

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека
Федеральное бюджетное учреждение науки
«ЦЕНТРАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЭПИДЕМИОЛОГИИ»
(ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора)

На правах рукописи

ДЗОТЦОЕВА ЭЛИНА СЕРГЕЕВНА

**КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ КОРРЕКЦИИ
АНТИБИОТИК-АССОЦИИРОВАННЫХ НАРУШЕНИЙ МИКРОБИОМА
ПРИ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЯХ У ДЕТЕЙ**

3.1.22. Инфекционные болезни

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

академик РАН, доктор медицинских наук,

профессор, Горелов А. В.

Москва – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16
1.1. Острые респираторные инфекции: современные представления об этиологии, эпидемиологии, клинике и исходах	16
1.2. Микробиом. Методы изучения микробиоты.....	18
1.3. Частота распространения антибиотик-ассоциированных осложнений у детей.....	31
1.4. Современные представления о патогенезе антибиотик-ассоциированных осложнений у детей	37
1.5. Особенности клинических проявлений антибиотик-ассоциированных осложнений у детей	40
1.6. Современные методы терапии антибиотик-ассоциированных осложнений у детей.....	44
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	50
2.1. Объект и дизайн исследования.....	50
2.2. Лабораторная и инструментальная диагностика.....	55
2.2.1. Секвенирование бактериальных генов 16S рРНК.....	57
2.3 Статистическая обработка данных	60
ГЛАВА 3. СОБСТВЕННЫЕ ДАННЫЕ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	64
3.1. Использование моноштаммового пробиотика для профилактики ААС у детей с инфекцией нижних дыхательных путей.....	64
3.1.1. Клинико-лабораторная характеристика больных острой инфекцией нижних дыхательных путей с применением моноштаммового пробиотического комплекса.....	64
3.1.2. Динамика течения внебольничной пневмонии у детей на фоне проводимой терапии.....	69
3.1.2.1. Динамика симптомов со стороны респираторного тракта	69
3.1.2.2. Симптомы со стороны нижних дыхательных путей	74

3.1.2.3. Оценка выраженности синдрома интоксикации у пациентов сравнимых групп	75
3.1.3. Динамика симптомов со стороны ЖКТ	76
3.1.4. Симптомы поражения кожных покровов и слизистых оболочек.....	83
3.1.4.1. Оценка выраженности симптомов поражения слизистых оболочек у пациентов сравнимых групп	84
3.1.5. Оценка изменения орофарингеальной, фекальной и генитальной (у девочек) микробиоты у детей с ИНДП	88
ГЛАВА 4. ОЦЕНКА ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ МУЛЬТИКОМПОНЕНТНОГО ПРИБИОТИКА ПРИ ААС У ДЕТЕЙ БОЛЬНЫХ ОСТРОЙ РЕСПИРАТОРНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ	118
4.1. Оценка профилактической эффективности мультикомпонентного пробиотика при ААС у детей раннего возраста больных острой респираторной инфекцией	118
4.2. Оценка профилактической эффективности мультикомпонентного пробиотика при ААС у детей дошкольного возраста больных острой респираторной инфекцией.....	142
ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ТАКТИКИ ВЕДЕНИЯ ДЕТЕЙ СТАРШЕ 1 ГОДА С ОСЛОЖНЕННЫМИ ФОРМАМИ ОРИ.....	165
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	170
ВЫВОДЫ.....	191
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	193
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	194
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	195
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	196

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Острые респираторные инфекции (ОРИ) занимают лидирующие позиции в структуре детской инфекционной патологии, им свойственен высокий процент заболеваемости и госпитализации, таким образом, они представляют серьезную угрозу здоровью детей [124, 181]. По данным Роспотребнадзора, в 2023 году заболеваемость острыми инфекциями верхних дыхательных путей множественной и неуточненной локализации среди детского населения составляла 64213,01 на 100 тыс. населения Российской Федерации [32]. Среди ОРИ доминирующие позиции занимают инфекции нижних дыхательных путей (бронхит, пневмония) [39]. В 2023 году уровень заболеваемости внебольничными пневмониями среди детей достиг 803,6 случаев на 100 тысяч населения, максимальный показатель заболеваемости был зафиксирован в возрастной категории от 1 до 2 лет, где показатель составил 1465,5 на 100 тысяч [32]. ОРИ характеризуются значительным риском осложнений (23–28 %), вероятностью рецидивов, обострения хронических заболеваний и высокой смертностью. Одним из ключевых факторов, влияющих на развитие осложнений при инфекционных заболеваниях, включая ОРИ у детей, является колонизационная резистентность и состояние микробиома слизистых оболочек, среди которых микрофлора желудочно-кишечного тракта играет ключевую роль [43].

Осложненное течение ОРИ, инфекции нижних дыхательных путей (внебольничная пневмония) требует назначения антибактериальной терапии (АБТ). Стоит отметить, что в педиатрической практике более чем в 50 % случаев назначают антибактериальный препарат (АБП) и в случаях неосложненного течения ОРИ в том числе, 24–27 % назначений АБТ у детей абсолютно не оправдано [225]. В связи с этим важно учитывать влияния на развитие и здоровье ребенка таких аспектов, как антибиотик-индуцированные нарушения микробиоты различных локусов. Среди известных негативных воздействий АБП на состав

микробиоты кишечника можно выделить: широкомасштабное снижение разнообразия среди типов микроорганизмов, потенциальную потерю целых микробных сообществ, чрезмерный рост патогенных видов (например, *Clostridioides difficile*), а также рост распространения генов резистентности к АБП [8]. В связи с чем уменьшение частоты возникновения антибиотик-ассоциированного синдрома (ААС) с необходимостью предупреждения или коррекции нарушений микробиоценоза кишечника приобретает особо важное значение [35].

Внедрение новейших методов молекулярно-генетического анализа в идентификацию микроорганизмов открывает новые возможности для решения данной проблемы. Метод секвенирования 16S рибосомальной РНК бактерий, полученных из фекалий или биоптатов слизистой оболочки кишечника, предложенный в 1999 г., позволяет идентифицировать до 1500 представителей филогенетических групп микроорганизмов и с 2008 года считается «золотым стандартом», что значительно расширило представление о составе и функциях кишечного микробиоценоза, его метагеномике, метатранскриптомике, метапротеомике и даже метаболомике [18, 71]. Инновационные методы исследования микрофлоры [29, 168] позволяют глубже понять взаимодействия микроорганизмов. Эти методы позволяют изучить роль микробиома при развитии осложнений острых респираторных инфекций в педиатрической практике. Также они дают возможность своевременно корректировать изменения микробиоты, вызванные как воздействием патогена, так и проведением антибактериальной терапии с помощью моно- или мультиштаммовых пробиотиков.

В настоящее время в педиатрии и инфектологии существует актуальная и малоизученная проблема, связанная с анализом влияния степени изменений микробиоценоза различных биотопов у детей на основе секвенирования гена 16S рРНК, что может помочь определить прогноз заболевания, длительность инфекционного процесса, вероятность возникновения осложнений, а также разработать комплексный подход к их профилактике с помощью пробиотиков. Запланированная работа посвящена решению данных задач.

Степень разработанности темы исследования

В настоящее время активно исследуется роль микробиома кишечника и дыхательных путей в развитии ОРИ, а также влияние АБТ на микробиом кишечника при ОРИ. В зарубежных научных изданиях опубликовано множество работ, посвящённых этой проблеме [109, 226, 266, 273, 282].

Уже имеющиеся нарушения разнообразия среди микроорганизмов респираторного тракта и кишечника при инфекционном заболевании могут влиять на защитные функции человека, а сам патологический процесс может усугубить течение заболевания и привести к осложнениям [273].

Тем не менее, в научной литературе недостаточно представлены данные о зависимости спектра микробиома кишечника от течения заболевания и возраста детей. В доступных источниках описываются изменения микробиоты кишечника у взрослых и детей на фоне АБТ, а также состояние микробиома дыхательных путей у взрослых и детей. Имеющиеся данные получены в основном с помощью классических методов, которые в Европе уже 10 лет не используются [21, 33, 74, 199, 204, 236, 254]. В свою очередь одновременное рассмотрение изменения микробиоты кишечника, ротовой полости и наружных половых органов при АБТ не описаны в литературе. Внедрение прорывных технологий изучения микробиома открывает новые горизонты познания, такого массового заболевания, как ОРИ. Вместе с тем сведения об изменениях в составе микрофлоры, полученные с помощью молекулярно-генетических методов, до настоящего времени немногочисленны.

В последние годы активно изучается ААС. Однако, связь развития функциональных нарушений со стороны различных локусов с изменениями микробиоценоза определенных биотопов изучена недостаточно. Малоизучена частота его развития при осложнённом течении ОРИ у детей, требующих системной АБТ, оценка характера изменения микробиоты различных локусов (желудочно-кишечный тракт, полость рта) для разработки эффективной схемы пробиотикопревенции и восстановления микробиоты.

Цель исследования

Оптимизация лечения осложненных форм острых респираторных инфекций у детей на основании изучения изменений микробиома с применением молекулярно-генетических методов.

Задачи исследования

1. Оценить микробиоту кишечника, ротоглотки и наружных половых органов у детей с осложненным течением острых респираторных инфекций. Изучить влияние изменений микробиома различных биотопов на клинико-патогенетические особенности острых респираторных инфекций у детей.

2. Определить влияние антибактериальной терапии на состояние микробиома желудочно-кишечного тракта и развитие антибиотик-ассоциированного синдрома при острых респираторных инфекциях у детей.

3. Оценить эффективность моно- и мультиштаммовых пробиотиков в коррекции нарушений микробиома и профилактике антибиотик-ассоциированного синдрома при острых респираторных инфекциях, требующих назначения антибактериальной терапии.

4. Проследить катамнез детей, перенесших осложненное течение острых респираторных инфекций на предмет формирования рекуррентных респираторных и кишечных инфекций.

5. Разработать алгоритм применения пробиотиков у детей при острых респираторных инфекциях, требующих назначения антибактериальной терапии.

Научная новизна

Впервые проведено мультилокусное (фекальный, орофарингеальный, генитальный) исследование микробиома с применением метода секвенирования 16S рибосомальной РНК бактерий в дебюте осложненного течения острой респираторной инфекции. Выявлены неизвестные ранее патогенетические механизмы. Установлено значение дисбаланса микробиома на течение острой респираторной инфекции, частоту и интенсивность желудочно-кишечных расстройств и внекишечных проявлений, возникающих при АБТ осложненного течения острых респираторных инфекций различной этиологии у детей.

Установлена, частота ААС у детей, больных ОРИ на фоне применения АБТ (68,75 %), среди которых превалируют гастроинтестинальные симптомы – 67,5 % детей: изолированно поражение желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) выявлены у 28,75 %, у 17,5 % отмечается сочетанные нарушения ЖКТ и кожных покровов, у 17,5 % – ЖКТ и вульвовагинит, 1,25 % – вульвовагинит и кожные покровы, у 3,75 % – ЖКТ, вульвовагинит, кожные покровы.

Впервые установлено, что в дебюте ОРИ до начала АБТ выявлены значимые отличия от микробиоты здоровых детей в микробиомах ротовой полости и наружных половых органов – снижение биоразнообразия микробиома, достоверное более низкие параметры альфа-разнообразия, также отличия по бета-разнообразию. При анализе генитальной микробиоты обнаружено близкое к статистически значимому повышение общего числа микробов.

Анализ таксономического состава позволил выявить, что среди орофарингеальных микроорганизмов превалирует *Streptococcus pneumoniae*. При анализе образцов генитальной микробиоты детектировалось увеличение *Lactobacillus iners*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis*. Фекальная микробиота оказалась единственным из изучавшихся локусов, который существенно не изменился.

Доказано, что у пациентов при назначении АБТ наиболее значимо реагирует микробиом ротовой полости, затем гениталий, в то время как кишечный микробиом остается наиболее стабильным.

Установлено, что у пациентов с осложненным течением ОРИ на фоне АБТ происходит снижение микроорганизмов продуцентов КЦЖК.

Впервые в результате комплексного клинико-лабораторного исследования с использованием молекулярно-генетических методов обоснована эффективность и безопасность дифференцированного применения пробиотиков в профилактике ААС.

Впервые проведены сравнительная оценка различных тактик пробиотической поддержки (моно или мультиштаммовые препараты) и анализ изменения богатства микробиоты разных локусов с применением метода секвенирования 16S рибосомальной РНК бактерий в динамике болезни у детей старше года с осложненным течением ОРИ на фоне антибактериальной терапии.

Впервые проведен анализ структуры и динамики манифестации симптомов ААС у пациентов раннего и дошкольного возраста на фоне АБТ с применением мультиштаммового пробиотика при осложненном течении ОРИ. Установлено, что на фоне применения АБТ и после ее отмены у пациентов при применении мультиштаммового пробиотика достоверно реже регистрируются, такие симптомы ААС, как метеоризм, абдоминальные боли, жидкий стул и увеличение его кратности.

Установлено, что короткие курсы моноштаммовых пробиотиков на фоне антибактериальной терапии у детей старше года с инфекцией нижних дыхательных путей ускоряет разрешение симптомов интоксикации, катаральных явлений со стороны верхних дыхательных путей, региональной лимфаденопатии, симптомов со стороны ЖКТ, а также препятствует развитию внекишечных проявлений ААС, однако не оказывает существенного влияния на выраженность дисбиотических нарушений.

Теоретическая значимость

Описаны клинико-лабораторные особенности острых респираторных инфекций с осложненным течением на современном этапе.

Полученные данные о составе микробных сообществ на основе применения молекулярно-генетических методов у детей в дебюте острых респираторных инфекций с осложненным течением вносят существенный вклад в понимание патогенеза заболевания.

Установлено снижение альфа- и бета-разнообразия орофарингеального, генитального локусов и снижение бета-разнообразия фекального локуса у пациентов с острой инфекцией нижних дыхательных путей в дебюте болезни и их усугубление после начала АБТ терапии.

Впервые оценена клинико-лабораторная эффективность применения мульти- и моноштаммовых пробиотиков в профилактике развития ААС у детей с осложненным течением острых респираторных инфекций.

Продемонстрировано положительное влияние дифференцированной стартовой пробиотической поддержки при осложненном течении острой респираторной инфекции.

Установлено, что использование мультиштаммового пробиотика весь период АБТ и после ее завершения в течение 3 месяцев способствует сокращению частоты респираторных и кишечных инфекций.

Практическая значимость

Обоснована необходимость включения в обследование детей с острой респираторной инфекцией состояния микробиома ротовой полости в динамике болезни, молекулярно-генетическим методом 16s рРНК секвенирования.

Разработаны и обоснованы подходы к ранней диагностике ААС у детей с острой респираторной инфекцией на основании клинической симптоматики, анализе Бристольской шкалы, определения копрологических показателей.

Разработан и научно обоснован алгоритм подбора рациональной пробиотикопревенции острых респираторных инфекций у детей старше года на основании оценки выраженности ААС.

Обосновано использование мультиштаммового пробиотика весь период антибактериальной терапии и в течение 14 дней после ее завершения, для профилактики повторных респираторных и кишечных инфекций.

Положения, выносимые на защиту

1. На фоне антибактериальной терапии у 68,75 % пациентов с осложненным течением острых респираторных инфекций развиваются симптомы ААС, среди которых преобладают гастроинтестинальные симптомы – 67,5 % детей. У 28,75 % детей регистрируются изолированные нарушения ЖКТ, у 17,5 % – сочетанные нарушения ЖКТ и кожных покровов, у 17,5 % – ЖКТ и со стороны наружных половых органов, у 3,75 % – ЖКТ, гениталии, кожных покровов и у 1,25 % – со стороны наружных половых органов и кожных покровов.

2. В дебюте осложненной формы острой респираторной инфекции у детей с помощью метода секвенирования гена 16S рРНК регистрируют однотипные сдвиги состава микробиоты открытых микробных локусов – ротоглотки (выраженные нарушения альфа-разнообразия (индекс $Chao1=0$) и бета-разнообразия (расстояние Эйтчисона ($p=0,001$) и мера Брея-Кёртиса ($p=0,019$), и половых органов (индекс Шеннона $p=0,02$, индекс $Chao1=0,01$), расстояния Эйтчисона ($p=0,001$), мера Брея-Кёртиса ($p=0,001$)). Для микробиома кишечника статистически не выявлено значимых отличий в альфа-разнообразии между больными и здоровыми детьми, что позволяет говорить о большей его устойчивости к воздействию дисбиотических факторов.

3. В остром периоде заболевания у детей раннего и дошкольного возраста с осложненным течением ОРИ назначение АБТ усиливает выявленные дисбиотические изменения, способствуя снижению разнообразия микробиома: бифидобактерий, продуцентов короткоцепочечных жирных кислот, доли комменсальных клостридий, увеличение представленности условно-патогенных микробов.

4. Подключение мультипробиотического комплекса к АБТ пациентам старше одного года с осложненным течением ОРИ способствует более быстрому разрешению интоксикационного синдрома, препятствует развитию антибиотик-ассоциированного синдрома, обеспечивает восстановление нормальной функции кишечника, протективно влияет на микробиом. Включение в терапию полипробиотика с 1 дня и в течение 14 дней после завершения АБТ сокращает частоту респираторных и кишечных инфекций в течение последующих 3 месяцев наблюдения.

5. Короткий курс моноштаммового пробиотика *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 в сочетании с АБТ у детей старше 1 года с неотягощенным преморбидным фоном с инфекцией нижних дыхательных путей обеспечивает купирование симптомов интоксикации со 2 суток, катаральных явлений с 3 суток, региональной лимфаденопатии с 3 суток, разрешению симптомов со стороны ЖКТ к 5 суткам, а так же препятствует развитию внекишечных проявлений ААС, однако не оказывает значительного влияния на выраженность дисбиотических нарушений.

Личное участие автора в получении результатов

Автором сформулированы цель и задачи, определены материалы и методы исследования, проведен обзор имеющейся отечественной и зарубежной литературы по теме исследования. С участием диссертанта определены группы наблюдения с учетом всех критериев включения и невключения, создан дизайн

исследования. Автором лично осуществлена курация всех пациентов, освоено и проведён сбор биологического материала для исследования; также автор самостоятельно провел анализ полученных данных, выполнение статистической обработки и подготовку публикаций по данной теме исследования.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования (алгоритм диагностики антибиотик-ассоциированного синдрома и подбора рациональной пробиотикопревенции у детей с инфекционными заболеваниями) внедрены в лечебно-диагностический процесс работы детского инфекционного и педиатрического отделений ГБУЗ Московской области Химкинской больницы.

Подана заявка на регистрацию базы данных «Цифровой архив показателей для выявления клиничко-лабораторных особенностей осложненного течения острой респираторной инфекции у детей старше 1 года и оптимизации пробиотикопревенции» № 2024623353.

Опубликовано учебно-методическое пособие:

Клинические формы коронавирусной инфекции COVID-19. Москва, 2024. – 48с. // Плоскирева А.А., Маржохова А.Р., Понежева Ж.Б., Лукьянов А.В., Алимова Л.К., Дзотцоева Э.С., Горелов А.В. ISBN 978-5-6047194-4-2.

