имеющих бледно-синюшную окраску. Нередко, наряду с ринореей или отёчностью слизистых, у больных отмечается чихание, зуд кожи вокруг носа или в носу. Наиболее частой причиной развития аллергического ринита у больных с пищевой аллергией являются рыба и рыбные продукты, крабы, молоко, яйца, мёд [232].

Лабораторная диагностика истинной ПА направлена на установление причинно-значимых аллергенов, специфических аллергических антител или продуктов специфического взаимодействия антител с антигенами, а также на выявление реакций на пищевые продукты, протекающих по механизму гиперчувствительности замедленного типа [33, 183].

Одним из устоявшихся в диагностике методов являются кожные пробы, что связано с простотой применения, воспроизводимостью результатов, и помимо

всего это менее затратный вариант по сравнению с лабораторными исследованиями. К ним относят кожное тестирование с пищевыми аллергенами (prick- и patch-тесты). Кожный прик-тест считается высокоспецифичным и доступным методом диагностики ПА, протекающей по IgE-зависимому механизму. Однако следует иметь в виду, что у ряда больных возможны ложноположительные или ложноотрицательные результаты, а у части пациентов имеются противопоказания к использованию теста. Кроме того, информативность размеров папулы, для подтверждения реакции на пищевые аллергены, различна. Результат провокационной пробы считается положительным, если размер папулы у детей до 2-х лет при введении коровьего молока превышает 5 мм, куриного яйца 4 мм, арахиса 3 мм [188]. Внутрикожные пробы с пищевыми аллергенами потенциально опасны и не рекомендуются, тогда как прик-тесты признаны наиболее достоверным методом обследования, в частности у больных с оральным аллергическим синдромом [20, 232].

Патч-тесты используются для диагностики ПА по не-IgE опосредованному (клеточно-опосредованному) или смешанному (IgE и клеточно-опосредованному) типу: при эозинофильном эзофагите, энтероколите, атопическом дерматите [125, 230, 263]. Метод заключается в наложении окклюзионной повязки с нанесёнными на кожу пациента пищевыми аллергенами на 24 ч с последующей оценкой реакции (в виде эритемы и папул) через 24–72 ч. Патч-тесты в настоящее время применяются очень редко, хотя было выявлено, что у детей с атопическим дерматитом до 2-х лет с нормальным показателем IgE в крови: прик-тест был положительным в 4,63%, в то время как патч-тест оказался положительным в 68% случаев [248].

В зарубежной клинической практике золотым стандартом диагностики ПА является проведение двойной слепой плацебо-контролируемой пищевой провокационной пробы. В ходе данной пробы пациент получает аллерген или плацебо, затем в зависимости от возникновения реакции в ответ на принятый

аллерген делается заключение о наличии или отсутствии ПА. Однако данная процедура имеет ряд ограничений, среди которых наиболее серьезным является риск развития тяжелых реакций, в том числе анафилаксии. По данным многоцентрового исследования, при проведении диагностических провокационных проб анафилактические реакции регистрировались у 2% обследованных [216]. Специфическое обследование *in vivo* проводятся только в условиях аллергологического кабинета, а провокационные тесты – только в условиях аллергологического стационара [2].

Суть провокационных проб заключается в оценке реакций со стороны пациента при введении постепенно нарастающих количеств «подозреваемых» пищевых продуктов, оценивают объективные классические симптомы немедленных реакций (уртикарная сыпь, ринит, тошнота и рвота, приступ астмы, анафилактический шок) и субъективные симптомы (зуд, боли в животе, гиперактивность или вялость, головная боль, мигрень, артрит) [20, 90, 91]. Провокационные пробы с пищевыми продуктами в мире проводятся достаточно редко, в Российской Федерации они вовсе не сертифицированы. В настоящее время встаёт вопрос о более безопасных и дешёвых альтернативах [180]

Основными показаниями для назначения лабораторных методов аллергодиагностики являются: ранний детский возраст, высокая степень сенсибилизации пациента, непрерывное рецидивирующее течение заболевания без периодов ремиссии, невозможность отмены антигистаминных и других препаратов, поливалентная сенсибилизация, резко изменённая реактивность кожи, уртикарный дермографизм [9, 44, 45, 84, 87].

Для специфической диагностики ПА с обнаружением IgE-антител к пищевым аллергенам *in vitro* используются различные методы: иммуноферментный анализ (ИФА); радиоаллергосорбентный тест (RAST); множественный аллергосорбентный тест (МАСТ). Метод ImmunoCAP или иммунохемилюминесцентный отмечен ВОЗ как золотой стандарт

аллергодиагностики. Его диагностическая значимость зависит от возраста пациента: у детей раннего возраста низкий уровень специфических IgE (в возрасте до 2х лет к БКМ 5kU/l обладает 95% диагностической значимостью). Повышение уровня специфических IgE свидетельствует о наличии у ребенка сенсibilизации к пищевому аллергену, при этом высокий титр антител свидетельствует о более высокой вероятности ПА и необходимости длительной элиминации аллергена.

Полученные данные должны быть интерпретированы в комплексе с клинической картиной и результатами диетодиагностики с учетом возможности ложноположительных и ложноотрицательных результатов. В частности, дети с гастроинтестинальными проявлениями часто имеют нормальный уровень специфических IgE, что не исключает наличие у них ПА [38, 273].

Не нашли применения в практическом здравоохранении такие тесты, как антигенной стимуляции клеток (cellular allergen stimulation test, CAST), стимуляции базофилов FAST (flow-cytometric basophil stimulation test), метод иммуоблота (основан на разделении белковых смесей в зависимости от их молекулярной массы, позволяет выявить аллергенспецифические антитела к различным белкам), реакция торможения миграции лейкоцитов, отражающая гиперчувствительность замедленного типа, реакция бластной трансформации лейкоцитов, базофильный тест (тест Шелли) прямой и непрямой, определяющие наличие сенсibilизации при немедленном типе гиперчувствительности [187, 268]. Но совсем недавно в исследовании «Маркеры аллергии на орехи» базофильный тест подтвердил свою эффективность в отношении аллергии у детей с множественной сенсibilизацией к нескольким видам орехов [127, 187].

Методами диагностики ПА, не имеющими качественной доказательной базы, не рекомендуемые Европейской академией аллергологии и клинической иммунологии (EAACI), 2008, Американской академией аллергологии астмы и иммунологии (AAAAI) и Канадским обществом аллергологии и клинической иммунологии (CSACI), являются – измерение уровня 4-го субкласса

специфических иммуноглобулинов G (IgG), или IgG4-антител к пищевым антигенам [53], в недавнем исследовании группы из 137 детей и взрослых с аллергией на арахис были изучены различия между sIgE, IgG4- в результате которого более надежным биомаркером индукции толерантности был принят IgG4 [247]; цитотоксический тест с пищевыми антигенами; вегетативно-резонансное тестирование (VEGA); иригодиагностика; анализ состава волос; тестирование посредством методик прикладной кинезиологии [134, 146, 261].

Говоря о роли серологических исследований в выявлении аллергии к белкам коровьего молока у детей, стоит отметить, что в современных публикациях появляются указания на роль антител к свободным легким цепям иммуноглобулинов (Ig-FLC) в комплексе аллергодиагностики [19, 144].

Научную базу, свидетельствующую о диагностической значимости при аллергических заболеваниях, приобретает и фекальный кальпротектин (кальций- и цинк-связывающий белок семейства S100 кальгранулинов, содержащийся в цитоплазме нейтрофилов, в меньшей степени моноцитов, макрофагов, клеток костного мозга, сквамозного эпителия, эпителия слизистых оболочек, фибробластов и некоторых других клеток.

Образование и выделение этого белка резко возрастает при воспалительной реакции, что позволяет использовать его в качестве основного показателя кишечного воспаления, в том числе и аллергического. Выявлена прямая корреляция между уровнем фекального кальпротектина в кале и отягощенным аллергологическим анамнезом у детей [50, 103, 175, 178]. Однако, этот показатель не является специфическим для аллергического воспаления и может повышаться при аутоиммунной патологии, функциональных расстройствах кишечника, кишечных инфекциях и инвазиях [176, 177].

В настоящее время внимание исследователей обращено к такому маркеру аллергии, как эозинофильный катионный белок (ECP) – это один из основных медиаторов эозинофилов, представленных в слизистой оболочке ЖКТ и других

органов и высвобождаемый из их гранул в ответ на взаимодействие аллергена и IgE-иммуноглобулина. ECP обладает иммуномодулирующими свойствами, так как воздействует на лимфоциты и стимулирует иммунный ответ Th2-типа, его значение особенно выражено при аллергических заболеваниях. Концентрация ECP в крови возрастает при развитии аллергического воспаления, поэтому он рассматривается как маркер обострения аллергических заболеваний и может быть использован как для оценки активности, так и для контроля за лечением [167, 201, 203].

В современных источниках особое внимание уделяется мало- и неинвазивным методам диагностики аллергических заболеваний. Одним из маркеров ПА является 11,15-диоксо-9 $\alpha$ -гидрокси-2,3,4,5-тетранорпростан-1,20-диовая кислота (тетранор PGDM), которая была идентифицирована с помощью масс-спектрометрии как метаболит инфузировавшего простогландина-2 PGD<sub>2</sub>. Этот метаболит обнаруживается в моче и может служить маркером IgE-опосредованных аллергических реакций [174, 279].

Описано исследование в плазме крови уровня триптофана и его метаболитов (индоламин-2,3-диоксигеназы-1 (IDO-1)). Было показано, что индол-3-уксусная кислота - метаболит триптофана - уменьшает воспаление кишечника у младенцев и оказывает регулирующее действие на клетки Th2 и Th17 [110, 204].

Неинвазивным тестом для диагностики аллергического воспаления является определение эозинофильного нейротоксина (EDN) в кале. EDN высвобождается из гранул эозинофилов в местах их скопления, то есть аллергического воспаления. Метод позволяет диагностировать ПА даже в тех случаях, когда уровень IgE в крови не повышается. Кроме диагностики пищевой аллергии EDN применяют для дифференциации между пищевой аллергией и неаллергической пищевой непереносимостью, а также для оценки эффективности элиминационной диеты и противоаллергической терапии. Так как тест характеризует только эозинофильное воспаление, он более специфичен для диагностики ПА, хотя повышение EDN

отмечается и при воспалительных заболеваниях кишечника другого генеза [40, 194]. При стихании воспаления EDN также постепенно нормализуется, поэтому он используется для контроля за лечением аллергических заболеваний.

Kalach N., et al., 2012 в своем исследовании оценили диагностические показатели проницаемости кишечника (специфический белок IgE и IgG, прик-тест, патч-тест, провокационный тест на БКМ) и фекальные маркеры (эозинофильный протеин), по сравнению со стандартной аллергической диагностикой у детей. У новорождённых с проявлениями аллергической энтеропатии обнаружена связь выраженности клинических проявлений с повышением уровня эозинофильного нейротоксина [166, 197].

Эндоскопическое исследование верхних и нижних отделов желудочно-кишечного тракта с морфологическим исследованием биоптатов показано пациентам с выраженными жалобами со стороны ЖКТ, задержкой физического развития, железодефицитной анемией, которые не удается объяснить другими причинами, а также при диарее, сохраняющейся после перевода ребенка на парентеральное питание и усиливающейся после приема пищи [100]. Макроскопически обнаруживают эритему, эрозии, нодулярность или полипоидные разрастания в кишечнике.

При эозинофильных поражениях ЖКТ установить диагноз позволяет гистологическое исследование. Диагностическим критерием эозинофильной патологии является наличие в одном биоптате слизистой оболочки отдела ЖКТ как минимум 15-20 эозинофилов в поле зрения микроскопа высокого разрешения (400) [168, 169]. Однако в слепой кишке порог должен быть установлен на более высоких значениях, так как нормальным в этом отделе считается наличие до 40 эозинофилов в поле зрения, а в толстой кишке в до 16. В связи с тем, что патологические изменения носят фокальный характер, необходимо брать не менее 5 биоптатов из каждого отдела пищеварительной трубки, причем биопсию следует делать как из измененных, так и из внешне нормальных участков [170, 171, 264]. Было отмечено,

что присутствие внутриэпителиальных эозинофилов и эозинофилов в пейеровых бляшках, а также внеклеточное отложение эозинофильных МВР способствует развитию эозинофильного эзофагита [150]. Гиперплазия крипт, некроз эпителиальных клеток, атрофия ворсинок или абсцессы также распространены при эозинофильном эзофагите. Могут присутствовать инфильтраты тучных клеток и гиперпластические мезентериальные лимфатические узлы, инфильтрированные эозинофилами.

Интересно, что существуют данные, свидетельствующие о том, что дегрануляция, наблюдаемая при гистологическом исследовании, может зависеть от метода забора ткани во время биопсии. В частности, повышенная дегрануляция эозинофилов наблюдается в ткани, полученной с помощью эндоскопических щипцов, по сравнению со скальпелем.

Многоликость клинических проявлений, сложность в диагностике пищевой аллергии, а также недостаток знаний о патогенезе заболевания приводит к несоответствующей терапии пищевой аллергии, ухудшению качества жизни всей семьи (экономические затраты на лечение, специализированные продукты питания). Это делает актуальным поиск новых способов решения проблемы пищевой аллергии, таких как – внедрение современных малоинвазивных методик диагностики, профилактики и лечения [17, 44, 45].

Своевременная диагностика пищевой аллергии крайне важна для правильной постановки диагноза, тактики ведения, возможности избежать безрезультатную и нередко негативно отражающуюся на качестве жизни ребёнка диетотерапию и медикаментозное лечение [31].

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Общая характеристика дизайна исследования, групп детей

Для реализации поставленной цели нами проведено обследование с последующим наблюдением 140 детей раннего возраста (от 1 месяца до 3-х лет) на базе консультативно-диагностической поликлиники и отделения младшего возраста ГБУЗ «Самарская областная клиническая больница им. В.Д. Середавина» (главный врач – д.м.н. С.Ю. Пушкин, заместитель главного врача по педиатрии – Н.Н. Короткова) в течение 2017-2021 гг.

Дизайн исследования двухэтапный, смешанный. На первом этапе он представлял собой одномоментное обсервационное исследование типа «случай-контроль». В группу «случай» входило 70 детей с ХД, в группу «контроль» входило аналогичное количество детей соответствующего возраста I и II групп здоровья, которые отбирались с максимальным соответствием по методу «копи-пара». Целью данного этапа было определение особенностей анамнеза, физического развития и комплексная оценка состояния здоровья детей раннего возраста с ХД.

На втором этапе группа детей с ХД по результатам теста на EDN кала была разделена на 2 подгруппы - с нормальным уровнем EDN (1-я подгруппа) и с высоким (2-я подгруппа). Целью данного этапа была разработка алгоритма выявления аллергического генеза ХД у детей раннего возраста на основе определенных в ходе реализации исследования факторов риска и уровня EDN. Референсные значения EDN определялись по результатам обследования 30 детей соответствующего возраста из группы контроля.

Согласно полученным данным, концентрация EDN в кале у этих детей составила 95 нг/мл [95% ДИ 82 – 108 нг/мл]. Таким образом, уровень 108 нг/мл был принят нами как точка разделения детей с хронической диареей на 2 группы – «случай» (EDN >108 нг/мл) и «контроль» (EDN ≤108 нг/мл). С учетом этого

порогового показателя группу с нормальным уровнем EDN составили 32 (45,7%) ребенка, с высоким уровнем – 38 (54,3%) детей (Рисунок 1).

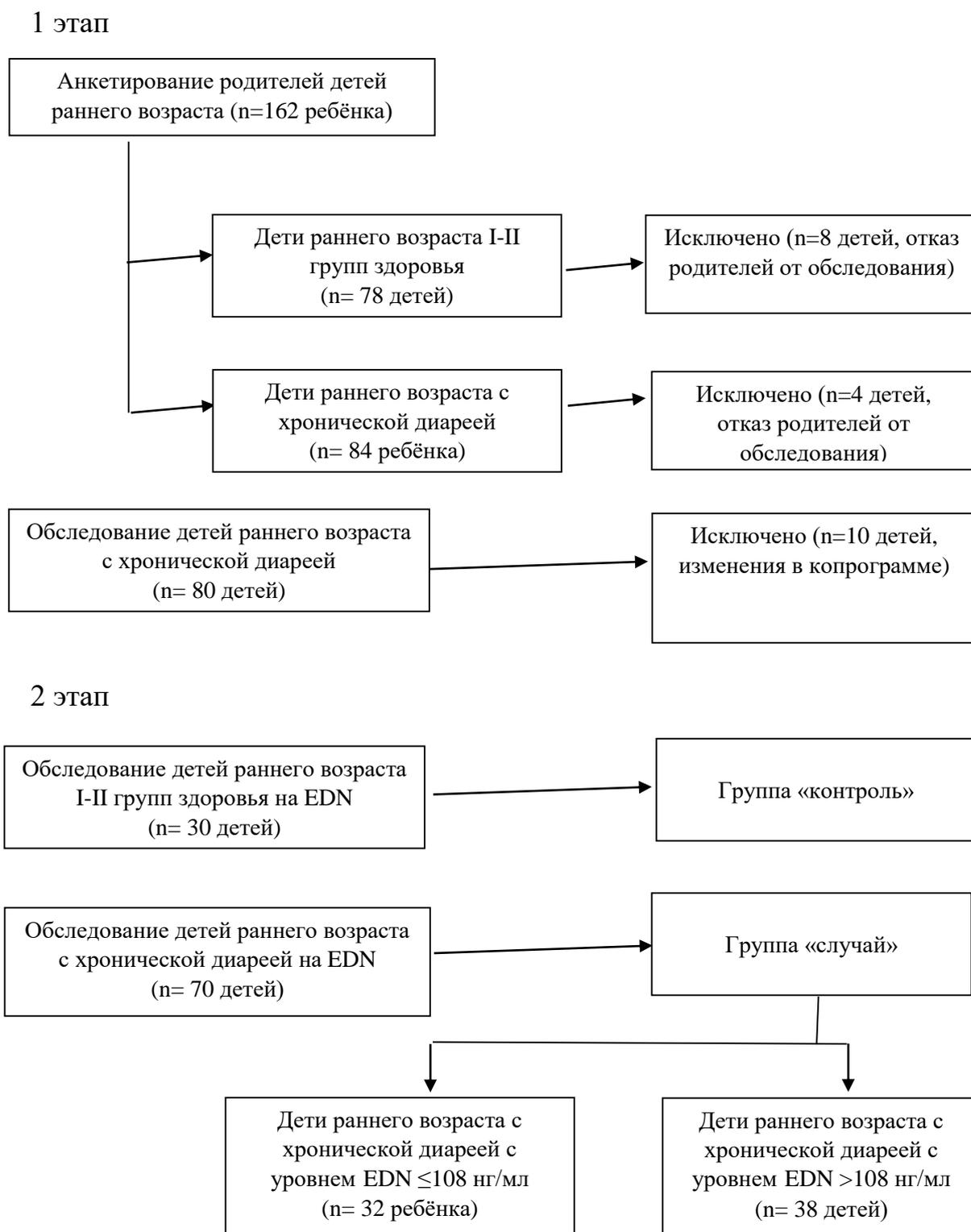


Рисунок 1 - Этапы исследования и принцип формирования групп

Проведение исследования было одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. С законными представителями всех детей, включенных в исследование, проведена беседа и подписано добровольное информированное согласие.

Критерии включения в исследуемую группу: дети раннего возраста с диареей, продолжающейся более 28 дней, согласие родителей на участие в данном исследовании.

Критерием исключения было наличие паразитарных и острых инфекционных заболеваний кишечника, хронических инфекционных заболеваний, ВЗК, целиакия, наличие тяжелых пороков ЖКТ и поражений центральной и периферической нервной систем, несоблюдение родителями протокола исследования.

После выделения групп сравнения по признаку уровня EDN в кале, между ними проводилось сравнение частоты факторов риска, клинических и лабораторных данных.

Для оценки значимости различий категориальных переменных применяли критерий Пирсона  $\chi^2$ , подсчитывали отношение шансов (ОШ).

В результате статистического анализа нами были определены наиболее диагностически значимые признаки, определен их диагностический коэффициент и разработан алгоритм диагностики гастроинтестинальной аллергии у детей с хронической диареей.

## **2.2 Общеклинические методы исследования**

Всем детям проводились физикальные и лабораторные методы обследования (Таблица 1).

Оценка состояния детей включала клинический осмотр и сбор анамнеза, лабораторно-инструментальные методы, а также специальные методы исследования (определения уровня эозинофильного нейротоксина в кале). С помощью онлайн-инструмента, разработанного ВОЗ - анализатора Anthro (2011),

проводился анализ антропометрических данных детей по четырем показателям: длина тела/рост к возрасту, масса тела к возрасту, масса тела к длине тела, масса тела к росту и индекс массы тела к возрасту.

Особое внимание уделялось анализу материнских факторов риска беременности и родов, использованию антибиотиков матерью и ребенком в неонатальном периоде, виду вскармливания ребенка, срокам введения и блюдам прикорма.

Из стандартных лабораторных методов нами проводились: общий и биохимический анализ крови, копрологическое исследование, иммунологические методы, уровень общего иммуноглобулина Е в крови. Кратность обследований и их общее число у детей с ХД представлены в таблице 1. Кроме этого, для определения референтных значений исследуемых показателей, нами обследовались дети группы сравнения.

Таблица 1 - Виды и кратность лабораторных обследований детей с ХД

№п/п	Вид обследований	Кратность обследования	Общее число исследований
1.	Общий анализ крови	1 раз при первичном приеме	140
2.	Биохимический анализ крови (общий белок, Алат, Асат, билирубин)	1 раз при первичном приеме	140
3.	Определение уровня END в кале	1 раз при первичном приеме	140
4.	Копрограмма	1 раз при первичном приеме	140
5.	Посев кала на УПФ	1 раз при первичном приеме	140

6.	Определение общего иммуноглобулина Е в крови	1 раз при первичном приеме	140
----	--	----------------------------	-----

### 2.3 Специальные методы исследования

Параллельно с общепринятыми методами оценки аллергической настроенности организма определяли в кале уровня биомаркера пищевой аллергии - эозинофильный нейротоксин (EDN). Для этой цели использовался набор Immundiagnostik EDN ELISA Kit (ELISA).

Пробы кала для определения EDN собирались однократно. Далее происходила заморозка проб в морозильной камере при температуре - 20°C с сроком хранения до 8 недель. Непосредственно перед проведением иммуноферментного анализа пробы подвергались разморозке и подготовке образцов к экстракции по методике «Stool Sample Application System (SAS)»: 15мг кала вносится в пустые пробирки, куда добавляется 1,5 мл экстрагирующего буфера (разведенного 1:2,5 IDK Extract), пробирка хорошо встряхивается до полного растворения образца. Образец оставляется на 10 минут до тех пор, пока не образуется осадок. Следующий этап - разведение в соотношении 1:4 экстрагированных образцов кала буфером для промывок (100мкл экстрагированного образца + 300мкл буфера для промывок). Для анализа использовалось 100мкл конечного разведения на лунку.

Все исследования по определению EDN в кале проводились в генетической - лаборатории ГБУЗ «СОКБ им. В.Д. Середавина» (биологом Дубинской М.Д.). Для определения уровня EDN в кале использован количественный метод, основанный на иммуноферментном анализе по методу «сэндвич». Используя набор, Immundiagnostik EDN ELISA Kit, стандарты, контроль и предварительно разведенные образцы, вносили в лунки микропланшета, покрытые высокоаффинными моноклональными антителами к человеческому EDN, в результате происходило связывание образца с антителами, иммобилизованными

в лунках. Затем во все лунки вносились поликлональные антитела к EDN, конъюгированные с пероксидазой, в результате чего образуется «сэндвич»: захватывающие антитела – человеческие EDN – антитела, конъюгированные с пероксидазой. В качестве субстрата пероксидазы используется тетраметилбензидин (ТМВ). Для остановки цветной реакции в лунки вносится кислый стоп-раствор. Окрашивание при этом меняется с голубого на желтое. Интенсивность желтого окрашивания прямо пропорциональна концентрации EDN в кале.

Калибровочную кривую (единицы абсорбции, оптическая плотность, ОП против концентрации калибраторов) строили, используя значения ОП, полученные для стандартов. Концентрацию EDN, присутствующего в образцах, определяли непосредственно по калибровочной кривой.

#### **2.4 Методы статистической обработки полученных результатов**

Для решения поставленных целей и задач нами использовались принятые в доказательной медицине методы количественного и качественного анализа данных.

Материалы данного исследования были статистически обработаны с использованием методов вариационной статистики с позиции доказательной медицины (Г.П. Котельников, А.С. Шпигель, 2012). Накопление, корректирование, систематизация полученных данных и визуализация результатов осуществлялась на персональном компьютере в операционной системе Windows 7 Professional Edition, с использованием специализированного пакета программ SPSS 25 PS IMAGO 4.0 (IBM Corporation, Armonk, New York, США, лицензия № 5725-A54).

У всех количественных признаков предварительно проверяли соответствие нормальному закону распределения с помощью критериев Шапиро–Уилка и Колмогорова–Смирнова с поправкой Лилифорса. Переменные, рассматриваемые как модификация нормального распределения, в которых вычислялись средняя

арифметическая величина ( $M$ ), среднее квадратическое отклонение ( $Sd$ ). Совокупности количественных показателей, распределение которых отличалось от нормального, описывались при помощи значений медианы ( $Me$ ) и нижнего и верхнего квартилей ( $Q1;Q3$ ).

Оценка достоверности различий между средними величинами проводилась с помощью t-критерия Стьюдента. Если t-критерий больше стандартного значения при заданной доверительной вероятности  $p < 0,05$ , рассматриваемый параметр достоверен и значим (значимость 95%, вероятность ошибки 5%).

Для сравнения выборочных величин двух независимых выборок был использован критерий Фишера. Критические значения критерия Фишера находятся по величинам  $k_1$  и  $k_2$ , если  $t_{эмп} > t_{крит}$ , - нулевая гипотеза верна, в противном случае принимается альтернативная.

Для некоторых признаков выявлены отклонения от нормальности: в частности, для EDN, уровня IgE, эозинофилии, клеток крови в кале. Поэтому в работе использовались как основанные на параметрах распределения, так непараметрические методы анализа.

Для номинальных признаков использован анализ таблиц сопряженности с расчётом критерия хи-квадрат Пирсона ( $\chi^2$ ).