Фрагменты работы были представлены на XVIII Российском конгрессе «Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии» с международным участием (22-24 октября 2019 г.), на постерной сессии «Конкурса молодых ученых XXII Ежегодного конгресса детских инфекционистов России с международным участием «Актуальные вопросы инфекционной патологии и вакцинопрофилактики»» (4-5 декабря 2023 г.), на Конференции молодых ученых и специалистов Центрального НИИ эпидемиологии, терапии и лабораторной диагностики инфекционных заболеваний» (29-30 мая 2024 г.).

Апробация диссертационной работы состоялась 02.07.2024 на заседании апробационного совета Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Роспотребнадзора и рекомендована к защите (протокол №86).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.1.22. Инфекционные болезни. Результаты проведенного исследования соответствуют областям исследований специальности, а именно пунктам 2, 3, 4, 5 паспорта специальности 3.1.22. Инфекционные болезни.

Публикации

Научные положения и основные результаты по теме диссертации опубликованы в 9 печатных работах, в том числе 4 в журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации основных научных результатов диссертации, в соавторстве выполнено 1 учебное пособие для врачей – 1, заявка на регистрацию базы данных – 1.

Объем и структура диссертации

Диссертация представлена на 230 страницах печатного текста и состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, описания материалов и методов, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Библиографический указатель содержит 290

источников, из них 47 отечественных и 243 зарубежных авторов. Работа проиллюстрирована 20 таблицами, 59 рисунками.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Острые респираторные инфекции: современные представления об этиологии, эпидемиологии, клинике и исходах

Острые респираторные инфекции (ОРИ) этиологически разнородные инфекции респираторного тракта, обладающие сходной клинической картиной, которая обусловлена тропностью инфекционного фактора к эпителию дыхательных путей [14]. ОРИ представляют серьезную угрозу здоровью детей, так как занимают лидирующие позиции с высоким процентом в структуре детской инфекционной заболеваемости [2, 32]. Согласно данным Роспотребнадзора, в 2023 году заболеваемость среди детского населения острыми инфекциями верхних дыхательных путей множественной и неуточненной локализации составляла 64213,01 на 100 тыс. населения Российской Федерации [32]. По всему миру около 85–88% эпизодов ОРИ составляют ОРИ верхних дыхательных путей, оставшийся процент занимают ОРИ нижних дыхательных путей [129]. ОРИ характеризуются полиэтиологичностью, но респираторные вирусы занимают лидирующие позиции в этиологии ОРИ, и относятся как минимум к восьми семействам [34]. Наиболее значимые возбудители ОРИ относятся к семействам Orthomyxoviridae, Coronaviridae Paramyxoviridae, Picornaviridae, Adenoviridae, а также к представителям семейства Mycoplasmataceae [284]. Нередко появляются данные о таких возбудителях, как Metapneumovirus, Enterovirus, Bocavirus [181, 284].

Значительный вес в заболеваемости ОРИ имеют пневмотропные бактерии – *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *S. pyogenes*, *S. aureus*, некоторые из которых способны вегетировать на слизистых дыхательных путей [23]. Нередко в процессе заболевания участвуют несколько возбудителей, так, например, в период пандемии коронавирусной инфекции, нередко отмечалось сочетанное

течение вируса SARS-CoV-2 и *M. pneumoniae*, что значительно отягощает течение вирусной инфекции и требует прицельного внимания [96].

Несмотря на то, что возбудители ОРИ принадлежат разным семействам, эпидемический процесс имеет сходные черты, в частности, воздушно-капельный путь передачи и локализацию возбудителя в эпителии верхних и нижних дыхательных путей [23].

ОРИ относятся к антропонозам, так как практически единственным источником инфекции является человек с клинически выраженной или бессимптомной формой заболевания.

Спектр возбудителей может быть весьма разнообразным, но в некоторой степени обусловлен сезоном и возрастом наблюдаемых. Например, для вируса гриппа обычно характерна сезонность с ноября по март, для парагриппозной инфекции – осенне-весенняя цикличность заболеваний, аденовирусной инфекцией наибольшая заболеваемость в зимне-весенний сезон, однако, возможен ее подъем и летом, для риновирусов – в течение всего года, достигая максимальной интенсивности осенью и весной, респираторно-синцитиальный (РС) вирус – осенне-зимний период, респираторные коронавирусы человека – зимой и весной. Данные о сезонности заболеваний, вызванных бокавирусом пока носят противоречивый характер. Выраженное сезонное распространение метапневмовирусной-инфекции характерно для зимы и ранней весны [47]. Так, новорожденные более восприимчивы к респираторно-синцитиальному вирусу, гемофильной палочке. Дети дошкольного возраста – адено-, РС и парагриппозному вирусам. Школьного возраста – аденовирусам, микоплазме пневмонии [18].

Клинические проявления заболеваний зависят от патогенности возбудителей и массивности заражающей дозы, а также состояния врожденного и адаптивного иммунитета заболевшего.

Осложненная форма ОРИ встречается в 23–28 % случаев. В странах с высоким уровнем дохода до 75 % всех используемых антибактериальных препаратов (АБП) приходится на долю ОРИ. В некоторых городах России на

долю ОРИ приходится до 60 % применяемых АБП. Помимо этого, в детской клинической практике респираторные инфекции являются общей причиной назначения АБП [14]. Они назначаются более чем в половине случаев, однако из них 24–27 % назначений АБП в педиатрической практике абсолютно не оправдано [225]. Это зачастую может приводить к серьезным побочным эффектам и повышать риск развития антибиотикорезистентности [84]. Хотя причины резистентности к АБП являются многофакторными, чрезмерное использование АБП является одним из основных факторов, способствующих этому [226].

1.2. Микробиом. Методы изучения микробиоты

Микробиом человека включает в себя все микроорганизмы, которые сосуществуют с человеком и населяют его организм. В основном это бактерии, простейшие, вирусы, грибы и дрожжи [42, 79]. Состав микробиома различается в зависимости от колонизированных органов и систем, поэтому выделяют микробиомы кожи, влагалища, мочевыделительной системы, дыхательных путей, ЛОР-органов и кишечника. Самым объемным является микробиом кишечника [79]. Он представляет собой сложную и динамичную среду, содержащую 10-100 триллионов микроорганизмов, представленных тысячами видов, которые участвуют в различных биологических процессах [183, 277, 286]. Количество бактериальных клеток микробиоты в 10 раз превышает число клеток организма человека. В связи с чем генетический материал микробиоты (микробиом) в сотни раз больше, чем геном человека [277]. Из-за чего совокупность микробиоты и организма хозяина часто относят к «суперорганизму» [5, 200]. Данная совокупность развивалась на протяжении тысячелетий, формируя сложные и взаимовыгодные отношения [157, 212].

Взаимосвязь между микробиотой и хозяином формируется с момента рождения. Ранее научное сообщество единодушно предполагало, что люди рождаются стерильными [183, 232], однако в настоящее время существуют

доказательства пренатальной колонизации [77, 174]. После рождения желудочно-кишечный тракт быстро колонизируется, однако заболевания в течение жизни, лечение АБП и изменения в диете, вызывают хаотические сдвиги в микробиоте [256, 263]. Также существенно влияет на состав микробиоты новорожденных способ родоразрешения. Микробиота в первые дни жизни у детей, родившихся естественным путем, представлена преимущественно *Lactobacillales*, что связано с высоким содержанием *Lactobacillales* в вагинальной флоре беременных [30, 190]. Микробиота младенцев, рожденных путем кесарева сечения, заселяется факультативными анаэробами, такими как *Clostridium* [105, 172]. У 72 % детей, родившихся естественным путем, и у 41 % детей после кесарева сечения фекальный микробиом сходен с материнским [118]. На ранних этапах развития микробиоты преобладают два основных типа бактерий: *Actinobacteria* и *Proteobacteria*, что свидетельствует о низком разнообразии флоры [69, 263]. Разнообразие микрофлоры увеличивается в течение первого года жизни с временными паттернами, уникальными для каждого младенца, приближаясь к взрослому микробному профилю [107]. Микробиота младенца приобретает разнообразие и функциональное сходство с микробиотой взрослого человека только к 2,5 годам [256, 263]. Несмотря на то, что кишечная микробиота в зрелом возрасте относительно стабильна, под воздействием внешних факторов она может меняться [106].

Один из важных факторов, влияющих на становление младенческой микрофлоры – это характер вскармливания. Например, *Bifidobacterium longum* и несколько видов бактероидов используют присутствующие в человеческом молоке фукозилированные олигосахариды, что создает для них более благоприятные условия, чем для *E. coli* и *Clostridium perfringens* [72, 271]. В микробиоте младенцев на естественном вскармливании, в сравнении с искусственным вскармливанием, превалируют *Bifidobacterium spp.* [76]. В свою очередь, при искусственном вскармливании кишечная микробиота разнообразнее, отмечаются измененные уровни *Lactobacillus*, *E. coli*, *Clostridioides difficile* и *Bacteroides fragilis* [76, 131, 207]. Также отмечается, что младенцы с дефицитом

питания имеют незрелую, дисбиотическую микробиоту, содержащую большее количество энтеропатогенов, таких как энтеробактерии [139].

На формирование микробиоты могут влиять различные факторы окружающей среды, такие как географическое положение, хирургические вмешательства, курение, депрессия и условия проживания (городские или сельские) [55, 163, 252, 263]. Ксенобиотики, такие как АБП, но не препараты, специфичные для организма, тканей или видов клеток хозяина, формируют физиологию и экспрессию генов активного микробиома кишечника человека [191]. АБТ нарушает микробный баланс, снижая богатство и разнообразие сообществ. Многие исследования демонстрируют, что клиндамицин [186], кларитромицин, метронидазол [248] и ципрофлоксацин [106] влияют на структуру микробиоты в течение различных периодов времени. Точные эффекты и время восстановления микробиоты после применения АБП, по всей вероятности, зависят от индивидуальных особенностей человека, что может быть связано с межиндивидуальной вариацией микробиоты до начала лечения [106, 186, 248].

Географическое положение, где проживает человек оказывает влияние на состав микробиоты. Микробиота желудочно-кишечного тракта отражает физиологические особенности региона и стратифицирована как по поперечной, простирающейся от поверхности эпителия в просвет, так и по продольной оси, по всей длине кишечника [189].

В Китае Kowk L. и коллеги исследовали микробиом 314 здоровых людей из 9 провинций, представляющих 7 этнических меньшинств, ведущих городской или сельский образ жизни. При анализе микробиоты кишечника этих групп, были выделены 10 доминирующих групп бактерий. Наименее вариабельными группами бактерий были род *Prevotella*, группа *Clostridium coccoides*, род *Desulfovibrio* и кластер *Atorobium*. В то же время значительные различия наблюдались для таких бактериальных групп, как род *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*, группа *Clostridium leptum*, группа *Bacteroides fragilis*, группа *C. perfringens*. Наиболее изменчивой среди этнических групп оказалось семейство *Enterobacteriaceae* [87]. Chong C.W. и соавт. сообщили о значительном этническом и социально-экономическом

разнообразии бактерий, сравнивая три малазийские этнические группы (малайцы, китайцы и оранг асли) с относительно узким диапазоном социально-экономических расхождений. Подробный таксономический анализ состава кишечной флоры показал, что дети в этнической группе оранг асли имели значительно больше *Aeromonadales*, неклассифицированного порядка, относящегося к *Bacteroidetes* и роду под *Ruminococcaceae* и *Deltaproteobacteria*, по сравнению с малайскими и китайскими группами. Они включают виды бактерий, помогающих расщеплять пищевые волокна овощей и зерновых большей части рациона этнической группы оранг асли в кишечнике человека до короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) [123]. Greenhill A.R. и соавт. использовали qPCR для нацеливания на доминантные и субдоминантные группы бактерий, которые регистрируются в микробиоме кишечника людей, живущих в высокогорных и равнинных сельских районах Папуа-Новой Гвинеи [88]. Результаты анализа основных координат выявили две группы: первая, включающая *Prevotella*, *Clostridium*, *Atopobium*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus* и *Staphylococcus*, и вторая *B. fragilis*, *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*. Различия наблюдались между участниками из горных и равнинных районов, причем у жителей горных районов были обнаружены большинство представленных групп бактерий [88]. Dehingia. M. и коллеги исследовали влияние этнической и географической принадлежности на состав кишечной микробиоты протоавстралоидных племен с различными культурными особенностями, традициями и пищевыми привычками, проживающих в четырех различных географических точках Индии: Ассаме, Телангане, Сиккиме и Манипуре [146]. Проводился анализ данных с использованием метода секвенирования нового поколения (NGS), показавший, что отношение *Firmicutes* к *Bacteroidetes* значительно ниже у представителей племен из Манипура по сравнению с племенами из Теланганы и Ассама. С другой стороны, у представителей племен из Сиккима отмечено более высокое содержание *Actinobacteria* по сравнению с другими племенами. Помимо этого выявлено, что содержание таких бактерий как *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Gordonibacter*,

Klebsiella, *Odoribacter*, *Pantoea*, *Parabacteroides* и *Slackia*, значительно различались среди всех исследуемых племен. Например, было обнаружено, что содержание таких бактерий как *Enterobacter*, *Klebsiella* и *Pantoea*, было значительно ниже у представителей племен из Сиккима по сравнению с племенами из Ассама, Теланганы и Манипура. В то же время *Escherichia* была более распространена среди племён Ассама по сравнению с представителями Теланганы и Сиккима [146]. Этнические и социокультурные практики могут влиять на изменения кишечной микробиоты у людей, проживающих в одном и том же географическом регионе.

Пейзаж микробиоты формируется под воздействием селективных давлений со стороны хозяина и окружающей среды.

Желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) для поддержания гомеостаза и защиты от повреждений ограничивает воздействие микроорганизмов, населяющих кишечник, на иммунную систему организма хозяина с помощью кишечного барьера, состоящего из нескольких взаимосвязанных элементов: физических (эпителиальный и слизистый слой), биохимических (ферменты и антимикробные белки) и иммунологических (IgA и связанные с эпителием иммунные клетки) [156]. Продолжительность жизни микроорганизма определяется его воздействием на основные функции, которые поддерживают здоровье хозяина. Микроорганизмы, не выполняющие полезных функций, могут быть элиминированы из организма хозяина [278]. Микроорганизмы, обитающие в кишечнике, должны адаптироваться к определенным условиям жизни в связи с относительно меньшим количеством биохимических ниш, доступных в кишечнике, по сравнению с другими средами, богатыми микроорганизмами. В кишечнике получение энергии обычно осуществляется за счет ферментации и снижения уровня сульфатов и углеводов рациона хозяина. Таким образом, организмы, способные выживать в кишечнике, ограничены своими фенотипическими признаками [183]. Следовательно, микробиота зависит от хозяина, который оказывает на нее воздействие, обуславливая ее развитие и поддержание. И наоборот, хозяин зависит от своей микробиоты для выполнения

своих физиологических или патофизиологических функций, которые намного многочисленнее, чем предполагалось до недавнего времени. Даже внутри здоровой микробиоты каждый элемент находится в симбиозе с другими, подобно тому как наши органы работают в гармонии друг с другом. Следовательно, микробиота не является совокупностью независимых микроорганизмов, а представляет собой структурированную систему (например, орган) с множеством логических взаимосвязей.

Микробиота обладает целым рядом физиологических функций, таких как укрепление целостности кишечника или формирование кишечного эпителия, аккумуляция энергии, защита от патогенов и регулирование иммунитета хозяина, которые наделяют хозяина рядом преимуществ [75, 159, 211, 274].

Изучение микробиоты началось более 300 лет назад, когда появились первые данные о населяющих нас микроорганизмах. Однако в последнее время наши прежние представления о внутренних экосистемах человека претерпевают радикальные изменения благодаря появлению новых методов изучения микробиома человека. Продолжительное время большая часть знаний о микрофлоре кишечника человека базировалась на трудоемких культуральных методах [208], которые предполагают использование различных сред для селективного выращивания бактерий. Источником бактерий могут служить кал, аспират и образцы тканей слизистой оболочки тонкой или толстой кишки. В работе Карла Везе был проявлен интерес к рибосомной РНК (рРНК) как к маркеру эволюции, позволяющему определить положение любого чистого штамма в филогенетическом древе живых видов [289]. Дальнейшим развитием его работы в области молекулярной экологии стало создание базы данных последовательностей рРНК, в основном 16S рРНК или РНК малой рибосомной субъединицы. Что позволило разработать и применять высокоэффективные методы «единого гена», но уже не из геномной ДНК «чистых» организмов, а из ДНК или РНК, полученных из сложных микробных экосистем, включая содержимое кишечного тракта [56, 113].

С начала века, следуя примеру рибосомного подхода, геномика также сместила фокус с филогении на молекулярную экологию путем анализа ДНК или РНК из сложных сред. Это привело к развитию метагеномики [200, 235]. Основным принципом метагеномики заключается в применении методик секвенирования генома для работы с ДНК, взятой из сложных экологических систем [153].

В последние годы возможности изучения кишечной микробиоты значительно расширились благодаря появлению высокопроизводительных методов секвенирования, не требующих культивирования микроорганизмов.

Один из наиболее популярных методов – это таргетирование гена бактериальной 16S рибосомной РНК (рРНК) [204, 254]. Этот ген присутствует во всех бактериях и археях и содержит девять вариантных областей (V1-V9), которые позволяют легко идентифицировать различные виды. Также существуют методы, направленные на секвенирование всего гена 16S рРНК.

Состав и разнообразие микробиоты могут быть исследованы с помощью метагеномного секвенирования методом дробовика.

Используя высокопроизводительное секвенирование 16S рРНК, исследователи показали значительные различия в микробиоте жителей Буркино Фасо (БФ) и европейских детей (ЕС). У детей из БФ было обнаружено значительное преобладание в *Bacteroidetes* и истощение в *Firmicutes*, с уникальным обилием бактерий рода *Prevotella* и *Xylanibacter* в микробиоте кишечника. Примечательно, что у детей БФ и ЕС, находившихся на грудном вскармливании состав микробиоты был идентичен [167], и преимущественно состоял из *Actinobacteria*, представленных в основном родом *Bifidobacterium*.

В настоящее время активно развиваются такие направления, как метатранскриптомика, метапротеомика и метаболомика [71, 199, 217]. Они позволяют получить более полное представление о микробиоме и его функциях.

Метатранскриптомика изучает не генный состав сообщества, а его транскрипты – матричную РНК (мРНК). Наличие генных транскриптов в клетках бактерий указывает на экспрессию генов, кодирующих функциональные белки.

Таким образом, метатранскриптомика дает четкое представление о конкретных функциях, присущих бактериальному сообществу. Это позволяет дополнить данные, полученные с помощью метагеномики, где анализируется только геномный материал без учета экспрессии генов [9, 74, 236]. Тем не менее, РНК остается очень нестабильной молекулярной матрицей с коротким периодом полураспада, восприимчивой к ферментативному разрушению рибонуклеазами, вследствие чего довольно сложно зафиксировать эту информацию. Приблизительные данные об уровне активности микроорганизма могут быть получены путем измерения их рибосомной нагрузки. Поскольку, чем больше транскрипционная активность микроорганизма, тем больше он содержит рибосом.

В клетке рибосомные РНК (рРНК) составляют около 95 % от всех РНК. Они устойчивы к разрушению рибонуклеазами и могут быть амплифицированы с помощью ПЦР, например, для получения рДНК.

Следовательно, для измерения относительной рибосомной нагрузки доминирующих компонентов из сложной экосистемы, сначала проводят амплификацию рРНК в комплементарную ДНК (кДНК) методом обратной транскрипции. Затем выполняют количественную ПЦР на общей РНК.

В отличие от этого, анализ мРНК требует предварительного этапа очистки, чтобы удалить рибосомную РНК, которая экстрагируется вместе с матричной РНК. В настоящее время на данном этапе доступны специальные наборы, однако этот процесс остается деликатным и потенциальным источником погрешностей. Вероятно, что эти технические аспекты будут продолжать совершенствоваться, обеспечивая в долгосрочной перспективе доступ к полноценному количественному метатранскриптомному анализу: количественной метагеномике на уровне мРНК, основанной на массовом секвенировании, что может повысить ценность существующего каталога генов. Некоторые текущие попытки в этой области показывают обнадеживающие результаты [150, 217].

Метатранскриптомика позволяет продемонстрировать влияние диеты на микрофлору кишечника [115]. Например, состав микроорганизмов в подвздошной кишке определяется их способностью перерабатывать простые сахара, что

отражает адаптацию микрофлоры к тем питательным веществам, которые доступны в тонкой кишке [267]. А формирование микрофлоры толстого кишечника зависит от доступных микробиоте углеводов, содержащихся в пищевых волокнах. Строгие диеты на основе животной или растительной пищи вызывают значительные изменения в микрофлоре кишечника человека [111]. Воздействие клетчатки было наглядно показано в исследовании, которое выявило, что при диете с высоким содержанием устойчивого крахмала или некрахмальных полисахаридных волокон, например, пшеничных отрубей, происходит существенное и воспроизводимое увеличение разнообразия микробиома человека [114]. Кишечная микробиота детей из сельской Африки, потребляющих продукты с высоким содержанием крахмала, клетчатки и растительных полисахаридов, характеризуется значительным количеством Actinobacteria (10,1 %) и Bacteroides (57,7 %). В то же время у детей из Европы, потребляющих большое количество сахара, крахмала и животного белка, численность этих бактерий снижается до 6,7 и 22,4 % соответственно [167]. Некоторые микроорганизмы, способные производить КЦЖК, например представители рода Prevotella, встречаются только в составе кишечной микрофлоры африканских детей [167]. Аналогичная закономерность прослеживается и у здоровых людей, в рационе которых преобладают простые сахара и углеводы [185]. При низкоуглеводной диете выработка КЦЖК также уменьшается, что значительно влияет на микробиоту, поскольку эти кислоты играют важную роль в здоровье организма, например, через противовоспалительные механизмы [152, 253]. Исследования на мышах диеты с низким содержанием доступных микробиоте углеводов показали снижение микробного разнообразия. Для восстановления этого разнообразия необходимо вводить в рацион доступные углеводы и отсутствующие бактериальные таксоны [112]. Недавние исследования, проводимые на гнотобиотических мышах, показали, что определенные микроорганизмы могут скорректировать нарушения роста, вызванные измененной микрофлорой у детей с недоеданием. Это повышает вероятность того, что такие микроорганизмы можно

будет использовать для лечения негативных последствий, связанных с недостаточным питанием [145, 179, 249].

Слизистая кишечника служит источником углеводов для кишечной микробиоты, так как слои кишечной слизи содержат большое количество высокогликозилированного гелеобразующего муцина MUC2 (Muc2 у мыши), который секретируется бокаловидными клетками [219]. Слизь присутствует во всем желудочно-кишечном тракте и наиболее густая в толстой кишке, где она играет решающую роль в опосредовании взаимодействий хозяина и микробиоты [59]. Для нормализации слоев слизистой кишечника хозяина требуется длительная микробная колонизация [213]. Слизистая оболочка толстого кишечника имеет два слоя: внутренний, практически стерильный, и внешний, содержащий белки муцина, связанные с различными о-гликанами. Эти сахара служат источником энергии для комменсальных бактерий и основными центрами их связывания в кишечнике [175, 177, 210]. Расположение наружного слизистого слоя создает особую среду, в которой микроорганизмы проявляют уникальные паттерны размножения и потребления питательных веществ по сравнению с теми видами, которые обитают в просвете кишечника [269]. Гликозилирование слизи и муцина играет ключевую роль в формировании микробиоты и позволяет выбрать наиболее оптимальные виды микроорганизмов, опосредованные для здоровья хозяина [277]. Снижение углеводов в рационе мышей может привести к истончению слизистой в дистальном отделе толстой кишки, увеличению близости микроорганизмов к эпителию и усилению экспрессии маркера воспаления REGIII β [233]. Исследование применения у мышей *A. muciniphila* (биодеструктор, разрушающий муцин) показало, что он препятствует развитию ожирения у мышей, спровоцированного диетой с высоким содержанием жиров, и снижает воспаление, вызванное метаболической эндотоксемией, посредством восстановления кишечного барьера [54, 103]. При этом некоторые из этих эффектов связаны с усиленной секрецией муцина и белков плотного соединения в кишечнике, подчеркивая динамическую роль биодеструкторов муцина во взаимодействии с организмом хозяина. В исследованиях было обнаружено, что

добавка *A. muciniphila* способствует значительному снижению набора веса и уменьшению жировой массы у мышей, получавших эту добавку. Это достигается путем ослабления метаболического воспаления [53]. Полученные данные позволяют рассматривать *A. muciniphila* в качестве потенциального терапевтического средства для лечения ожирения и сопутствующих ему нарушений.

Некоторые виды микроорганизмов способны разлагать широкий спектр полисахаридов, действуя как универсальные агенты, в то время как другие специализируются на определенных типах гликанов [95]. У *Bacteroidetes* генов, кодирующих ферменты для расщепления гликанов (137,1 GH и PL-генов на геном), гораздо больше, чем у *Firmicutes* (39,6 GH и PL-генов на геном) [260]. Геном *Bacteroides thetaiotaomicron* содержит 260 гликозидгидролаз, тогда как у человека их всего 97 [83]. Из ферментов, позволяющих метаболизировать крахмал, в микробиоме человека наиболее широко представлено семейство гидролаз GH13 [260]. Исследование биохимических и структурных особенностей ферментов бактерий *Bacteroides thetaiotaomicron* и *Bacteroides ovatus*, участвующих в расщеплении сложных углеводов как ксилан, маннан, ксилоглюкан или крахмал, выявило более сложный характер процесса распознавания и расщепления полисахаридов микрофлорой кишечника человека по сравнению с существующими представлениями [49, 137, 143, 161, 206, 255]. Также было обнаружено, что представители *Firmicutes*, менее изученные в этом аспекте, имеют ряд уникальных характеристик, таких как обнаруженные амилосомы у *Ruminococcus bromii*, способной расщеплять крахмал [281].

Взаимодействие между микроорганизмами кишечника играет важную роль в формировании разнообразной кишечной микробиоты. Одним из механизмов, который способствует этому, является микробный кроссфидинг. Микробный кроссфидинг способствует преобразованию ацетата и лактата, вырабатываемых бактериями *R. bromii* [241] и некоторыми другими микроорганизмами, в бутират бактериями *Eubacterium hallii* и *Anaerostipes cacaе* [116, 280].

Присутствующие в толстой кишке сульфатные соединения неорганического и органического происхождения могут воздействовать на определенные группы бактерий, включая сульфатредуцирующие бактерии, которые потенциально могут быть этиологическим фактором развития кишечных расстройств, таких как воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), синдром раздраженного кишечника (СРК) и колоректальный рак [202].

Эксплоративное исследование воздействия АБП на микроэкологию человека показало влияние на микробную экологию кишечника и ключевые процессы метаболизма, включая синтез ацетилфосфата и ацетил-КоА, при внутривенном введении β -лактамов АБП, таких как ампициллин + сульбактам и цефазолин [148]. Исследования на мышах показали, что уменьшение разнообразия микробиоты из-за применения АБП воздействует на вторичный метаболизм желчных кислот и серотонина в толстом кишечнике, замедляя моторику ЖКТ [65]. В результате АБТ у мышей изменилась доступность углеводов в слизистой оболочке кишечника, что создало благоприятные условия для роста патогенных бактерий *S. Typhimurium* и *C. difficile*. Это привело к повышению восприимчивости мышей к инфекциям, вызванным этими микроорганизмами [203]. Понимание механизмов, которые лежат в основе изменений видового разнообразия и биохимической активности под воздействием АБП, позволят разработать новые стратегии поддержания здоровья человека.

Рассмотрим, метапротеинемический метод изучения микробиома. В интегративной модели, начиная с генов и переходя к мРНК, а затем к белкам, протеом представляет собой последний уровень, позволяющий по генетическому коду вернуться к последовательностям генома. Метапротеом дает точное и надежное представление об активности компонентов в сложной экосистеме [27]. В большей степени, чем ДНК и РНК, микробные белки и пептиды, независимо от их структурной или ферментативной функции, служат прямым или косвенным источником (посредством биоконверсии/метаболизма) сигналов, которые будут восприниматься клетками кишечного эпителия человека и подлежащими или отдаленными тканями организма. Современные технологии значительно

улучшились, и информацию о белках, продуцируемых сложной микробной средой, можно получить с использованием высокопроизводительных подходов, таких как жидкостная хроматография в сочетании с тандемной масс-спектрометрией (LC-MS/MS), что дает доступ к анализу, вероятно, сравнимому с методами секвенирования нуклеиновых кислот [287]. Тем не менее, необходимо подчеркнуть некоторые существующие технические ограничения. Идентификация белков по пептидам, характеризуемым с помощью масс-спектрометрии, иногда сложна или невозможна. Мембранные белки, которые зачастую являются частично гидрофобными, технически труднее обрабатывать, но разумно ожидать быстрых достижений, которые устранят существующие технические барьеры. Как и в случае секвенирования нуклеиновой кислоты, метапротеомика требует начального этапа экстракции, который может быть источником искажений. Кроме того, белковый экстракт из содержимого кишечника содержит смесь микробных и человеческих белков что имеет свои плюсы и минусы. Более четкое представление можно получить, если отделить кишечные микроорганизмы от содержимого, из которого они получены. В этом случае собранная информация включает в себя совместно извлеченные бактериальные цитозольные и мембранные белки, а также белки человека [201].

Одним из методов изучения микробиоты является метаболомное исследование. Благодаря его применению удалось значительно расширить понимание механизмов, связывающих состав и активность микробиоты кишечника с фенотипом здоровья и заболевания. Благодаря механистическому пониманию, как влияет микробиота на хозяина на молекулярном и биохимическом уровнях зависит успех в понимании причины и следствия заболеваний, в которых одну из главных ролей играет «дисбиотическая микробиота». Учитывая влияние генетических факторов организма-хозяина на развитие заболеваний, связанных с нарушением микробиоты, могут потребоваться комплексные терапевтические подходы, такие как сочетание иммунотерапии и методов, направленных на восстановление микробиома, для

создания условий, способствующих нормализации взаимодействия между организмом хозяина и его микрофлорой.

На сегодняшний день метаболомика позволяет идентифицировать тысячи различных метаболитов в биологических жидкостях, включающих плазму и мочу [257, 279]. Метаболомика представляет собой комплексное исследование низкомолекулярных метаболитов в биологических системах. Анализируя множество метаболитов в биологических образцах, метаболомика дает полную картину о метаболическом состоянии и биохимических процессах в организме, становясь все более мощным инструментом в изучении различных заболеваний [279].

Объединенные данные проектов «MetaHit» и «Микробиом человека» позволили получить наиболее полную на сегодняшний день информацию о разнообразии микроорганизмов, ассоциированных с человеком [48, 61]. Согласно собранным данным, было выявлено 2172 вида, принадлежащих к 12 типам. Из них 93,5 % относятся к Bacteroidetes, Proteobacteria, Firmicutes и Actinobacteria. Три типа включают только один вид, в том числе *Akkermansia muciniphila* – единственный представитель Verrucomicrobia. Среди идентифицированных видов 386 являются строго анаэробными и обычно обнаруживаются на слизистых оболочках полости рта и желудочно-кишечного тракта [48].

1.3. Частота распространения антибиотик-ассоциированных осложнений у детей

В настоящее время исследователи все чаще приходят к выводу, что сохранение баланса и симбиоза между кишечной микробиотой и клетками, тканями и органами хозяина имеет большое значение. Микробиота играет важную роль для организма хозяина, но она так же и зависит от него, от диеты, от места жительства хозяина, от применения АБП.

Богатство и биоразнообразие кишечной микробиоты способствуют ее стабильности, сопротивлению и устойчивости. Нередко кишечная микробиота подвергается изменениям (например, после короткого курса АБП) и через несколько дней может перейти в другое стабильное состояние, где преобладают, например *Clostridioides difficile*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus aureus*, что может привести к диарее. Этот возможный переход между здоровым состоянием и нарушенным состоянием явно выходит за рамки классической и обнадеживающей концепции континуума между здоровьем и болезнью. Таким образом, указывая на возможность утраты симбиоза между хозяином и его микробиотой, при которой различные механизмы могут способствовать ухудшению взаимосвязи между микробиотой и клетками хозяина. В результате чего приводит к возникновению явления гистерезиса, что означает, что даже после полного снятия стрессовых факторов системе потребуется гораздо больше энергии для возвращения в исходное (здоровое) состояние, чем для перехода в альтернативное стабильному (и патологическое) состояние.

Антибактериальная терапия может иметь ряд нежелательных эффектов, например может вызывать антибиотик-ассоциированную диарею (ААД), особенно в случае применения препаратов, активных в отношении анаэробных микроорганизмов. При применении таких АБП, как клиндамицин, линкомицин, аминопенициллины и цефалоспорины II и III поколений вероятность развития ААД увеличивается. По представленным данным 1993 года Mc Farland L., частота возникновения ААД при применении ампициллина составляет от 5 до 10 % случаев. При использовании цефалоспоринов II поколения этот показатель возрастает до 10-25 %, тогда как для других групп АБП, таких как тетрациклины, макролиды (например, эритромицин), нитрофурантоин, ко-тримоксазол, фторхинолоны и аминогликозиды (гентамицин и канамицин), он составляет всего 2-5 % [66, 138, 192, 193]. Применение АБП группы цефалоспоринов III поколения чаще приводит к развитию ААД, чем терапия пенициллинами с узким спектром действия [15]. Стоит отметить, что на вероятность возникновения ААД мало влияют такие факторы, как дозировка препарата, способ и кратность его введения.

Например, инфекция *C. difficile* чаще возникает при применении АБП широкого спектра действия, которые плохо всасываются из кишечника, даже если их вводят однократно.

Применение АБП может привести к нарушению колонизационной резистентности желудочно-кишечной флоры, что ведёт к целому ряду симптомов, в первую очередь к диарее [231]. Если на фоне приема антибактериальных препаратов и в течение 4–8 недель после их отмены наблюдается как минимум три или более эпизода неоформленного стула и не выявлены другие причины возникновения диареи, то диагностируется ААД [20]. ААД является широко распространенным и серьезным осложнением, которое может возникнуть как у амбулаторных, так и у стационарных пациентов. ААД развивается примерно у трети пациентов, получающих АБП [229]. ААД может иметь, как легкое течение, симптомы которой исчезают при отмене АБ, так и тяжелое, проявляющееся псевдомембранозным колитом (ПМК) [1]. ААД может быть вызвана различными микроорганизмами, такими как *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus aureus*, *C. difficile*, и грибы рода *Candida*. Однако наиболее тяжелые формы ААД и ПМК связаны с наличием *C. difficile*. По данным ВОЗ за 2017 год, ежегодно у детей во всем мире регистрируется около 1,7 миллиарда случаев диареи, от которой каждый год умирает 525 тысяч детей в возрасте до пяти лет [12]. На долю ААД приходится примерно 6–7 % всех случаев диарей [1].

В 2018 году Плоскиревой А. А и соавт. было предложено новое понятие – антибиотик-ассоциированный синдром (ААС). Это понятие расширяет представление о клинических проявлениях, связанных с применением АБП, и не ограничивается только развитием ААД. «ААС включает в себя оценку состояния различных систем организма: органов пищеварения (диарея, рвота, диспепсия, стоматит); кожных покровов и придатков кожи (сухость кожи, опрелости, ломкость ногтей, волос и т. д.); нервной системы (нарушения сна, психоэмоциональные расстройства); воспалительные изменения наружных половых органов; обострение аллергических заболеваний; повторных эпизодов ОРИ в течение месяца после АБТ» [35]. В рамках данного исследования было

обследовано 200 пациентов. У 29 % из них были выявлены симптомы ААС. У остальных 71 % пациентов данные клинические проявления отсутствовали. В течение месяца после АБТ у 13 % от общего числа обследованных пациентов была диагностирована ААД с изменением характера и учащением стула. Однако дальнейший анализ показал, что изолированная диарея встречалась только у 32,8%. У остальных детей ААС встречалась в виде различных проявлений [12].

В 2009 году Танака и коллеги, изучили последствия применения АБП у новорожденных сосредоточившись на отборе резистентных микроорганизмов. Большинство исследований проводилось в отделениях реанимации и интенсивной терапии, показало, что длительная АБТ (>3 дней) является фактором риска колонизации резистентными энтеробактериями [171]. Этот риск особенно возрастает при использовании АБП широкого спектра действия [22]. Ранее изучалось, что колонизация резистентными бактериями в большинстве случаев коррелировала с продолжительностью пребывания в стационаре, малым гестационным возрастом и низкой массой тела при рождении, что отражало степень горизонтального переноса штамма [51, 58]. Однако влияние АБП на общую микробиоту изучено недостаточно. В своем исследовании Танака и коллеги сообщили о задержке развития *Bifidobacterium* и *Enterococcus* у пяти детей раннего возраста, которые в первые четыре дня жизни получали цефалоспорин третьего поколения парентеральным путем в течение нескольких недель [171]. В недавнем исследовании М. К. Gibson и соавторы рассмотрели влияние АБТ на недоношенных детей. Было отмечено, что микробиота кишечника недоношенных младенцев колонизирована примерно в десять раз меньшим количеством бактерий, различающихся по составу, и формируется независимо от способа родоразрешения, в отличие от доношенных детей [108, 118, 134, 149, 162]. В данном исследовании все, кроме двух младенцев из 84 в когорте, получали АБТ в течение 24 часов после рождения, 39 % из них не получали дополнительного курса АБП после первой недели жизни и использовались в качестве контроля для изучения эффекта специфических антибактериальных препаратов, вводимых между 1 и 10 неделями жизни. Они

отметили, что лечение меропенемом, цефотаксимом и тикарциллин-клавуланатом ведет к значительному снижению видового богатства микробиоты. А наиболее часто назначаемые недоношенным детям ванкомицин и гентамицин, оказывают неоднородное влияние на видовое богатство, либо существенно увеличивая, либо уменьшая разнообразие микроорганизмов кишечника недоношенных детей [108]. В данном исследовании было отмечено, что на фоне общего снижения видового богатства после лечения меропенемом наблюдалось либо значительное обогащение *Staphylococcus epidermidis* и *K. pneumoniae* после лечения тикарциллин-клавуланатом, либо истощение *E. coli* после применения цефотаксима. В сравнении с контрольной группой, через одинаковые интервалы наблюдалась значительная тенденция к обогащению микробиоты, обусловленная преимущественно видами родов *Klebsiella*, *Escherichia* и *Enterobacter*, которые замещали виды родов *Enterococcus* и *Staphylococcus* [108].