Дополнительно для количественной оценки влияния того или иного признака на риск патологического состояния рассчитывали отношение шансов (ОШ) и его 95% доверительный интервал (95% ДИ).

Исследование взаимосвязей выполняли с помощью корреляционного анализа с определением корреляции Спирмена (при  $r \geq 0,7$  говорит о наличии сильной связи между признаками,  $0,3 < r < 0,7$  – о связи средней силы,  $0 < r < 0,3$  – о слабой связи, 0 – об отсутствии линейной связи между переменными, а 1 – о наличии полной или функциональной связи между признаками).

Для разработки прогностической шкалы предварительно оценивали информативность признаков путем расчета расстояния Кульбака-Лейблера

(Kullback, S. 1951) (Kullback-Leibler divergence). При разработке самой шкалы учитывали полученные информативности Кульбака-Лейблера, а также экспертные оценки специалистов.

Для оценки информативности и разрешающей способности диагностического метода применялась оценка его чувствительности, специфичности.

Прогностическую способность полученной шкалы тестировали с помощью ROC-анализа. ROC-кривая (англ. *receiver operating characteristic*, кривая операционной характеристики теста) — график, отображающий соотношение между долей верных положительных классификаций от общего числа положительных значений с долей ошибочных положительных классификаций от общего числа отрицательных значений при варьировании точки разделения (*cut off*). Фактически ROC-кривая отражает соотношение чувствительности (ось ординат) и единицы минус специфичности (ось абсцисс). В качестве меры успешности диагностики использовали площадь под графиком, или AUC — *Area under curve*, которое варьирует от 0,5 при случайном угадывании до 1 при идеальной классификации. Для всех видов анализов результаты считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## **ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ**

### **3.1. Факторы риска хронической диареи**

Клиническая характеристика детей проводилась по комплексу данных. Особое внимание уделялось отягощённости антенатального анамнеза, наследственной отягощённости по аллергическим заболеваниям и патологии ЖКТ, приему антибиотиков в неонатальном периоде и другим факторам. В двух третях случаев 46 детей (65,7%) поводом для обращения за медицинской помощью была ХД, а у 24 детей (34,3%) диарейный синдром выявлялся путем активного опроса при обращении в связи с атопическим дерматитом, дефицитом массы тела, абдоминальными болями и другими проблемами ребенка. Такая ситуация обуславливает необходимость активного выявления диарейного синдрома у детей при обращении с любой патологией.

При анализе данных материнского анамнеза выявлено, что у большинства женщин в обеих группах отмечалась достаточно высокая распространенность неблагоприятных факторов, таких как хроническая урогенитальная инфекция, анемия беременных, ранний токсикоз, острые респираторные инфекции во время беременности (Таблица 2).

Таблица 2 - Особенности акушерско-гинекологического анамнеза у женщин

Фактор риска	Контрольная группа (n=70)		Дети с хронической диареей (n=70)		ОШ 95% ДИ; $\chi^2$ ; p
	Абс.	%	Абс.	%	
ХУГИ у матери	11	15,7	32	45,7	4,5 (2,04-10,02); $\chi^2 = 14,8$ ; p<0,001
Анемия беременных	17	24,3	24	34,3	1,63 (0,78-3,4); $\chi^2 = 1,69$ ; p=0,19
Ранний токсикоз	15	21,4	12	17,1	0,76 (0,33-1,76); $\chi^2 = 0,41$ ; p=0,52
ОРВИ во время беременности	19	27,1	17	24,9	0,86 (0,40-1,84); $\chi^2 = 0,15$ ; p=0,69

При статистическом анализе достоверное различие между группами было выявлено по такому фактору, как хроническая урогенитальная инфекция у матери.

При сборе анамнеза выявлено, что у детей с ХД достоверно чаще, чем среди условно-здоровых отмечается отягощённость по аллергическим заболеваниям, патологии ЖКТ, в том числе пищевой непереносимости (p=0,003) (Рисунок 2). Нередко неблагоприятный наследственный анамнез отмечался у нескольких членов одной семьи.

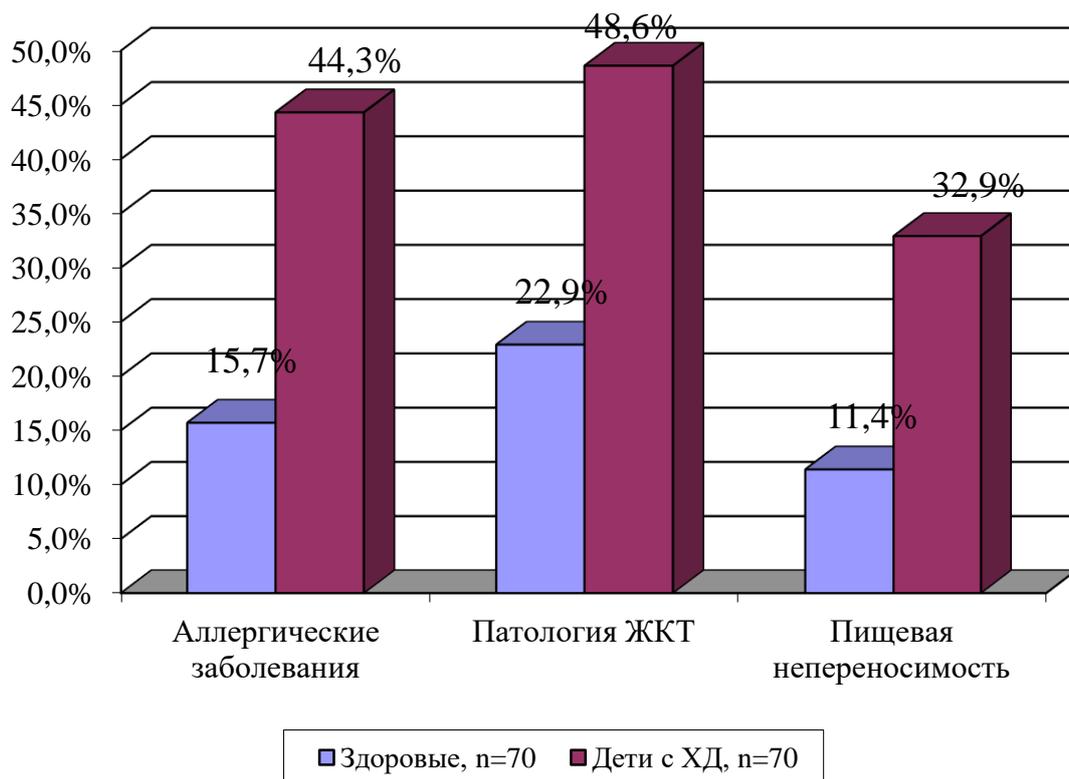


Рисунок 2 - Наследственная отягощённость по заболеваниям желудочно-кишечного тракта, аллергической патологии и пищевой непереносимости у здоровых и детей с ХД

Тот факт, что у детей с ХД наследственность практически в равной мере отягощена по патологии ЖКТ и аллергическим заболеваниям, позволяет предположить, что в развитии хронического диарейного синдрома участвуют как аллергические, так и неаллергические механизмы. При этом в обеих группах с одинаковой частотой встречались гастриты, язвенная болезнь и холециститы, а наличие пищевой непереносимости у родственников детей с ХД отмечается достоверно чаще ( $\chi^2=9,3$ ;  $p=0,003$ ).

Течение беременности и родов является также немаловажным фактором, определяющим здоровье детей [59, 99]. Нами получены результаты, свидетельствующие о значимости рождения путём Кесарева сечения в развитии ХД у детей раннего возраста (ОШ 4,79 95% ДИ 2,05-11,2;  $\chi^2 =14,4$ ;  $p<0,001$ ) и,

напротив, протективном действии самостоятельных срочных родов без осложнений (Таблица 3).

Таблица 3 - Частота встречаемости некоторых перинатальных факторов у здоровых и детей с ХД

Факторы риска	Условно-здоровые (n=70)		Дети с хронической диареей (n=70)		ОШ 95% ДИ; $\chi^2$ ; p
	Абс.	%	Абс.	%	
Рождение путем Кесарева сечения*	9	12,8	29	41,4	4,79 (2,05-11,2) $\chi^2 = 14,4$ ; p<0,001
Самостоятельные срочные роды без осложнений*	59	84,3	33	47,1	0,17 (0,08-0,4) $\chi^2 = 21,4$ ; p<0,001
Преждевременные роды	2	2,86	8	11,4	4,39 (0,49-21,5) $\chi^2 = 3,87$ ; p=0,04
Слабость родовой деятельности	15	21,4	13	18,6	0,84 (0,36-1,92) $\chi^2 = 0,18$ ; p=0,67
Длительный безводный период (более 6 часов)	4	5,71	9	12,8	2,43 (0,71-8,31) $\chi^2 = 2,12$ ; p=0,15

\* – разница статистически значима (p<0,05)

Во время родов, особенно во втором периоде, который наступает после полного открытия шейки матки, имеется много механизмов, которые могут привести к острой гипоксии: обвитие шеи пуповиной, препятствие со стороны костей таза роженицы, применение вакуум-экстрактора. Тяжесть воздействия указанных факторов и иных неблагоприятных воздействий антенатального периода непосредственно после родов позволяет оценить шкала Апгар. При этом показатель менее 7 баллов расценивается как тревожный, такие дети требуют дополнительного внимания. Согласно имеющимся данным, в группе детей с ХД

неблагоприятные интранатальные факторы, а также снижение показателя по шкале Апгар ниже 7 баллов встречались чаще, однако различия недостоверны ( $p=0,46$ ) (Рисунок 3).

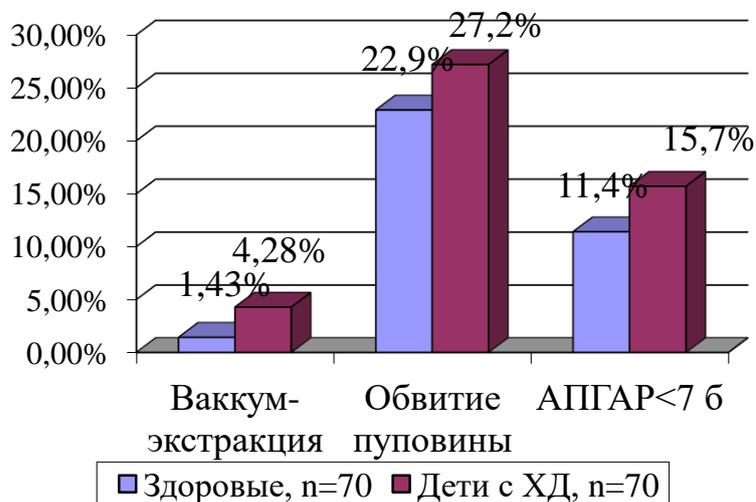


Рисунок 3 - Частота неблагоприятных интранатальных факторов у здоровых и детей с ХД (%)

Рациональное и сбалансированное питание растущего организма ребёнка является основной составляющей его физического и психического развития. Несомненно, что грудное молоко является естественным биологическим продуктом питания для ребёнка первого года жизни, и чем раньше ребёнок будет приложен к груди матери, тем меньше риск колонизации ЖКТ патогенной флорой окружающей среды [35].

Согласно полученным в ходе исследования данным, в группе условно-здоровых детей в 1,5 раза чаще отмечалось прикладывание к груди в родовом зале, в то же время у детей с ХД чаще отмечалось прикладывание к груди позже первых суток или искусственное вскармливание с рождения; во всех перечисленных случаях различия достоверны ( $p<0,05$ ) (Рисунок 4).

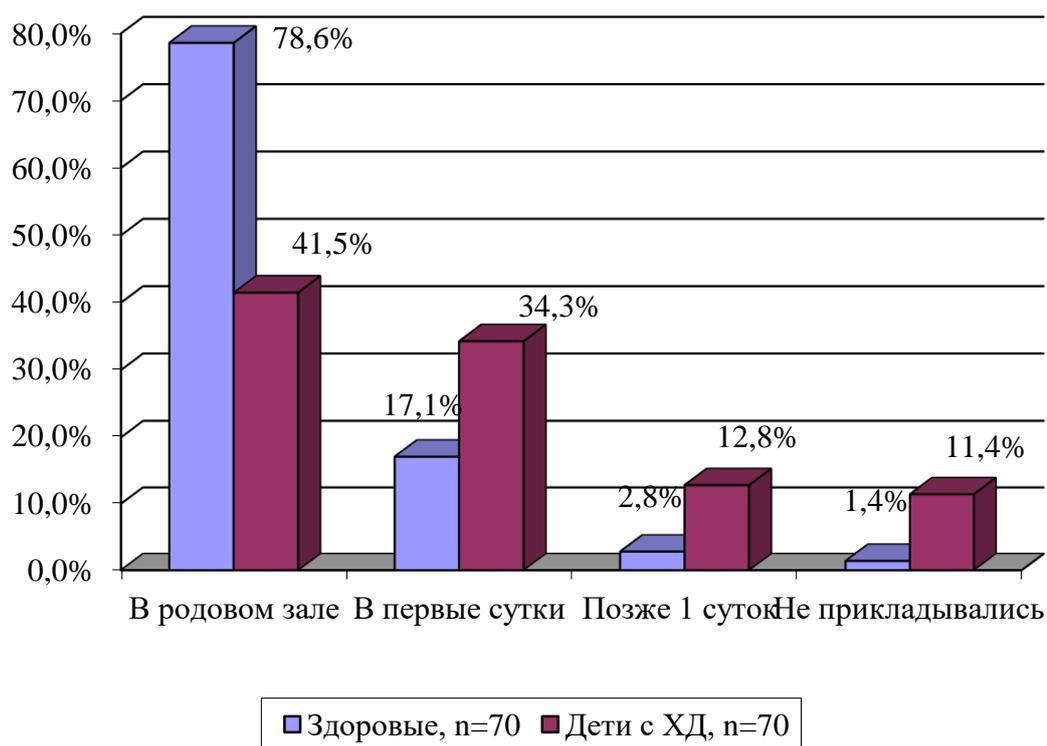


Рисунок 4 - Сроки прикладывания к груди здоровых и детей с ХД

Так же нами проанализирована возможная взаимосвязь между риском формирования ХД и продолжительностью грудного вскармливания. Согласно полученным данным ранний, до 3 месяцев, перевод на искусственное вскармливание повышает риск ХД, различия достоверны (ОШ 2,94 95% ДИ 4,27-6,77,  $p=0,01$ ). Напротив, продолжительное, свыше 6 месяцев естественное вскармливание со своевременным адекватным введением прикорма обладает протективным по отношению к ХД эффектом (Таблица 4).

Таблица 4 - Продолжительность грудного вскармливания у здоровых и детей с ХД

Продолжительность	Условно-здоровые дети (n=70)		Дети с ХД (n=70)		ОШ 95%ДИ; $\chi^2$ ; p
	Абс.	%	Абс.	%	
Искусственное с рождения	1	1,43	8	11,4	8,9 (1,08-73,2); $\chi^2=5,8$ ; p=0,02
До 3 месяцев	10	14,3	23	32,8	2,94 (1,27-6,77); $\chi^2=5,9$ ; p=0,01
3-6 месяцев	17	24,3	23	32,8	1,5 (0,7-3,2); $\chi^2=1,26$ ; p=0,26
Более 6 месяцев	42	60	16	22,9	0,2 (0,1-0,4); $\chi^2=19,9$ ; p<0,01

При анализе особенностей неонатального периода в группе детей с ХД выявлена большая частота локальных гнойно-воспалительных заболеваний в виде везикулопустулёза, омфалита, конъюнктивита – 31,4% (22 ребенка) по сравнению с группой условно-здоровых детей – 10,0% (7 детей) ( $\chi^2=9,78$ ; p=0,002).

Известно, что антибиотикотерапия в неонатальном периоде, особенно в раннем, является важным фактором нарушения контаминации кишечника и формирования иммунологической реактивности ребенка. По нашим данным антибактериальную терапию в неонатальном периоде по поводу локальных гнойно-воспалительных заболеваний и по иным причинам получали 40,0% (28 детей) группы ХД и 15,7 % (11 детей) из группы сравнения, различие достоверно (ОШ 3,5 95% ДИ 1,6-7,9, p=0,002).

У детей с ХД на первом году жизни чаще регистрировались рахит (ОШ 7,58 95% ДИ 3,05-18,8), анемия (ОШ 1,5 95% ДИ 0,62-3,65), а так же эпизоды острых

кишечных инфекций (ОКИ) (ОШ 4,35 95% ДИ 2,08-9,12), дефицит массы тела (ОШ 2,49 95% ДИ 0,99-6,22) (Рисунок 5).

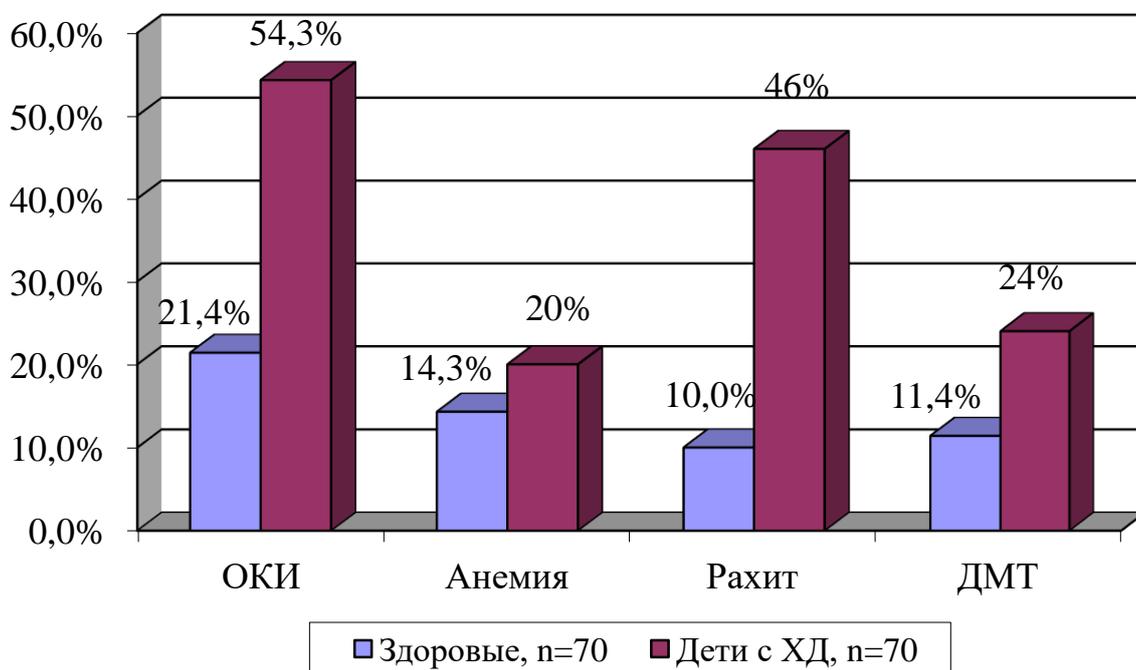


Рисунок 5 - Частота регистрации некоторых патологических состояний на первом году жизни у детей с ХД и здоровых

Так же нами выявлены особенности состояния здоровья детей с ХД. Важным компонентом в комплексной оценке состояния здоровья является физическое развитие ребенка. Согласно полученным нами результатам у детей с ХД отмечается определенный дефицит массо-ростовых показателей.

Мы проанализировали антропометрические показатели детей с помощью программы ВОЗ Anthro по показателям Z-score роста, массы тела и индекса массы тела относительно возраста, а также Z-score массы тела относительно роста. Было выявлено, что дети с ХД имели диапазон массы тела в пределах – от 4,51 до 19 кг, рост – 56 -104 см. Z-score роста относительно возраста - 0,37 [-1,69; 4,29]; Z-score массы тела относительно возраста – 0,33 [-2,62; 3,52]; Z-score массы тела относительно роста – -0,15 [-2,69; 3,52]. Z-score индекса массы тела относительно возраста – -0,28 [- 2,96; 2,52].

При сравнении показателей физического развития в группах детей раннего возраста с ХД и условно-здоровых детей установлено, что в группе детей с хронической диареей достоверно чаще наблюдается дефицит массы тела относительно роста и ИМТ ребенка (Таблица 5).

Таблица 5 - Частота показателей физического развития среди здоровых и детей с ХД

Показатели	Условно-здоровые дети (n=70)		Дети с ХД (n=70)		$\chi^2$ ; p
	Абс.	%	Абс.	%	
Рост/возраст	8	11,4	11	15,7	0,54; p = 0,46
Масса тела/возраст	4	5,71	6	8,57	0,43; p = 0,51
Масса тела/рост	8	11,4	17	24,3	3,94; p = 0,04
ИМТ	6	8,57	14	20,0	3,73; p = 0,05

При лабораторном исследовании крови в группах детей с ХД выявлено снижение гемоглобина у 22 детей (31,4%), в этой группе достоверно снижен не только уровень гемоглобина, но и содержание гемоглобина в одном эритроците (МСН). Кроме этого, практически у половины детей с ХД отмечена эозинофилия у 33 детей (47,1%). Установлено достоверное различие между числом эозинофилов в лейкоформуле у детей с ХД и здоровых ( $p < 0,05$ ) (Таблица 6).

Таблица 6 - Особенности общего анализа крови у здоровых и детей с ХД диареей

Лабораторные показатели крови	Условно-здоровые дети (n=70)	Дети с ХД (n=70)	t-критерий Стьюдента, p
*Гемоглобин, г/л	128,8 (13,6)	121,6 (10,8)	t-критерий 3,47; <0,001
**Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л	4,1 (3,0; 5,0)	4,5 (3,0; 5,0)	0,992
**Гематокрит, %	36 (32; 38)	33 (31; 36)	0,133
**МСV, fl	78,5 (76; 82,25)	77 (75; 83)	0,193
**МСН, пг	30 (28; 32)	25 (23; 30)	<0,001
**Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	8 (5,25; 8,75)	8 (5,0; 9,0)	0,477
**Эозинофилы, %	1 (0; 3,0)	8 (0; 4,0)	0,056

\*- нормальное распределение, М (σ), t критерий Стьюдента

\*\* - распределение, отличное от нормального Me (Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>), U критерий Манна-Уитни

При сравнении биохимических показателей крови у детей с ХД и здоровых выявлено некоторое снижение общего белка и глюкозы в группе у детей с диареей. Достоверное повышение АсАТ мы объясняем лекарственной нагрузкой, которую испытывают дети с ХД при повторных курсах «деконтаминации» кишечника (Таблица 7).

Таблица 7 - Особенности некоторых показателей биохимического анализа крови у здоровых и детей с ХД

Лабораторные показатели крови	Условно-здоровые дети (n=70)	Дети с ХД (n=70)	Критерий значимости, p
**Общий белок, г/л	65 (58; 72)	58 (50; 64,25)	<0,001
**Альбумин, г/л	44 (42; 51)	45 (38; 51)	0,303
**Глюкоза, ммоль/л	3,9 (3,0; 5,0)	3,3 (2,75; 4,0)	0,037
**АЛАТ, ед/л	24 (21,75; 27)	24 (20; 28)	0,696
**АСАТ, ед/л	25,5 (21; 31)	51 (42,75; 57)	<0,001
**Диастаза, ед/л	47,5 (38; 59)	50 (42; 58,5)	0,362
**Мочевина, ммоль/л	4,1 (2,0; 5,0)	4,15 (2; 5)	0,561
**Креатинин, ммоль/л	37 (32; 48,75)	38 (34; 46)	0,453

\*- нормальное распределение, М ( $\sigma$ ), t критерий Стьюдента

\*\* - распределение, отличное от нормального Me (Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>), U критерий Манна-Уитни

У 72,9% детей с ХД при копрологическом исследовании были выявлены существенные отклонения: в 42,2% - большое количество жирных кислот и нейтрального жира (стеаторея), признаки воспаления - большое количество

лейкоцитов у 37,0% (ОШ 3,54 95% ДИ 1,55-8,1;  $\chi^2=9,57$ ;  $p=0,02$ ), слизи 28,6% (ОШ 2,4 95% ДИ 1,03-5,59;  $\chi^2=4,2$ ;  $p=0,04$ ), эритроциты 24,3% (ОШ 10,9 95% ДИ 2,41-49,3;  $\chi^2=13,7$ ;  $p<0,01$ ), всего коли-дистальный синдром выявлялся у 48,6% детей с ХД (Рисунок 6).

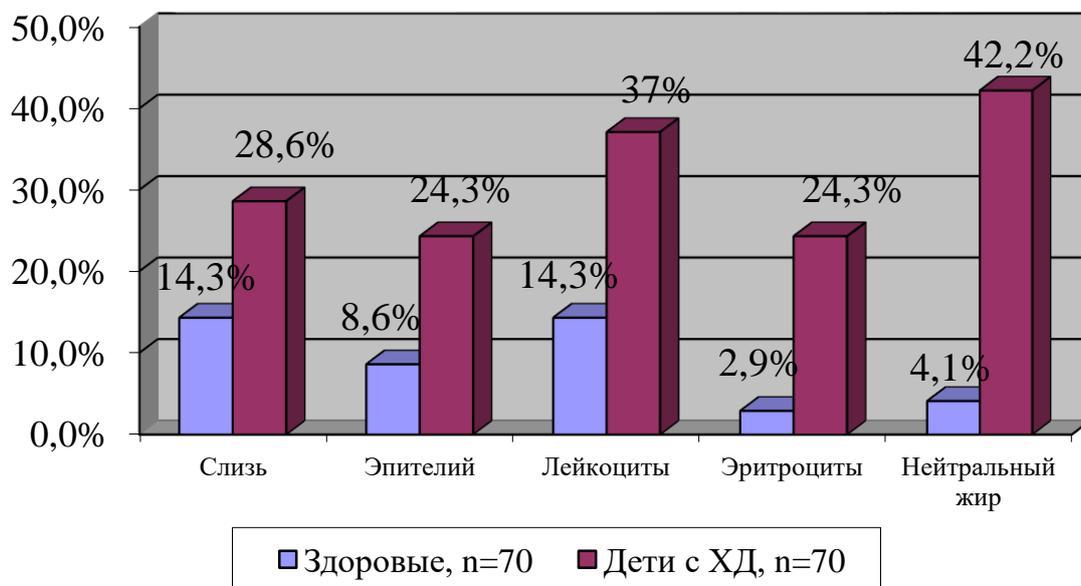


Рисунок 6 - Частота копрологических симптомов у здоровых и детей с ХД

Сравнение микробного пейзажа в фекалиях детей обеих групп показало, что при ХД отмечается снижение роста облигатной флоры бифидобактерий (68,6% детей) и лактобактерий (47,1% детей) и избыточный рост условно-патогенной флоры *Klebsiella* spp. (34,3%), *E. coli* с гемолизирующими свойствами (31,4%); во всех случаях различия с группой условно-здоровых детей достоверны ( $p<0,05$ ) (Таблица 8).