В более раннем исследовании Fouhy F. и коллеги сравнили развитие микробиоты в течение 48 часов после рождения у 9 новорожденных, получавших парентерально ампициллин и гентамицин в течение 2–9 дней [155]. Они отметили, что проводившаяся в данном случае АБТ привела к уменьшению биоразнообразия микробиоты, включая снижение количества полезных родов, таких как *Bifidobacterium* (тип *Actinobacteria*) и *Lactobacillus* (тип *Firmicutes*). Это исследование ограничено небольшим размером выборки и тем фактом, что 5 из 9 пролеченных младенцев родились путем кесарева сечения, в то время как все дети контрольной группы родились вагинально. Тем не менее, данное исследование показывает, что ранние нарушения в развитии микробиоты сохраняются на протяжении нескольких недель.

Результаты анализа применения АБТ широкого спектра действия с преимущественным анаэробным охватом, такими как клиндамицин, даже при кратковременном курсе (7 дней), показывают уменьшение таксономического разнообразия и долгосрочные изменения у значительной части пациентов. Эти изменения могут сохраняться до 2 лет, сопровождаясь устойчивым снижением разнообразия бактериоидов [186]. Также, краткосрочный курс эрадикации *H. pylori*

с использование тройной терапии, включающей кларитромицин, вызвал резкое снижение разнообразия актинобактерий и тысячекратное увеличение гена резистентности *ermB* [248].

Важной проблемой применения АБП широкого спектра действия является не только изменение нормального микробного разнообразия кишечника, но и феномен распространения резистентных штаммов микроорганизмов. Это происходит в том числе за счет горизонтального переноса генов [205, 215]. Это процесс, при котором бактерии передают мутантную генетическую информацию друг другу.

На фоне применения АБП происходит нарушение колонизационной резистентности, которое создает условия, благоприятные для пролиферации. Хотя инфекция *Clostridioides difficile* (CDI) может возникнуть в результате воздействия любого антимикробного препарата, в большинстве случаев она ассоциируется с использованием клиндамицина, цефалоспоринов и фторхинолонов. Вспышки CDI зачастую многофакторные. Показатели CDI часто сильно коррелируют с увеличением общего потребления антимикробных препаратов, введением определенного штамма *Clostridioides difficile*, загрязнение окружающей среды и снижением соблюдения надлежащей практики контроля инфекций [66]. Риск инфицирования *Clostridioides difficile* и тяжесть инфекции возрастают с возрастом [182, 239]. В одном исследовании риск заражения *Clostridioides difficile* во время вспышки был в 10 раз выше среди лиц старше 65 лет, чем среди молодых пациентов в стационаре [220]. Согласно данным исследования Bryant К. и соавт 2009 года у детей первых месяцев жизни частота носительства *Clostridioides difficile* достигает 70 %, причем в 90 % случаев выделенные штаммы продуцируют токсин [81]. Cohen S.H. и соавт в своей работе сообщают, что частота колонизации кишечника токсигенными штаммами *Clostridioides difficile* у новорожденных составляет от 1 % до 5 %. Среди детей, находящихся в стационаре, этот показатель возрастает до 20 % [91]. По мере формирования нормальной микрофлоры кишечника степень колонизации *Clostridioides difficile*

снижается. У пациентов старше двух лет она сопоставима с показателями взрослых и составляет около 3 % [80].

Некоторые микроорганизмы могут в процессе АБТ и пониженного барьерного эффекта индуцировать, размножаться в кишечнике (особенно толстой кишке) и иметь патогенную активность, среди них можно отметить *K. oxytoca* и *Candida albicans* [64, 240].

В процессе АБТ *K. oxytoca* способна вызывать уникальную форму ААД, сопровождающуюся геморрагическим колитом [180]. Антибиотик-ассоциированный геморрагический колит (ААГК), связанный с *K. oxytoca* наиболее часто возникает при применении ампициллина и цефалоспоринов [28] и проявляется в течение первых 10 дней лечения [64]. Характерные проявления ААГК, связанного с *K. oxytoca* – геморрагическая диарея с абдоминальными болями и гиперлейкоцитоз. Эндоскопически у этих пациентов наблюдается отечность, кровоточивость слизистой кишечника, а также сегментарный характер поражения преимущественно (50-70 %) правых отделов или поперечно-ободочной кишки [180]. Диагноз (предложенный на основе клинической картины и картины поражения) основан на обнаружении *K. oxytoca* в стуле или культуре биопсий толстой кишки. Симптомы разрешаются спонтанно без лечения при завершении АБТ, вызывающей данную клиническую картину.

Повышенный рост *Candida albicans* в образцах стула связывают в основном с АБТ, в подавляющем большинстве случаев она не вызывает диарею [240]. Когда в культуре стула пациента с ААД обнаруживается «колонии *C. albicans*», противогрибковое лечение не назначается, поскольку оно обычно неэффективно.

1.4. Современные представления о патогенезе антибиотик-ассоциированных осложнений у детей

Антибиотик-ассоциированные осложнения обычно возникают в результате распространения патогенных микробов в недавно освобожденные экологические

ниши в желудочно-кишечном тракте. В то же время, считается, что многое зависит от индукции путей ответа хозяина на изменения в кишечнике, с помощью которых организм первоначально распознает провоспалительные состояния, и активирует механизмы восстановления здорового состояния организма [158].

Наиболее распространенным и значимым фактором среди патогенетических механизмов развития как идиопатической, так инфекционной ААД является дестабилизация микробиоценоза ЖКТ. Один из наиболее известных механизмов – это вызванный АБП микробный дисбиоз, приводящий к нарушению метаболизма ключевых питательных веществ кишечника и накоплению определенных метаболитов, вызывающих осмотическую диарею. Второй механизм – потеря колонизационной резистентности и последующее заражение патогенными бактериями, такими как *Clostridioides difficile*. Третий – прямое стимулирующее действие специфических АБП, например, таких как эритромицин, который действует как агонист мотилина [22, 250].

Jia V. Li и его коллеги в своей работе отметили, что механизм ААД, не вызванного *C. difficile*, обусловлен измененным микробным метаболизмом [184]. Обычно углеводы, которые не усваиваются в тонком кишечнике, ферментируются микроорганизмами в толстом кишечнике до короткоцепочечных жирных кислот, таких как бутират. Предполагается, что вызванная АБП гибель бактерий толстой кишки, таких как клостридиальные виды, приводит к увеличению количества неабсорбируемых углеводов в толстом кишечнике. Избыточная углеводная нагрузка затем вызывает осмотическую диарею [78].

Антибиотики, очевидно, оказывают влияние на метаболический профиль кишечника. Однако требуются дополнительные исследования для установления и подтверждения наличия причинно-следственной связи между специфическими метаболическими изменениями, вызванными ААД и АБП [122, 169].

Использование АБП снижает разнообразие микробных сообществ и негативно влияет на колонизационную резистентность, характеризующуюся способностью микробиома предотвращать колонизацию экзогенными и потенциально патогенными микроорганизмами, а также контролировать

избыточный рост эндогенных условно-патогенных микроорганизмов, таких как *C. difficile*. Механизмы колонизационной резистентности многообразны и включают в себя конкуренцию питательных и физических ниш между микроорганизмами, выработку бактериоцинов и индукцию ответа хозяина, нацеленную на специфические микробы [283]. Хотя связь между АБТ и снижением колонизационной резистентности наблюдается уже на протяжении десятилетий, механизм ее до конца не расшифрован, однако недавние открытия проливают свет на эту проблему. Исследования метаболома стула показывают, что микроорганизмы регулируют множество метаболитов, и неудивительно, что лечение АБП приводит к резким изменениям в составе желчных кислот, углеводов и аминокислот [276].

Желчные кислоты являются важными регуляторами жизненного цикла *C. difficile* [275, 288]. Первичные желчные кислоты вызывают прорастание спор *C. difficile*; тогда как вторичные желчные кислоты, образующиеся в результате бактериальной трансформации первичных желчных кислот, ингибируют рост *C. difficile* и предотвращают его доминирование в микробиоме кишечника [275]. Вышеописанный пример взаимодействий между хозяином и микробиотой, создающих устойчивость к колонизации от патогена, демонстрирует взаимовыгодные отношения как для хозяина, так и для его микробиоты. Однако данный баланс нарушается при воздействии АБП, которые уменьшают количество бактерий, метаболизирующих желчные кислоты, приводя к снижению концентрации вторичных желчных кислот в толстой кишке [275]. Потеря вторичных желчных кислот ослабляет ингибирование роста *C. difficile*, позволяя ей размножаться до уровня, достаточного для вызова заболевания [222].

Кроме того, конкуренция за ресурсы хозяина является еще одним механизмом, с помощью которого АБП способствуют развитию CDI. Например, АБП подавляют микроорганизмы, использующие сиаловые кислоты, полученные от организма хозяина. В то же время рост *C. difficile* усиливается в их присутствии. Таким образом, АБТ повышает восприимчивость организма CDI,

создавая избыток сиаловых кислот, которые могут стимулировать развитие инфекции [203, 283].

1.5. Особенности клинических проявлений антибиотик-ассоциированных осложнений у детей

Согласно данным Goossens Н. и коллег, в педиатрической практике антибактериальные препараты назначают в три раза чаще, чем взрослым, причем в 80 % случаях их применяют при инфекциях дыхательных путей [218]. Так, в Китае при неосложненных ОРИ у детей до двух лет частота применения АБП составляет около 97 %, в Дании – около 60 %, в Канаде – до 38 %, а во Франции и США – 25 %. При этом на фоне антибактериальной терапии у детей, особенно первых пяти лет жизни, часто развивается диарея. Большинство физиологических процессов, клиническая картина заболеваний и ответ на лечение в педиатрии существенно отличаются от взрослых. Проявление и течение антибиотик-ассоциированных осложнений не стало исключением. Например, у детей ААД быстрее манифестирует, имеет более короткую продолжительность и вызывает меньше осложнений. Рассмотрим особенности клинических проявлений антибиотик-ассоциированных осложнений у детей. Инкубационный период ААД, определяемый как время между началом приема АБП и началом диареи, делится на две группы: раннее начало, когда диарея возникает во время АБТ, и отсроченное начало, при котором диарея проявляется через 2-8 недель после окончания курса АБТ [138, 197]. В педиатрической практике не существует общепринятых критериев для определения степени тяжести ААД. В большинстве клинических исследований под детской диареей определяется состояние, при котором у ребенка наблюдается от 1 до 3 эпизодов жидкого стула в течение 24-48 часов [196]. Кроме того, определение частоты стула у младенцев в период использования подгузников намного сложнее. Согласно данным, средняя продолжительность ААД у детей составляет 3-9 дней [170, 196]. В обзоре

Damrongmanee A. и коллеги рассмотрели 225 амбулаторных детей различного возраста, получавших разные группы АБП, было установлено, что средняя продолжительность ААД составила $2,6 \pm 1,1$ дня [104]. Hsu и коллеги, изучавшие течение ААД у пожилых людей, сообщают о более длительной средней продолжительности ААД у 42 госпитализированных пациентов ($26,2 \pm 56,1$ дня) [223].

Тяжесть течения ААД у детей колеблется от легкой, самокупирующейся до диареи средней степени тяжести. В исследовании Gogate A. из 250 пациентов отделения педиатрии (5-12 лет), у которых развилась диарея, большинство (82 %) не была вызвана *S. difficile*, у 16 % развилась диарея тяжелой степени, у 36 % отмечались боли в животе и у 11 % была рвота. Если симптомы диареи выражены (> 10 раз / сут), ААД в педиатрии может привести к электролитным нарушениям и обезвоживанию организма [110]. Было зарегистрировано несколько случаев детского антибиотик-ассоциированного колита или псевдомембранозного колита (ПМК). Есть одно сообщение о случае 16-летней девочки, у которой развилась ПМК, не связанная с *S. difficile* [251].

В некоторых случаях у детей раннего возраста ААС, ассоциированная с *S. difficile*, может протекать в легкой форме колита (энтероколита) без лихорадки и интоксикации благодаря наличию в крови материнских антител, секреторного иммуноглобулина А и отсутствию рецепторов к токсинам *S. difficile* на энтероцитах некоторых детей [63]. Сильные абдоминальные боли не характерны для детей. Чаше пальпация вызывает болезненные ощущения. Клинически обычно наблюдается небольшое или умеренное учащение дефекации, которое, как правило, не вызывает серьезных водно-электролитных нарушений [46].

Диарея у детей, ассоциированная с *S. difficile* может варьировать от легкой до тяжелой формы, включая рецидивирующие эпизоды CDI. В большинстве случаев CDI в педиатрии протекает легко или средней степени тяжести (23 % – 87 %) [90, 265]. В литературе описано, что средняя продолжительность диареи CDI у детей документирована недостаточно хорошо, но, основываясь на имеющихся данных, колеблется в пределах 2-9 дней [50, 195]. Исследование,

проведенное Khanna S. и соавт. об эпидемиологии диареи, связанной с CDI у детей, показало, что у 87 % отмечалась только диарея, у 9 % – тяжелое течение CDI и 4 % имели тяжелое течение CDI с осложнениями [265]. При рассмотрении тяжести течения диареи, связанной с *C. difficile* в педиатрической практике, тяжелые случаи, которые устанавливались как сочетание > 2 тяжелых показателей, включая лихорадку, лейкоцитоз, необходимость пребывания в отделении интенсивной терапии или хирургического вмешательства, были зарегистрированы в работе 2014 года Wendt J.M. и соавт. в 8 % случаев, а в более раннем исследовании Pai S и соавт. 2012 г тяжелое течение CDI отмечалось у 76% пациентов в детской практике [93, 136]. Однако часто для оценки тяжести заболевания у детей при диарее, связанной с *C. difficile*, используются критерии, предназначенные для взрослых, что приводит к завышенной оценке тяжести течения заболевания [100]. В двух исследованиях, в которых сообщалось о большом количестве случаев тяжело протекающей диареи связанной с *C. difficile* у детей, при повторном рассмотрении, когда проанализировали тяжесть состояния применительно к детям, показали, что большинство из них имели низкие показатели заболеваемости (среднюю степень тяжести течения) и смертности и успешно лечились стандартной антибактериальной терапией [136, 238]. Например, Kim и соавт. в своей работе определили тяжелое течение диареи связанной с *C. difficile* в детском возрасте, как имеющую по крайней мере одно осложнение (ПМК, связанная с *C. difficile*, перфорация кишечника, токсический мегаколон или пребывание в отделении интенсивной терапии) или ≥ 2 лабораторных/клинических показателя (повышенное количество лейкоцитов, или высокий альбумин, или высокий креатинин, фекальная кровь или лихорадка) [238]. А Pai и соавторы определяли тяжелое течение диареи, связанной с *C. difficile*, в детском возрасте по наличию следующих признаков: повышенное количество лейкоцитов, увеличение уровня креатинина в сыворотке крови, лихорадка или признаки тяжелого колита [136]. В связи с данными рассуждениями изучаются новые критерии определения тяжести диареи, связанной с *C. difficile* в педиатрии. В детской практике крайне редко сообщается

о наличие очень тяжелых форм диареи, связанной с *C. difficile*, но в исследовании Castillo A. и соавт. 2012 года был рассмотрен случай развития токсического мегаколона у четырехлетнего мальчика, получавшего лечение амоксициллином-клавулановой кислотой [101]. Shipeng Yu и соавт. (2016 г.) описывают клинический случай токсического мегаколона у пациента с мышечной дистрофией Дюшенна (МДД). Пациенту при поступлении был выставлен диагноз *C. difficile* колит, и эмпирически был назначен ванкомицин, однако улучшения на фоне терапии не было и был выставлен диагноз токсический мегаколон. Впоследствии пациенту была проведена лапароскопическая петлевая илеостомия и катетерная декомпрессия толстой кишки на фоне продолжения терапии ванкомицином. Но, учитывая отсутствия улучшения и сохранение диареи пациенту, в итоге проведена пересадка стула от его здоровой сестры с помощью колоноскопии. Однако колоноскопия показала наличие псевдомембранозного колита. Пероральный прием ванкомицина был возобновлен через 2 дня после первой трансплантации стула. Еще одна пересадка стула была сделана посредством колоноскопии на 20-й день. В результате второй трансплантации стула проявление диареи у пациента уменьшились, его общее состояние также улучшилось и наступило выздоровление [135].

Рецидивы диареи, связанной с *C. difficile*, у детей встречаются довольно часто (10–31 %), впоследствии это может приводить к более длительной госпитализации [94, 214, 238]. Частота рецидивов диареи связанной с *C. difficile*, зависит от тяжести заболевания: у детей с тяжелым течением частота рецидивов отмечается в 31 % случаев, тогда как при легком или среднетяжелом течении CDI рецидивы отмечаются в 15 % случаев [94, 238].

Псевдомембранозный колит (ПМК) у детей характеризуется острым началом и сопровождается потерей аппетита, интоксикацией, повышением температуры тела, метеоризмом, спастическими болями в животе, срыгиванием, тошнотой, рвотой и диареей. Пальпаторно отмечается болезненность по ходу толстой кишки. В стуле присутствует примесь слизи, реже – крови, частота дефекации увеличена, иногда в испражнениях наблюдается густая белесоватая

слизь и фрагменты фибриновых наложений. При резко выраженном учащении стула формируется эксикоз, значительно реже наблюдается коллапс без предшествующей диареи [16, 94].

1.6. Современные методы терапии антибиотик-ассоциированных осложнений у детей

Современное лечение ААД, без известного этиологического фактора, у детей обычно включает в себя прекращение или замену антибактериального препарата и проведение пероральной регидратационной терапии. Поскольку этиология, как правило, известна только для части случаев (примерно 1/3 приходится на *C. difficile*), эффективное лечение ААД АБП ограничено. Если диарея умеренно-тяжелая, достаточным может быть применение пероральной регидратационной терапии, что может содействовать спонтанному выздоровлению [136].

В случае диарей, ассоциированных с *C. difficile*, прекращение приема или замена антибактериального препарата, наряду с пероральной регидратационной терапией, по-прежнему остаются одной из лидирующих рекомендаций в качестве первой ступени по лечению легких CDI. У детей с подозрением или подтвержденной диареей, ассоциированной с *C. difficile* средней степени тяжести или тяжелым течением рекомендуется начать сразу же эмпирическое лечение АБП, направленными против *C. difficile*. Следует избегать приема антиперистальтических препаратов, поскольку они могут скрывать симптомы и вызывать осложнения, такие как токсический мегаколон [94, 246]. Хотя перорально вводимый ванкомицин по-прежнему является средством, одобренным FDA США для лечения CDI у детей, он был заменен в качестве препарата выбора в 1990-х годах в ответ на опасения по поводу роста резистентности к ванкомицину энтерококков [246]. Метронидазол в настоящее время является препаратом выбора для начального лечения [31, 94, 246]. В последние годы в

терапию CDI у детей включен препарат фидаксомицин, который был недавно одобрен FDA США, как вариант лечения детей старше 6 месяцев и весом более 4 кг [94]. В многоцентровом исследовании III фазы SUNSHINE, в котором изучалась эффективность терапии фидаксомицином у педиатрических пациентов с CDI по сравнению с пероральным ванкомицином, было установлено, что фидаксомицин хорошо переносится и имеет улучшенную устойчивость к лечению через 30 дней после окончания лечения [244].

В одном исследовании рассмотрели терапию CDI метронидазолом или ванкомицином у детей из 4895 стационарных случаев 74 % ответили на лечение [128]. Большинство исследований включали детей с их первым эпизодом CDI и показали эффективность излечения либо метронидазолом (в диапазоне от 31 % до 97 %), либо ванкомицином (в диапазоне от 83 % до 100 %) [128, 136, 265]. Ни одно исследование лечения не включало детей с рецидивирующим заболеванием CDI [128, 136, 265].

Основными терапевтическими трудностями в лечении *C. difficile*-ассоциированной диареи являются высокая частота рецидивов, наличие гипервирулентных штаммов и повышенная устойчивость к метронидазолу [92]. Лечение АБП широкого спектра действия изменяет не только уровни *C. difficile*, но также и защитную эндогенную микробиоту. В результате восстановление кишечной экосистемы происходит с или без достаточного подавления *C. difficile*, что может привести к рецидиву заболевания. В связи с этим становится все более актуальной задача профилактики и коррекции нарушений микробиоценоза кишечника, а также снижения частоты возникновения осложнений, связанных с приемом АБП.

В последнее время активно изучается потенциальная ценность использования моноклональных антител (мкАТ) для лечения CDI. Считается, что однократная инфузия или подкожная инъекция мкАТ может обеспечить устойчивую «терапевтическую» и «профилактическую» защиту от первичных и потенциальных рецидивирующих CDI соответственно, так как они увеличивают период полувыведения с 14 до 21 дня для человеческого IgG1 [285]. Кроме того,

мкАТ имеют большее преимущество по сравнению с пероральными АБП с точки зрения дозирования, частоты применения и обеспечения комплаентности пациента. Также было установлено, что нейтрализованные комплексы антиген-антитело аналогично вакцинам обучают иммунную систему хозяина, а комплексы антиген-Fc улучшают защиту слизистых оболочек [164].

Одним из эффективных способов лечения пациентов с рецидивирующей инфекцией *C. difficile* оказалась трансплантация фекальной микробиоты (ФМТ), особенно свежей ФМТ. Она может изменить разнообразие кишечной флоры у пациентов, восстанавливая их функцию защиты от *C. difficile* и его токсинов и достигая терапевтического эффекта [234]. W. Hui и соавт. провели метаанализ эффективности ФМТ для лечения рецидивирующей инфекции *C. difficile* [133]. В данном исследовании объектами поиска были опубликованные РКИ, в которых изучалась прямая (без заморозки) трансплантация фекальной микробиоты. В основную группу включили исследования с прямой трансплантацией фекальной микробиоты, в то время как контрольная группа включала антибактериальную терапию или плацебо, или замороженную ФМТ или в виде капсулы. В результатах данного метаанализа, было представлено, что ФМТ была значительно более эффективной, чем традиционные методы. Частота рецидивов клинической диареи в группе с прямой ФМТ была достоверно ниже, чем в контрольной группе. Анализ подгрупп показал, что ФМТ путем многократных инфузий может значительно ($OR=0,24$; 95 % Ди:0,10-0,58; $I^2=0$ %; $p=0,001$) увеличить частоту клинической ремиссии диареи. Большинство легких и умеренных нежелательных явлений, вызванных ФМТ, легко купировались, никаких серьезных нежелательных явлений из-за ФМТ не произошло [133].

В настоящее время все большую значимость набирает применение пробиотических препаратов в лечении и профилактике антибиотик-ассоциированных осложнений. На сегодняшний день существует несколько популярных гипотез о роли пробиотических препаратов при ААД. Например, что при ААД включение пробиотиков во время АБТ будет играть роль усиления барьерной функции слизистой оболочки кишечника хозяина, для содействия

конкурентному исключению потенциально пролиферирующих видов патогенных микроорганизмов среди комменсальных бактерий и для оказания положительного воздействия на иммунный ответ хозяина [98]. Так как происходящая трансформация микроэкологии кишечника может содействовать избыточной пролиферации организмов, которые располагают потенциалом вызывать большую секрецию воды и электролитов, или которые могут действовать как настоящие патогены даже у людей с сохраненным иммунитетом слизистой оболочки, таких как *C. difficile*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus spp* и *Candida. spp* [73, 258]. Также существует гипотеза, что пробиотики поддерживают или восстанавливают микробиом кишечника во время или после АБТ за счёт конкуренции за рецепторы и питательные вещества, подавления адгезии патогенных микроорганизмов к эпителию и слизистой оболочке, создания более низкого уровня рН в толстой кишке, что способствует росту непатогенных бактерий, а также активации иммунной системы и выработке антимикробных веществ [228].

Интерес к пробиотическим вмешательствам растет с каждым днем, параллельно растет число доказательств эффективности пробиотиков в профилактике или лечении ААД [154, 245].

В большинстве обзорных публикаций, посвященных пробиотикам, отсутствует систематизация данных и проводится анализ лишь отдельных групп пациентов или видов пробиотиков без учёта результатов последних клинических испытаний. В 2006 году были проведены исследования, которые показали, что использование пробиотических препаратов снижает риск развития ААД [125, 194]. С тех пор в международных научных изданиях было опубликовано более 30 новых рандомизированных контролируемых исследований по данной теме. Кокрейновский обзор 2011 года, посвященный ААД у детей, подтвердил эффективность применения пробиотиков для профилактики ААД у детей [230]. В настоящее время профилактическое применение пробиотиков совместно с антибактериальной терапией (АБТ) начинает активно использоваться в медицинской практике. Однако большинство современных исследований

включают взрослых участников, что делает актуальным изучение этого вопроса в педиатрической практике.

В обзоре Hempel S и соавт 2012 года было рассмотрено применение пробиотических препаратов, как в качестве профилактики, так и лечения ААД. Включенные испытания преимущественно использовали молочнокислые бактерии, такие как *Lactobacillus rhamnosus* или *L. casei*, за редким исключением, испытания *Saccharomyces boulardii*. Основным выводом этого обзора являлось то, что использование пробиотиков в качестве дополнительной терапии снижает риск ААД [228].

J.Z. Goldenberg и соавт в 2015, а также В.С. Johnston и соавт. в 2016 году рассмотрели применение пробиотиков у детей для лечения ААД: их использование сократило среднюю продолжительность ААД на 18 часов, однако не было продемонстрировано никакого эффекта на количество стула в сутки [176, 231]. Кроме того, некоторые пробиотики могут оказывать прямое антимикробное действие против определенных патогенов. Например, еще в 1993 году Pothoulakis C и соавт. показали, что бактериоцин, продуцируемый *L. Salivarius*, защищает от *Listeria monocytogenes*, и *S. Boulardii* может напрямую связываться с продуцируемым *C. difficile* токсином А.9 [243].

Добавление пробиотиков во время АБТ для лечения или профилактики ААД в настоящее время не является стандартом лечения. Метаанализ 2012 года E. J. Videlock и соавт. предполагает снижение риска развития ААД во время приема пробиотика по сравнению с плацебо [282].

Таким образом ОРИ продолжают занимать лидирующие позиции среди назначений АБТ в педиатрической практике. Несмотря на несомненную пользу АБТ, она может иметь ряд негативных последствий, таких как значительное снижение разнообразия микробиома или потенциальная потеря целых микробных сообществ, избыточный рост патогенных микроорганизмов, таких как *C. difficile*, а также рост распространения генов резистентности к АБП [82].

Среди развивающихся на фоне приема АБП побочных эффектов по-прежнему наиболее частым является ААД [40]. Однако ряд осложнений,

развивающихся на фоне АБТ намного шире, в последние годы активно исследуется ААС.

В настоящее время пробиотическая терапия LGG и *S. Boulardi* CNCM I-745 является эффективным методом профилактики ААД у детей, что подтверждается данными исследований и рекомендациями Европейского общества педиатрической гастроэнтерологии, гепатологии и питания (ESPGHAN) [11].

Однако если в части профилактики развития ААД в настоящее время определены наиболее эффективные подходы, включающие одновременное с АБТ использование пробиотиков на основе *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 или *Lactobacillus rhamnosus* GG, то в ситуации ААС обосновано дальнейшее изучение частоты его развития при наиболее массовых инфекционных заболеваниях у детей, требующих системной АБТ, оценки характера изменения микробиоты различных локусов (ЖКТ, полость рта) для разработки эффективной схемы пробиотикопревенции и восстановления микробиоты.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Объект и дизайн исследования

Клиническое наблюдение пациентов проводилось в период с 2019 по 2023 гг. на базе поликлинического отделения ГБУЗ МО «Химкинская больница» и детского инфекционного отделения ГБУЗ МО «Химкинская больница». Все пациенты были проинформированы об участии в исследовании, каждый из них дал согласие на участие в работе, подписав информированное добровольное согласие.

В соответствии с поставленными задачами выполнялось двухэтапное открытое сравнительное проспективное когортное исследование. Набор пациентов осуществлялся сплошным скринингом с включением всех детей, соответствующих критериям включения при отсутствии критериев исключения.

Диагноз и этиология ОРИ устанавливались на основании клинических симптомов и лабораторных данных, включающих молекулярно-генетические (ПЦР), бактериологические и иммунологические методы исследования. Сроки наблюдения за пациентами и их физикальное обследование соответствовало всему периоду госпитализации: от момента поступления в стационар до выписки. Данные вносились в истории болезни и мультипараметрические таблицы.

Все дети получали комплексную терапию ОРИ, включавшую АБТ и симптоматическую терапию, в зависимости от этиологии заболевания в соответствии с клиническими рекомендациями Союза педиатров РФ и Национальной медицинской ассоциации оториноларингологов, Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии Острая респираторная вирусная инфекция - 2018, 2022 гг, Острый тонзиллит – 2016 г., Острый тонзиллит и фарингит - 2021 г., Острый синусит - 2021 г., Пневмония (внебольничная) 2018, 2020, 2022 гг.

Через 3 месяца после завершения стационарного лечения на основании данных телефонного опроса и изучения формы № 112/у выполнялся анализ

катамнестических данных за указанный период с учетом числа перенесенных острых респираторных и кишечных инфекций.

На 1 этапе исследования (Рисунок 2.1) под наблюдением находилось 80 пациентов с инфекцией нижних дыхательных путей (внебольничной пневмонией (ВП)) возрастная структура пациентов составила 1-14 лет. Средний возраст обследованных пациентов – $4,4 \pm 2,9$: у мальчиков – $4,6 \pm 3,3$, у девочек – $4,2 \pm 2,5$; мальчиков было 41 (51,2 %) человек, девочек – 39 (48,8 %) человек. Также были обследованы 19 условно здоровых детей, средний возраст, которых $7,1 \pm 2,3$ среди, которых было девочек – 9 ($7,8 \pm 1,2$), мальчиков – 10 ($6,5 \pm 2,8$).

1 этап исследования оценка влияния моноштаммового пробиотика



2 этап исследования: оценка влияния мультиштаммового пробиотика

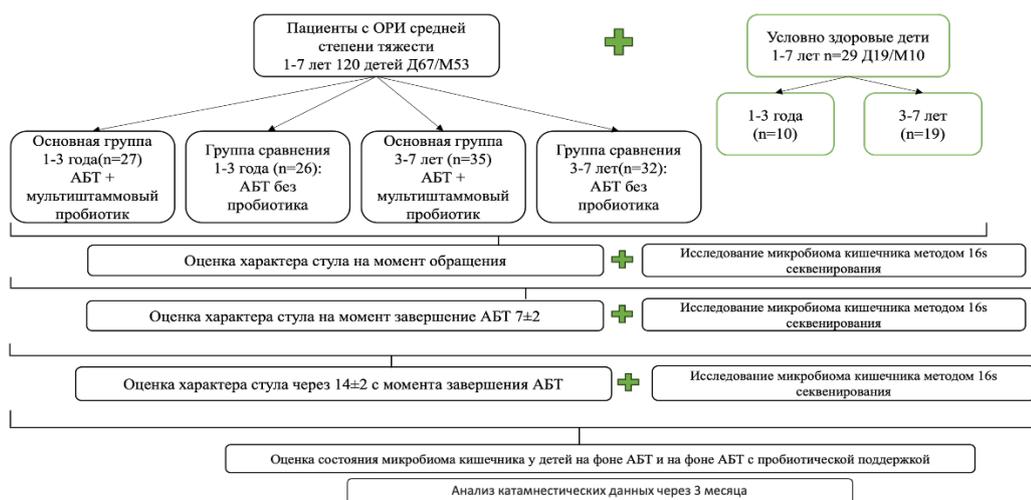


Рисунок 2.1 – Дизайн исследования 1 и 2 этапа [разработан автором]

На 2 этапе исследования под наблюдением находилось 120 пациентов (1-7 лет) с осложненным течением ОРИ средней степени тяжести. Средний возраст обследованных пациентов – $3,2 \pm 1,6$ лет: у мальчиков – $3,4 \pm 1,7$ года, у девочек – $3,1 \pm 1,4$ года; мальчиков было 53 (44,2 %) человека, девочек – 67 (55,8 %) человек. Также были обследованы 29 условно здоровых детей, средний возраст, которых $3,9 \pm 2,1$ среди, которых было девочек – 19 ($3,9 \pm 2,2$), мальчиков – 10 ($3,9 \pm 1,9$).

Критерии включения для пациентов с осложненным течением ОРИ:

1. Обращение за медицинской помощью в течение 3 суток от начала заболевания.

2. Возраст от 1 до 14 лет.

3. Подозрение на осложненное течение ОРИ:

– характерные жалобы – наличие одышки, не купирующейся лихорадки более 38°C в течение 3-х дней;

– изменениями по данным ОАК (лейкоцитоз, ускорение СОЭ свыше 15 мм. час.) и т.п.;

– в исследование включаются только пациенты с подозрением на острый отит, острый тонзиллит и/или острую пневмонию.

4. Отсутствие приема антибактериальных или пробиотических препаратов за предшествующие 2 месяца до включения в исследование.

5. Отсутствие сопутствующих инфекционных хронических заболеваний, таких как ВИЧ, вирусные гепатиты и т.д.

6. На момент включения в исследование отсутствие жалоб на расстройства ЖКТ.

7. Отказ от приема других препаратов и продуктов, содержащих пробиотические штаммы в течение всего исследования.

8. Наличие информированного добровольного согласия на участие в данном исследовании за подписью родителей или законных представителей.

Критерии включения условно здоровых детей:

1. Клинически здоровые дети в возрасте от 1 до 14 лет.

2. Отсутствие в анамнезе за последний месяц признаков ОРВИ.

3. Отсутствие приема пробиотических препаратов за 14 дней, до начала исследования.

4. Наличие информированного добровольного согласия на участие в данном исследовании за подписью родителей или законных представителей.

Критериями невключения являются:

1. Несоответствие одному и более критериям включения в исследование.

2. Тяжелая перинатальная патология в анамнезе, такая как гнойно-септические заболевания, внутриутробная инфекция, патологии органов дыхания и т.д.

3. Наличие тяжелых сопутствующих заболеваний дыхательной, сердечно-сосудистой системы, почек и печени с признаками декомпенсации, органические поражения головного мозга. Диагностированные сахарный диабет, надпочечниковая недостаточность, заболевания щитовидной железы, онкологические и аутоиммунные заболевания, туберкулезная инфекция, ВИЧ-инфекция, вирусные гепатиты.

Критериями исключения являются:

1. Невозможность или отказ пациента, его родителей/усыновителей следовать предписанному плану лечения, составленному согласно требованиям МЭС.

2. Не предоставление пациентом, или его родителями/усыновителями исследуемого материала в предписанные данным исследованием сроки.

3. Желание пациента или его родителя/усыновителя досрочно завершить исследование по любой причине.

Методом конвертов при поступлении дети рандомизированы на основную (ОГ) и группу сравнения (ГС).

На 1 этапе исследования средний возраст обследованных пациентов составил $4,4 \pm 2,9$. Для оценки эффективности моноштаммовых пробиотиков в коррекции нарушений микробиома и профилактике ААС при острых респираторных инфекциях, требующих назначения АБТ, применялся

монопробиотический препарат – Энтерол (производитель – Biocodex, Франция), содержащий *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745, (№ государственной регистрации ЛП-002433 в связи с ЛП-№(002853)-(РГ-RU) в соответствующих возрастных дозировках с момента назначения АБТ курсом 7 ± 2 дня которая не всасывается, проходит через пищеварительный тракт в неизменном виде, без колонизации обладает естественной устойчивостью к АБП [11].

На 2 этапе исследования пациенты были распределены на две возрастные группы: 53 ребенка раннего возраста от 1 до 3 лет (средний возраст $1,8 \pm 0,6$ года) и 67 детей дошкольного возраста от 3 до 7 лет (средний возраст $4,3 \pm 1,2$ года).

В качестве мультиштаммовых пробиотиков в коррекции нарушений микробиома и профилактике ААС при ОРВИ, требующих назначения антибактериальной терапии в соответствующих дозировках назначался курсом 21 ± 2 дня у детей 3-7 лет – Бак-Сет® Форте, содержащий 14 пробиотических штаммов в высоких концентрациях: *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. longum*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. helveticus*, *L. lactis*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. salivarius*, *St. thermophilus* (производитель «Probiotics International Ltd.», Великобритания, № государственной регистрации RU.77.99.11.003.E.003083.07.16). У детей 1-3 лет – Бак-Сет Беби, содержащий пребиотический компонент в виде фруктоолигосахаридов из инулина и 7 видов живых пробиотических бактерий в высоких концентрациях: *B. breve*, *B. infantis*, *B. longum*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *S. thermophilus* (№ государственной регистрации RU.77.99.11.003.E.003082.07.16), без потери активности и жизнеспособности достигающие толстого кишечника [40].

Динамика изменений клинических показателей оценивалась по данным дневника (Таблица 2.1), который вели родители пациентов, отмечая наличие или отсутствие каждого из симптомов. В дневнике используется оценка стула по Бристольской шкале (БШ), разработанная доктором Кеном У. Хитомом, как оценочная классификация формы и консистенции человеческого кала [57].