Таблица 8 - Частота отклонений от нормы в составе микробиоты кишечника у здоровых и детей с ХД

Название микроорганизма, пороговое значение отклонения от нормы	Дети с ХД n (%; 95% ДИ)	Условно-здоровые дети n (%; 95% ДИ)	P
<i>Bifidobacterium</i> , менее $10^9$	48 (68,6%; 57-78,2)	7 (10,0 %; 4,9-19,2)	<0,01
<i>Lactobacterium</i> , менее $10^7$	33 (47,1%; 35,9-58,7)	9 (12,9%; 6,9-22,6)	<0,01
<i>E. coli</i> , нормальная, менее $10^7$	12 (17,1%; 10,1- 27,6)	10 (14,3%; 7,9-24,3)	0,64
<i>E. coli</i> гемолизирующие, 0	22 (31,4%; 21,8-43,0)	9 (12,9%; 6,9-22,7)	0,009
<i>Klebsiella spp.</i> , больше $10^3$	24 (34,3%; 24,3-45,9)	8 (11,4%; 5,9-20,9)	0,002
<i>Enterobacter</i> , больше $10^3$	7 (10%; 4,9-19,2)	13 (18,6%; 11,2-29,2)	0,15
<i>Proteus spp.</i> , больше $10^3$	10 (14,3%; 7,9-24,3)	4 (5,7%; 2,2-13,8)	0,09
<i>Citrobacter</i> , больше $10^3$	7 (10%; 4,9-19,2)	5 (7,1%; 3,1-15,7)	0,55

Очевидно, что контаминация условно-патогенной флорой, наряду с подавлением роста облигатных микроорганизмов является не только следствием ХД, но и поддерживает диарейный синдром, приводя к персистирующему воспалению в кишечнике, что подтверждено нами копрологически, а также усугубляет мальабсорбцию, учитывая пищеварительные функции облигатной флоры.

Итак, состояние здоровья детей раннего возраста с хронической диареей характеризуется снижением физического развития по показателям массы тела относительно роста и ИМТ, анемией, нарушениями переваривания и всасывания, наличием коли-дистального синдрома копрологически у половины детей, дисбиозом кишечника с уменьшением численности облигатной флоры и контаминацией условно-патогенной флорой *Klebsiella spp.*, *E. coli* с гемолизирующими свойствами.

Факторами, увеличивающими риск ХД у детей раннего возраста, являются наличие у матери хронической урогенитальной инфекции, рождение путем Кесарева сечения, раннее искусственное вскармливание; антибиотикотерапия в неонатальном периоде, эпизоды острых кишечных инфекций на первом году жизни, а также отягощённая наследственность по аллергическим заболеваниям, патологии ЖКТ.

Результаты данного раздела исследований свидетельствуют о том, что ХД оказывает значительное влияние на состояние здоровья ребенка, его развитие. При этом не всегда сами родители определяют наличие ХД у ребенка. В части случаев (24 ребенка - 34,3%) диарейный синдром выявлялся медицинскими работниками путём активного опроса при обращении в связи с атопическим дерматитом, дефицитом массы тела, абдоминальными болями и другими проблемами ребенка. Такая ситуация обуславливает необходимость активного выявления диарейного синдрома у детей при обращении с любой патологией.

Еще одним важным аспектом при ХД является нозологическая диагностика, так как это позволяет проводить эффективную обоснованную терапию, включая диету. При анализе литературных источников нами установлено, что значительное место в структуре ХД принадлежит гастроинтестинальной пищевой аллергии, в связи с этим актуальна оптимизация алгоритмов диагностики этого состояния, что было проведено нами на следующем этапе исследования.

### **3.2. Клинико-лабораторные ассоциации при хронической диарее, протекающей с повышенным уровнем эозинофильного нейротоксина в кале**

В структуре ХД у детей раннего возраста, по разным данным от 18 до 36%, занимают диареи, связанные с пищевой аллергией [69, 180, 268]. Пищевая аллергия может протекать по различным патогенетическим механизмам: IgE- и не IgE-опосредованным, иммунокомплексным реакциям и гиперчувствительности замедленного типа. Считается, что патогенетическую основу ПА в большинстве случаев составляет сочетание различных типов иммунологических реакций [197].

Лабораторная диагностика истинной ПА направлена на установление причинно-значимых аллергенов, специфических аллергических антител или продуктов специфического взаимодействия антител с антигенами, а также на выявление реакций на пищевые продукты, протекающих по механизму гиперчувствительности замедленного типа [154, 179]. Полученные данные должны быть интерпретированы в комплексе с клинической картиной и результатами диетодиагностики с учетом возможности ложноположительных и ложноотрицательных результатов. В частности, дети с гастроинтестинальными проявлениями часто имеют нормальный уровень IgE, что не исключает наличие у них ПА [6, 100].

В настоящее время встаёт вопрос о маркерах ПА, обладающих большей чувствительностью и специфичностью [27]. Привлекает внимание эозинофильный нейротоксин (EDN - eosinophil-derived neurotoxin) или эозинофильный протеин X, один из протеинов эозинофилов, высвобождающийся из гранул в ответ на стимуляцию аллергеном [164, 194]. Повышение его концентрации в копрофильtrate отражает участие ЖКТ в аллергическом процессе [166, 197]. Эозинофилы являются универсальными маркерами аллергических реакций, независимо от их типа, следовательно, и повышение концентрации эозинофильного нейротоксина в биологическом субстрате отражает накопление этих клеток в тканях органа мишени, в данном случае кишечника.

На данном этапе исследования детям с ХД было проведено определение уровня эозинофильного нейротоксина в кале, для чего был использован количественный метод, основанный на иммуноферментном анализе по методу «сэндвич». Согласно полученным данным, уровень EDN в контрольной группе составил 95 нг/мл [95% ДИ 82 – 108] нг/мл. Таким образом, уровень выше 108 нг/мл был принят нами как повышенный. Среди детей с хронической диареей были выделены 2 группы с нормальным (45,7%) и высоким (54,3%) показателями EDN в копрофильtrate (Рисунок 7).

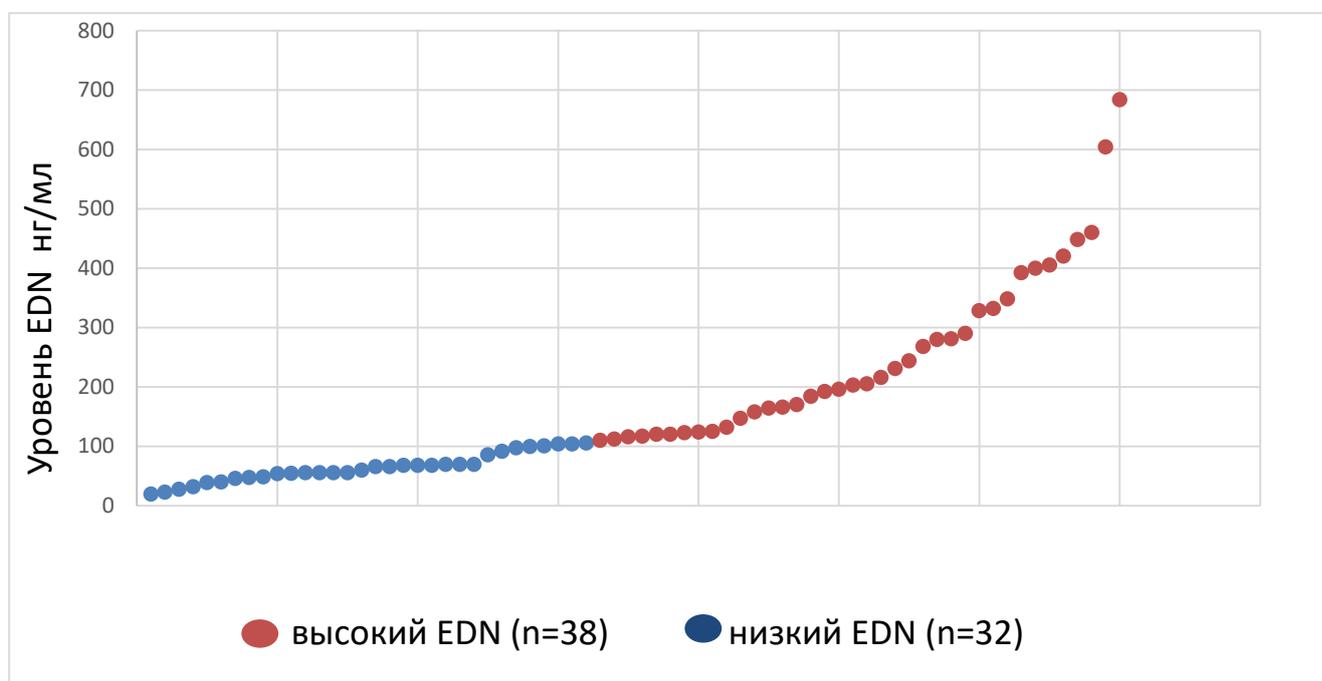


Рисунок 7 - Разброс показателей уровня EDN у детей с хронической диареей

Изучая распределение детей по поло-возрастным показателям в группах с высоким и нормальным уровнем EDN, мы выявили, что средний возраст детей был сопоставим, соответственно  $1,14 \pm 0,13$ ;  $1,36 \pm 0,14$  лет (Таблица 9).

Таблица 9 - Распределение по поло-возрастным показателям у детей с высоким и нормальным уровнем EDN

		<b>Дети с высоким уровнем EDN (n=38)</b>	<b>Дети с нормальным уровнем EDN (n=32)</b>
Пол	мальчики	24 (63%)	17 (53%)
	девочки	14 (37%)	15 (47%)
Возраст, годы (Me (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ))		1,19 (1,0; 30,75)	1,1 (1,0;50,0)

Выявлены достоверные различия в анамнестических данных в группах детей раннего возраста с высоким и нормальным показателем EDN. В группе с высоким уровнем EDN отягощённость семейного анамнеза по аллергии наблюдался в 57,9% (n=22), по сравнению с группой детей с нормальным уровнем EDN 28,1% (n=9) ( $\chi^2=6,24$ ,  $p=0,01$ ). Было установлено, что рождение путем Кесарева сечения преобладали в группе с нормальным уровнем EDN (n=17, 44,7%) соответственно (n=12, 37,5%) различия не достоверны ( $\chi^2=0,37$ ,  $p=0,54$ ) (Таблица 10).

Таблица 10 - Частота факторов риска у детей раннего возраста в группах с высоким и нормальным показателем EDN в кале

Фактор	Дети с высоким уровнем EDN (n=38)		Дети с нормальным уровнем EDN (n=32)		Коэффициент сопряженности $\chi^2$	Значимость различий, p
	N	%	N	%		
Отягощённый по аллергии анамнез	22	57,9	9	28,1	6,24	0,01*
Заболевания ЖКТ у родственников	20	52,6	14	43,8	0,55	0,46
Рождение путем Кесарева сечения	17	44,7	12	37,5	0,37	0,54
Прием антибиотиков ребенком до года	13	34,2	15	46,9	1,2	0,28
Прием антибиотиков матерью при грудном вскармливании	10	26,3	4	12,5	2,07	0,15
Ранний перевод на искусственное вскармливание	21	55,3	10	31,3	4,1	0,04

При оценке характера вскармливания и сроков введения прикорма, нами установлено, что раннее прикладывание к груди было отмечено с одинаковой частотой в обеих группах, достоверности различий не выявлено ( $\chi^2=0,98$ ,  $p=0,3$ ). Очевидно, это способствует нарушению формирования иммунологической толерантности кишечника, что опосредует развитие ПА. Однако у детей с высоким уровнем EDN в кале нерациональное введение прикормов наблюдалось чаще

(53%), чем у детей с нормальным уровнем EDN (25%) ( $\chi^2=5,5$ ,  $p=0,02$ ) (Таблица 11).

Таблица 11 - Характер и сроки вскармливания детей в группах с высоким и нормальным показателем EDN в копрофильtrate

Фактор		Дети с высоким уровнем EDN (n=38)		Дети с нормальным уровнем EDN (n=32)		Коэффициент сопряженности $\chi^2$	Значимость различий, p
		N	%	N	%		
Приложение к груди	До 1х суток	27	71,1	26	81,2	0,98	0,3
	Позже 1х суток	6	15,7	3	9,4	0,63	0,42
	Не приложен	5	13,2	3	9,4	0,24	0,62
Длительность грудного вскармливания	До 3х мес	21	55,3	10	31,3	4,16	0,04*
	3-6 мес	10	26,3	13	40,6	1,6	0,21
	>6 мес	7	18,4	9	28,1	0,93	0,34
Нерациональное введение прикорма		20	53	8	25	5,5	0,02*

*Примечание\** - статистически значимые различия при сравнении показателей в группе детей с нормальным и высоким EDN в кале при  $p<0,05$

Мы сравнили антропометрические показатели детей в группах с нормальным и повышенным уровнем EDN с помощью программы ВОЗ Anthro по значениям Z-score роста, массы тела и индекса массы тела относительно возраста, а также Z-

score массы тела относительно роста. Установлено, что в группе детей с высоким уровнем EDN чаще встречаются низкие и очень низкие показатели роста относительно возраста и массы тела относительно роста, однако подсчет критерия Фишера выявил, что эта закономерность имеет слабую зависимость (Таблица 12). По-видимому, это указывает на то, что ведущую роль в задержке физического развития играет сам факт наличия ХД, а не ее этиология.

Таблица 12 - Частота снижения параметров физического развития у детей с высоким и нормальным уровнем EDN

Показатели	Дети с высоким уровнем EDN (n=38)		Дети с нормальным уровнем EDN (n=32)		Точный критерий Фишера, F (двусторонний)
	N	%	N	%	
Рост/возраст	8	21	3	9	0,21
Масса тела/возраст	3	8	3	9	1,0
Масса тела/рост	11	29	6	19	0,41
ИМТ/возраст	7	18	7	22	0,76

Согласно мнению ряда авторитетных исследователей, помимо диарейного синдрома, гастроинтестинальная пищевая аллергия у детей может проявляться коликами, срыгиваниями и расстройствами дефекации [11, 42]. В ходе выполнения данной работы мы нашли статистически значимое различие между группами с повышенным и нормальным уровнями EDN по частоте младенческой дисхезии: она оказалась больше у детей с высоким уровнем EDN ( $\chi^2=9,41$ ,  $p=0,003$ ) (Рисунок 8).

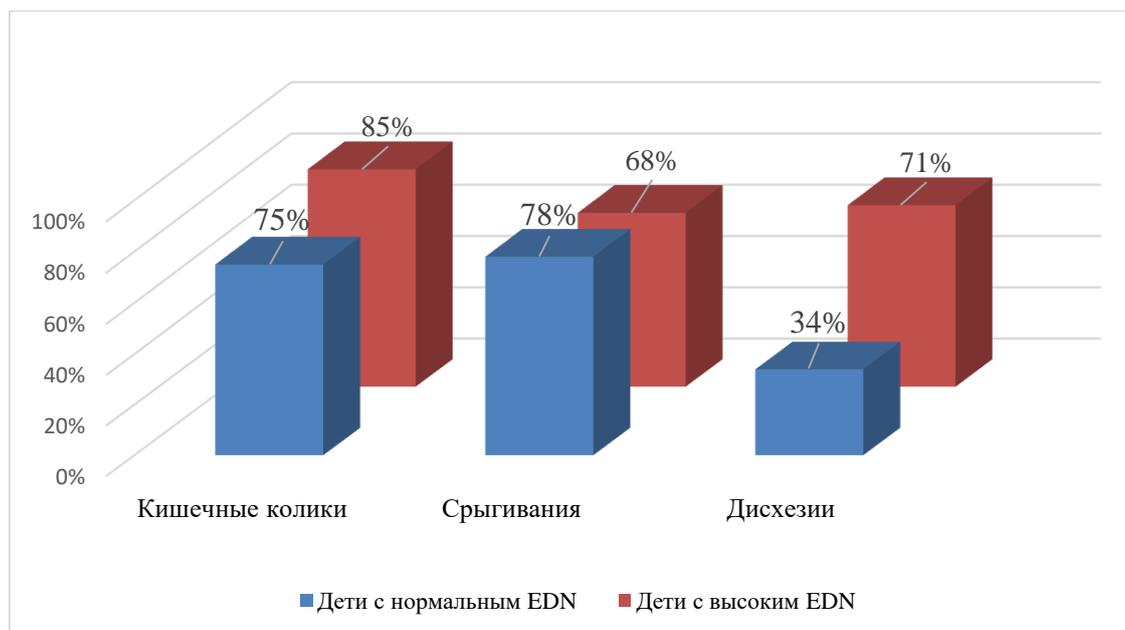


Рисунок 8 - Частота колик, срыгиваний и дисхезии в анамнезе у детей в группах с высоким и нормальным показателями EDN в кале

Анализируя соматический статус детей двух групп наблюдения, мы не выявили значимых различий, однако у половины детей обеих групп (соответственно в 50% и 56%) в анамнезе отмечались перенесенные острые кишечные инфекции, что могло в свою очередь приводить к нарушениям микробиоценоза кишечника и развитию синдрома избыточного бактериального роста.

Характерным признаком диарейного синдрома при аллергии является наличие крови и большого количества слизи в стуле, что демонстрирует такую форму поражения ЖКТ, как аллергический проктоколит/проктосигмоидит. Нами выявлено, что указанный симптом достоверно чаще обнаруживается у детей с высоким уровнем EDN в кале. Кроме того, по нашим данным, аллергический генез ХД у детей с повышенным уровнем EDN достоверно сопряжен с атопическим дерматитом (АтД), в том числе отмечалось сочетание проявлений аллергического проктоколита и АтД (Таблица 13).

Таблица 13 - Частота отдельных клинических проявлений аллергии у детей в группах с высоким и нормальным показателем EDN в кале

Клиническое проявление	Дети с высоким уровнем EDN (n=38)		Дети с нормальным уровнем EDN(n=32)		Коэффициент сопряженности $\chi^2$	Значимость различий, p
	N	%	N	%		
Атопический дерматит	22	57,9	4	12,5	15,3*	<0,001
Кровь и слизь в стуле	12	31,6	3	9,4	5,08 *	0,03
Сочетание проявлений АД и наличие крови и слизи в стуле	9	23,7	0	0	8,69*	0,004

Копрологическое исследование является доступным, но недостаточно специфическим методом дифференциальной диагностики ХД. Копрологическим признаком воспалительного процесса, в том числе и аллергического, в нижних отделах толстой кишки является колидистальный синдром (эритроциты, лейкоциты, слизь, йодофильная флора в кале). При сравнительном анализе данных копрологического исследования детей двух групп наблюдения нами выявлено достоверное различие по показателю наличия эритроцитов в кале (36%) детей с высоким уровнем EDN в кале ( $p < 0,001$ ) (Таблица 14).

Таблица 14 - Средние показатели копрологического анализа кала у детей в группах с высоким и нормальным показателем EDN в кале

<b>Критерии</b>	<b>Дети с высоким уровнем EDN (n=38)</b>	<b>Дети с нормальным уровнем EDN (n=32)</b>	<b>Значимость различий, p</b>
**Кол-во эритроцитов в кале	2,5 (0; 7,0)	0 (0; 0)	<0,001
**Количество лейкоцитов в кале	8 (2,0; 12,25)	3 (0; 6,0)	0,002
**рН кала	6,05 (5,0; 7,0)	5,9 (4,0; 6,0)	0,180

\*- нормальное распределение, M ( $\sigma$ ), t критерий Стьюдента

\*\* - распределение, отличное от нормального Me (Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>), U критерий Манна-Уитни

Надежными маркерами атопического процесса в организме считается повышение в сыворотке крови общего IgE и числа эозинофилов в лейкоформуле периферической крови. По нашим данным, у детей с высоким EDN достоверно чаще отмечались следующие изменения этих показателей: лейкоцитоз, эозинофилия, высокие уровни иммуноглобулина E в сыворотке крови (Таблица 15).

Таблица 15 - Лабораторные показатели анализов крови у детей раннего возраста в группах с высоким и нормальным уровнем EDN в кале

Лабораторные показатели	Дети с высоким уровнем EDN (n=38)	Дети с нормальным уровнем EDN (n=32)	Уровень значимости Р
*Hb (г/л)	122,2 (8,87)	120,8 (12,9)	0,59
**Эритроциты(n*10 <sup>12</sup> )	4,55 (4,0; 5,0)	4,3 (3,0; 5,0)	0,342
**Лейкоциты (n*10 <sup>9</sup> )	9 (4,75; 9,0)	7,35 (4,75; 8,0)	0,037
**СОЭ (мм/ч)	4,5 (3,0;7,5)	6,5 (3,0; 7,75)	0,718
**Тромбоциты (n*10 <sup>9</sup> )	285 (231; 342)	233,5 (204,7; 295,2)	0,017
**Эозинофилы (%)	3 (0,75; 5,0)	1 (0; 2,5)	0,022
**Ig E (МЕ/мл)	9 (6; 105,2)	2 (1,0; 6,0)	<0,001

\*- нормальное распределение, М (σ), t критерий Стьюдента

\*\* - распределение, отличное от нормального Me (Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>), U критерий Манна-Уитни

Нами была проанализирована специфичность и чувствительность этих тестов для диагностики аллергической этиологии ХД причем в качестве стандарта диагностики гастроинтестинальной аллергии рассматривался уровень EDN кала. Выявлено, что перечисленные тесты обладают низкой чувствительностью, но достаточно высокой специфичностью, за исключением количества лейкоцитов в кале, так как этот копрологический признак характерен для колидистального синдрома любой этиологии.

Тест на уровень общего IgE в сыворотке крови оказался высокоспецифичным маркером аллергической природы ХД, однако из полученных нами результатов следует, что он положителен только у 34,2% детей с повышенным уровнем EDN (Таблица 16).

Таблица 16 - Чувствительность и специфичность некоторых лабораторных маркеров для диагностики гастроинтестинальной аллергии у детей с хронической диареей

<b>Критерии</b>	<b>Дети с высоким уровнем EDN (n=38)</b>	<b>Дети с нормальным уровнем EDN (n=32)</b>	<b>Чувствительность теста (%)</b>	<b>Специфичность теста (%)</b>
Эритроциты в копрограмме	14	3	36,8%	90,6%
Лейкоциты в копрограмме	16	10	42,1%	68,7%
Повышение общего IgE в крови	13	2	34,2%	93,8%
Эозинофилия крови	10	2	26,3%	93,8%

Это, на наш взгляд, подтверждает представления о том, что среди патогенетических механизмов гастроинтестинальной аллергии преобладают не IgE зависимые. Указанный факт доказывает актуальность поиска более чувствительных маркеров аллергии, одним из «кандидатов» на эту роль представляется EDN кала.

Резюме. В ходе данного этапа исследования была проведена оценка количественного содержания EDN в кале у детей с ХД. После сопоставления с полученными нами в группе условно-здоровых детей референсными значениями EDN в кале, из 70 детей с ХД была выделена группа из 38 пациентов с высоким уровнем EDN, которая сравнивалась нами по ряду параметров с группой из 32 детей с ХД и с низким уровнем EDN в кале. Дана сравнительная оценка

физического развития, распространенности клинико-анамнестических и лабораторных маркеров аллергии при нормальном и высоком уровне EDN в кале.

Выявлена статистически значимая связь повышения EDN в кале с основными предикторами аллергии: отягощенность семейного анамнеза по аллергии, нерациональным введением прикорма, младенческой дисхезией в анамнезе, наличием атопического дерматита и примеси крови и слизи в стуле. Установлена статистическая связь между высоким уровнем EDN в кале и другими маркерами аллергии: повышенного уровня в сыворотке крови общего IgE и «эозинофилии» крови. По нашим данным тест на общий IgE в сыворотке крови в диагностике ПА при высокой специфичности обладает низкой чувствительностью (34,2%), что указывает на то, что среди патогенетических механизмов гастроинтестинальной аллергии преобладают не IgE-зависимые. Полученные результаты обосновывают целесообразность использования теста на EDN как неинвазивного метода диагностики гастроинтестинальной пищевой аллергии у детей.

### **3.3. Возможности диагностики гастроинтестинальной аллергии у детей с хронической диареей с использованием теста на эозинофильный нейротоксин в кале**

Полученные на предыдущих этапах исследования результаты позволили нам предложить и клинически апробировать алгоритм диагностики гастроинтестинальной пищевой аллергии у детей раннего возраста с ХД. Нами было установлено, что ряд клинико-анамнестических и лабораторных симптомов обладают достаточно высокой специфичностью для того, чтобы их наличие обосновывало необходимость проведения теста на количественное содержание EDN в кале.

К анамнестическим факторам, согласно нашим данным, относятся отягощенность аллергологического анамнеза, раннее искусственное вскармливание, нерациональное введение прикорма; к клиническим симптомам,

повышающим вероятность аллергического генеза диареи, относятся наличие у ребенка младенческой дисхезии, крови и слизи в кале, атопического дерматита, а также обнаружение эритроцитов в каловых массах копрологически. Кроме того, по нашим данным, достаточно высокой специфичностью при низкой чувствительности обладает наличие эозинофилии в лейкоформуле периферической крови и повышенный уровень общего IgE в сыворотке крови.

Для выявления дополнительных прогностических маркеров и разработки алгоритма прогнозирования гастроинтестинальной пищевой аллергии нами проведен корреляционный анализ комплекса лабораторных показателей с уровнем EDN в кале.

Выявлена средняя положительная корреляционная связь ( $r=0,39$ , при  $p=0,001$ ) количества эозинофилов крови в лейкоформуле периферической крови с показателями EDN в копрофильtrate (Рисунок 9). Выведено уравнение регрессии:

$$EDN = 92,3 + 30,6 \times Eoz.$$

Из построенного уравнения следует, что с увеличением содержания эозинофилов в периферической крови на каждый процентный пункт концентрация EDN увеличивается на 30,6 нг/мл. Оба регрессионных коэффициента статистически значимы при  $p<0,001$ . Коэффициент детерминации модели  $R^2=27\%$ , стандартная ошибка регрессии — 121,6 нг/мл.

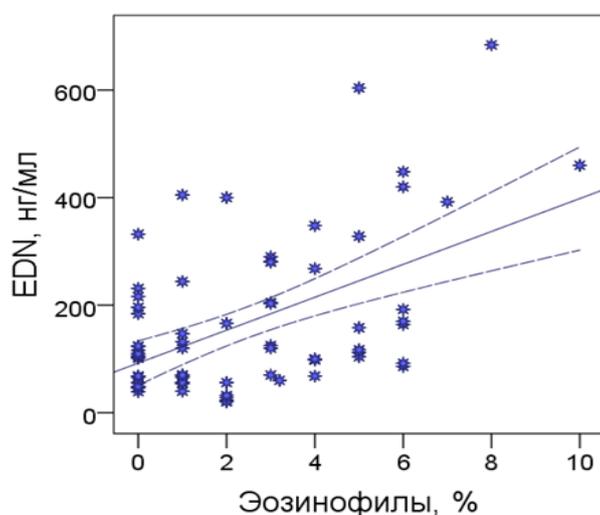


Рисунок 9 - Скаттерограмма зависимости EDN от процентного содержания эозинофильных гранулоцитов в крови: точки — отдельные пациенты, сплошная линия — аппроксимация парной линейной регрессией, пунктирные линии — 95% ДИ линии регрессии

Нами была установлена средняя степень положительной корреляции количественного содержания EDN в кале с уровнем Ig E в сыворотке крови ( $r=0,65$ , при  $p<0,05$ ) (Рисунок 10). Составлено уравнение регрессии:

$$EDN = 115,2 + 2,24 \times IgE.$$

Из уравнения следует, что с увеличением IgE на каждую ME/мл концентрация EDN увеличивается на 2,24 нг/мл. Это увеличение статистически значимо при  $p<0,001$ . Коэффициент детерминации модели  $R^2=44\%$ , стандартная ошибка регрессии — 106,9 нг/мл.

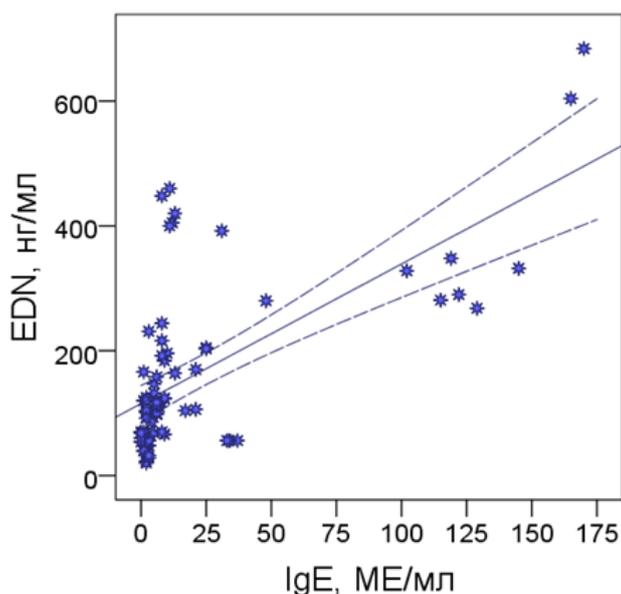


Рисунок 10 - Скаттерограмма зависимости EDN от сывороточного IgE: точки — отдельные пациенты, сплошная линия — аппроксимация парной линейной регрессией, пунктирные линии — 95% доверительный интервал (ДИ) линии регрессии

Установлена средняя положительная корреляционная связь ( $r=0,55$ , при  $p<0,001$ ) количества эритроцитов в кале с показателями EDN в копрофильtrate (Рисунок 11). Выведено уравнение регрессии:

$$EDN = 130,9 + 23,2 \times Er.$$

Из построенного уравнения следует, что с увеличением содержания эритроцитов в кале на каждую единицу в поле зрения концентрация EDN увеличивается на 23,2 нг/мл. Оба регрессионных коэффициента статистически значимы при  $p<0,001$ . Коэффициент детерминации модели  $R^2=41\%$ , стандартная ошибка регрессии — 109,4 нг/мл.

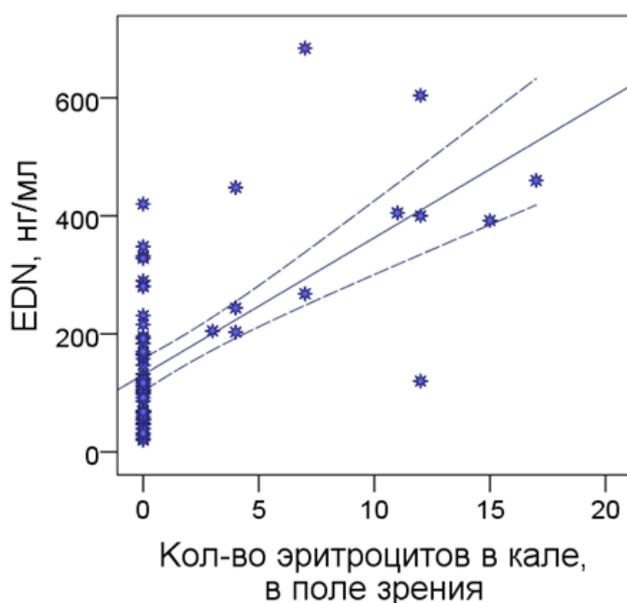


Рисунок 11 - Скаттерограмма зависимости EDN от количества эритроцитов в кале: точки — отдельные пациенты, сплошная линия — аппроксимация парной линейной регрессией, пунктирные линии — 95% ДИ линии регрессии

Нами была проведена сравнительная оценка наглядности анамнестических, клинико-параклинических данных, определяемых с использованием меры Кульбака. Была разработана таблица создания групп риска по развитию гастроинтестинальной ПА у детей раннего возраста с хронической диареей,

основанная на логистической регрессии. В созданную таблицу включены следующие этапы: предварительный отбор анамнестических и клиничко-параклинических, лабораторных критериев, по которым достоверно отличались группы детей с хронической диареей; оценка уровня информативности (I, усл.ед.) этих признаков по формуле Кульбака; подсчет диагностических коэффициентов (ДК, балл) для принятых градаций признака. По итогам проведенного анализа признаки разделены на несколько модулей: 1- анамнестические; 2 - клинические; 3 – лабораторные. В первом модуле, характеризующем анамнестические сведения, наибольшей информативностью обладали данные: ранний перевод на искусственное вскармливание, отягощенность аллергологического анамнеза, нерациональное введение прикорма. Во втором модуле наибольшей прогностической информативностью обладали: наличие крови и слизи в кале, младенческой дисхезии, атопического дерматита. В 3 модуле – эритроциты в кале, эозинофилы крови, иммуноглобулин Е (Таблица 17).

Таблица 17 - Критерии формирования групп риска по гастроинтестинальной ПА у детей раннего возраста с хронической диареей

Наименование признака	Диагностический коэффициент (балл)	Мера Кульбака
Анамнестические признаки		
Раннее искусственное вскармливание	3,6	0,18
Отягощенность аллергологического анамнеза	5,6	0,28
Нерациональное введение прикорма	5	0,25
Клинические признаки		
Наличие крови и слизи в кале	6	0,3
Младенческая дисхезия	8,2	0,41

Атопический дерматит	16,8	0,84
Лабораторные показатели		
Эритроциты в кале	14	0,70
Эозинофилы крови	3,6	0,18
Иммуноглобулин Е	5,8	0,29

После суммирования полученных диагностических коэффициентов, проводится тестирование box-plot (Рисунок 12). На графике можно заметить, что большая часть наблюдений из каждой группы не перекрываются (при сумме баллов более 20), но и есть ошибочные заключения по разработанной шкале, примерно в четверти случаев в каждой группе.

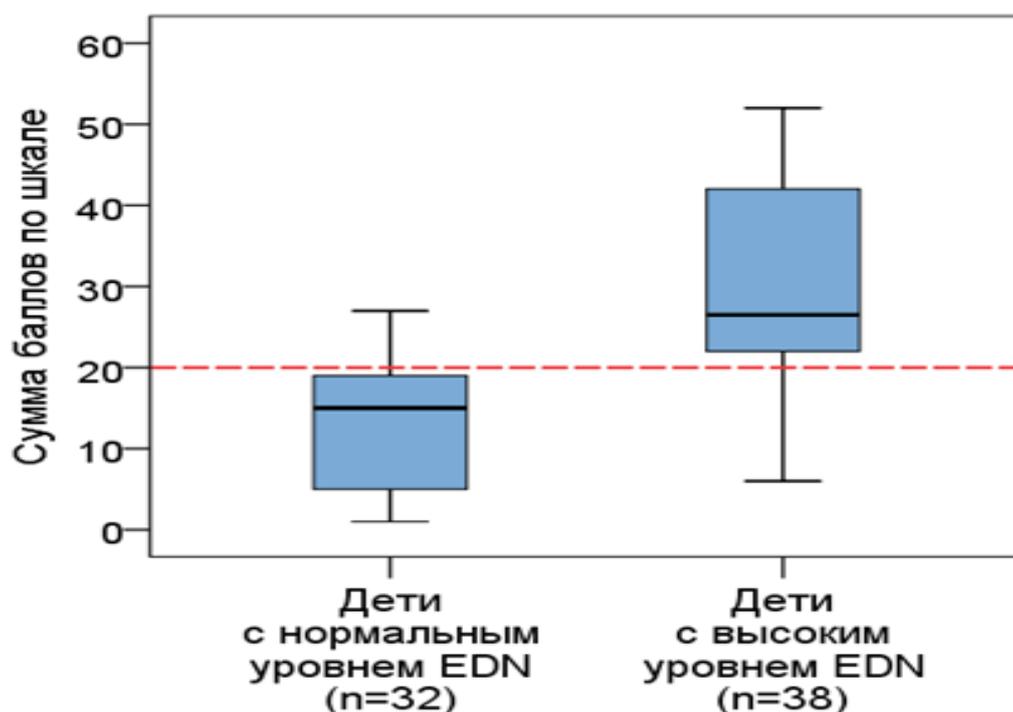


Рисунок 12 - Распределение средних показателей, суммы ДК в двух группах наблюдения детей раннего возраста с ХД

Протестировав данные показатели ДК с помощью ROC-кривой, можно отметить, что площадь под графиком (AUC) равна  $0,85 \pm 0,04$ , при  $p < 0,001$  (Рисунок 13). При пороговой точке 20 баллов, чувствительность (Se) составила 76%,

специфичность (Sp) 78%, при 10 баллах Se возрастает до 95%, Sp снижается до 47%.

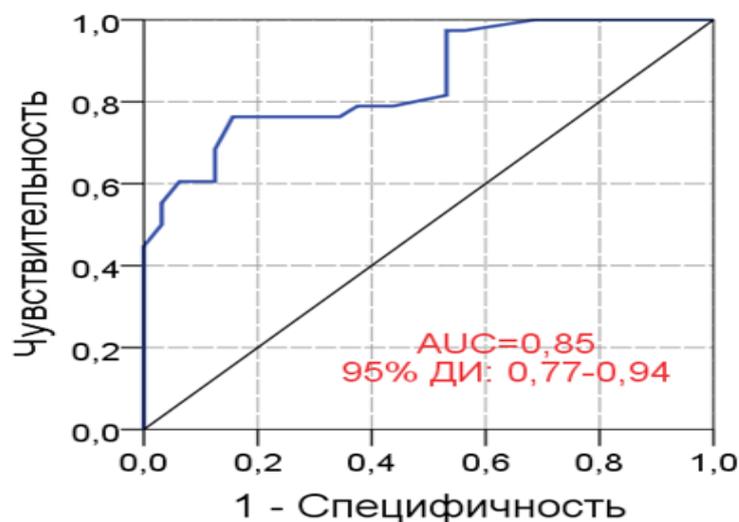


Рисунок 13 - Специфичность и чувствительность ДК с пороговой точкой  $\geq 20$  баллов у исследуемых детей

Таким образом, принципиально алгоритм диагностики может выглядеть следующим образом (Рисунок 14). Этот предложенный нами вариант, основан на клинико-anamnestических, лабораторных показателях, включает данные копрограммы, общего анализа крови, анализа сыворотки крови на IgE и, в случае достижения ДК пороговой точки 20 баллов имеет чувствительность 76%, специфичность 78%. Положительная прогностическая ценность теста составляет 78,1 %, то есть вероятность наличия болезни составляет 78,1 % при положительном результате исследования.



Рисунок 14 - Алгоритм диагностики ГИПА у детей раннего возраста с ХД при пороговой точке ДК 20 баллов:  $Se = 76\%$ ,  $Sp = 78\%$

С целью повышения диагностической значимости предложенного алгоритма, мы применили клиничко-anamнестические и лабораторные данные в совокупности с количественным содержанием EDN в кале. При пороговой точке ДК 10 баллов - чувствительность теста повышается до 95%, специфичность составляет 80% (Рисунок 15). Положительная прогностическая ценность теста 95%, то есть вероятность выявления больных детей увеличивается составляет 95% при положительном результате исследования.



Рисунок 15 - Алгоритм диагностики ГИПА у детей раннего возраста с ХД с предварительным отбором и определением EDN в кале (при пороговой точке ДК 10 баллов:  $Se = 95\%$ ,  $Sp = 80\%$ )

Среди детей с высоким содержанием EDN согласно предложенному алгоритму комплексной диагностики, нам удалось конкретизировать клинические формы поражения: аллергический проктоколит выставлен в 32%, аллергическая энтеропатия в 68%.

По нашему мнению, данный алгоритм может быть наиболее востребован при первичной и дифференциальной диагностике пищевой аллергии, в этом случае достигается ускорение диагностики при снижении затрат на проведение достаточно дорогостоящего и не всегда доступного теста на количественное

содержание EDN в кале. Данный подход демонстрируется в следующем клиническом примере.

### **Клинической пример 1.**

Егор Ю. впервые обратился в СОКБ в возрасте 1,5 лет, жалобы при поступлении на жидкий стул до 3-х раз в день, наличие прожилок крови и слизи в кале.

Анамнез заболевания: со слов мамы, неустойчивый стул (до 8 раз в день) с примесью «зелени» с рождения. В возрасте 7 месяцев мама отметила появление прожилок крови в кале, с 12 месяцев плохая прибавка в массе тела.

Анамнез жизни: ребенок от 1 беременности, с угрозой прерывания беременности в 11–12 недель и анемией. Роды первые, самопроизвольные в 38 недель, масса тела при рождении 2900 г, длина 52 см, оценка по шкале V.APGAR 8-10 баллов. Период новорожденности без особенностей. Вскармливание грудное до 1 г 4 мес, прикорм с 10 месяцев. Ребёнок наблюдался до 1 года у невролога и педиатра с диагнозами: перинатальное поражение ЦНС, атопический дерматит. Перенесенные заболевания: ОРВИ, катаральный средний отит.

Аллергологический анамнез не отягощён.

Наследственный анамнез: лекарственная непереносимость у матери, поллиноз у бабушки.

На амбулаторном этапе проведены обследования на целиакию (антитела в сыворотке к тканевой трансглутаминазе отрицательные), глистные инвазии (яйца глист в кале – отрицательные), общий IgE сыворотке крови и пищевая панель (в норме). В клиническом анализе крови обнаружена железодефицитная анемия: снижение уровня гемоглобина до 90-95 г/л; цветового показателя (0,76); сывороточного железа – 5,1-3,7 мкмоль/л (снижено); общей железосвязывающей способности сыворотки до 37,2 мкмоль/л (норма 40,6-62,5 мкмоль/л). По данным миелограммы – отклонений нет. Изменения в копрограмме: эритроциты (4-5 в поле зрения). Обследование на антигены шигелллёза и сальмонелллёза – отрицательно.

Выставлен диагноз: пищевая аллергия (не IgE-опосредованная). Железодефицитная анемия неуточненной этиологии. Назначены диета с исключением белка коровьего молока, смесь на основе аминокислот, препараты железа [119, 120, 128]. На фоне лечения состояние ребёнка стабилизировалось, но через 5 месяцев усилилась диарея (до 5 раз в день), появилась кровь в стуле.

Учитывая наличие приведенных выше клинических и лабораторных показателей, проведен анализ на содержание EDN в кале 101.5 нг/мл (норма), что вынудило расширить диагностический поиск. Ребенок госпитализирован в ГБУЗ СОКБ им. В.Д. Середавина объективно: физическое развитие при поступлении дисгармоничное, рост 90 см, вес — 11 кг, дефицит массы тела 13,6 кг/м<sup>2</sup> (выраженный дефицит массы тела). При обследовании: С-реактивный белок сыворотки крови 25,85 мг/л (норма до 5 мг/л), повышение Ig G до 24,9 г/л (12-14г/л), Ig M до 2,8 г/л (1,3-1,7г/л). Уровень кальпротектина повышен до 264 мкг/г (норма <50 мкг/г), антинуклеарный фактор в сыворотке крови составил 1,44 Ед/мл (норма до 1,0).

При проведении эзофагогастродуоденоскопии (ЭГДС) выявлена минимальная очаговая гиперемия в антральном отделе желудка. В области привратника по передней и задней стенкам видны два очага гипертрофии слизистой, овальной формы в диаметре 0,7см, умеренно гиперемированные. При фиброколоноскопии просвет поперечно-ободочной кишки деформирован за счет отежной гиперемированной, полипозно измененной слизистой оболочки. Гаустры не визуализируются. В нисходящей и поперечно-ободочной кишке видны язвы округлой формы, с выраженным воспалительным валом, на дне фибрин и грануляции, количество которых увеличивается в проксимальном направлении. Слизистая легко кровоточит при контакте. Сосудистый рисунок не прослеживается за счет отека и гиперемии.

По результатам гистологического исследования полипа поперечно-ободочной кишки выявлено: слизистая толстой кишки с отёком, рассеянной

лимфоцитарной инфильтрацией, фрагментами грануляционной ткани; язвы ректосигмоидального отдела толстой кишки - фрагменты слизистой с отёком и рассеянной инфильтрацией, лимфоидными фолликулами.

По результатам комплексного клинико-лабораторного и инструментального обследования выставлен диагноз болезнь Крона с поражением желудка, толстой кишки, непрерывно-рецидивирующее течение, умеренная активность (PCDAI 17,5 баллов). Анемия легкой степени.

Назначено лечение: диета №4, продукты клинического питания, метронидазол, преднизолон 1,5 мг/кг массы тела в сутки в/в, затем внутрь с постепенной отменой по схеме, аспаркам по 0,75мг 2 раза в день, эзомепразол 10 мг, месалазин в гранулах 500 мг в сутки длительно. На фоне снижения дозы преднизолона до 2,5 мг/сут вновь произошло обострение в виде учащения жидкого стула (до 4-5 раз в день). Учитывая очень ранний дебют заболевания, неэффективность стандартных схем терапии, гормонозависимость.

Учитывая активность заболевания, зависимость от гормональной терапии, с целью пролонгации ремиссии начата биологическая таргетная терапия: моноклональные антитела к ФНО- $\alpha$  (инфликсимаб) 100 мг по схеме 0-2-6 и затем 1 раз в 8 недель в/в капельно. В процессе проведения терапии в полном объёме патологических реакций не отмечалось. Со слов мамы, стул стал до 3 раз в сутки, кашицеобразный, периодически с примесью крови и слизи (однако по данным копрограммы реакция на скрытую кровь – отрицательная). По данным лабораторных исследований сохранялась высокая активность воспалительного процесса, что было расценено как отсутствие первичного ответа на индукционную терапию – инфликсимабом, в связи с чем проведена коррекция терапии: инфликсимаб заменен на генно-инженерный препарат адалимумаб в дозировке 80 мг подкожно.

В дальнейшем состояние ребенка оставалось относительно стабильным. В возрасте 6,5 лет при плановой госпитализации: вес 18,5 кг, рост 108 см, физическое

развитие низкое, гармоничное (SDS роста -1,42, SDS веса -0,88). ИМТ 15,86 кг/м<sup>2</sup>. Данные биохимического анализа крови: СРБ 16 мг/мл, в общем анализе крови - без изменений.

В данном случае продемонстрировано очень раннее начало (до 1 года) воспалительного заболевания кишечника, причем первым и основным симптомом стала хроническая диарея. В процессе дифференциальной диагностики исключены пищевая аллергия (по EDN) как причина диареи. Это позволило расширить диагностический поиск и в конечном итоге выйти на диагноз воспалительного заболевания кишечника. Диагноз болезни Крона был установлен при эндоскопическом обследовании с биопсией и последующим морфологическим исследованием биоптатов, что позволило начать таргетную терапию, позволившую взять под контроль течение заболевания, нормализовать развитие ребенка.

Еще одной возможностью использования теста EDN в кале является ранний контроль за эффективностью проведения гипоаллергенной, в частности безмолочной диеты. Этот аспект использования теста на EDN продемонстрирован на следующем клиническом примере.

### **Клинический пример 2.**

Полина С. 1 год 5 мес. доставлена в СОКБ по экстренным показаниям бригадой скорой медицинской помощи с жалобами на наличие крови в кале, сниженный аппетит, потерю в весе до 200 г за неделю.

Анамнез заболевания: со слов мамы в возрасте 9 мес. отмечалось появление прожилок крови в кале, после введения ребёнку в прикорм молочных каш. На амбулаторном этапе был выставлен диагноз – пищевая аллергия на белок коровьего молока. Назначена диета с исключением молочных продуктов в рационе ребёнка, на фоне лечения перечисленные симптомы исчезли.

В возрасте 1 года 4-х месяцев отмечено повторное появление крови в кале, хирургом в поликлинике выставлен диагноз: Острая анальная трещина, назначено лечение: метилурациловые свечи. На фоне лечения состояние ребёнка ухудшилось:

в кале большое количество слизи и крови. Бригадой скорой помощи доставлена в СОКБ с диагнозом: кишечное кровотечение.

Анамнез жизни: ребенок - от 1 беременности, 1 родов. Роды самопроизвольные в 41 неделю, масса тела при рождении 3224 г, длина 49 см, оценка по шкале V. APGAR 9-10 баллов. Период новорожденности без особенностей. Вскармливание грудное до 1 г 4 мес, прикорм с 6 месяцев. Перенесенные заболевания: в возрасте 6 мес- пищевая токсикоинфекция гастритическая форма, энтеробиоз.

Привита согласно национальному календарю профилактических прививок.

Аллергологический анамнез: аллергия на белок коровьего молока.

Наследственный анамнез: маме 33 года, страдает хроническим гастродуоденитом, аллергией на антибиотики пенициллинового ряда, отмечает непереносимость рыбы. Папа – 37лет, здоров.

При поступлении состояние средней тяжести по комплексу данных — слабость, полуоформленный стул с примесью крови и слизи в большом количестве. При осмотре кожные покровы бледные, влажные. Живот не вздут, при пальпации мягкий, безболезненный.

Физическое развитие по мезосоматическому типу гармоничное, рост 78 см, вес — 10,5 кг, индекс массы тела 17,26 кг/м<sup>2</sup> (в пределах нормы).

При проведении ректороманоскопии (РРС) под общим обезболиванием в асептических условиях осмотрена прямая и сигмовидная кишка ректороманоскопом 12 мм, введенным на глубину 20см. Выявлена гиперемия слизистой, контактная кровоточивость, без патологических образований и язвенных дефектов; в просвете - слизь с прожилками крови.

В клиническом анализе крови – эритроциты  $4,27 \times 10^{12}$  л ( $4,0-4,2 \times 10^{12}$  л), гемоглобин 124 г/л (115-145 г/л), лейкоциты  $11,36 \times 10^9$  л ( $8-10 \times 10^9$  л), тромбоциты  $509 \times 10^9$  л ( $160-320 \times 10^9$  л), лейкоцитарная формула без особенностей, СОЭ 6 мм/ч (3-10мм/ч), в общем анализе мочи без изменений, в биохимии крови – общий белок

78 г/л, альбумин 46,7 г/л, АЛАТ – 12,6 МЕ/л (до 40,0 МЕ/л), АСАТ – 42 МЕ/л (до 40,0 МЕ/л), С-реактивный белок 0,2 мг/л (0-5 мг/л), фибриноген – 2,19 г/л, железо – 10,8 мкмоль/л ( 8,9-21,5 мкмоль/л).

Коагулограмма- АЧТВ 23 сек (21-39 сек), протромбиновое время 14,6 сек (9-18), протромбин по Квику 90,2% (>75), МНО 1,08 (0,92-1,14), тромбиновое время 17,7 сек (15-19 сек).

Мазок на диз.группу и сальмонеллез отрицательный.

Морфологическая картина биоптата – фрагменты слизистой оболочки нисходящей, сигмовидной и прямой кишки с отеком, участки уплощения и десквамации призматического эпителия, увеличено число бокаловидных клеток в криптах, число крипт уменьшено, в слизистой рассеянная и очаговая лимфоплазмоцитарная инфильтрация с примесью эозинофилов (от 10 до 20 в поле зрения). Гиперплазия лимфоидных фолликулов. Заключение: Хронический катаральный колит, умеренно выраженный.

Назначено лечение: гипоаллергенный стол с исключением молочных продуктов, специализированная аминокислотная смесь 120,0 мл (3 раза в день), этамзилат натрия 12,5% по 1 мл внутривенно 3 раза в день, инфузионная терапия.

На фоне лечения состояние ребёнка не улучшилось, появились боли в околопупочной области, стул с примесью крови и слизи при каждом акте дефекации. Проведен консилиум с гастроэнтерологом, выставлен диагноз: Недифференцированный колит, рекомендовано дальнейшее лечение и обследование в отделение гастроэнтерологии.

Ребёнок переведен в отделение гастроэнтерологии, назначено - продолжение гемостатической терапии, преднизолон – с целью купирования выраженности обострения.

По данным обследования: УЗИ органов брюшной полости без видимой патологии.

Фиброколоноскопия: просвет сохранен на всем протяжении, гаустрация сохранена, тонус кишки снижен. Слизистая очагово гиперемирована, с очагами внутрислизистых геморрагий до 0,3 см диаметром, с множеством микроабсцессов, с единичными эрозиями до 0,3 см (дно фибрин), мутная, неровная. Видны полосы фибрина или отслоившейся белесоватой пленки на слизистой. Слизистая легко кровоточит. Сосудистый рисунок виден участками в прямой кишке. В остальных отделах толстой кишки не виден. В эрозиях и очагах гиперемии вязкая, мутная слизь, следы кишечного содержимого минимальная очаговая гиперемия в антральном отделе желудка. В области привратника по передней и задней стенкам видны два очага гипертрофии слизистой, овальной формы в диаметре 0,7 см, умеренно гиперемированные. Заключение: левосторонний колит, умеренная степень активности.