Таблица 2.1 – Дневник пациента

Дата	Самочувствие	Температура	Аппетит	Боль в животе	Вздутие	Стул кратность	Шкала Бристоля

2.2. Лабораторная и инструментальная диагностика

Всем пациентам проводилась оценка преморбидного фона (Таблица 2.2): сбор стандартизированного анамнеза жизни, включающий в себя также социально-средовые факторы, способа рождения, особенностей питания, наличие в анамнезе признаков нарушений микробиоценоза. Выполнялись сбор жалоб, оценивалось общее состояние пациента, оценивались кожные покровы и видимые слизистые, проводилась отоскопия, выполнялись пальпация, перкуссия и аускультации для оценки дыхательной, сердечно-сосудистой, пищеварительной и мочевыделительной систем, выполнялась оценка кала по БШ.

Таблица 2.2 – План обследования пациентов

Стандартные лабораторные методы обследования	<ol style="list-style-type: none"> 1. Клинический анализ крови с лейкоцитарной формулой и СОЭ. 2. Клинический анализ мочи (относительная плотность, рН, белок, лейкоциты, эритроциты). 3. Биохимический анализ крови: с оценкой уровня СРБ, креатинина и мочевины и активности АЛТ, АСТ и ЛДГ.
Методы верификации диагноза	<ol style="list-style-type: none"> 1. ПЦР-исследование мазка из зева / носа для обнаружения бактериальных возбудителей. 2. Обнаружение респираторных вирусов (SARS-CoV-2, гриппа и комплекс ОРВИ) молекулярно-генетическим методом ПЦР. 3. Определение в крови IgA, IgM, IgG с помощью иммуноферментного анализа к <i>Mycoplasma</i> и <i>Chlamydomphila pneumoniae</i>. 4. Посев мазка из зева и носа на микрофлору.
Дополнительные методы исследования	<ol style="list-style-type: none"> 1. Копрологическое исследование. 2. Исследование микробиома ЖКТ, ротоглотки, влагалища методом секвенирования микробного гена 16S рРНК.
Инструментальные методы исследования	<ol style="list-style-type: none"> 1. Рентгенологическое исследование. 2. Пульсоксиметрия.

Параметры клинического анализа крови были определены с использованием автоматического гематологического анализатора AcT 5 Diff производства компании *Beckman Coulter* (США). Для проведения биохимического исследования применялся анализатор *Abbott Diagnostics ARCHITECT*. Биохимический анализ крови включал оценку уровней общего белка и его фракций, общего билирубина, аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), гаммаглутамилтрансферазы (ГГТ) и щелочной фосфатазы (ЩФ).

Подтверждение этиологии основного заболевания методом ИХА: комбинированный экспресс-тест *Ecotest*, производителя *Assure Tech (Hangzhou) Co., Ltd*, для определения антигенов SARS-CoV-2, гриппа А/В путем исследования мазков носоглотки/ротоглотки.

Этиология основного заболевания верифицировалась методом ПЦР-исследования мазков или отделяемого слизистой полости рта, носа, мокроты на наличие нуклеиновых кислот (НК) респираторных вирусов (SARS-CoV-2, гриппа и комплекса ОРВИ) и бактериальных возбудителей (*Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Haemophilus influenzae* и *parainfluenzae*, *Mycoplasma* и *Chlamydomphila pneumoniae*. Материал был собран с использованием наборов «АмплиСенс», производства ЦНИИЭ Роспотребнадзора в первые 24 часа госпитализации.

Методом ИФА выполнялось определение в крови IgA, IgM, IgG к *Mycoplasma* и *Chlamydomphila pneumoniae*, использовались микропланшетный ридер *Tecan Infinite F50*, *Tecan GmbH*, Австрия; тест-система: D-1946 *Chlamydomphila Pneumoniae* IgM-ИФА- БЕСТ, D-1944 *Chlamydomphila. Pneumoniae* IgG-ИФА- БЕСТ, производитель «Вектор-Бест».

Лабораторные исследование проводилось в лаборатории ДНКОМ, заведующий лаборатории Кольченко Ольга Львовна, а также на базе Химкинской больницы, заведующая лабораторией Карслян Лилия Степановна.

До и после АБТ дополнительно проводилось копрологическое исследование для оценки динамики показателей креатореи, стеатореи первого и второго типов, амилореи, непереваренной пищи, слизи и крови в кале [4].

Рентгенография проводилась с использованием PHILIPS Diagnost H.

2.2.1. Секвенирование бактериальных генов 16S рРНК

Первый этап исследования включал в себя анализ микробиома детей с внебольничной пневмонией, получавших АБТ совместно с моноштаммовым пробиотическим препаратом, или без него. Анализ выполнялся с применением секвенирования гена 16S рРНК образцов кала, аспиратов из ротовой полости детей и половых органов девочек, собранных в двух временных точках:

- 1-я точка соответствовала инициации АБТ на 1-3 сутки от начала заболевания;
- 2-я точка соответствовала завершению АБТ и выписке из стационара на 8-14 сутки от начала заболевания.

Второй этап исследования включал в себя анализ микробиома детей с осложненным течением ОРИ, получавших АБТ совместно с моноштаммовым пробиотическим препаратом, или без него. Анализ выполнялся с применением секвенирования гена 16S рРНК образцов кала, собранных в трёх временных точках:

- 1-я точка на 1-3 сутки от начала заболевания соответствовала инициации АБТ;
- 2-я точка на 5-11 сутки от начала заболевания соответствовала завершению АБТ и выписке из стационара;
- 3-я точка на 21-24 сутки от начала заболевания соответствовала 14 дням после завершения АБТ.

Образцы микробиоты собирались в стерильные пробирки транспортной средой с муколитиком AmpliSens, Россия, регистрационное удостоверение: ФСР2009/05514 от 13.03.19. Сбор образцов микробиоты производили квалифицированные сотрудники в клиническом центре согласно стандартному протоколу. Хранение и транспортировка образцов осуществлялась при

температуре $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, в лаборатории хранение до востребования осуществлялось при температуре $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Состав микробиоты анализировался с использованием ампликонного секвенирование маркерного варибельного участка V3-V4 бактериальных генов 16S рРНК в соответствии протоколу 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation (Part #15044223 Rev. B), рекомендованному Illumina для секвенатора MiSeq [160].

На первом этапе исследования выполнялось выделение ДНК из биологического материала при помощи наборов для выделения ДНК со стадией гомогенизации образцов твердотельными микрочастицами и деплеции ингибиторов Nobias Technologies, Россия. На втором этапе исследования для выделения ДНК из исследуемых препаратов использовался набор MP Biomedicals 116560200 MP BIOMEDICALS FastDNA™ SPIN Kit for Soil.

Амплификация варибельного участка V4 гена 16S рРНК проводится в 1 раунд с использованием системы праймеров с двухиндексным мультиплексированием образцов [60]. Амплификация полноразмерного гена 16S рРНК на первом этапе исследования выполнялась с использованием праймеров 27F (AGAGTTTGATYMTGGCTCAG) и 1492R (GGTACCTTGTTAYGACTT), амплификатора CFX 96 (Bio–Rad, США). На втором этапе исследования последовательность 3' части праймера идентична стандартным 515F – 806R праймерам.

Секвенирование на первом этапе исследования проводилось на приборе MinION с использованием ячейки серии R9 (FLO-MIN106) согласно инструкциям производителя. Для бейзколлинга использовалась программа Guppy (версия 5.1.13), в качестве модели использовался режим High-accuracy basecalling, минимальная отсечка по качеству $qscore=7$.

На втором этапе исследования секвенирование выполнялось согласно инструкциям производителя на приборе MiSeq (Illumina, США). В результате с каждого конца ампликона получены прочтения длиной 252 пн.

Таксономический состав оценивался на первом этапе исследования с применением платформы Кномикс-Биота с последующей обработкой результатов в среде программирования R. С использованием программы EMU выполнялось картирование ридов с внесением в базу NCBI [127]. Выполнено суммирование представленности операционных таксономических единиц (ОТЕ), относящихся к соответствующей таксономической группе с созданием таблицы представленности на уровнях вида, рода, семейства и т.д. В дальнейшем осуществлялся анализ с определением видов микроорганизмов.

На втором этапе исследования сырые риды были предобработаны с использованием программного пакета QIIME v1.9.2. Затем риды были сопоставлены с базой данных GreenGenes 13.5 с 97 % степенью сходства между таксонами с помощью функции «pick_closed_reference_otus.py» программы QIIME 1.9.1. В результате были получены таблицы, показывающие представленность относительных таксономических единиц (ОТЕ). В дальнейший анализ включали только те образцы, которые содержали не менее 5000 ридов на данном этапе. Метаболический потенциал микробного сообщества был оценен с помощью программы PICRUSt.

Оценка альфа-разнообразия по индексам Шеннона и Chao1. Проведена после прореживания полученных таблиц представленности ОТЕ до 5000 ридов на образец.

Бета-разнообразие оценивали с помощью метрики UniFrac, а также таких методов, как меры различия Брея-Кертиса и расстояния Эйтчисона. После пятикратного прореживания полученных таблиц представленности ОТЕ до 5000 ридов на образец произведен расчет меры Брея-Кертиса и филогенетического расстояния. По итоговым таблицам относительных представлений за исключением редких микроорганизмов выполнен расчёт расстояния Эйтчисона. Визуализация результатов осуществлялась с помощью «метода главных координат» PCoA (Principal Coordinate Analysis).

Оценка количества микроорганизмов на образец осуществлялась с помощью количественной ПЦР (qPCR) с использованием тест системы для контроля

качества метагеномных исследований на общее содержание гена 16S рРНК бактерий (Nobias Technologies, Россия).

В дополнение к анализу на 2 этапе исследования использовался алгоритм Deblur для определения микробного состава пробиотических препаратов и для выявления конкретных штаммов из этих препаратов в образцах микробиоты участников. Этот метод позволил провести более детальный анализ сообщества, чем анализ с использованием ОТЕ, обрабатывая риды после удаления низкокачественных концов для получения характерных последовательностей.

2.3 Статистическая обработка данных

Статистическая обработка данных клинических показателей выполнялась в приложении StatTech v. 3.1.1 (разработчик – ООО «Статтех», Россия).

При числе исследуемых меньше 50 выполнялся анализ соответствия количественных показателей нормальному распределению с использованием критериев Колмогорова-Смирнова или Шапиро-Уилка. При отсутствии соответствия нормальному распределению количественных показателей описание производилось с применением медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1-Q3). При соответствии нормальному распределению данные описывались с помощью стандартных отклонений (SD), средних арифметических величин (M) и границ 95 % доверительного интервала (95 % ДИ). Описание категориальных данных осуществлялось с указанием абсолютных значений и процентных долей.

В случае нормального распределения при равенстве дисперсий для сравнения двух групп по количественному показателю использовался t-критерий Стьюдента. В случае отсутствия нормального распределения количественных показателей использовался U-критерий Манна-Уитни.

Сравнение процентных долей четырехпольных таблиц сопряженности осуществлялся с использованием критерия согласия Пирсона (хи-квадрат) для

значений ожидаемого явления >10 и точным критерием Фишера для значений ожидаемого явления < 10 .

Сравнение процентных долей многопольных таблиц сопряженности осуществлялся с использованием критерия согласия Пирсона. В случае отсутствия нормального распределения количественных показателей в двух связанных группах использовался Т-критерий Вилкоксона.

Для сравнения трех и более зависимых совокупностей при отсутствии нормального распределения использовался критерий Фридмана и апостериорное сравнение с помощью теста Коновера-Имана с поправкой Холма-Бонферрони.

Бинарные показатели, характеризующие две связанные совокупности, сравнивались с применением критерия Мак-Немара. В случае наличия более двух связанных совокупностей, сравнение осуществлялось с применением непараметрического Q-критерия Кохрена. Апостериорное сравнение выполнялось с применением критерия Мак-Немара с поправкой Холма-Бонферрони.

Для анализа данных, характеризующих состав микробиоты, была использована среда программирования R. Проверка гипотез выполнялась с порогом значимости 0,05. Поправка на множественное сравнение применялась с использованием метода Бенджамини-Хохберга.

Для оценки альфа-разнообразия использовались индексы разнообразия Шеннона и Chao1. Анализ альфа-разнообразия и количества микроорганизмов осуществлялся при сравнении несвязанных выборок с помощью метода Манна-Уитни, при сравнении парных выборок с применением критерия Вилкоксона, для регрессионного анализа использовалась квантильная регрессия. Сравнения изменений альфа-разнообразия у двух групп пациентов осуществлялся, учитывая исходное значение и группу участника с помощью анализа ковариаций (ANCOVA).

На первом этапе исследования для оценки бета-разнообразия использовались мера Брея-Кертиса и расстояние Эйтчисона. На втором этапе исследования использовалась метрика UniFrac. Результаты визуализировались при помощи метода главных координат РСоА. Для оценки значимости ассоциации

бета-разнообразия с различными факторами на первом этапе исследования использовалась функция `adonis2` пакета `vegan` непараметрического теста PERMANOVA. Ассоциация пропорций микроорганизмов с различными факторами проверялась с применением непараметрического теста PERMANOVA для расстояния Эйтчисона. При анализе изменений бета-разнообразия у участников учитывались возраст и парность образцов, при сравнении изменений бета-разнообразия учитывался возраст на момент начала исследования.

Идентификация наиболее вовлеченных в изменения микроорганизмов осуществлялась методом ближайшего баланса (пакет `NearestBalance`) [209].

Для анализа различий между группами в одной временной точке и различия между разными временными точками для одной группы на втором этапе исследования использовался пакет `adonis` непараметрического теста PERMANOVA. Для определения группы с наиболее выраженными изменениями микробиома на фоне проводимой терапии каждому участнику выполнялся анализ степени различия микробиома в первой и конечной точке. Сравнение значений экспериментальной группы и группы сравнения осуществлялось при помощи U-критерия Манна-Уитни.

Для анализа относительной представленности каждого детектированного бактериального таксона и относительной представленности групп генов и путей (функциональный состав) на втором этапе исследования использовался пакет `ALDEx2` в среде R. Методом Монте-Карло для каждого исходного образца были случайно сгенерированы 128 образцов из мультиномиального распределения Дирихле с добавлением $1/2$ псевдоотсчета (`pseudocount`). К полученным образцам применялось `clr`-преобразование (`centered log-ratio`). Образцы, взятые в одной временной точке, сравнивались с использованием критерия Уэлча. Образцы из разных временных групп сравнивались с использованием парного t-критерия Стьюдента. Сравнение изменений между экспериментальной группой и группой сравнения осуществлялось при помощи анализа ковариаций ANCOVA. Полученные значения p были усреднены для каждой итерации генерирования. В

анализе участвовали только те таксоны, которые были представлены более чем в 15 % образцах.

ГЛАВА 3. СОБСТВЕННЫЕ ДАННЫЕ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Использование моноштаммового пробиотика для профилактики ААС у детей с инфекцией нижних дыхательных путей

3.1.1. Клинико-лабораторная характеристика больных острой инфекцией нижних дыхательных путей с применением моноштаммового пробиотического комплекса

Целью исследования стала оценка влияния пробиотического штамма *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 на состояние микробиома ЖКТ, ротовой полости, половых органов девочек, частоту развития расстройств ЖКТ, внекишечных проявлений у детей, получающих системную АБТ в связи с осложненным течением инфекций респираторного тракта.

Исследование включало 80 детей больных внебольничной пневмонией средней степени тяжести. ОГ состояла из 38 детей, ГС из 42 детей. Распределение пациентов по гендерному признаку представлены на Рисунке 3.1.

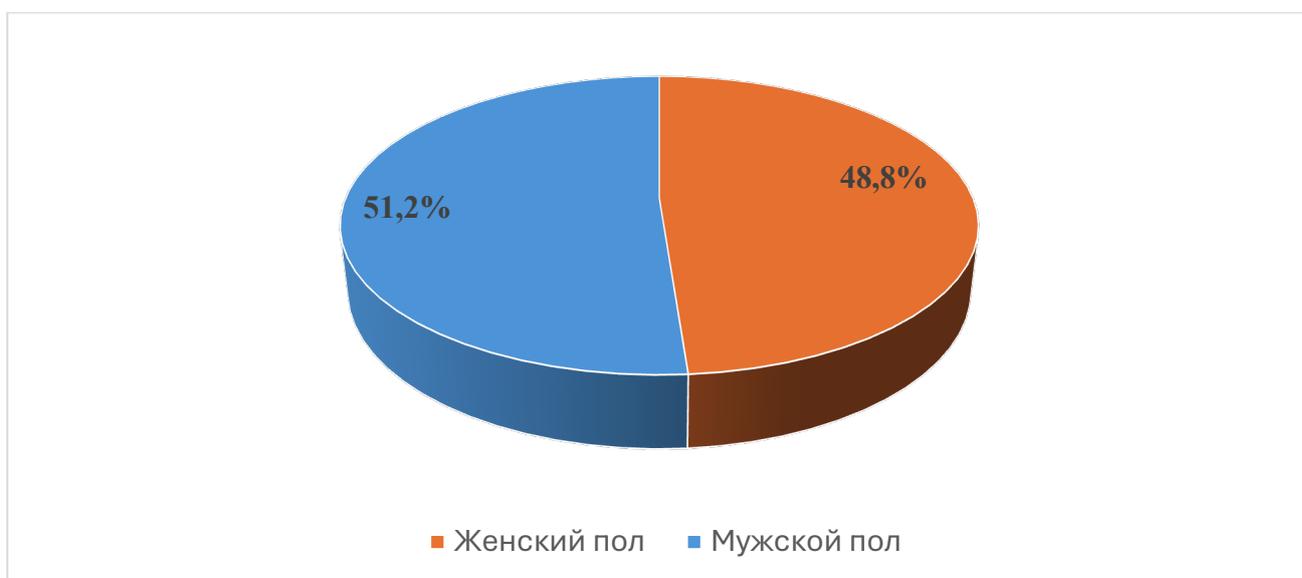


Рисунок 3.1 – Гендерное распределение обследованных детей с осложненной формой острого течения ОРИ

Возрастное распределение на данном этапе исследования было представлено детьми в возрасте 1-14 лет. Из них 38 детей (47,5 %) в возрасте 1-3 года, 36 детей (45 %) в возрасте 3-7 лет, 6 детей (7,5 %) в возрасте 8-14 лет.

При обследовании пациентов с пневмонией не выявлено сопутствующих заболеваний у 95 %, синусит выявлен у 2,5 %, аденоидит у 1,25 % пациентов, тонзиллит у 1,25 %. Данные представлены на Рисунке 3.2.



Рисунок 3.2 – Структура заболеваемости ОРИ среди пациентов

На момент включения в исследование сравниваемые группы были статистически сопоставимы по полу и возрасту, характеру вскармливания, наличию сопутствующих заболеваний, сопоставимы по длительности заболевания и назначенному антибактериальному препарату, частоте стула и его оценке по Бристольской шкале.

Таблица 3.1 – Характеристика детей обследованных групп при включении в исследование

Показатели	Категории	Рандомизационная группа		p
		основная	сравнения	
1	2	3	4	5
Пол	Женский, абс (%)	18 (47,4)	21 (50,0)	0,814
	Мужской, абс (%)	20 (52,6)	21 (50,0)	
Возрастная группа	1-3 года, абс (%)	20 (52,6)	18 (42,9)	0,635
	3-7 лет, абс (%)	15 (39,5)	21 (50,0)	
	8-14 лет, абс (%)	3 (7,9)	3 (7,1)	
Характер родоразрешения	Самопроизвольные, абс (%)	30 (78,9)	31 (73,8)	0,611
	КС, абс (%)	8 (21,1)	11 (26,2)	
Характер вскармливания	Грудное вскармливание, абс (%)	20 (52,6)	27 (64,3)	0,445
	Искусственное, абс (%)	16 (42,1)	12 (28,6)	
	Смешанное, абс (%)	2 (5,3)	3 (7,1)	
Объем поражения легких	правосторонняя, абс (%)	29 (76,3)	34 (81,0)	0,620
	левосторонняя, абс (%)	5 (13,2)	6 (14,3)	
	двусторонняя, абс (%)	4 (10,5)	2 (4,8)	
Характер пневмонии	очаговая, абс (%)	0 (0,0)	1 (2,4)	1,000
	полисегментарная, абс (%)	38 (100)	41 (97,6)	
Пневмония микоплазменной этиологии	абс (%)	18 (47,4)	23 (54,8)	0,509
Пневмония хламидийной этиологии	абс (%)	1 (2,6)	0 (0,0)	0,475

Продолжение таблицы 3.1

1	2	3	4	5
Пневмония + синусит	abc (%)	2 (5,3)	0 (0,0)	0,222
Пневмония + аденоидит	abc (%)	1 (2,6)	0 (0,0)	0,475
Пневмония + тонзиллит	abc (%)	0 (0,0)	1 (2,4)	1,000
Амоксициллин+ клавулановая кислота	abc (%)	0 (0,0)	4 (9,5)	0,117
Цефтриаксон	abc (%)	20 (52,6)	16 (38,1)	0,192
Цефотаксим	abc (%)	12 (31,6)	20 (47,6)	0,144
Цефиксим	abc (%)	2 (5,3)	0 (0,0)	0,222
Цефоперазон	abc (%)	2 (5,3)	1 (2,4)	0,602
Азитромицин	abc (%)	7 (18,4)	7 (16,7)	1,000
Кларитромицин	abc (%)	11 (28,9)	17 (40,5)	0,280
Ванкомицин	abc (%)	1 (2,6)	0 (0,0)	0,475
Меронем	abc (%)	1 (2,6)	0 (0,0)	0,475
Джозамицин	abc (%)	1 (2,6)	1 (2,4)	1,000
Количество курсов АБТ	1 курс, abc (%)	22 (57,9)	20 (47,6)	0,453
	2 курса, abc (%)	13 (34,2)	20 (47,6)	
	3 курса, abc (%)	3 (7,9)	2 (4,8)	

* – статистически значимое различие показателей ($p < 0,05$).

При проведении обследования пациентов в динамике согласно анамнезу, клинической картине, лабораторно-инструментальным исследованиям 29 пациентам (76,3 %) ОГ и 33 пациентам (81 %) ГС установлен диагноз внебольничной правосторонней полисегментарной пневмонии (ВППП). Одному пациенту (1,25 %) в ГС диагностирована правосторонняя очаговая пневмония

(ВПОП). Внебольничную левостороннюю полисегментарную пневмонию (ВЛПП) зарегистрировали у 5 пациентов (13,2 %) и у 6 пациентов (14,3 %) в ОГ и ГС соответственно. Внебольничная двусторонняя пневмония (ВДП) диагностирована у 4 (10,5 %) и 2 пациентов (4,8 %) сравниваемых групп. Характер пневмоний в сравниваемых группах достоверных различий не имел (Таблица 3.1).

Среди сравниваемых групп у 4 (5 %) человек заболевание протекало с поражением нескольких отделов респираторного тракта: в ОГ ВППП и синусит развились у 2 (5,3 %) пациентов, ВППП и аденоидит – у 1 (2,6 %) пациентов, ВППП и тонзиллит отмечены у 1 (2,4 %) пациента ГС, $p > 0,05$.

В ходе исследования установлена этиологическая структура заболевания у 50 и 54,8 % пациентов ОГ и ГС. Основным этиологическим фактором развития внебольничных пневмоний явилась *Mycoplasma pneumoniae*, которая диагностирована у 18 (47,4 %) пациентов ОГ и 23 пациентов (54,8 %) ГС. У одного пациента ОГ были выявлены маркеры *Chlamydia pneumoniae*.

В соответствии с анамнестическими, клиническими, лабораторно-инструментальными обследованиями пациентам с поражением отделов респираторного тракта назначалась антибактериальная терапия (АБТ). Антибактериальный препарат назначали в соответствии с рекомендациями Союза педиатров РФ 2016, 2018, 2022 г. АБТ была представлена следующими группами антибактериальных препаратов: β -лактамы АБП (амоксициллин с клавулановой кислотой) получал 1 ребенок (1,25 %) из ГС, цефалоспорины 19 детей (50 %) в ОГ, 17 детей (40,5 %) в ГС, макролиды и азалиды 3 ребенка (7,9 %) в ОГ, 2 ребенка (4,7 %) в ГС, АБТ со сменой АБП – 16 детей (42,1 %) в ОГ, 22 ребенка (52,4 %) в ГС. Продолжительность АБТ составила от 5 до 14 дней (Me 7 дней IQR (6-9) в ОГ, Me 7 дней IQR (6-8,25 дней) в ГС).

3.1.2. Динамика течения внебольничной пневмонии у детей на фоне проводимой терапии

3.1.2.1. Динамика симптомов со стороны респираторного тракта

В исследовании оценивалась динамика симптомов поражения верхних и нижних дыхательных путей пациентов сравниваемых групп в зависимости от проводимой терапии.

Оценена динамика следующих симптомов со стороны верхних дыхательных путей: заложенность носа, ринорея, кашель, одышка, признаки фарингита (гиперемия задней стенки глотки, зернистость задней стенки глотки), явления тонзиллита (увеличение небных миндалин и налеты).

На момент поступления в стационар группы были сопоставимы по частоте выявления заложенности носа. В ОГ 26 случаев (68,4 %), в ГС 30 случаев (71,4 %) $p=0,769$. На момент выписки из стационара заложенность носа сохранялась в ОГ у 2 пациентов (5,3 %), у 1 пациента (2,4 %) в ГС, $p>0,05$.

Длительность заложенности носа у большей части пациентов ОГ составила 3 дня (IQR 2–4 дней), в ГС также 3 дня (IQR 0-4 дней), $p=0,519$.

Ринорея при поступлении отмечалась у 25 (65,8 %) детей в ОГ, и у 34 (81 %) детей в ГС $p=0,124$. К моменту выписки положительная динамика была достигнута обеих группах ($p=0,678$). На момент выписки из стационара ринорея чаще сохранялась в ГС у 4 (9,5 %) & 2 человек (5,3 %) ОГ, $p=0,678$. Длительность ринореи у большей части ОГ составила 4 суток (IQR 1-5 суток), в ГС длительность ринореи также составила 4 суток (IQR 3-5 суток) $p=0,688$.

На 5 сутки наблюдения детей с ринореей в ОГ составила 47,4 %, а в ГС 26,2 %, $p=0,049$ (Рисунок 3.3).

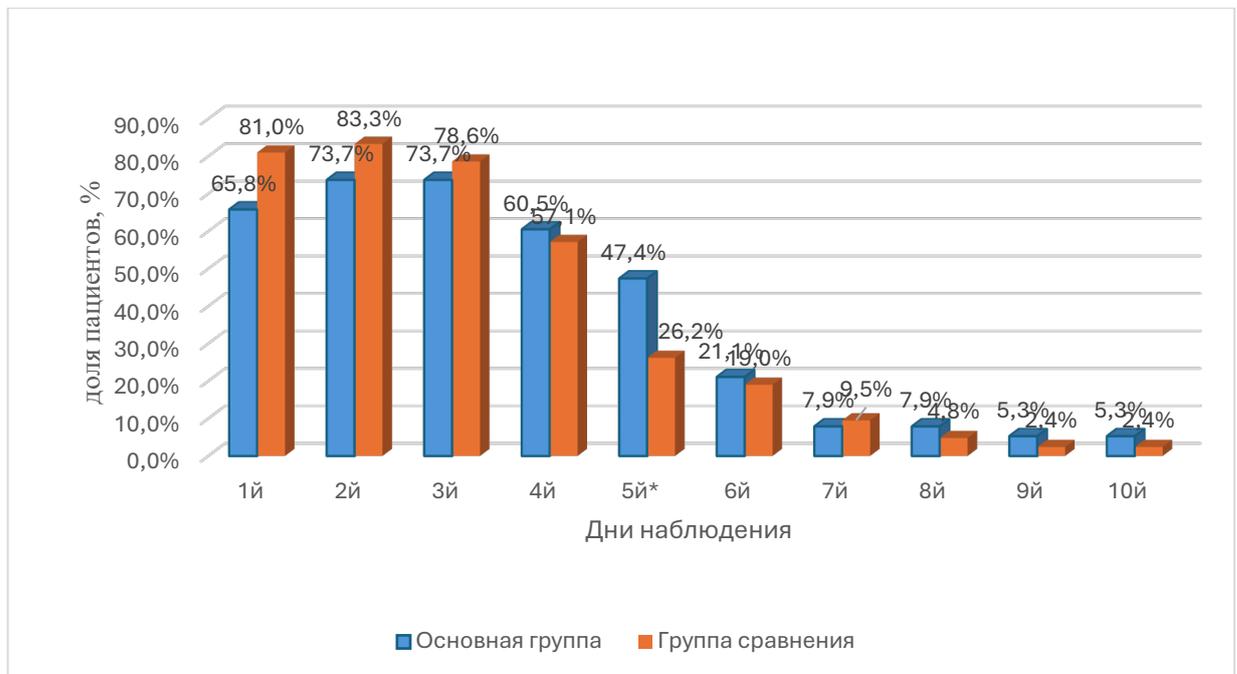


Рисунок 3.3 – Доля пациентов с ринореей у пациентов сравниваемых групп в динамике (* – $p < 0,05$)

При оценке воспалительных изменений со стороны ротоглотки регистрировали такие признаки как гиперемия задней стенки глотки (ЗСГ) и зернистость задней стенки глотки (ЗЗСГ) у пациентов ОГ и ГС.

На момент поступления гиперемия ЗСГ отмечалась у большинства пациентов обеих групп 35 (92,1 %) в ОГ и 36 (85,7 %) в ГС, $p=0,487$.

У пациентов, получавших пробиотический препарат отмечалось более быстрое купирования катаральных явлений со стороны ротоглотки (гиперемия ЗСГ) с тенденцией уже на 3 день проводимой терапии (78,9 % ОГ & 83,3 % ГС).

С 4-го дня терапии данная тенденция приобрела статически достоверную разницу (Рисунок 3.4). Гиперемия ЗСГ на 4 сутки сохранялась у 15 (39,5 %) человек ОГ & 28 (66,7 %) ГС, $p=0,015$. На 5 сутки наблюдения гиперемия ЗСГ сохранялась в ОГ у 7,9 %, а в ГС у 33,3 %, $p=0,006$.

К моменту выписки положительная динамика была достигнута в обеих группах. На момент выписки из стационара гиперемия ЗСГ была купирована в обеих группах.

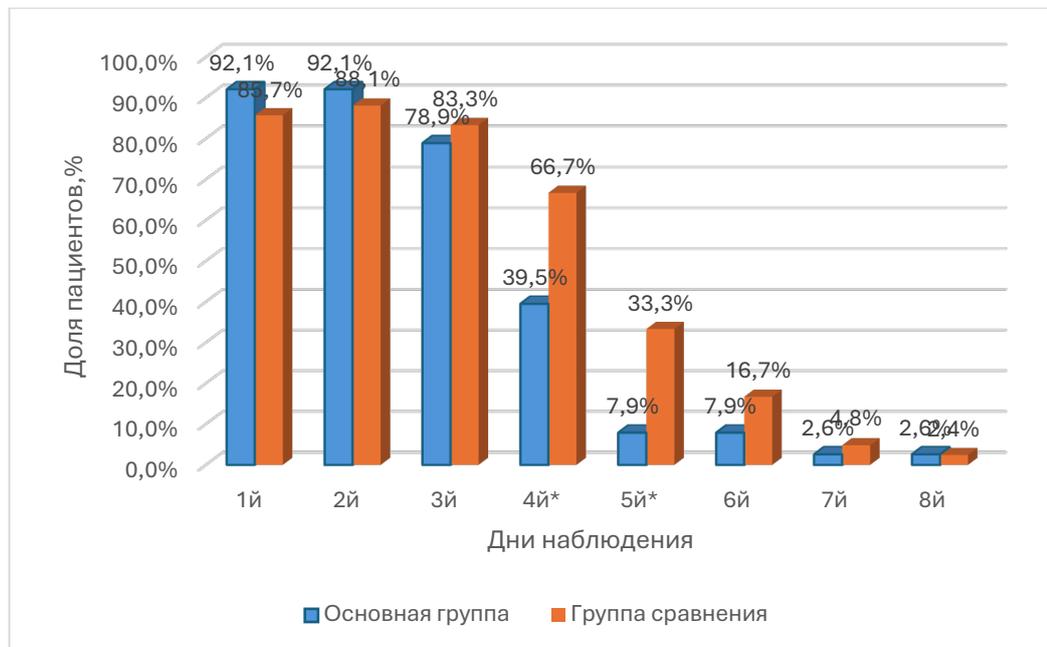


Рисунок 3.4 – Доля пациентов с гиперемией задней стенки глотки у пациентов сравниваемых групп в динамике (* – $p < 0,05$)

На момент поступления зернистость задней стенки глотки (ЗЗСГ) отмечалась у большинства пациентов обеих групп у 26 человек (68,4 %) ОГ и 32 человек (76,2 %) ГС, $p=0,437$.

К 3 дню проводимой терапии была выявлена тенденция к купированию ЗЗСГ в большей степени в ОГ. К 3 дню ЗЗСГ сохранялась у 21 пациента ОГ (55,3 %) & 31 человека (73,8 %) ГС. На 4 сутки доля пациентов с сохранявшейся ЗЗСГ была достоверно меньше в ОГ 12 человек 31,6 % & 28 (66,7 %), $p=0,002$. На 5 сутки сохранялась тенденция к купированию ЗЗСГ, в ОГ ЗЗСГ сохранялась только у 4 пациентов (10,5 %), в то время как в ГС отмечался у 17 детей (40,5 %) $p=0,002$. На момент выписки из стационара положительная динамика была достигнута в обеих группах, ЗЗСГ была купирована в ОГ, и сохранялась у 4 человек (9,5 %) в ГС. $p=0,117$ (Рисунок 3.5).

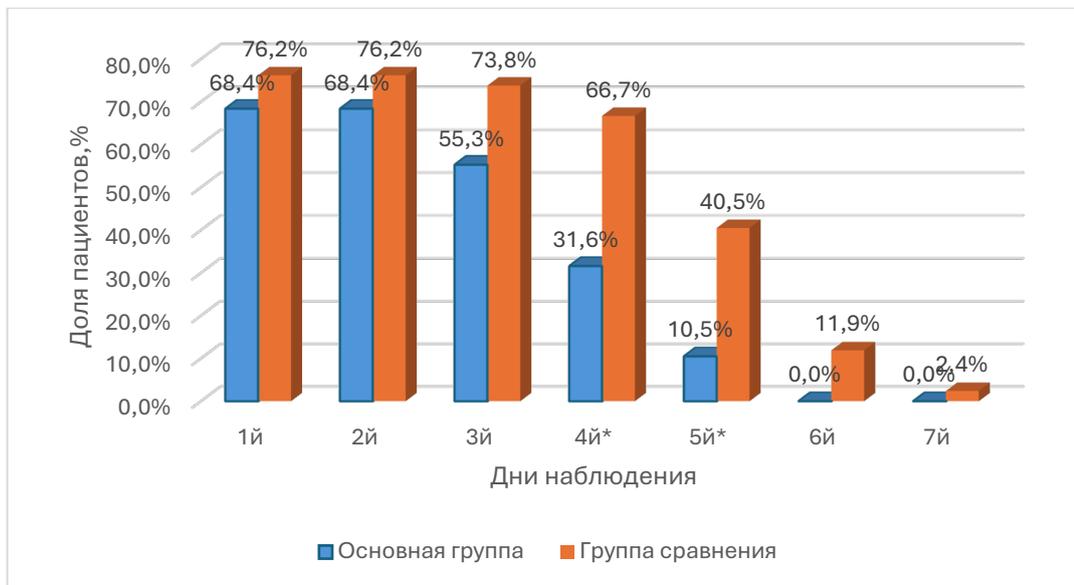


Рисунок 3.5 – Ежедневная динамика доли пациентов с сохранявшейся зернистостью задней стенки глотки в обследованных группах у пациентов

* – $p < 0,05$

На момент поступления увеличение миндалин отмечалось в ОГ у 14 пациентов (36,8 %), в ГС у 20 пациентов (47,6 %), $p > 0,05$. На момент выписки из стационара в ОГ увеличение миндалин у пациентов не наблюдалось, в то время как в ГС симптом сохранялся у 7 детей (16,7 %), $p=0,012$ (Рисунок 3.6).

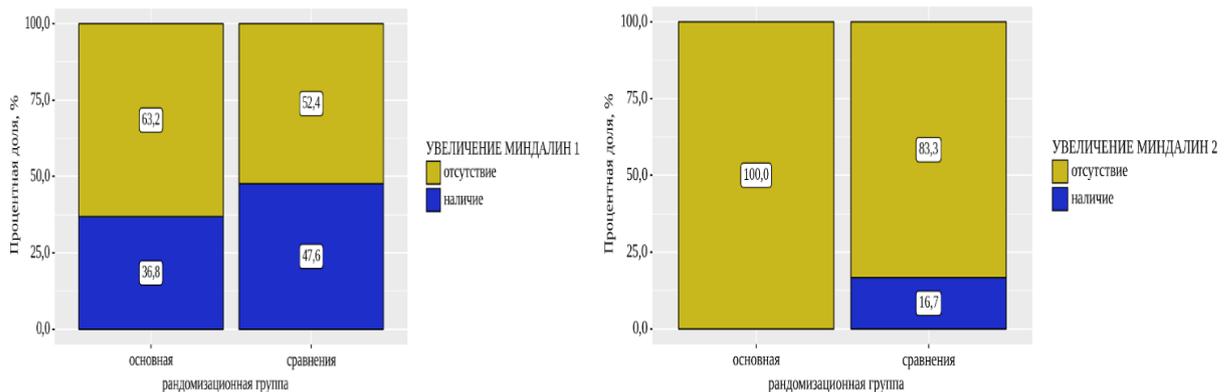


Рисунок 3.6 – Динамический анализ показателей симптома «увеличение миндалин поступление» и «увеличение миндалин выписка» в обследованных группах пациентов

Региональная лимфоаденопатия (ЛАП) отмечалась в 50 % случаях (19 человек) в ОГ и 61 % (26 человек) в ГС. У пациентов, получавших пробиотическую коррекцию, региональная ЛАП купировалась быстрее. Так, уже на 3-й день доля пациентов с ЛАП в ОГ составила 17 (44,7 %) & 25 (59,5 %) ГС. На 4 сутки терапии данная тенденция имела статистически достоверную разницу (Рисунок 3.7).