Эзофагогастродуоденоскопия: пищевод свободно проходим, слизистая бледно-розовая, кардия смыкается. Желудок обычной формы, содержит небольшое количество мутной слизи, слизистая в антральном отделе очагово-минимально гиперемирована. Складки выражены, воздухом расправляются равномерно, перистальтики за время осмотра не было. Привратник правильной формы, свободно проходим. Луковица ДПК обычной формы, слизистая розовая. Постлуковичный отдел аппаратом свободно проходим, слизистая гиперемирована минимально. Заключение: Эритематозная гастропатия антрального отдела желудка. Эритематозная дуоденопатия.

По данным биопсии: фрагменты слизистой ДПК и луковицы ДПК: ворсинки пальцевидной формы, соотношение ворсинок к криптам не нарушено. В слизистом слое и строме ворсинок рассеянная и очаговая лимфоплазмоцитарная инфильтрация с примесью эозинофилов (до 7 в поле зрения). Гиперплазия лимфоидных фолликулов в слизистой. Заключение: Хронический дуоденит, умеренно выраженный.

Фрагменты слизистой антрального отдела желудка с рассеянной лимфоплазмоцитарной инфильтрацией и гиперплазией лимфоидных фолликулов.

Заключение: Хронический гастрит, минимально выраженный.

В динамике клинический анализ крови: эритроциты-  $3,76 \times 10^{12}$  л ( $4,0-4,2 \times 10^{12}$  л), гемоглобин 102 г/л (115-145 г/л), лейкоциты  $13,3 \times 10^9$  л ( $8-10 \times 10^9$  л), тромбоциты  $176 \times 10^9$  л ( $160-320 \times 10^9$  л), лейкоцитарная формула без особенностей, СОЭ 7 мм/ч (3-10мм/ч).

Биохимический анализ крови – железо -3,6 мкмоль/л (9-21,5 мкмоль/л), СРБ – 5 мг/л (5мг/л),

Le-клетки – не обнаружены.

Коагулограмма - АЧТВ 18,5 сек (21-39 сек), фибриноген -3,31 г/л (1,25-4 г/л), протромбиновое время 15,6 сек (9-18), протромбин по Квику 91,7% (>75), МНО 1,10 (0,92-1,14), тромбиновое время 15,2 сек (14-19 сек).

Иммуноглобулины: Ig G – 16,2 мг/мл (3,0-15,5 мг/мл), Ig A -1,31 мг/мл (0,3-2,8 мг/мл), Ig M – 1,25 мг/мл (0,5-2,2 мг/мл).

Копрологическое исследование кала: неоформленный, реакция кислая, большое количество растительной клетчатки, эпителий, лейкоциты, эритроциты-отсутствуют.

Кал на условно патогенную флору- *E.coli* гемолитическая  $10^9$  КОЕ/г, *E.coli*  $6 \times 10^8$  КОЕ/г, *Klebsiella oxytoca*  $2 \times 10^8$  КОЕ/г.

ИФА на гельминтный комплекс - антитела к антигенам лямблий, токсокар, описторхисов, эхинококка, трихинелл, аскарид -не обнаружены.

Кал на токсины к *Clostridium difficile* А, В-отрицательный.

Кал на фекальный кальпротектин - <100 мкг/г, кал на эозинофильный нейротоксин – 10,3 мкг/г (норма <1,2 мкг/г).

С учетом клинико-лабораторных данных, инструментальных методов исследования выставлен диагноз: Гастроинтестинальная форма пищевой аллергии. Гипохромная микроцитарная анемия легкой степени тяжести, смешанного генеза.

Назначено лечение:

Гипоаллергенная диета с исключение молочных продуктов, смесь на основе аминокислот (Неокейт), преднизолон 10мг/кг в сутки, метронидазол 125 мг/сут, препараты железа 50м г/сут; инфузионная терапия, гемостатическая терапия продолжена.

Через неделю после назначения аминокислотной смеси на фоне сохранения основной симптоматики был повторно определен уровень EDN в кале – отмечено его снижение до 3,3 мкг/г, что было расценено как свидетельство эффективности проводимой диетотерапии, кормление аминокислотной формулой продолжено.

На 3 неделе лечения симптоматика купировалась, стул 1 раз в день, полуоформленный, без патологических примесей, улучшился аппетит, прибавка в массе тела составила 300 г.

На данном клиническом примере продемонстрировано использование EDN как раннего доклинического маркера эффективности диетотерапии. Сохранение диарейного синдрома на фоне адекватного безаллергенного питания может объясняться транзиторной ферментной недостаточностью или синдромом избыточного бактериального роста, однако отчетливое снижение аллергического воспаления, которое мы диагностируем по уровню EDN в кале, свидетельствует о целесообразности выбранного подхода к диетотерапии.

Итак, по нашему мнению, проведение теста на EDN кала целесообразно в ряде клинических ситуаций. Прежде всего, это первичная диагностика гастроинтестинальных форм пищевой аллергии и проведение дифференциальной диагностики с иными причинами хронической диареи. Вторым важным аспектом использования теста является ранняя оценка эффективности диетотерапии и, при необходимости, коррекция питания либо лечебных мероприятий.

Несмотря на продемонстрированную в ходе исследования высокую диагностическую ценность теста на количественное содержание EDN в копрофильtrate, мы полагаем, что диагностика гастроинтестинальной аллергии

должна проводится в комплексе клинико-anamнестических и лабораторно-инструментальных методов, такой подход позволит избежать ошибок в диагностике.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В большинстве случаев медицинские работники и родители сталкиваются с острой диареей у детей как с проявлением кишечной инфекции. Обычно продолжительность эпизода ОКИ не превышает 7-10 дней; если диарея сохраняется свыше 28 дней, о ней говорят, как о хронической. В основе патогенеза ХД могут лежать различные механизмы – дисбаланс секреции и всасывания воды и электролитов, синдром мальабсорбции, накопление в просвете кишечника осмотически активных веществ и повышение осмолярности, воспаление кишечной стенки, в том числе аллергическое и аутоиммунное, ускорение транзита кишечного содержимого.

Не подлежит сомнению, что ХД в значительной мере оказывает влияние на состояние здоровья, развитие и качество жизни детей. При ХД, как правило, имеет место синдром нарушенного кишечного всасывания основных нутриентов, в связи с чем при длительном течении заболевания развиваются признаки гипотрофии, полигландулярной недостаточности, трофических изменений кожи, полигиповитаминоза, остеопороза.

Не преуменьшая значения прочих причин развития ХД, следует признать, что у детей раннего возраста ведущей как по частоте, так и по влиянию на растущий организм является ПА. Своевременная диагностика аллергической природы ХД, установление и элиминация причинно-значимых аллергенов, противоаллергическая терапия могут не только остановить диарейный синдром, но и предотвратить формирование хронической аллергической патологии органов и систем. Однако, диагностика гастроинтестинальной ПА существенно затруднена. В частности, дети с гастроинтестинальными проявлениями часто имеют нормальный уровень сывороточных специфических IgE, что не исключает наличие у них ПА.

Не нашли применения в практическом здравоохранении по разным причинам ряд других тестов, в связи с чем актуален поиск новых более удобных универсальных маркеров ПА.

В настоящее время внимание исследователей обращено к такому маркеру аллергии, как эозинофильный нейротоксин (EDN) в кале. Кроме диагностики пищевой аллергии, EDN применяют для дифференциации между пищевой аллергией и неаллергической пищевой непереносимостью, а также для оценки эффективности элиминационной диеты и противоаллергической терапии. Так как тест характеризует только эозинофильное воспаление, он более специфичен для диагностики ПА, хотя повышение EDN в кале отмечается и при воспалительных заболеваниях кишечника другого генеза [40]. При стихании воспаления содержание EDN в копрофильtrate также постепенно нормализуется, поэтому он используется для контроля за лечением аллергических заболеваний.

Своевременная диагностика пищевой аллергии крайне важна для правильной постановки диагноза, тактики ведения, возможности избежать безрезультатную и нередко негативно отражающуюся на качестве жизни ребёнка диетотерапию, медикаментозное лечение.

В связи с этим была определена цель исследования: разработать и оценить диагностическую значимость комплексного подхода, включающего определение в кале эозинофильного нейротоксина, для диагностики гастроинтестинальной пищевой аллергии у детей раннего возраста с хронической диареей; и намечены конкретные задачи.

Клиническая характеристика детей проводилась по комплексу данных, особое внимание уделялось отягощённости антенатального анамнеза, наследственной отягощённости по аллергическим заболеваниям и патологии ЖКТ, приему антибиотиков в неонатальном периоде и другим факторам.

В ходе исследования применялись современные лабораторные и инструментальные методы, определялось количественное содержание EDN в копрофильtrate.

В исследование было включено 70 детей раннего возраста с ХД и по методу «копи-пара» подобраны 70 условно-здоровых детей для выявления особенностей анамнеза и клиничко-лабораторных данных детей с ХД. Референсные значения для уровня EDN кала определялись на основании обследования 30 условно-здоровых детей.

При анализе данных материнского анамнеза выявлено, что у большинства женщин в обеих группах отмечалась достаточно высокая распространенность неблагоприятных факторов, таких как хроническая урогенитальная инфекция, анемия беременных, ранний токсикоз, острые респираторные инфекции во время беременности. Перечисленные факторы риска могут играть важную роль в нарушении заселения нормальной флоры желудочно-кишечного тракта новорождённого ребёнка.

При статистическом анализе было выявлено достоверное различие между группами сравнения по такому фактору, как урогенитальная инфекция у матери ( $\chi^2 = 14,8$ ;  $p < 0,001$ ).

При сборе анамнеза выявлено, что у детей с ХД достоверно чаще, чем среди условно-здоровых отмечается отягощённость по аллергическим заболеваниям, патологии ЖКТ, в том числе пищевой непереносимости ( $p < 0,05$ ). Нередко неблагоприятный наследственный анамнез отмечался у нескольких членов одной семьи.

Поскольку у наблюдаемых детей с ХД наследственность практически в равной мере отягощена по патологии ЖКТ и аллергическим заболеваниям, мы предположили, что в развитии хронического диарейного синдрома участвуют как аллергические, так и неаллергические механизмы. При этом в обеих группах с одинаковой частотой встречались гастриты, язвенная болезнь и холециститы, а

наличие пищевой непереносимости у родственников детей с ХД отмечается достоверно чаще ( $\chi^2=9,3$ ;  $p=0,003$ ).

Течение беременности и родов является также немаловажным фактором, определяющим здоровье детей. Нами получены результаты, свидетельствующие о значимости рождения путём Кесарева сечения в развитии ХД (ОШ 4,79 95% ДИ 2,05-11,2;  $\chi^2 =14,4$ ;  $p<0,001$ ) и, напротив, протективном действии самостоятельных срочных родов без осложнений.

Рациональное и сбалансированное питание растущего организма ребёнка составляет основу его физического и психического развития. Несомненно, что грудное молоко является естественным биологическим продуктом питания для ребёнка первого года жизни, и чем раньше ребёнок будет приложен к груди матери, тем меньше риск колонизации ЖКТ патогенной флорой окружающей среды [35].

Согласно полученным в ходе исследования данным в группе условно-здоровых детей в 1,5 раза чаще отмечалось первое прикладывание к груди в родовом зале, в то время как у детей с ХД чаще отмечалось прикладывание к груди позже первых суток или искусственное вскармливание с рождения; во всех перечисленных случаях различия достоверны ( $p<0,05$ ).

Так же нами проанализирована возможная взаимосвязь между риском формирования ХД и продолжительностью грудного вскармливания. Согласно полученным данным, ранний (до 3 месяцев), перевод на искусственное вскармливание повышает риск ХД: различия достоверны (ОШ 2,94 95% ДИ 4,27-6,77,  $p=0,01$ ). Напротив, продолжительное, свыше 6 месяцев естественное вскармливание со своевременным адекватным введением прикорма, обладает протективным по отношению к ХД эффектом.

При анализе особенностей неонатального периода в группе детей с ХД выявлена большая частота локальных гнойно-воспалительных заболеваний в виде везикулопустулёза, омфалита, конъюнктивита в 31,4% (22 ребенка) по сравнению с группой условно-здоровых детей в 10,0% (7 детей) ( $\chi^2=9,78$ ;  $p=0,002$ ).

Известно, что антибиотикотерапия в неонатальном периоде, особенно в раннем, является важным фактором нарушения контаминации кишечника и формирования иммунологической реактивности ребенка. По нашим данным, антибактериальную терапию в неонатальном периоде по поводу локальных гнойно-воспалительных заболеваний и по иным причинам получали 40,0% (28 детей) группы ХД и 15,7 % (11 детей) из группы сравнения, различие достоверно (ОШ 3,5 95% ДИ 1,6-7,9).

В структуре соматической патологии у детей из группы с хронической диареей, в сопоставлении с группой сравнения, чаще диагностировали: клинические проявления рахита (ОШ 7,58 95% ДИ 3,05-18,8), анемию (ОШ 1,5 95% ДИ 0,62-3,65), острые кишечные инфекции (ОКИ) (ОШ 4,35 95% ДИ 2,08-9,12), дефицит массы тела (ОШ 2,49 95% ДИ 0,99-6,22).

Так же нами выявлены некоторые особенности в состоянии здоровья детей с ХД. Поскольку важным компонентом в комплексной оценке состояния здоровья является физическое развитие ребенка. Мы проанализировали антропометрические показатели у наблюдаемых детей. Использованием программы ВОЗ Anthro по показателям Z-score роста, массы тела и индекса массы тела относительно возраста, а также Z-score массы тела относительно роста. При сравнении показателей физического развития в группах детей с ХД и условно-здоровых детей установлено, что в группе детей с хронической диареей достоверно чаще наблюдается дефицит массы тела относительно роста и ИМТ ребенка.

При лабораторном исследовании общего анализа крови в группах наблюдения выявлено снижение уровня гемоглобина у 31,4% детей с ХД ( $113,9 \pm 3,03$  г/л), эозинофилию у 47,1% детей с ХД. Установлено достоверное различие между числом эозинофилов в лейкоформуле у детей с ХД и здоровых ( $p=0,02$ ).

При сравнении биохимических показателей крови у детей с ХД и здоровых выявлено некоторое снижение общего белка и глюкозы у детей раннего возраста с диареей, однако различия не были достоверными.

У большинства детей с ХД при копроцитологическом исследовании были выявлены существенные отклонения у 42,2% детей - большое количество жирных кислот и нейтрального жира (стеаторея), у 37,0% признаки воспаления- большое количество лейкоцитов (ОШ 3,54 95% ДИ 1,55-8,1;  $\chi^2=9,57$ ;  $p=0,02$ ), у 28,6% слизи (ОШ 2,4 95% ДИ 1,03-5,59;  $\chi^2=4,2$ ;  $p=0,04$ ). Эритроциты в кале обнаруживаются в 24,3% у детей с ХД (ОШ 10,9 95% ДИ 2,41-49,3;  $\chi^2=13,7$ ;  $p<0,01$ ).

Сравнение микробного пейзажа в фекалиях детей обеих групп показало, что в кишечнике здоровых детей не встречается пролиферация *Enterobacter*, *Klebsiella* spp., *E. coli* гемолизирующие ( $\chi^2=7,0$ ,  $p=0,009$ ). У 68,6% детей с ХД снижен уровень *Bifidobacterium* (менее  $10^8$  КОЕ/г), у 47,1% *Lactobacterium* (менее  $10^7$  КОЕ/г).

Очевидно, контаминация условно-патогенной флорой, наряду с подавлением роста облигатных микроорганизмов является не только следствием ХД, но и поддерживает диарейный синдром, приводя к персистирующему воспалению в кишечнике, что подтверждено нами копрологически, а также усугубляет мальабсорбцию, учитывая пищеварительные функции облигатной флоры.

Итак, наиболее существенное значение среди изучавшихся нами клинико-анамнестических факторов ХД имеет хроническая урогенитальная инфекция у матери, отягощённый анамнез по аллергическим заболеваниям, патологии желудочно-кишечного тракта, рождение ребенка путём Кесарева сечения, эпизоды острых кишечных инфекций на первом году жизни; приём антибиотиков в неонатальном периоде.

Результаты данного раздела исследований свидетельствуют о том, что ХД оказывает значительное влияние на состояние здоровья ребенка и его развитие. При этом не всегда сами родители определяют наличие ХД у ребенка. В части случаев (у 24 детей - 34,3%) диарейный синдром выявлялся медицинскими работниками путем активного опроса при обращении в связи атопическим дерматитом, дефицитом массы тела, абдоминальными болями у ребенка и другими

проблемами. Такая ситуация обуславливает необходимость выявления диарейного синдрома у детей при обращении с любой патологией.

Еще одним важным аспектом является нозологическая диагностика ХД, так как это позволяет проводить эффективную обоснованную терапию, включая диетотерапию. При анализе литературных источников нами установлено, что значительное место в структуре хронической диареи принадлежит гастроинтестинальной пищевой аллергии, в связи с этим актуальна оптимизация алгоритмов диагностики этого состояния. Учитывая имеющиеся в настоящий момент сложности, нами на последующем этапе исследования выполнялась эта задача.

В настоящее время встаёт вопрос о маркерах ПА, обладающих большей чувствительностью и специфичностью [27]. В качестве такого маркера нами был использован эозинофильный нейротоксин (EDN - eosinophil-derived neurotoxin) или эозинофильный протеин X, один из протеинов эозинофилов, высвобождающийся из гранул в ответ на стимуляцию аллергеном [164]. Повышение его концентрации в копрофильtrate отражает участие ЖКТ в аллергическом процессе [197]. Эозинофилы являются универсальными маркерами аллергических реакций, независимо от их типа, следовательно, и повышение концентрации эозинофильного нейротоксина в биологическом субстрате отражает накопление этих клеток в тканях органа мишени, в данном случае кишечника.

В ходе нашего исследования детям с ХД было проведено количественное определение уровня эозинофильного нейротоксина в кале. Согласно полученным данным, уровень EDN в контрольной группе составил 95 [95% ДИ 82 – 108] нг/мл. Таким образом, уровень выше 108 нг/мл был принят нами как повышенный. Среди детей с хронической диареей были выделены 2 группы: 45,7% с нормальным и 54,3% с высокими показателями EDN в копрофильtrate.

Мы сравнили антропометрические показатели детей с ХД, имеющих нормальные и повышенные уровни EDN в копрофильtrate. Использовали

программу ВОЗ Anthro по показателям Z-score роста, массы тела и индекса массы тела относительно возраста, а также Z-score массы тела относительно роста. Нами установлено, что у детей с ХД и высоким уровнем EDN в кале чаще встречаются низкие и очень низкие показатели роста относительно возраста и массы тела относительно роста, однако подсчет критерия Фишера выявил, что эта закономерность имеет слабую зависимость по-видимому, это указывает на то, что ведущую роль в задержке физического развития играет сам факт наличия ХД, а не ее этиология.

Согласно мнению ряда авторитетных исследователей, помимо диарейного синдрома, гастроинтестинальная пищевая аллергия у детей может проявляться коликами, срыгиваниями и расстройствами дефекации [42, 11]. В ходе выполнения данной работы мы нашли статистически значимое различие между группами с повышенным и нормальным уровнями EDN по частоте младенческой дисхезии, она оказалась больше у детей с высоким уровнем EDN ( $\chi^2=9,41$ ,  $p=0,003$ ).

Характерным признаком диарейного синдрома при аллергии является наличие крови и большого количества слизи в стуле, что объясняется тем, что одной из форм поражения ЖКТ в этом случае является аллергический проктоколит/проктосигмоидит. Нами выявлено, что указанный симптом достоверно чаще обнаруживается у детей с высоким уровнем EDN в копрофильtrate. Кроме того, по нашим данным, аллергический генез ХД у детей с повышенным уровнем EDN достоверно сопряжен с атопическим дерматитом (АтД), в том числе при сочетании проявлений аллергического проктоколита и АтД.

Копрологическое исследование является доступным, но недостаточно специфическим методом дифференциальной диагностики ХД. Копрологическим признаком воспалительного процесса, в том числе и аллергического, в нижних отделах толстой кишки является колидистальный синдром (эритроциты, лейкоциты, слизь, йодофильная флора): надежными маркерами атопического

процесса в организме считается повышение общего IgE в сыворотке крови, эозинофилов в лейкоформуле крови.

Нами была проанализирована специфичность и чувствительность этих тестов для диагностики аллергической этиологии ХД; в качестве стандарта диагностики гастроинтестинальной аллергии рассматривался повышенный уровень EDN в копрофильtrate. Выявлено, что перечисленные тесты обладают низкой чувствительностью, но достаточно высокой специфичностью, за исключением наличия лейкоцитов в кале, так как этот копрологический признак характерен для колидистального синдрома любой этиологии.

Тест на уровень общего IgE в сыворотке крови оказался высокоспецифичным маркером аллергической природы ХД, однако, из полученных нами результатов следует, что он положителен только у 34,2 % детей с повышенным уровнем EDN. Это, на наш взгляд, подтверждает представления о том, что среди патогенетических механизмов гастроинтестинальной аллергии преобладают не IgE зависимые. Указанный факт доказывает актуальность поиска более чувствительных маркеров аллергии, одним из «кандидатов» на эту роль представляется количественный уровень EDN в копрофильtrate.

В ходе данного этапа исследования была проведена оценка содержания EDN в кале у детей с ХД. После сопоставления с полученными нами в группе условно-здоровых референсными значениями, из 70 детей с ХД была выделена группа из 38 пациентов с высоким уровнем EDN, которая сравнивалась нами по ряду параметров с группой из 32 детей с ХД и с низким уровнем EDN кала. Дана сравнительная оценка физического развития, распространенности клинико-анамнестических и лабораторных маркеров аллергии при нормальном и высоком уровне EDN в кале. Нами выявлено, что у детей с ХД и высоким уровнем EDN в кале несколько чаще отмечаются низкие и очень низкие показатели физического развития.

Показана статистически значимая связь повышения уровня EDN в кале с основными предикторами аллергии. Показана высокая дифференциально-диагностическая ценность теста на количественное содержание EDN в кале у детей с ХД. Выявлена статистическая связь между высоким уровнем EDN и другими маркерами аллергии. По нашим данным, диагностический тест на общий IgE в сыворотке крови при высокой специфичности обладает чувствительностью на уровне 34,2%, что указывает на то, что среди патогенетических механизмов гастроинтестинальной аллергии преобладают не-IgE-зависимые.

В целом полученные результаты обосновывают целесообразность использования теста на количественное содержание EDN в кале в качестве неинвазивного метода диагностики гастроинтестинальной пищевой аллергии у детей.

Полученные на предыдущих этапах исследования результаты позволили нам предложить и клинически апробировать алгоритм диагностики гастроинтестинальной пищевой аллергии у детей раннего возраста с ХД.

Нами было установлено, что ряд клинико-anamnestических и лабораторных симптомов обладают достаточно высокой специфичностью для того, чтобы их наличие расценивалось в качестве основания для проведения теста на EDN в кале. К анамnestическим факторам, согласно нашим данным, следует отнести наличие в анамнезе младенческой дисхезии, отягощённого семейного анамнеза по аллергии, ранний перевод на искусственное вскармливание, нерациональное введение прикорма; к клиническим симптомам, повышающим вероятность аллергического генеза диареи можно отнести наличие у ребенка атопического дерматита, примеси крови и слизи в кале; копрологически - обнаружение эритроцитов в каловых массах. Кроме того, по нашим данным, достаточно высокой специфичностью при низкой чувствительности обладают тест на эозинофилию в лейкоформуле периферической крови и уровень общего IgE в сыворотке крови.

Для выявления прогностических маркеров и разработки алгоритма прогнозирования гастроинтестинальной пищевой аллергии проведен корреляционный анализ комплекса лабораторных показателей с уровнем EDN в кале у детей с ХД. Выявлена средняя корреляционная связь уровня EDN и эозинофилов крови ( $r=0,39$ , при  $p=0,001$ ), уравнение регрессии  $EDN = 92,3 + 30,6 \times Eoz$ . Коэффициент детерминации модели  $R^2=27\%$ , стандартная ошибка регрессии — 121,6 нг/мл. Установлена средняя степень корреляции EDN с уровнем Ig E крови ( $r=0,65$ , при  $p<0,05$ ), уравнение регрессии  $EDN = 115,2 + 2,24 \times IgE$ . Коэффициент детерминации модели  $R^2=44\%$ , стандартная ошибка регрессии — 106,9 нг/мл. Так же установлена средняя корреляционная связь ( $r=0,55$ , при  $p<0,001$ ) наличия эритроцитов в кале с показателями уровня EDN. Уравнение регрессии:  $EDN = 130,9 + 23,2 \times Er$ . Коэффициент детерминации модели  $R^2=41\%$ , стандартная ошибка регрессии — 109,4 нг/мл.

Нами была проведена сравнительная оценка наглядности анамнестических, клиничко-параклинических данных, определяемых с использованием меры Кульбака, разработана таблица создания групп риска по развитию гастроинтестинальной ПА у детей раннего возраста с хронической диареей, основанная на логистической регрессии. В созданную таблицу включены следующие этапы: предварительный отбор анамнестических и клиничко-параклинических, лабораторных критериев, по которым достоверно отличались группы детей с хронической диареей; оценка уровня информативности (I, усл.ед.) этих признаков по формуле Кульбака; подсчет диагностических коэффициентов (ДК, балл) для принятых градаций признака.

По итогам проведенного анализа признаки разделены на несколько модулей: 1- анамнестические; 2 - клинические; 3 – лабораторные. В первом модуле, характеризующем анамнестические сведения, наибольшей информативностью обладали данные: отягощенность аллергологического анамнеза, ранний перевод на искусственное вскармливание, нерациональное введение прикорма. Во втором

модуле наибольшей прогностической информативностью обладали: наличие крови и слизи в кале, младенческой дисхезии, атопического дерматита. В 3 модуле – эритроциты в кале, эозинофилы в лейкоформуле периферической крови, иммуноглобулин Е в сыворотке крови.

Протестировав данные показатели диагностических коэффициентов с помощью ROC-кривой, мы отметили, что площадь под графиком (AUC) равна  $0,85 \pm 0,04$ , при  $p < 0,001$ . При пороговой точке 20 баллов, чувствительность составила 76%, специфичность=78%, при пороговой точке 10 баллов происходит повышение чувствительности до 95%, специфичности до 80%.

Таким образом, принципиально алгоритм диагностики может выглядеть следующим образом – предварительный клинический отбор на основании установленных нами высокоспецифичных признаков (отягощенный аллергологический анамнез, ранний перевод на искусственное вскармливание, нерациональное введение прикорма, наличие крови и слизи в кале, младенческая дисхезия, атопический дерматит), уточняющие общедоступные лабораторные тесты (эритроциты в кале, эозинофилия в общем анализе крови, повышение общего IgE в сыворотке крови).

Нами предложен вариант, основанный на клинико-anamнестических, лабораторных данных, включающий копрограмму, общий анализ крови, анализ крови на IgE и, в случае достижения пороговой точки 20 баллов, чувствительность 76%, специфичность 78%. С целью повышения диагностической значимости предложенного алгоритма, мы применили клинико-anamнестические и лабораторные данные в совокупности с количественным уровнем EDN в копрофильtrate (при пороговой точке 10 баллов); это привело к повышению чувствительности теста до 95%, специфичности до 80%.

По нашему мнению, данный алгоритм наиболее востребован при первичной и дифференциальной диагностике пищевой аллергии, в этом случае достигается ускорение диагностики при снижении затрат на проведение достаточно

дорогостоящего и не всегда доступного теста на EDN кала. Еще одной возможностью использования теста на EDN кала является ранний контроль за эффективностью проведения гипоаллергенной, в частности безмолочной диеты.

## ВЫВОДЫ

1. Состояние здоровья детей с хронической диареей характеризуется снижением показателей физического развития, прежде всего дефицитом массы тела к росту (24,3%) и низким индексом массы тела (20,0%), наличием анемии (20,0%), нарушение процессов переваривания и всасывания (42,2%), копрологически - наличием коли-дистального синдрома (48,6%), уменьшением численности облигатной флоры бифидобактерий (68,6%) и лактобактерий (47,1%), контаминацией условно-патогенной флорой *Klebsiella spp.* (34,3%), *E. coli* с гемолизирующими свойствами (31,4%), во всех случаях различия с группой условно-здоровых детей достоверны ( $p < 0,05$ ).

2. Факторами риска хронической диареи у детей раннего возраста являются наличие у матери хронической урогенитальной инфекции (ОШ 4,5 95% ДИ 2,04-10,02), рождение путем Кесарева сечения (ОШ 4,79 95% ДИ 2,05-11,2), раннее искусственное вскармливание (ОШ 2,94 95% ДИ 4,27-6,77); применение антибиотикотерапии в неонатальном периоде (ОШ 3,5 95% ДИ 1,6-7,9), эпизоды острых кишечных инфекций на первом году жизни (ОШ 4,35 95% ДИ 2,08-9,12), наличие патологии ЖКТ, в том числе пищевой непереносимости ( $p < 0,05$ ).

3. Высокий уровень EDN в кале имеют 54,3% детей раннего возраста с хронической диареей, нормальный 45,7%; в подгруппе с высоким уровнем EDN отягощённость семейного анамнеза по аллергии наблюдалась в 57,9% у детей с нормальным уровнем EDN 28,1% ( $\chi^2=6,24$ ,  $p=0,01$ ), нерациональное введение прикорма отмечалось соответственно в 53% и 25% ( $\chi^2=5,5$ ,  $p=0,02$ ), младенческая дисхезия соответственно в 71% и 34% ( $\chi^2=9,41$ ,  $p=0,003$ ); высокий уровень EDN в кале ассоциируется с наличием у ребенка атопического дерматита и крови в стуле ( $\chi^2=8,69$ ,  $p=0,004$ ), повышенным уровнем IgE в сыворотке крови и эозинофилией в лейкоформуле периферической крови ( $p < 0,05$ ).

4. При регрессионном анализе установлено, что наиболее высоким диагностическим коэффициентом для гастроинтестинальной пищевой аллергии

обладают следующие признаки: атопический дерматит (16,8 баллов), кровь в стуле или эритроциты в копрограмме (14 баллов), отягощенная по аллергии наследственность (5,6 баллов), нерациональное введение прикорма (5 баллов), наличие крови и слизи в кале (6 баллов), младенческая дисхезия (8,2 балла), и повышенный уровень IgE (5,8 баллов), эозинофилы крови (3,6 баллов). При пороговой точке 20 баллов, чувствительность комплекса составляет 76%, специфичность 78%, при пороговой точке с 10 баллов чувствительность комплекса 95%, специфичность 80%.

5. Комплексный подход к диагностике гастроинтестинальной пищевой аллергии у детей с хронической диареей предусматривает предварительный отбор по анамнестическим и клиническим признакам, лабораторное обследование первого уровня, включающий копрограмму, общий анализ крови, анализ крови на IgE и, в случае достижения пороговой точки, определенной при ROC-анализе, исследование на EDN в кале. Согласно предложенному алгоритму комплексной диагностики среди детей с высоким уровнем EDN в кале, аллергический проктоколит выставлен в 32%, аллергическая энтеропатия в 68%.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Для оптимизации диагностики и терапии ХД у детей на первичном этапе рекомендуется использовать программы для ЭВМ «Диагностика хронической диареи у детей первого года жизни» (Свидетельство о государственной регистрации №2021615660 от 05.04.2021) и «Диагностика хронической диареи у детей старше 1 года жизни» (Свидетельство о государственной регистрации №2021615771 от 05.04.2021)

2. У детей, имеющих факторы риска ХД, рекомендуется после перенесенных эпизодов ОКИ и антибиотикотерапии проводить профилактические меры, направленные на восстановление микробиоценоза, пищеварительных нарушений.

3. При диспансеризации детей с ХД рекомендуется учитывать выявленные нами особенности состояния здоровья этой клинической группы обращая особое внимание на нарушения физического развития, пищеварения и микробиоценоза кишечника.

4. Всем детям раннего возраста с ХД рекомендуется проводить первичный клиничко-лабораторный скрининг на аллергический генез диареи, а при наличии признаков в соответствии с разработанным нами комплексным подходом использовать тест на уровень EDN в кале.

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕГО ИЗУЧЕНИЯ ТЕМЫ**

Дальнейшее совершенствование подходов к диагностике ГИПА может заключаться в поиске и изучении диагностических качеств иных маркеров аллергического воспаления, оптимизации комплексного подхода. Крайне актуальными представляются исследования в области эпидемиологии и патогенеза ХД, а так же возможностей дифференциальной диагностики и дифференцированного подхода к лечению этого состояния.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АлАТ - аланинаминотрансфераза  
АсАТ – аспартатаминотрансфераза  
АтД – атопический дерматит  
БКМ – белок коровьего молока  
ВОЗ – всемирная организация здравоохранения  
ГИПА – гастроинтестинальная пищевая аллергия  
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота  
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт  
ИПО – институт последипломного образования  
ИФА – иммуноферментный анализ  
ОКИ – острые кишечные инфекции  
ПА – пищевая аллергия  
ПД – персистирующая диарея  
ПЦР – полимеразная цепная реакция  
СИБР – синдром избыточного бактериального роста  
СРК – синдром раздраженного кишечника  
УПФ – условно-патогенная флора  
ФНО- $\alpha$  – фактор некроза опухоли  $\alpha$   
ХД – хроническая диарея  
ЭВМ – электронно-вычислительная машина  
EDN – eosinophil-derived neurotoxin

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аллергия к арахису: современное состояние проблемы / Л. М. Огородова, О. С. Федорова, М. М. Федотова [и др.] // Российский аллергологический журнал. – 2013. – № 3. – С. 3–10.
2. Аллергология и иммунология : национальное руководство / под ред. Р. М. Хаитов, Н. И. Ильина. – Москва : ГЭОТАР- Медиа, 2014. – 656 с.
3. Анализ факторов риска в развитии аллергопатологии у детей Пермского региона / И. П. Корюкина, Л. В. Бурдина, М. С. Семухина [и др.] // Материалы II Всероссийской Научно – практической конференции «Здоровье и образование». – Пермь, 2004. – С. 121–124.
4. Атопический дерматит : руководство для врачей / Л. С. Намазова-Баранова, Т. В. Куличенко Т. Э. Боровик ; Союз педиатров России [и др.]. – Москва : ПедиатрЪ, 2017. – 70 с. : ил. – (Болезни детского возраста от А до Я; Вып. 6).
5. Атопический дерматит у детей: современные клинические рекомендации по диагностике и терапии / Л. С. Намазова-Баранова, А. А. Баранов, А. А. Кубанова [и др.] / Вопросы современной педиатрии. – 2016. – Т. 15, № 3. – С. 279–294.
6. Атопический дерматит у детей: от общих представлений к состоянию органов пищеварения / С. В. Бельмер, Н. Г. Короткий, А. А. Тихомиров [и др.] // Вопросы детской диетологии. – 2016. – Т. 14, № 6. – С. 40–47.
7. Балаболкин, И. И. Пищевая аллергия у детей / И. И. Балаболкин // Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2008. – № 4(15). – С. 7–15.
8. Балаболкин, И. И. Пищевая аллергия у детей: современные аспекты патогенеза и подходы к терапии и профилактике / И. И. Балаболкин // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2013. – № 3. – С. 36–46.
9. Белая книга WAO по аллергии 2011–2012 : резюме / под ред. Р. И. Сепиашвили, Т. А. Славянской. – Москва : Медицина–Здоровье, 2011. – 12 с.

10. Белоусова, О. Ю. Синдром диареи у детей и подростков: особенности патогенетической терапии / О. Ю. Белоусова // Здоровье ребенка. – 2018. – Т. 13, № S1. – С. 1–6.
11. Бельмер, С. В. Аллергия и органы пищеварения у детей / С. В. Бельмер, Е. А. Корниенко // Вопросы детской диетологии. – 2017. – Т. 15, № 3. – С. 24–31.
12. Богданова, С. В. Прогнозирование и профилактика пищевой аллергии у детей в антенатальном и постнатальном периоде: специальность 14.01.08 «Педиатрия» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Богданова Светлана Владимировна. – Москва, 2015. – 25 с.
13. Богданова, С. В. Профилактика и прогнозирование пищевой аллергии у детей в антенатальном и постнатальном периоде / С. В. Богданова, Л. И. Ильенко, С. Н. Денисова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2014 – № 1. – С. 34–39.
14. Болезни кишечника у детей. В 2 т. Т. 2 / [А. Б. Алхасов, М. К. Бехтерева, Г. В. Волынец и др.] ; под ред. С. В. Бельмер, А. Ю. Разумовского, А. И. Хавкина. – Москва : Медпрактика, 2018. – 496 с.
15. Борисова, И. В. Пищевая аллергия у детей / И. В. Борисова, С. В. Смирнова. – Красноярск : Изд-во КрасГМУ, 2011. – 150 с.
16. Ботвиньев, О. К. Диетотерапия при пищевой аллергии к белкам коровьего молока у детей раннего возраста / О. К. Ботвиньев, А. В. Еремеева // РМЖ. – 2010. – № 1. – С. 32.
17. Боткина, А. С. Пищевая аллергия у детей: современный взгляд на проблему / А. С. Боткина // Лечащий врач. – 2012. – № 6. – С. 35.
18. Булатов, В. П. Хроническая диарея у детей / В. П. Булатов, А. А. Камалова // Практическая медицина. – 2012. – № 7–1(62). – С. 38–40.
19. Ванденплас, И. Симптомы, диагностика и лечение аллергии на коровье молоко / И. Ванденплас, Й. Марчанд, Л. Мейнс // Медицинский совет. – 2017. – № 1. – С. 166–171.

20. Варламов, Е. Е. Диагностическое значение пероральных провокационных проб у детей с атопическим дерматитом / Е. Е. Варламов, А. Н. Пампура, Т. С. Окунева // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2012. – Т. 57, № 6. – С. 37–41.
21. Влияние приема синбиотического комплекса, содержащего *Lactobacillus rhamnosus* GG и фруктоолигосахариды, на динамику уровня фекального кальпротектина у детей первого года жизни / Н. Б. Мигачева, Д. В. Печкуров, Т. И. Каганова [и др.] // Альманах клинической медицины. – 2017. – Т. 45, № 1. – С. 33–39.
22. Влияние пробиотика *Lactobacillus reuteri* и гипоаллергенной диеты на развитие пищевой аллергии у детей первых месяцев / В. А. Ревякина, Е. Ю. Березина, Е. Д. Кувшинова [и др.] // Вопросы детской диетологии. – 2017. – Т. 15, № 1. – С. 66–67.
23. Воронцов, И. М. Болезни, связанные с пищевой сенсибилизацией у детей / И. М. Воронцов, О. А. Матальгина. – Ленинград : Медицина, 1986. – 272 с.
24. Всемирная организация здравоохранения. Диарея [цит. 2017 май 02]. Информационный бюллетень; 2019. [World Health Organization. Diarrhea [citation 2017 may 02]. Newsletter; 2019.
25. Всемирная организация по аллергии : руководство по профилактике аллергии и аллергической астмы / под ред. S. G. O. Johansson, Tari Haahtela // Аллергология и иммунология. – 2005. – Т. 6, № 1. – С. 81–91.
26. Всероссийский консенсус по диагностике и лечению целиакии у детей и взрослых. Принят на 42-й Научной сессии ЦНИИГ (2–3 марта 2016) / А. И. Парфенов, И. В. Маев, А. А. Баранов [и др.] // Consilium medicum. Педиатрия. – 2016. – Т. 1, № 6. – С. 6–19.
27. Гастроинтестинальная пищевая аллергия у детей / С. Г. Макарова, Л. С. Намазова-Баранова, Е. А. Вишнёва [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2017. – Т. 16, № 3. – С. 202–212.

28. Гусева, А. М. Аллергия к арахису у детей / А. М. Гусева, А. Н. Пампура // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2013. – Т. 58, № 5. – С. 39–45.
29. Детская гастроэнтерология : практическое руководство / [М. Б. Белогурова, Н. В. Гончар, И. Н. Григович и др.] ; под ред. проф. И. Ю. Мельниковой. – Москва : ГЭОТАР–Медиа, 2018. – 478 с.
30. Диарея у детей младшего возраста (клиника, диагностика, принципы терапии) / О. Ю. Белоусова, Е. В. Савицкая, Н. В. Павленко [и др.] // Здоровье ребенка. – 2018. – Т. 13, № S1. – С. 63–68.
31. Диетические листы ASCIA, 2017 Доступ: [www.allergy.org.au/patients/food-allergy](http://www.allergy.org.au/patients/food-allergy).
32. Захарова, И. Н. Антибиотик-ассоциированная диарея у детей: что нового? / И. Н. Захарова, И. В. Бережная, Н. Г. Сугян // Медицинский совет. – 2017. – № 19. – С. 126–133.
33. Зиганшина, А. А. Лабораторные предикторы заболеваний желудочно-кишечного тракта у детей / А. А. Зиганшина, В. С. Сухоруков // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2017. – Т. 62, № 5. – С. 29–36.
34. Ильина, Н. И. Эпидемия аллергии – в чем причины? / Н. И. Ильина // Российский иммунологический журнал. – 2004. – № 31. – С. 37–41.
35. Ишкова, Н. С. Пищевая аллергия у детей: современный взгляд на проблему / Н. С. Ишкова, К. С. Казначеева, Л. Ф. Казначеева // Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2014. – Т. 12, вып. 1. С. 110–117.
36. К вопросу о продолжительности диеты при аллергии на белки коровьего молока. Как и когда снова вводить в питание ребенка молочные продукты? / С. Г. Макарова, Л. С. Намазова-Баранова, Г. А. Новик [и др.] // Педиатрическая фармакология. – 2015. – Т. 12, № 3. – С. 345–353.

37. Каштанова, Д. А. Участие микробиоты кишечника человека в процессах хронического системного воспаления / Д. А. Каштанова, Л. В. Егшатын, О. Н. Ткачева // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2015. – Т. 17, № 4. – С. 310–317.
38. Клиническая диетология детского возраста. Руководство для врачей / под ред. Т. Э. Боровик, К. С. Ладодо. – 2-е изд. – Москва : МИА, 2015. – 718 с.
39. Клиническая иммунология и аллергология / [Д. Адельман, Х. Кесарвала, Т. Фишер и др.] ; под ред. Г. Лолора - младшего и др. ; пер. с англ. М. В. Пащенко и Н. Б. Гамалеи ; ред. пер. Е. Н. Образцова [и др.]. – Москва : Практика, 2000. – 806 с. : ил.
40. Клиническая лабораторная диагностика : национальное руководство. В 2 т. Т. 1 / под ред. В. В. Долгова, В. В. Меньшикова. – Москва : ГЭОТАР–Медиа, 2012. – 928 с.
41. Корниенко, Е. А. Пищевая аллергия, кишечная микробиота и пробиотики / Е. А. Корниенко // Медицинский совет. – 2022. – Т. 16, № 1. – С. 178–183.
42. Корниенко, Е. А. Структура патологии кишечника при синдроме хронической диареи у детей / Е. А. Корниенко, Ю. А. Тараненко // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2014. – № 5. – С. 61.
43. Лечение острых кишечных инфекций вирусной этиологии у детей: результаты международного многоцентрового двойного слепого палцебо-контролируемого рандомизированного клинического исследования / Ю. В. Лобзин, А. В. Горелов, Д. В. Усенко [и др.] // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2020. – Т. 9, № 3(34). – С. 49–60.
44. Лусс, Л. В. Пищевая аллергия: проблемы диагностики и терапии / Л. В. Лусс. – Текст : электронный // Lvrach.ru Медицинский научно–практический портал [сайт]. – URL: <https://www.lvrach.ru/2003/03/4530131>. – Дата публикации: 28.03.2003.

45. Лусс, Л. В. Пищевые аллергены и пищевые добавки: роль в формировании пищевой аллергии и пищевой непереносимости / Л. В. Лусс // Эффективная фармакотерапия. – 2014. – № 33. – С. 12–19.
46. Лысиков, Ю. А. Иммунологические аспекты непереносимости белка злаков у детей / Ю. А. Лысиков, Е. А. Рославцева, Т. А. Малицина // Вопросы диетологии. – 2014. – Т. 4, № 2. – С. 44–50.
47. Мачарадзе, Д. Ш. Клиника при пищевой аллергии у детей и взрослых / Д. Ш. Мачарадзе // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2016. – № 2. – С. 35–55.
48. Мачарадзе, Д. Ш. Кожные пробы: методика проведения, роль в диагностике аллергических болезней и подготовке к проведению АСИТ : методическое пособие. – Москва : Берест-Пресс, 2013. – 107 с.
49. Мачарадзе, Д. Ш. Лечение пищевой аллергии: современные подходы / Д. Ш. Мачарадзе // Лечащий врач. – 2016. – № 4. – С. 12.
50. Мигачева, Н. Б. Уровень фекального кальпротектина у детей раннего возраста с отягощенным аллергологическим анамнезом / Н. Б. Мигачева // Сборник трудов XIII международной научной–практической конференции «21 век: фундаментальная наука и технологии». – 2017. – С. 35–37.
51. Микробиота кишечника у детей: от профилактики нарушений становления к предупреждению неинфекционных заболеваний / Д. В. Печкуров, Т. В. Турти, И. А. Беляева [и др.] // Педиатрическая фармакология. – 2016. – Т. 13, № 4. – С. 377–383.
52. Монахов, К. Н. Применение пробиотиков с *Lactobacillus rhamnosus* GG в профилактике атопического дерматита у детей / К. Н. Монахов, Д. К. Домбровская, Э. В. Назаренко // Фарматека. – 2017. – № 1. – С. 61–65.
53. Мунблит, Д. Б. Определение специфических Ig G-антител к пищевым продуктам в диагностике пищевой аллергии: миф или реальность? / Д. Б. Мунблит, И. А. Корсунский // РМЖ. – 2016. – № 18. – С. 1206–1209.

54. Мухина, Ю. Г. Влияние микрофлоры на функции желудочно-кишечного тракта / Ю. Г. Мухина, П. В. Шумилов, М. Г. Ипатова // Фарматека. – 2013. – № 1(254). – С. 37–42.
55. Наследственная непереносимость фруктозы / Н. В. Нагорная, Е. В. Бордюгова, А. П. Дудчак [и др.] // Здоровье ребенка. – 2014. – № 3(54). – С. 92–96.
56. Национальная программа оптимизации вскармливания детей первого года жизни в российской федерации. – 4-е изд., перераб. и доп. – Москва, 2019. – 206 с. – URL: [https://akev.info/images/documents/Programma\\_2019.pdf](https://akev.info/images/documents/Programma_2019.pdf) (дата обращения: 20.07.2022). – Текст : электронный.
57. Национальная стратегия по оптимизации вскармливания детей первого года жизни в Российской Федерации. – Москва : Союз педиатров России, 2011.
58. Не IgE-зависимая пищевая аллергия у детей / Ю. Г. Зайцева, Е. Г. Халева, М. В. Жданова [и др.] // Лечащий врач. – 2018. – № 4. – С. 31.
59. Нетребенко, О. К. Грудное молоко как фактор программирования здоровья ребенка; исследование метаболизма, микробиома и их взаимосвязи / О. К. Нетребенко, П. В. Шумилов, С. Г. Грибакин // Вопросы детской диетологии. – 2021. – Т. 19, № 4. – С. 40–45.
60. Новик, Г. А. Гастроинтестинальные проявления пищевой аллергии у детей / Г. А. Новик, М. А. Ткаченко // Лечащий врач. – 2012. – № 1. – С. 16–25.
61. Новик, Г. А. Механизмы аллергических реакций и методы аллергообследования в клинической практике / Г. А. Новик. – Санкт–Петербург : изд–во ГПМА, 2004. – 76 с.
62. Новикова, В. П. ВЗК-подобные заболеваниях желудочно-кишечного тракта у детей / В. П. Новикова, А. И. Хавкин, Н. Э. Прокопьева // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2021. – № 4(188). – С. 161–169.

63. Новикова, В. П. Дифференциальный диагноз хронических диарей у детей старше 1 года / В. П. Новикова // *Children's Medicine of the North-West*. – 2021. – Т. 9, № 2. – С. 10–21.

64. Нутритивная недостаточность и принципы ее коррекции у детей с пищевой аллергией. Разбор клинических случаев / М. Г. Ипатова, Т. А. Филатова, Е. А. Антонова [и др.] // *Эффективная фармакотерапия*. – 2018. – № 14. – С. 32–39.

65. Обзор материалов экспертного совета «Дифференциальная диагностика диарейного синдрома в зависимости от его патогенеза в практике врача-педиатра, роль пробиотических лекарственных средств в его лечении» / А. В. Горелов, И. Н. Захарова, С. Г. Макарова [и др.] // *Вопросы практической педиатрии*. – 2022. – Т. 17, № 1. – С. 207–212.

66. Оганезова, И. А. Кишечная микробиота и иммунитет: иммуномодулирующие эффекты *Lactobacillus rhamnosus GG* / И. А. Оганезова // *РМЖ*. – 2018. – № 9. – С. 39–44.

67. Олехнович, В. М. Пищевая аллергия у детей: клинические особенности, методы диагностики, терапия, тактика ведения / В. М. Олехнович, А. Т. Кульдибаева, О. Д. Добрынина // *Вестник СУРГУ. Медицина*. – 2015. – № 2(24). – С. 28–35.

68. Особенности клинических фенотипов пищевой аллергии при синдроме перекрестной реактивности / Т. А. Евдокимова, Ф. И. Петровский, Л. М. Огородова [и др.] // *Вопросы современной педиатрии*. – 2013. – Т. 12, № 2. – С. 6–11.

69. Особенности течения и дифференциальная диагностика хронической диареи у детей раннего возраста / О. Г. Шадрин, Т. Д. Задорожная, В. С. Березенко [и др.] // *Перинатология и педиатрия*. – 2018. – № 1(73). – С. 105–110.

70. Острые и персистирующие диареи у детей / Ю. Г. Мухина, М. Г. Ипатова, П. В. Шумилов [и др.] // *Фармакотерапия*. – 2013. – № 10. – С. 25–29.

71. Пампура, А. Н. Пищевая аллергия у детей : пособие для врачей / А. Н. Пампура. – Москва, 2014. – 60 с.

72. Пампура, А. Н. Пищевая аллергия у детей раннего возраста / А. Н. Пампура, Е. Е. Варламов, Н. Г. Конюкова // Педиатрия. Журнал им. Г. Н. Сперанского. – 2016. – Т. 95, № 3. – С. 152–157.
73. Патологическая физиология : учебник для медицинских вузов / [А. Д. Адо, Ю. А. Владимиров, А. Г. Чучалин и др.] ; под ред. А. Д. Адо [и др.]. – Москва : Триада-Х, 2001. – 573 с. : ил.
74. Первичная профилактика как эффективный ответ на эпидемию аллергических болезней / С. Г. Макарова, Т. Е. Лаврова, Е. А. Вишнева [и др.] // Педиатрическая фармакология. – 2015. – Т. 12, № 1. – С. 67–74.
75. Печкуров, Д. В. Хроническая диарея у детей: основные причины и механизмы, первичная диагностика, подходы к лечению / Д. В. Печкуров, А. А. Тяжева // Вопросы современной педиатрии. – 2019. – Т. 18, № 6. – С. 416–423.
76. Пищевая аллергия / А. А. Баранов, Л. С. Намазова-Баранова, Т. Э. Боровик [и др.]. – Москва : ПедиатрЪ, 2013. – 160 с. – (Болезни детского возраста от А до Я; Вып. 4).
77. Пищевая аллергия к куриному яйцу: обзор современных исследований / М. М. Федотова, О. С. Федорова, У. В. Коновалова [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2018. – Т. 17, № 2. – С. 156–166.
78. Пищевая аллергия у детей: клинические проявления, правильная диетотерапия, клинические случаи / Т. А. Филатова, М. Г. Ипатова, Ю. Г. Мухина [и др.] // Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2018. – № 4(55). – С. 18–24.
79. Пищевая аллергия. Клинические рекомендации / Союза педиатров России ; Министерство здравоохранения Российской Федерации. – утв. 2016. – URL: <https://ppt.ru/docs/rekomendatsiya-rekomendatsii/215186> (дата обращения: 20.07.2022). – Текст : электронный.

80. Пищевая аллергия. Клинические рекомендации / Союза педиатров России ; Министерство здравоохранения Российской Федерации. – утв. 2018. – 50 с. – URL: <https://www.pediatr-russia.ru/information/klin-rek/deystvuyushchie-klinicheskie-rekomendatsii.pdf> (дата обращения: 20.07.2022). – Текст : электронный.

81. Пробиотики и пребиотики : практические рекомендации (май 2008) / Всемирная гастроэнтерологическая организация = World Gastroenterology Organisation. – URL: <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-russian-2008.pdf> (дата обращения: 20.07.2022). – Текст : электронный.

82. Протокол ведения детей с аллергией к белкам коровьего молока. Клинические рекомендации / под ред. А. А. Баранова, Л. С. Намазова-Барановой, С. Г. Макаровой ; Союз педиатров России. – Москва : ПедиатрЪ, 2016. – 45 с. : ил.

83. Протокол ведения детей с пищевой аллергией / под. ред. А. А. Баранова, Л. С. Намазова-Барановой, С. Г. Макаровой. – Москва : ПедиатрЪ, 2016. – 49 с. – (Клинические рекомендации Союза педиатров России / ФГАУ «Научный центр здоровья детей» Минздрава России, Союз педиатров России).

84. Рациональное использование антигистаминных препаратов в программе терапии клинических проявлений пищевой аллергии у детей / Л. С. Овчаренко, А. А. Вертегел, Т. Г. Андриенко [и др.] // Современная педиатрия. – 2012. – № 4(44). – С. 46–49.

85. Ревякина, В. А. Гастроинтестинальные проявления аллергии у детей / В. А. Ревякина, Б. С. Каганов // Вопросы практической педиатрии. – 2011. – Т. 6, № 3. – С. 35–43.

86. Ревякина, В. А. Обзор специализированных продуктов питания для лечения и профилактики пищевой аллергии у детей раннего возраста / В. А. Ревякина, Т. В. Абрамова, И. Я. Конь // Российский аллергологический журнал. – 2017. – № 2. – С. 82–89.

87. РЛС – Регистр лекарственных средств России [сайт]. – Москва, 2000 – . – URL: <https://www.rlsnet.ru> (дата обращения: 20.07.2022). – Текст : электронный.
88. Савицкая, Е. В. Эффективность использования пробиотика *Lactobacillus rhamnosus GG* в комплексном лечении пищевой аллергии, протекающей на фоне патологии поджелудочной железы, у детей младшего возраста / Е. В. Савицкая // Здоровье ребенка. – 2016. – № 5(73). – С. 95–100.
89. Самсыгина, Г. А. Особенности становления биоценоза кишечника и кишечный дисбактериоз / Г. А. Самсыгина // Лечащий врач. – 2003. – № 5. – С. 3–7.
90. Сидорович, О. И. Пищевая аллергия. Принципы диагностики и лечения / О. И. Сидорович, Л. В. Лусс // Медицинский совет. – 2016. – № 16. – С. 141–147.
91. Сидорович, О. И. Преимущества антигистаминных препаратов первого поколения / О. И. Сидорович // Эффективная фармакотерапия. – 2015. – № 20. – С. 24–25.
92. Синдром персистирующих диарей у детей / Ю. Г. Мухина, П. В. Шумилов, М. И. Дубровская [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2011. – № 8. – С. 28–37.
93. Смолкин, Ю. С. Современные представления о формировании оральной толерантности / Ю. С. Смолкин, Е. А. Грищенко // Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2016. – № 1(44). – С. 8–14.
94. Суржик, А. В. Влияние пробиотической культуры *Lactobacillus rhamnosus GG* на иммунный ответ организма / А. В. Суржик // Вопросы современной педиатрии. – 2009. – Т. 8, № 2. – С. 54–58.
95. Тактика педиатра при лечении острых гастроэнтеритов у детей: что нового? / И. Н. Захарова, А. В. Есипов, Е. А. Дорошина [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2013. – Т. 12, № 4. – С. 120–125.

96. Таран, Н. Н. Ранняя профилактика аллергических заболеваний у детей первого года жизни / Н. Н. Таран, Т. А. Филатова // Вопросы питания. – 2015. – Т. 84, № S5. – С. 79.
97. Тейлор, Д. Биология : в 3 т. Т. 2 : пер. с англ. / Д. Тейлор, Н. Грин, У. Стаут ; под ред. Р. Сопера. – 3-е изд. – Москва : Мир, 2004. – 436 с.
98. Турти, Т. В. Научное обоснование дифференцированных подходов к профилактике аллергии у детей раннего возраста : специальность 14.01.08 «Педиатрия» ; 14.03.09 «Клиническая иммунология, аллергология» : автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Турти Татьяна Владимировна. – Москва, 2012. – 53 с.
99. Украинцев, С. Е. Профилактика аллергии: от иммунологии беременности до вскармливания детей первых месяцев жизни / С. Е. Украинцев // Вопросы совр. Педиатрии. – 2016. – Т. 15, № 6. – С. 604–609.
100. Федеральные клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям с аллергией к белкам коровьего молока / под ред. А. А. Баранова, Л. С. Намазовой-Барановой, Р. М. Хаитова [и др.]. – URL: [http://www.pediatrussia.ru/sites/default/files/file/kr\\_abkm.pdf](http://www.pediatrussia.ru/sites/default/files/file/kr_abkm.pdf). (дата обращения: 10.10.2018).
101. Хавкин, А. И. Микробиоценоз кишечника и иммунитет // Российский вестник перинатологии и педиатрии / А. И. Хавкин, С. Ф. Блат. – 2011. – Т. 56, № 1. – С. 159–174.
102. Хавкин, А. И. Микрофлора пищеварительного тракта / А. И. Хавкин. – Москва : Фонд социальной педиатрии, 2006. – 414 с. : ил.
103. Шуматова, Т. А. Фекальный кальпротектин как маркер структурнофункционального состояния кишечника у детей с пищевой непереносимостью / Т. А. Шуматова, Н. Г. Приходченко, Л. А. Оденбах // Дальневосточный медицинский журнал. – 2012. – № 4. – С. 70–72.

104. Эозинофильные воспалительные заболевания желудочно-кишечного тракта и пищевая аллергия у детей / П. В. Шумилов, М. И. Дубровская, О. В. Юдина [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2007. – Т. 6, № 4. – С. 45–53.

105. Эозинофильный колит: современные представления и дифференциальный диагноз / Е. А. Корниенко, Е. Л. Моисейкова, Т. Б. Лобода [и др.] // Вопросы детской диетологии. – 2021. – Т. 19, № 6. – С. 55–67.

106. A differential effect of 2 probiotics in the prevention of eczema and atopy: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial / K. Wickens, P. N. Black, T. V. Stanley [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2008. – Vol. 122(4). – P. 788–794.

107. A functionally specialized population of mucosal CD103+ DCs induces Foxp3+ regulatory T cells via a TGF- $\beta$ - and retinoic acid-dependent mechanism / J. L. Coombes, K. R. R. Siddiqui, C. V. Arancibia-Carcamo [et al.] // *The Journal of Experimental Medicine.* – 2007. – Vol. 204(8). – P. 1757–1764.

108. A Perspective on Partially Hydrolyzed Protein Infant Formula In Non-Exclusively Breastfed Infants / Y. Vandenplas, Z. Munasir, B. Hegar [et al.] // *Korean J. Pediatr.* – 2019. – May, vol. 62(5). – P. 149–154.

109. A randomized prospective double blind controlled trial on effects of long-term consumption of fermented milk containing *Lactobacillus casei* in pre-school children with allergic asthma and/or rhinitis / M. Giovannini, C. Agostoni, E. Riva [et al.] // *Pediatr. Res.* – 2007. – Vol. 62. – P. 215–220.

110. A Systematic Review of Metabolic Alterations Underlying IgE-Mediated Food Allergy in Children / E. De Paepe, L. Van Gijsegem, M. De Spiegeleer [et al.]. – Text : electronic // *Mol. Nutr. Food Res.* – 2021. – Dec., vol. 65(23). – e2100536. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34648231/> (date accessed: 24.12.2022).

111. A systematic review of tacrolimus ointment compared with corticosteroids in the treatment of atopic dermatitis / A. Svensson, C. Chambers, A. Ganemo [et al.] // *Curr. Med. Res. Opin.* – 2011. – Vol. 12. – P. 1385–1406.

112. ACG Clinical Guideline: evidence based approach to the diagnosis and management of esophageal eosinophilia and eosinophilic esophagitis (EoE) / E. S. Dellon, N. Gonsales, I. Hirano [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* – 2013. – Vol. 108. – P. 679–692.
113. Addendum guidelines for the prevention of peanut allergy in the United States: report of the National Institute of Allergy and Infectious Diseases–Sponsored Expert Panel / A. Togias, S. F. Cooper, M. L. Acebal [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2017. – Vol. 139(1). – P. 29–44.
114. Advances in Evaluation of Chronic Diarrhea in Infants / J. R. Thiagarajah, D. S. Kamin, S. Acra [et al.] // *Gastroenterology.* – 2018. – Jun., vol. 154(8). – P. 2045–2059.
115. AGA clinical practice guidelines on the laboratory evaluation of functional diarrhea and diarrhea-predominant irritable bowel syndrome in adults (IBS-D) / W. Smalley, C. Falck-Ytter, A. Carrasco-Labra [et al.] // *Gastroenterology.* – 2019. – Vol. 157(3). – P. 851–854.
116. Algorithms for managing infant constipation, colic, regurgitation and cow's milk allergy in formula-fed infants / Y. Vandenplas, P. Alarcon, P. Alliet [et al.] // *Acta Paediatr.* – 2015. – Vol. 104. – P. 449–457.
117. Aliberti, J. Immunity and Tolerance Induced by Intestinal Mucosal Dendritic Cells / J. Aliberti. – Text : electronic // *Mediators Inflamm.* – 2016. – Vol. 2016. – 3104727. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27034589/> (date accessed: 24.12.2022).
118. Allergic cross-reactivity: from gene to the clinic / F. Ferreira, T. Hawranek, P. Gruber [et al.] // *Allergy.* – 2004. – Mar., vol. 59. – P. 243–267.
119. Allergic manifestation 15 years after early intervention with hydrolyzed formulas – the GINI Study / A. von Berg, B. Filipiak-Pittroff, H. Schulz [et al.] // *Allergy.* – 2016. – Vol. 71(2). – P. 210–219.

120. Allergies in highrisk schoolchildren after early intervention with cow's milk protein hydrolysates: 10-year results from the German Infant Nutritional Intervention (GINI) study / A. von Berg, B. Filipiak-Pittroff, U. Kramer [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2013. – Vol. 131(6). – P. 1565–1573.
121. Allergy and asthma prevention 2014 / N. Papadopoulos, G. Roberts, A. Simpson [et al.] // *Pediatr. Allergy Immunol.* – 2014. – Oct., vol. 25(6). – P. 516–533.
122. Antibiotic prescription and food allergy in young children / B. L. Love, J. R. Mann, J. W. Hardin [et al.]. – Text : electronic // *Allergy Asthma Clin. Immunol.* – 2016. – Vol. 12(1). – 41. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27536320/> (date accessed: 24.12.2022).
123. Are food intolerances and allergies increasing in immigrant children coming from developing countries? / F. Cataldo, S. Accomando, M. L. Fracapane [et al.] // *Pediatr. Allergy Immunol.* – 2006. – Vol. 17. – P. 364–369.
124. Assessment of preclinical vitamin A deficiency in children with persistent diarrhea / N. Usha, A. Sankaranarayanan, B. N. Walia [et al.] // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 1991. – Aug., vol. 13(2). – P. 168–175.
125. Atopy patch test for the diagnosis of food protein-induced enterocolitis syndrome / M. I. Fogg, T. A. Brown-Whitehorn, N. A. Pawlowski [et al.] // *Pediatr. Allergy Immunol.* – 2006. – Vol. 17(5). – P. 351–355.
126. Barclay, L. Benefits of probiotics reviewed / L. Barclay // *Am. Fam. Physician.* – 2008. – Vol. 78. – P. 1073–1078.
127. Basophil activation test shows high accuracy in the diagnosis of peanut and tree nut allergy: the Markers of Nut Allergy Study / L. Duan, A. Celik, J. A. Hoang [et al.] // *Allergy.* – 2021. – Vol. 76(6). – P. 1800–1812.
128. Bayesian Hypothesis Testing: A Reference Approach / J. M. Bernardo, R. Rueda // *Statistical Review.* – 2002. – Vol. 70. – P. 351–372.
129. Belkaid, Y. Homeostatic immunity and the microbiota / Y. Belkaid, O. J. Harrison // *Immunity.* – 2017. – Vol. 46(4). – P. 562–576.

130. Benno, Y. The Intestinal Microflora of Infants: Composition of All Flora in Breast-Fed and Bottle-Fed Infants / Y. Benno, K. Sawada, T. Mitsuoka // *Microbiol. Immunol.* – 1984. – Vol. 28. – P. 975–986.
131. Beyer, K. Hypoallergenicity: a principle for the treatment of food allergy / K. Beyer // *Nestle Nutr. Workshop Ser. Pediatr. Program.* – 2007. – Vol. 59. – P. 37–43.
132. Bidat, E. Food allergy in children / E. Bidat // *Arch. Pediatr.* – 2006. – Vol. 13(10). – P. 1349–1353.
133. Blood pressure monitoring in children undergoing food challenge: association with anaphylaxis / C. Caffarelli, S. Ricò, L. Rinaldi [et al.] // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* – 2012. – Vol. 108. – P. 285–286.
134. Bock, S. A. AAAAI support of the EAACI Position Paper on IgG4 / S. A. Bock // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2010. – Vol. 125(6). – P. 1410.
135. Bramem, A. M. Food allergy among children in the United States / A. M. Bramem, S. L. Lukacs // *Pediatrics.* – 2009. – Vol. 124(6). – P. 1549–1556.
136. Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect / C. G. Victora, R. Bahl, A. J. D. Barros [et al.] // *Lancet.* – 2016. – Vol. 387(10017). – P. 475–490.
137. Brooks, C. The hygiene hypothesis in allergy and asthma: an update / C. Brooks, N. Pearce, J. Douwes // *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* – 2013. – Feb., vol. 13(1). – P. 70–77.
138. Buisseret, P. D. Common manifestations of CMA in children / P. D. Buisseret // *Lancet.* – 1978. – Vol. 8059. – P. 304–305.
139. Camilleri, M. Pathophysiology, evaluation, and management of chronic watery diarrhea / M. Camilleri, J. H. Sellin, K. E. Barrett // *Gastroenterology.* – 2017. – Vol. 152(3). – P. 515–532.
140. Cesarean section delivery and development of food allergy and atopic dermatitis in early childhood / E. Papathoma, M. Triga, S. Fouzas [et al.] // *Pediatr. Allergy Immunol.* – 2016. – Vol. 27(4). – P. 419–424.

141. Clinical course and prognosis of cow's milk allergy are dependent on milkspecific IgE status / K. M. Saarinen, A. S. Pelkonen, M. J. Makela [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2005. – Vol. 116. – P. 869–875.

142. Clinical Use of Probiotics in Pediatric Allergy (CUPPA): A World Allergy Organization Position Paper / A. Fiocchi, A. W. Burks, S. L. Bahna [et al.] // *World Allergy Organ. J.* – 2012. – Nov., vol. 5(11). – P. 148–167.

143. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection among healthy newborns – Chicago and Los Angeles County, 2004 / *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* – 2006. – Vol. 55(12). – P. 329–332.

144. Contribution of IgE and immunoglobulin free light chain in the allergic reaction to cow's milk proteins / B. Schouten, B. C. van Esch, A. O. van Thuijl [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2010. – Vol. 125. – P. 1308–1314.

145. Cow's milk oral immunotherapy in real life: 8-year long-term follow-up study / I. Mota, S. Piedade, A. Gaspar [et al.]. – Text : electronic // *Asia Pac. Allergy.* – 2018. – Jul. 23, vol. 8(3). – e28. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30079306/> (date accessed: 24.12.2022).

146. CSACI Position statement on the testing of food-specific IgG / S. Carr, E. Chan, E. Lavine [et al.]. – Text : electronic // *Allergy Asthma Clin. Immunol.* – 2012. – Vol. 8(1). – 12. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22835332/> (date accessed: 24.12.2022).

147. Da Cruz Gouveia, M. A. Acute diarrhea with blood: diagnosis and drug treatment / M. A. Da Cruz Gouveia, M. T. Lins, G. A. da Silva // *J. Pediatr. (Rio J.)*. – 2020. – Mar.-Apr., Suppl 1. – P. 20–28.

148. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns / M. G. Dominguez-Bello, E. K. Costello, M. Contreras [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2010. – Vol. 107. – P. 11971–11975.

149. Diagnosis and management of non-IgE-mediated cow's milk allergy in infancy - a UK primary care practical guide / C. Venter, T. Brown, N. Shah [et al.] // *Clinical and Translational Allergy*. – 2013. – Jul. 8, vol. 3(1). – P. 23.

150. Diagnosis, Natural History and Treatment of Eosinophilic Enteritis: a Review / G. Pineton de Chambrun, G. Dufour, B. Tassy [et al.]. – Text : electronic // *Curr. Gastroenterol. Rep.* – 2018. – Jul. 2, vol. 20. – 37. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29968127/> (date accessed: 24.12.2022).

151. Diagnostic approach and management of cow's-milk protein allergy in infants and children: ESPGHAN GI Committee practical guidelines / S. Koletzko, B. Niggemann, A. Arato [et al.] // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 2012. – Aug., vol. 55(2). – P. 221–229.

152. Diarrhea in American infants and young children in the community setting: incidence, clinical presentation and microbiology / L. Vernacchio, R.M. Vezina, A.A. Mitchell [et al.] // *Pediatr Infect Dis J.* – 2006. – Jan, vol. 25(1). – P. 2-7.

153. Dietary products used in infants for treatment and prevention of food allergy. Joint statement of the European Society for Pediatric Allergology and Clinical Immunology Committee on hypoallergenic formulas and the European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition / A. Høst, B. Koletzko, S. Dreborg [et al.] // *Arch. Dis. Child.* – 1999. – Jul., vol. 81(1). – P. 80–84.

154. EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines. Primary prevention of food allergy / A. Muraro, S. Halken, S. H. Arshad [et al.] // *Allergy*. – 2014. – Vol. 69. – P. 590–601.

155. Early allergic sensitizations and their relevance to atopic diseases in children aged 6 years: results of the GINI study / I. Brockow, A. Zutavern, V. Hoffmann [et al.] // *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* – 2009. – Vol. 19(3). – P. 180–187.

156. Early life antibiotics and childhood gastrointestinal disorders: a systematic review / K. Kamphorst, E. Van Daele, A. M. Vlieger [et al.]. – Text : electronic // *BMJ Paediatr. Open.* – 2021. – Mar. 3, vol. 5(1). – e001028. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33748435/> (date accessed: 24.12.2022).
157. Early life: gut microbiota and immune development in infancy / R. Martin, A. J. Nauta, K. Ben Amor [et al.] // *Benef. Microbes.* – 2010. – Vol. 1(4). – P. 367–382.
158. Early oral immunotherapy in peanut-allergic preschool children is safe and highly effective / B. P. Vickery, J. P. Berglund, C. M. Burk [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2017. – Jan., vol. 139(1). – P. 173.e8–181.e8.
159. Early-Life Events, Including Mode of Delivery and Type of Feeding, Siblings and Gender, Shape the Developing Gut Microbiota / R. Martin, H. Makino, A. Cetinyurek Yavuz [et al.]. – Text : electronic // *PLoS One.* – 2016. – Jun. 30, vol. 11(6). – e0158498. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27362264/> (date accessed: 24.12.2022).
160. Effect of probiotics on feeding tolerance, bowel rhythm and gastrointestinal motility in premature infants / F. Indrio, G. Riezzo, F. Raimondi [et al.] // *Verman.* – 2012 13.02.2012. P. 1–14.
161. Effect of roasting on the allergenicity of major peanut allergens Ara h 1 and Ara h 2/6: the necessity of degranulation assays / Y. M. Vissers, M. Iwan [et al.] // *Clin. Exp. Allergy.* – 2011. – Vol. 41(11). – P. 1631–1642.
162. Effects of Bifidobacteriae supplementation to pregnant women and infants in the prevent in infants and on fecal microbiota / T. Enomoto, M. Sowa, K. Nishimori [et al.] // *Allergol. Int.* – 2014. – Jul. 25. – P. 23–28.
163. Effects of *Lactobacillus rhamnosus* HN001 in early life on the cumulative prevalence of allergic disease to 11 years / K. Wickens, C. Barthow, E. A. Mitchell [et al.] // *Pediatr. Allergy Immunol.* – 2018. – Dec., vol. 29(8). – P. 808–814.

164. Elevation of Fecal Eosinophil-Derived Neurotoxin in Food Protein-Induced Enterocolitis Syndrome / I. Nomura<sup>1</sup>, N. Ito, M. Kondo [et al.]. – Text : electronic // *J. Allergy Clin. Immunol.* – Vol. 125, N 2. – AB89. – URL: [https://www.jacionline.org/article/S0091-6749\(09\)02149-6/pdf](https://www.jacionline.org/article/S0091-6749(09)02149-6/pdf) (date accessed: 24.12.2022).

165. Environmental enteric dysfunction and child stunting / S. Budge, A. H. Parker, P. T. Hutchings [et al.] // *Nutr. Rev.* – 2019. – Apr. 1, vol. 77(4). – P. 240–253.

166. Eosinophil-Derived Neurotoxin, Tumor Necrosis Factor Alpha, and Calprotectin as Non-Invasive Biomarkers of Food Protein-Induced Allergic Proctocolitis in Infants / A. Rycyk, B. Cudowska, D. M. Lebensztejn // *J. Clin. Med.* – 2020. – Sep. 29, vol. 9(10). – 3147.

167. Eosinophilic disorders of the gastro-intestinal tract: an update / E. Ridolo, V. Melli, G. Angelis [et al.]. – Text : electronic // *Clin. Mol. Allergy.* – 2016. – Dec. 1, vol. 14. – 17. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27956893/> (date accessed: 24.12.2022).

168. Eosinophilic esophagitis in children and adolescents: epidemiology, clinical presentation and seasonal variation / S. A. Sorser, M. Barawi, K. Hagglund [et al.] // *J. Gastroenterol.* – 2013. – Vol. 48(1). – P. 81–85.

169. Eosinophilic esophagitis: updated consensus recommendations for children and adults / C. A. Liacouras, G. T. Furuta, I. Hirano [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2011. – Vol. 128. – P. 3–20.

170. Eosinophilic gastroenteritis / M. Lee, W. G. Hodges, T. L. Huggins [et al.] // *South. Med. J.* – 1996. – Feb., vol. 89(2). – P. 189–194.

171. Eosinophilic gastroenteritis: diagnosis and clinical perspectives / T. Sunkara, P. Rawla, K. S. Yarlagadda [et al.] // *Clin. Exp. Gastroenterol.* – 2019. – Jun. 5, vol. 12. – P. 239–253.

172. Eotaxin-3 and a uniquely conserved gene-expression profile in eosinophilic esophagitis / C. Blanchard, N. Wang, K. F. Stringer [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2006. – Vol. 116. – P. 536–547.

173. European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. Diagnostic approach and management of cow's-milk protein allergy in infants and children: ESPGHAN GI Committee practical guidelines / S. Koletzko, B. Niggemann, A. Arato [et al.] // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 2012. – Vol. 55. – P. 221–229.

174. Extraction and measurement of urinary tetranor-PGDM in disposable diapers / N. Ito, T. Nakamura, N. Sakamoto [et al.] // *J. Pharmacol. Sci.* – 2021. – Oct., vol. 147(2). – P. 208–210.

175. Fecal calprotectin and eosinophil-derived neurotoxin in healthy children between 0 and 12 years / M. Roca, A. Rodriguez Varela, E. Donat [et al.] // *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition.* – 2017. – Vol. 65, N 4. – P. 394–398.

176. Fecal calprotectin diagnostic tests for inflammatory diseases of the bowel. – Text : electronic // NICE Diagnostics Guidance. – 2013. – Oct. – 58 p. – URL: [https://www.alphalabs.co.uk/media/productfile/file/c/a/calprotectin\\_nice\\_guidance.pdf](https://www.alphalabs.co.uk/media/productfile/file/c/a/calprotectin_nice_guidance.pdf) (date of access: 09.03.2020).

177. Fecal calprotectin: a selection tool for small bowel capsule endoscopy in suspected IBD with prior negative bi-directional endoscopy / A. Koulaouzidis, S. Douglas, M. A. Rogers [et al.] // *Scandinavian Journal of Gastroenterology.* – 2011. – Vol. 46, N 5. – P. 561–566.

178. Fecal eosinophil derived neurotoxin in cow's milk-sensitive enteropathy: a case report / T. Wada, Y. Matsuda, M. Muraoka [et al.] // *Allergol. Int.* – 2015. – Jan., vol. 64(1). – P. 99–100.

179. Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines / A. Muraro, G. Roberts, M. Worm // *Allergy.* – 2014. – Vol. 69. – P. 1026–1045.

180. Food allergy: A practice parameter update-2014 / H. A. Sampson, S. Aceves, A. Bock [et al.] // *Allergy Clin. Immunol.* – 2014. – Vol. 134. – P. 1016–1025.

181. Gastro-intestinal manifestations of cow's milk protein allergy and gastro-intestinal motility / Y. Vandenplas, F. Gottrand, G. Veereman-Wauters [et al.] // *Acta Paediatr.* – 2012. – Nov., vol. 101(11). – P. 1105–1109.
182. Germline hypomorphic CARD11 mutations in severe atopic disease / C. A. Ma, J. R. Stinson, Y. Zhang [et al.] // *Nat. Genet.* – 2017. – Aug., vol. 49(8). – P. 1192–1201.
183. Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: report of the NIAID-sponsored expert panel / J. A. Boyce, A. Assa'ad, A. W. Burks [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2010. – Dec., vol. 126(6 Suppl). – P. S1–58.
184. Gülen, A. L. Gastrointestinal food hypersensitivity: Symptoms, diagnosis and provocation tests / A. L. Gülen // *Turk J. Gastroenterol.* – 2007. – Vol. 18(1). – P. 5–13.
185. Gut dysbacteriosis and intestinal disease: mechanism and treatment / X. Meng, G. Zhang, H. Cao [et al.] // *J. Appl. Microbiol.* – 2020. – Oct., vol. 129(4). – P. 787–805.
186. Harmsen, H. J. The Human Gut Microbiota / H. J. Harmsen, M. C. Goffau // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2016. – Vol. 902. – P. 95–108.
187. High- and low-dose oral immunotherapy similarly suppress pro-allergic cytokines and basophil activation in young children / M. Kulis, X. Yue, R. Guo [et al.] // *Clin. Exp. Allergy.* – 2019. – Feb., vol. 49(2). – P. 180–189.
188. Hill, D. J. The diagnostic value of skin prick testing in children with food allergy / D. J. Hill, R. G. Heine, C. S. Hosking // *Pediatr. Allergy Immunol.* – 2004. – Vol. 15, N 5. – P. 435–441.
189. Host, A. Development of atopy in childhood / A. Host // *Allergy.* – 1997. – Vol. 52. – P. 695–697.
190. Human milk and allergic diseases: an unsolved puzzle / D. Munblit, D. G. Peroni, A. Boix-Amorós [et al.]. – Text : electronic // *Nutrients.* – 2017. – Vol. 9(8). – 894. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28817095/> (date accessed: 24.12.2022).

191. ICON: Food allergy / A. Burks, M. Tang, S. Sicherer [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2012. – Vol. 129. – P. 906–920.
192. Identification and characterization of the major allergens of buckwheat / J. W. Park, D. B. Kang, C. W. Kim [et al.] // *Allergy.* – 2000. – Vol. 55. – P. 1035–1041.
193. Improved immunogenicity of oral DxRRV reassortant rotavirus vaccine by *Lactobacillus casei* GG / E. Isolauri, J. Joensuu, H. Suomalainen [et al.] // *Vaccine.* – 1995. – Vol. 13. – P. 310–312.
194. Increase in eosinophil-derived neurotoxin level in school children with allergic disease / C. K. Kim, D. Y. Kang, Z. Callaway [et al.]. – Text : electronic // *Asia Pac Allergy.* – 2022. – Jul. 13, vol. 12(3). – e25. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35966157/> (date accessed: 24.12.2022).
195. Increased food diversity in the first year of life is inversely associated with allergic diseases / C. Roduit, R. Frei, M. Depner [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2014. – Vol. 133(4). – P. 1056–1064.
196. Infectious Diseases Society of America clinical practice guidelines for the diagnosis and management of infectious diarrhea // *Clin. Infect. Diseases.* – 2017. – Vol. 65(12). – P. e45–e80.
197. Intestinal permeability and fecal eosinophil-derived neurotoxin are the best diagnosis tools for digestive non-IgE-mediated cow's milk allergy in toddlers / N. Kalach, N. Kapel, A. J. Waligora-Dupriet [et al.] // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2013. – Feb., vol. 51(2). – P. 351–361.
198. Introducing Allergenic Food into Infants' Diets: Systematic Review / K. Larson, J. McLaughlin, M. Stonehouse [et al.] // *MCN The American Journal of Maternal/Child Nursing.* – 2017. – Mar., vol. 42(2). – P. 72–80.
199. Irvine, A. D. Filaggrin mutations associated with skin and allergic diseases / A. D. Irvine, W. H. McLean, D. Y. Leung // *N. Engl. J. Med.* – 2011. – Oct. 6, vol. 365(14). – P. 1315–1327.

200. Jarvinen, K. Food protein-induced enterocolitis syndrome (FPIES): current management strategies and review of the literature / K. Jarvinen, A. Nowak-Wegrzyn // *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* – 2013. – Vol. 1. – P. 317–322.
201. Jorge, E. Dupilumab for off-label treatment of moderate to severe childhood atopic dermatitis / E. Jorge, J. Clark // *Cutis.* – 2018. – Sep., vol. 102(3). – P. 201–204.
202. Kozyrskyj, A. L. Can we predict future allergies from our infant gut microbiota? / A. L. Kozyrskyj // *Expert. Rev. Respir. Med.* – 2015. – Vol. 9(6). – P. 667–670.
203. Kramer, M. S. Cochrane in context: Maternal dietary antigen avoidance during pregnancy or lactation, or both, for preventing or treating atopic disease in the child / M. S. Kramer, R. Kakuma // *Evid. Based Child. Health.* – 2014. – Jun., vol. 9(2). – P. 484–485.
204. Kullback, S. On Information and Sufficiency / S. Kullback, R. A. Leibler // *The Annals of Mathematical Statistics.* – 1951. – Vol. 22(1). – P. 79–86.
205. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 in infantile colic: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial / F. Savino, L. Cordisco, V. Tarasco [et al.] // *Pediatrics.* – 2010. – Sep., vol. 126(3). – P. e526–e533.
206. Levocetirizine in one-to two-year-old children: pharmacokinetic and pharmacokinetic profile / N. Cranswick, J. Turzikova, M. Fuchs [et al.] // *Int. J. Clin. Pharmacol. Therap.* – 2005. – Vol. 43. – P. 172–177.
207. Lin, L. Role of intestinal microbiota and metabolites on gut homeostasis and human diseases / L. Lin, J. Zhang. – Text : electronic // *BMC Immunology.* – 2017. – Vol. 18(1). – 2. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28061847/> (date accessed: 24.12.2022).
208. Majamaa, H. Probiotics: a novel approach in the management of food allergy / H. Majamaa, E. Isolauri // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 1997. – Feb., vol. 99(2). – P. 179–185.

209. Maldonado, R. A. How tolerogenic dendritic cells induce regulatory T cells / R. A. Maldonado, U. H. von Andrian. // *Adv. Immunol.* – 2010. – Vol. 108. – P. 111–165.
210. Manifestations of food protein induced gastrointestinal allergies presenting to a single tertiary paediatric gastroenterology unit / R. Meyer, C. Fleming, G. Ortega-Dominguez [et al.] // *World Allergy Organ J.* – 2013. – Aug. 6, vol. 6(1). – P. 13.
211. Maternal carriage of *Prevotella* during pregnancy associates with protection against food allergy in the offspring / P. J. Vuillermin, M. O'Hely, F. Collier [et al.]. – Text : electronic // *Nat. Commun.* – 2020. – Mar. 24, vol. 11(1). – 1452. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32210229/> (date accessed: 24.12.2022).
212. Maternal diet during pregnancy and lactation and cow's milk allergy in offspring / J. Tuokkola, P. Luukkainen, H. Tapanainen [et al.] // *Eur. J. Clin. Nutr.* – 2016. – May, vol. 70(5). – P. 554–549.
213. Matsuzaki, T. Immunomodulation by treatment with *Lactobacillus casei* strain Shirota / T. Matsuzaki // *Int. J. Food Microbiol.* – 2000. – May 26, vol. 41(2). – P. 133–140.
214. Min, Y. W. The Role of Microbiota on the Gut Immunology / Y. W. Min, P. L. Rhee // *Clin. Ther.* – 2015. – Vol. 37(5). – P. 968–975.
215. Mu, C. Crosstalk Between The Immune Receptors and Gut Microbiota / C. Mu, Y. Yang, W. Zhu // *Curr. Protein Pept. Sci.* – 2015. – Vol. 16(7). – P. 622–631.
216. Multicenter prevalence of anaphylaxis in clinic-based oral food challenges / K. Akuete, D. Guffey, R. B. Israelsen [et al.] // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* – 2017. – Oct., vol. 119(4). – P. 339.e1–348.e1.
217. Munblit, D. Factors affecting breast milk composition and potential consequences for development of the allergic phenotype / D. Munblit, R. J. Boyle, J. O. Warner // *Clin. Exp. Allergy.* – 2015. – Vol. 45(3). – P. 583–601.

218. Nalyotov, A. V. [Assessment of the state of the small intestine microbiota in children on a long-term dairy-free diet] / A. V. Nalyotov, N. A. Svistunova // *Vopr. Pitan.* – 2022. – Vol. 91(2). – P. 15–20.
219. Natural course and risk factors for persistence of IgE-mediated cow's milk allergy / A. Elizur, N. Rajuan, M. R. Goldberg [et al.] // *J. Pediatr.* – 2012. – Sep., vol. 161(3). – P. 482–487.
220. Nemeth, V. Diarrhea / V. Nemeth, N. Pflieger. – Text: electronic // *StatPearls* [Internet]. – Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing, 2022. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28846339/> (date accessed: 24.12.2022).
221. Niggemann, B. Diagnostic pitfalls in food allergy in children / B. Niggemann, K. Beyer // *Allergy.* – 2005. – Vol. 60, № 1. – P. 104–107.
222. Non-IgE Mediated Food Allergy / A. Cianferoni // *Curr. Pediatr. Rev.* – 2020. – Vol. 16(2). – P. 95–105.
223. Non-IgE- or Mixed IgE/Non-IgE-Mediated Gastrointestinal Food Allergies in the First Years of Life: Old and New Tools for Diagnosis / M. Calvani, C. Anania, B. Cuomo [et al.]. – Text: electronic // *Nutrients.* – 2021. – Jan. 14, vol. 13(1). – 226. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33466746/> (date accessed: 24.12.2022).
224. Oral disodium cromoglycate and ketotifen for a patient with eosinophilic gastroenteritis, food allergy and protein Closing enteropathy / J. Suzuki, Y. Kawasaki, R. Nozawa [et al.] // *Asian. Pac. J. Allergy. Immunol.* – 2003. – Vol. 21. – P. 193–197.
225. Palm, N. W. Immune-microbiota interactions in health and disease / N. W. Palm, M. R. de Zoete, R. A. Flavell // *Clinical immunology (Orlando, Fla.)*. – 2015. – Vol. 159(2). – P. 122–127.
226. Parents' estimate of food allergy in Italian school-aged children / C. Caffarelli, A. Coscia, E. Ridolo [et al.] // *Ped. Int.* – 2011. – Vol. 53. – P. 506–510.
227. Patterns of clinical management of atopic dermatitis in infants and toddlers: A survey of three physician specialities in the United States / J. Saavedra, M. Boguniewicz, S. Chamlin [et al.] // *J. Pediatr.* – 2013. – Vol. 14. – P. 168–171.

228. Pediatric and adult eosinophilic esophagitis: similarities and differences / A. Straumann, S. S. Aceves, C. Blanchard [et al.] // *Allergy*. – 2012. – Vol. 67. – P. 477–490.
229. Potential Biomarkers, Risk Factors and their Associations with IgE-mediated Food Allergy in Early Life: A Narrative Review / C. E. Childs, D. Munblit, L. Ulfman [et al.] // *Adv. Nutr.* – 2021. – Oct. 1, vol. 13(2). – P. 633–651.
230. Predictive values for skin prick test and atopy patch test for eosinophilic esophagitis / J. M. Spergel, T. Brown-Whitehorn T, Beausoleil [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2007. – Vol. 119(2). – P. 509–511.
231. Prenatal vitamin D supplementation and child respiratory health: a randomised controlled trial / S. T. Goldring, C. J. Griffiths, A. R. Martineau [et al.]. – Text: electronic // *PLoS One*. – 2013. – Jun. 24, Vol. 8(6). – e66627. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23826104/> (date accessed: 24.12.2022).
232. Prescott, S. Food allergy: Riding the second wave of the allergy epidemic / S. Prescott, K. J. Allen // *Pediatr. Allergy Immunol.* – 2011. – Mar., vol. 22(2). – P. 155–160.
233. Prevalence of challenge-proven IgE-mediated food allergy using population-based sampling and predetermined challenge criteria in infants / N. J. Osborne, J. J. Koplin, P. E. Martin [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2011. – Mar., vol. 127(3). – P. 668–676.
234. Prevalence of food allergies in young adults and their relationship to asthma, nasal allergies, and eczema / R. Woods, F. Thien, J. Raven [et al.] // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* – 2002. – Vol. 88. – P. 183–189.
235. Preventing food allergy in infancy and childhood: systematic review of randomised controlled trials / D. de Silva, S. Halken, C. Singh [et al.] // *Pediatr. Allergy Immunol.* – 2020. – Vol. 31(7). – P. 813–826.

236. Probiotics and gut health in infants: A preliminary case-control observational study about early treatment with *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 / F. Savino, S. Fornasero, S. Ceratto [et al.] // *Clin. Chim. Acta.* – 2015. – Vol. 451. – P. 82–87.
237. Probiotics during the first 7 years of life: a cumulative risk reduction of eczema in a randomized, placebo-controlled trial / M. Kalliomaki, S. Salminen, T. Poussa // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2007. – Vol. 119. – P. 1019–1021.
238. Probiotics for infantile colic: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial investigating *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 / K. Chau, E. Lau, S. Greenberg [et al.] // *J. Pediatr.* – 2015. – Vol. 166. – P. 74–78.
239. Probiotics for Prevention of Atopy and Food Hypersensitivity in Early Childhood / G. Q. Zhang, H. J. Hu, C. Y. Liu [et al.] // *Medicine.* – 2016. – Vol. 95. – P. 1–10.
240. Probiotics prevent IgE-associated allergy until age 5 years in cesarean-delivered children but not in the total cohort / M. Kuitunen, K. Kukkonen, K. Juntunen-Backman [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2009. – Vol. 123. – P. 335–341.
241. Prophylactic use of a probiotic in the prevention of colic, regurgitation, and functional constipation a randomized clinical trial / F. Indrio, A. Di Mauro, G. Riezzo [et al.] // *JAMA Pediatr.* – 2014. – Vol. 168. – P. 228–233.
242. Raman, M. Testing for chronic diarrhea / M. Raman // *Adv. Clin. Chem.* – 2017. – Vol. 79. – P. 199–244.
243. Ramaswamy, G. Chronic Watery Diarrhea in a Toddler: Think Beyond Toddler's Diarrhea / G. Ramaswamy, M. Sathiyasekeran. – Text : electronic // *Indian J. Pediatr.* – 2021. – Jun., vol. 88(6). – 604. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33754310/> (date accessed: 24.12.2022).
244. Ramesh, S. Food Allergy Overview in Children / S. Ramesh // *Clin. Rev. Allergy Immunol.* – 2007. – Vol. 8. – P. 23–55.

245. Randomized trial of introduction of allergenic foods in breast-fed infants / M. R. Perkin, K. Logan, A. Tseng [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2016. – Vol. 374. – P. 1733–1743.

246. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of probiotics for primary prevention: no clinical effects of *Lactobacillus GG* supplementation / M. V. Kopp, I. Hennemuth, A. Heinzmann [et al.] // *Pediatrics.* – 2008. – Vol. 121. – P. e850–e856.

247. Ratios of specific IgG4 over IgE antibodies do not improve prediction of peanut allergy nor of its severity compared to specific IgE alone / M. R. Datema, E. Eller, A. H. Zwinderman [et al.] // *Clin. Exp. Allergy.* – 2019. – Vol. 49(2). – P. 216–226.

248. Rokaitė, R. Role of the skin patch test in diagnosing food allergy in children with atopic dermatitis / R. Rokaitė, L. Labanauskas, L. Vaidelienė // *Medicina (Kaunas).* – 2004. – Vol. 40(11). – P. 1081–1087.

249. Ruiter, B. The role of dendritic cells in food allergy / B. Ruiter, W. G. Shreffler // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2012. – Apr., vol. 129(4). – P. 921–928.

250. Schumacher, A. Regulatory T cells: regulators of life / A. Schumacher, A. C. Zenclussen // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2014. – Vol. 72(2). – P. 158–170.

251. Segers, M. E. Towards a better understanding of *Lactobacillus rhamnosus GG*— host interactions / M. E. Segers, S. Lebeer. – Text : electronic // *Microbial Cell Factories.* – 2014. – Vol. 13 (Suppl 1). – S7. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25186587/> (date accessed: 24.12.2022).

252. Shankar, S. Chronic diarrhoea in children: A practical algorithm-based approach / S. Shankar, J. Rosenbaum // *J. Paediatr. Child. Health.* – 2020. – Jul., vol. 56(7). – P. 1029–1038.

253. Shaping the gut microbiota by breastfeeding: the gateway to allergy prevention? / L. W. J. van den Elsen, J. Garssen, R. Burcelin [et al.]. – Text : electronic // *Front Pediatr.* – 2019. – Feb. 27, vol. 7. – 47. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30873394/> (date accessed: 24.12.2022).

254. Sicherer, S. H. Clinical implication of cross-reactive food allergens / S. H. Sicherer // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2010. – Vol. 108(6). – P. 881–889.
255. Simons, F. E. Early Prevention of Asthma in Atopic Children (EPAAC) Study Group: Safety of levocetirizine treatment in young atopic children: an 18-month study / F. E. Simons // *Pediatr. Allergy Immunol.* – 2007. – Vol. 18. – P. 535–542.
256. Simons, F. E. Levocetirizine: pharmacokinetics and pharmacokinetics in children age 6 to 11 years / F. E. Simons // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2005. – Vol. 116. – P. 355–361.
257. Solid Food Introduction and the Development of Food Allergies / C. Caffarelli, D. Di Mauro, C. Mastroilli [et al.] // *Nutrients.* – 2018. – Nov. 17, vol. 10(11). – pii: E1790.
258. Standar di zing double-blind, placebo-controlled oral food challenges: American Academy of Allergy, Asthma and Immunology- European Academy of Allergy and Clinical Immunology PRACTALL consensus report / H. A. Sampson, R. Gerth van Wijk, C. Bindslev-Jensen [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2012. – Vol. 130. – P. 1260–1274.
259. Szajewska, H. Lactobacillus reuteri DSM 17938 for the management of infantile colic in breastfed infants: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial / H. Szajewska, E. Gyrczuk, A. Horvath // *J. Pediatr.* – 2013. – Vol. 162. – P. 257–262.
260. Tan-Lim, C. S. C. Probiotics as treatment for food allergies among pediatric patients: a meta-analysis / C. S. C. Tan-Lim, N. A. R. Esteban-Ipac. – Text : electronic // *World Allergy Organ J.* – 2018. – Nov. 6, vol. 11(1). – 25. – URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30425779/> (date accessed: 24.12.2022).
261. Testing for IgG4 against foods is not recommended as a diagnostic tool: EAACI Task Force Report / S. O. Stapel, R. Asero, B. K. Ballmer-Weber [et al.] // *Allergy.* – 2008. – Vol. 63(7). – P. 793–796.

262. Tetranor PGDM, an Abundant Urinary Metabolite Reflects Biosynthesis of Prostaglandin D2 in Mice and Humans / W. Song, M. Wang, E. Ricciotti [et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. – 2008. – Vol. 283, Issue 2. – P. 1179–1188.

263. The atopy patch test in the diagnostic workup of suspected food-related symptoms in children / A. Mehl, C. Rolinck-Werninghaus, U. Staden [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2006. – Vol. 118(4). – P. 923–929.

264. The Australasian Society of Clinical Immunology and Allergy infant feeding for allergy prevention guidelines / P. A. Joshi, J. Smith, S. Vale [et al.] // *Med. J. Aust.* – 2019. – Feb., vol. 210(2). – P. 89–93.

265. The comparison of cetirizine, levocetirizine and placebo for the treatment of childhood perennial allergic rhinitis / C. F. Lee, H. Sun, K. H. Lu [et al.] // *Pediatr. Allergy Immunol.* – 2009. – Vol. 20. – P. 493–499.

266. The definition, diagnostic testing, and management of chronic inducible urticarias - The EAACI/GA(2) LEN/EDF/UNEV consensus recommendations 2016 update and revision / M. Magerl, S. Altrichter, E. Borzova [et al.] // *Allergy*. – 2016. – Jun., vol. 71(6). – P. 780–802.

267. The effect of hydrolyzed cow's milk formula for allergy prevention in the first year of life: the German Infant Nutritional Intervention Study, a randomized doubleblind trial / A. von Berg, S. Koletzko, A. Grubl [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2003. – Vol. 111(3). – P. 533–540.

268. The epidemiology of food allergy in Europe: a systematic review and meta-analysis / B. I. Nwary, L. Hickstein, S. S. Panesar [et al.] // *Allergy*. – 2014. – Jan., vol. 69(1). – P. 62–75.

269. The Formal Definition of Reference Priors / J. O. Berger, J. M. Bernardo, D. Sun // *The Annals of Statistics*. – 2009. – Vol. 37(2). – P. 905–938.

270. The investigation of chronic diarrhoea: new BSG guidance / J. Ong, C. Swift, R. Norman [et al.] // *Erratum in: Br J Gen Pract.* – 2019. – Vol. 69(682). P. 262-264.

271. The microbiome in allergic disease: current understanding and future opportunities–2017 PRACTALL document of the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology and the European Academy of Allergy and Clinical Immunology / Y. J. Huang, B. J. Marsland, S. Bunyavanich [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2017. – Vol. 139(4). – P. 1099–1110.

272. The prevalence and natural course of food protein-induced enterocolitis syndrome to cow's milk / Y. Katz, M. Goldberg, N. Rajuan [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2011. – Vol. 127. – P. 647–653.

273. The prevalence of CMA/CMPI in young children: the validity of parentally perceived reactions in a population-based study / M. Eggesbo, G. Botten, R. Halvorsen [et al.] // *Allergy.* – 2001. – May, vol. 56(5). – P. 393–402.

274. The prevalence of food allergy: A meta-analysis / R. J. Rona, T. Keil, C. Summers [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2007. – Vol. 120(3). – P. 638–646.

275. The role of partially hydrolyzed whey formula for the prevention of allergic disease: evidence and gaps / A. J. Lowe, S. C. Dharmage, K. J. Allen [et al.] // *Expert Rev. Clin. Immunol.* – 2013. – Vol. 9. – P. 31–41.

276. TNF-alpha blockers in inflammatory bowel diseases: practical consensus recommendations and a user's guide / I. Pache, G. Rogler, C. Felley [et al.] // *Swiss Med. Wkly.* – 2009. – Vol. 139. – P. 278–287.

277. Trendelenburg, V. [Allergen-specific immunotherapy for food allergies in childhood. Current options and future perspectives] / V. Trendelenburg, K. Blümchen Allergenspezifische Immuntherapie von Nahrungsmittelallergien im Kindesalter. Aktueller Stand und Perspektiven // *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz.* – 2016. – Jul., vol. 59(7). – P. 855–864.

278. Update on food allergy / R. L. Peters, M. Krawiec, J. J. Koplin [et al.] // *Pediatr. Allergy Immunol.* – 2021. – May, vol. 32(4). – P. 647–657.

279. Urinary PGDM, a prostaglandin D2 metabolite, is a novel biomarker for objectively detecting allergic reactions of food allergy / S. Inagaki, S. Maeda, M. Narita [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2018. – Vol. 142(5). – P. 1634–1636.

280. Use of epinephrine in emergency department depends on anaphylaxis severity in children / J. C. Dubus, M. S. Lê, J. Vitte [et al.] // *Eur. J. Pediatr.* – 2019. – Jan., vol. 178(1). – P. 69–75.

281. Usefulness of assessment of stool form by the modified bristol stool form scale in primary care pediatrics / R. Gulati, A. Komuravelly, S. Leb [et al.] // *Pediatr. Gastroenterol Hepatol Nutr.* – 2018. – Vol. 21(2). – P. 93–100.

282. Valenta, R. Type 1 allergic reactions to plant-derived food: a consequence of primary sensitization to pollen allergens / R. Valenta, D. Kraft // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 1996. – Apr., vol. 97(4). – P. 893–895.

283. Van Dellen, R. G. Oral administration of cromolyn in a patient with protein-losing enteropathy, food allergy, and eosinophilic gastroenteritis / R. G. Van Dellen, J. C. Lewis // *Mayo Clin. Proc.* – 1994. – May, vol. 69(5). – P. 441–444.

284. Vandenplas, Y. Symptoms, diagnosis and management of colicky infants with regurgitations / Y. Vandenplas, S. Salvatore, B. Hauser // *Int. Semin. Pediatric Gastroenterol. Nutr.* – 2002. – Vol. 11. – P. 1–7.

285. Vitamin A deficiency impacts the structural segregation of gut microbiota in children with persistent diarrhea / Z. Lv, Y. Wang, T. Yang [et al.] // *J. Clin. Biochem. Nutr.* – 2016. – Sep., vol. 59(2). – P. 113–121.

286. Vitamin D deficiency exacerbates sensitization and allergic diarrhea in a murine food allergy model / T. Matsui, H. Yamashita, K. I. Saneyasu [et al.] // *Allergol. Int.* – 2018. – Apr., vol. 67(2). – P. 289–291.

287. Vitamin D insufficiency is associated with challenge-proven food allergy in infants / K. J. Allen, J. J. Koplin, A. L. Ponsonby [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2013. – Vol. 131(4). – P. 1109–1116.

288. Vitamin D supplementation in primary allergy prevention: systematic review of randomized and non-randomized studies / J. J. Yepes-Nuñez, J. L. Brożek, A. Fiocchi [et al.] // *Allergy*. – 2018. – Vol. 73(1). – P. 37–49.

289. WHO Nutrition: Exclusive Breastfeeding. [(accessed on 30 July 2018)]; 2010 Available online: <http://www.who.int/nutrition/topics/exclusive-breastfeeding/en/index.html>.

290. Worm, M. Reaction to food and drug additives / M. Worm // *Global atlas of allergy* / ed. Cezmi A. Akdis. – Zurich : Published by the European Academy of Allergy and Clinical Immunology, 2014. – P. 232–233.

291. Wu, K. G. Lactobacillus salivarius plus fructo-oligosaccharide is superior to fructo-oligosaccharide alone for treating children with moderate to severe atopic dermatitis: a double-blind, randomized, clinical trial of efficacy and safety / K. G. Wu, T. H. Li, H. J. Peng // *Br. J. Dermatol.* – 2012. – Vol. 166. – P. 129–136.

292. Zella, G. C. Chronic diarrhea in children / G. C. Zella, E. J. Israel // *Pediatr. Rev.* – 2012. – Vol. 33(5). – P. 207–217.

293. Zhao, H. M. Research progress in causes of persistent or chronic diarrhea in children / H. M. Zhao, J. Zhang, J. Y. You // *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*. – 2012. – Aug., vol. 14(8). – P. 639–642.

294. Zhu, L. Recent advances in the management of allergy associated diseases in children / L. Zhu, F. Zhu, Z. K. Zhang // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2018. – Nov., vol. 22(21). – P. 7582–7587.