На 4 сутки признаки ЛАП сохранялись в ОГ у 8 (21,1 %) & 19 (45,2 %) в ГС. В обеих группах в динамике наблюдались статистически значимые изменения ($p=0,022$). На момент выписки из стационара ЛАП отсутствовала в обеих группах.

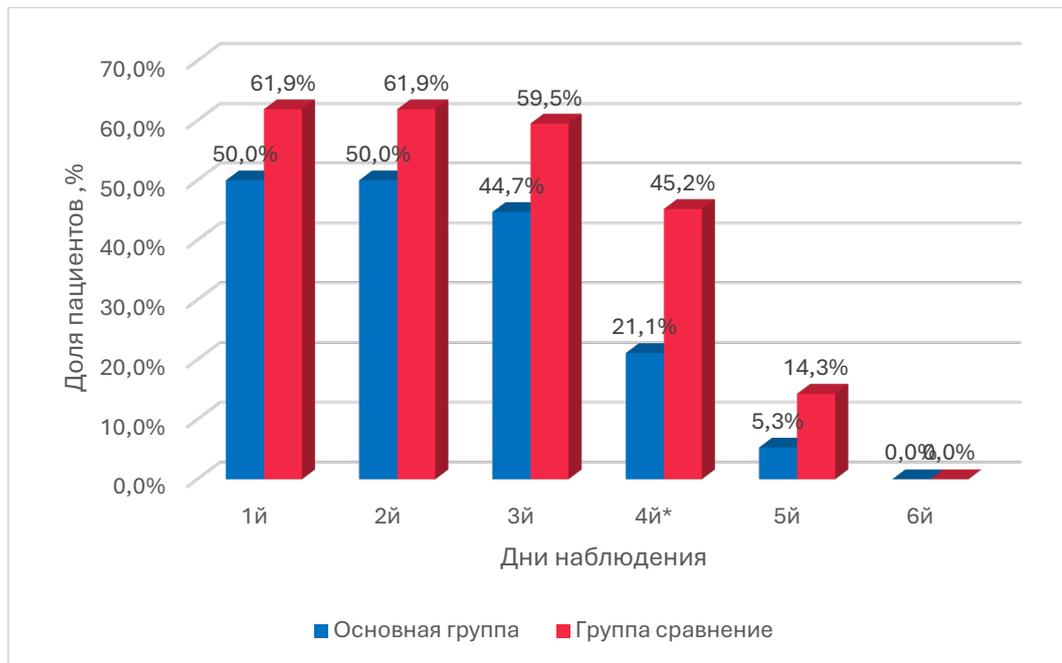


Рисунок 3.7 – Доля пациентов сравниваемых групп с сохраняющейся ЛАП в динамике, * – $p=0,022$

Таким образом, при анализе динамики катаральных явлений со стороны верхних отделов респираторного тракта показано, что в ОГ симптомы поражения ротоглотки (ЗЗСГ, гиперемия ЗСГ) и региональная ЛАП быстрее купировались на фоне приема пробиотического препарата. Статистически достоверная разница по данным симптомам зафиксирована с 4 дня терапии.

3.1.2.2. Симптомы со стороны нижних дыхательных путей

При поступлении в стационар у пациентов в сравниваемых группах отмечался кашель.

Длительность кашля составила 6 суток (IQR 6-8 суток) в обеих сравниваемых группах, $p = 0,890$.

При осмотре пациентов на момент поступления проводилось измерения степени насыщения гемоглобина крови кислородом, методом пульсоксиметрии. В ОГ при поступлении отмечалось снижение сатурации у 22 пациентов (57,9 %), в ГС у 21 пациента (50 %). На 3 день наблюдения доля пациентов с нарушением сатурации была больше в ГС и составила 11,9 % & 2,6 % в ОГ, $p > 0,05$ (Рисунок 3.8).

В динамике в обеих группах наблюдалось возвращение сатурации к нормальным показателям в течение 3 дней. При выписке степень насыщения гемоглобина крови кислородом была на уровне нормальных показателей. Статистически значимых различий получено не было.

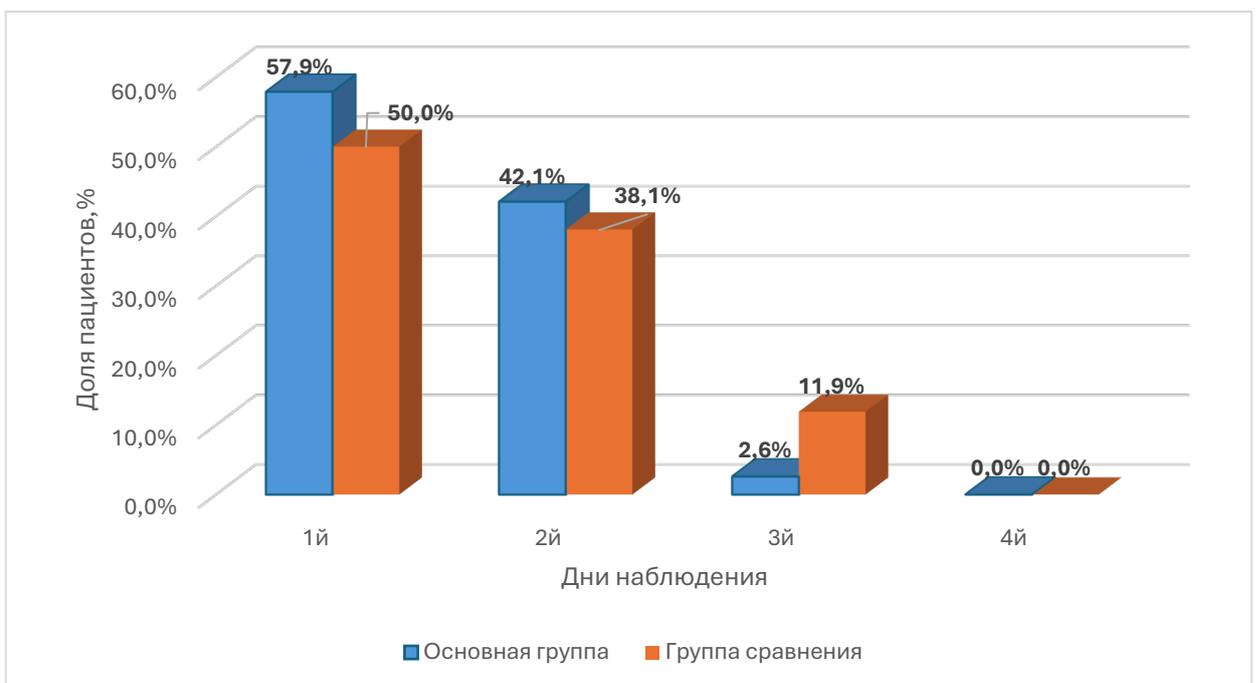


Рисунок 3.8 – Доля пациентов со снижением SpO₂ в сравниваемых группах в динамике

Таким образом, на фоне проводимой терапии пробиотическая коррекция значимо не повлияла на купирование симптомов со стороны нижних дыхательных путей.

3.1.2.3. Оценка выраженности синдрома интоксикации у пациентов сравниваемых групп

При анализе выраженности синдрома интоксикации у пациентов на момент поступления отмечали повышение температуры у 61 ребенка (76,25 %). Субфебрильная температура зафиксирована у 18 пациентов (47,4 %) ОГ и у 18 пациентов (42,9 %) ГС, повышение температуры до фебрильных цифр регистрировали у 14 человек (36,8 %) ОГ и у 11 человек (26,2 %) ГС, $p > 0,05$. При выписке из стационара температура снизилась до нормальных цифр в обеих группах.

В ходе оценки температурных кривых купирование лихорадки у пациентов ОГ преимущественно происходило на 2 сутки 15 человек (39,5 %), в то время как в ГС на 2 сутки – только у 6 человек (14,3 %), $p=0,011$; на 3 сутки в ОГ сохранялась повышенная температура у 10 человек (26,3 %), в то время как в ГС у 20 человек (47,6 %) $p=0,049$ (Рисунок 3.9).

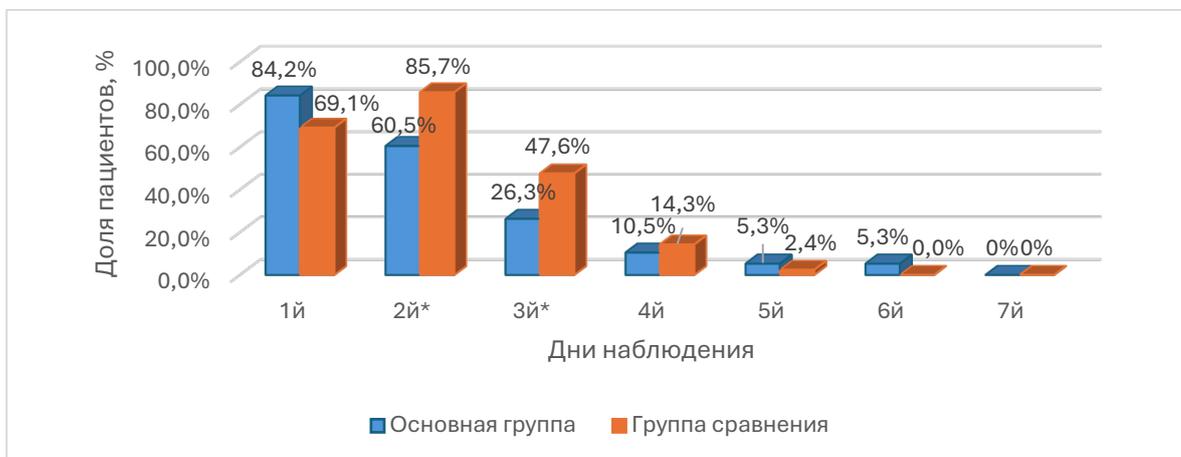


Рисунок 3.9 – Лихорадка у пациентов сравниваемых группах в динамике

(* – $p < 0,05$)

В ОГ продолжительность температуры (Me) составила 2 суток (IQR 1-2 суток), в ГС продолжительность составила 2 суток (IQR 1-3 суток), $p=0,104$.

Исследование показало, что продолжительность проявлений симптомов интоксикаций была ниже у пациентов, принимавших пробиотический препарат *S. boulardii* CNCM I-745, в ОГ пациентов с лихорадкой на 2 сутки была достоверно меньше, у большинства пациентов ОГ купирование температуры было на 3 сутки.

3.1.3. Динамика симптомов со стороны ЖКТ

При проведении клинического исследования на фоне проведения АБТ у большинства пациентов обследованных групп 55 детей (68,75 % пациентов) зафиксировано развитие ААС, который проявлялся как желудочно-кишечными расстройствами, так и внекишечными проявлениями. Отмечались изменения характера и частоты стула с тенденцией к запору, болевой синдром, метеоризм, снижение аппетита, стоматит, сухость кожных покровов и воспалительные заболевания наружных половых органов. При этом ААС развивался в 2 раза реже у детей, получавших пробиотик: в ОГ 17 детей (44,7 %), в ГС 38 детей (90,5 %), $p < 0,001$.

Снижение аппетита в момент поступления регистрировали в ОГ у 21 пациента (55,3 %) и в ГС у 23 пациентов (54,8 %). Снижение аппетита на момент завершения АБТ отмечалось реже в ОГ у 11 детей (28,9 %), против 17 детей (40,5 %) в ГС, $p=0,280$.

Анализ динамики снижения аппетита в период антибактериальной терапии показал, что у группы пациентов с пробиотической коррекцией на 5 сутки лечения сниженный аппетит отмечается реже – у 5 человек (13,2 %), в то время как в ГС сниженный аппетит сохранялся в 2,5 раза чаще – 16 человек 38,1 %, ($p=0,011$) (Рисунок 3.10).

Медиана продолжительности снижения аппетита в ОГ была меньше и составила 2 суток (IQR 0-3 суток), в ГС 3 суток (IQR 0-4 суток), $p=0,017$.

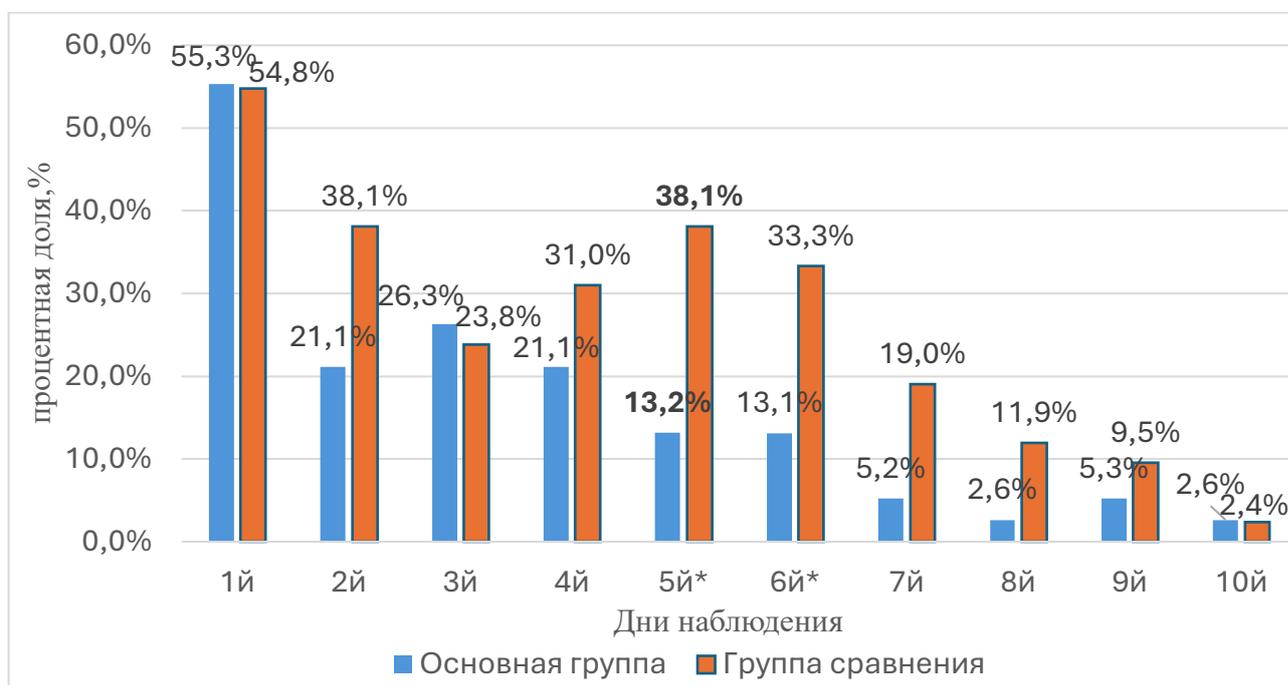


Рисунок 3.10 – Доля пациентов со снижением аппетита среди пациентов сравниваемых групп в динамике (* – $p < 0,05$)

Снижение аппетита у детей, получавших пробиотическую коррекцию, отмечалось достоверно реже и купировалось быстрее, чем в ГС.

При анализе клинической симптоматики и жалоб пациентов на момент начала лечения у пациентов обеих групп было зафиксирован метеоризм: 11 человек (28,9 %) в ОГ, в ГС – 8 человек (19,0 %), $p=0,431$. Ежедневный мониторинг позволил установить, что частота регистрации вздутия живота к 4 суткам отмечалась в 2 раза реже в группе с пробиотической поддержкой – 5 человек (13,2 %), чем в ГС – 11 (26,2 %). На 5 сутки терапии метеоризм у пациентов, не получавших пробиотическую коррекцию достигал максимальной выраженности (ГС – 13 человек (31,0 %) & ОГ – 4 человек (10,5 %)), $p=0,031$ (Рисунок 3.11).

Медиана продолжительности вздутия живота в ОГ была меньше и составила 1 сутки (IQR 0-2 суток), в ГС 3 суток (IQR 0-4 суток), $p > 0,05$.

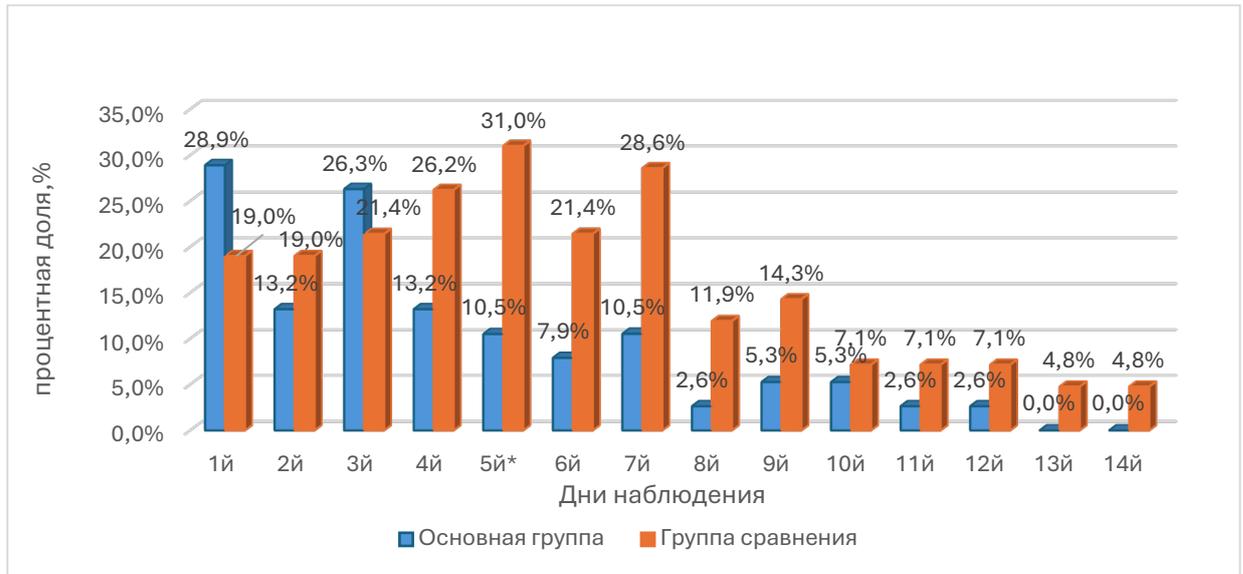


Рисунок 3.11 – Динамика доли пациентов с жалобами на метеоризм в сравниваемых группах (* – $p=0,031$)

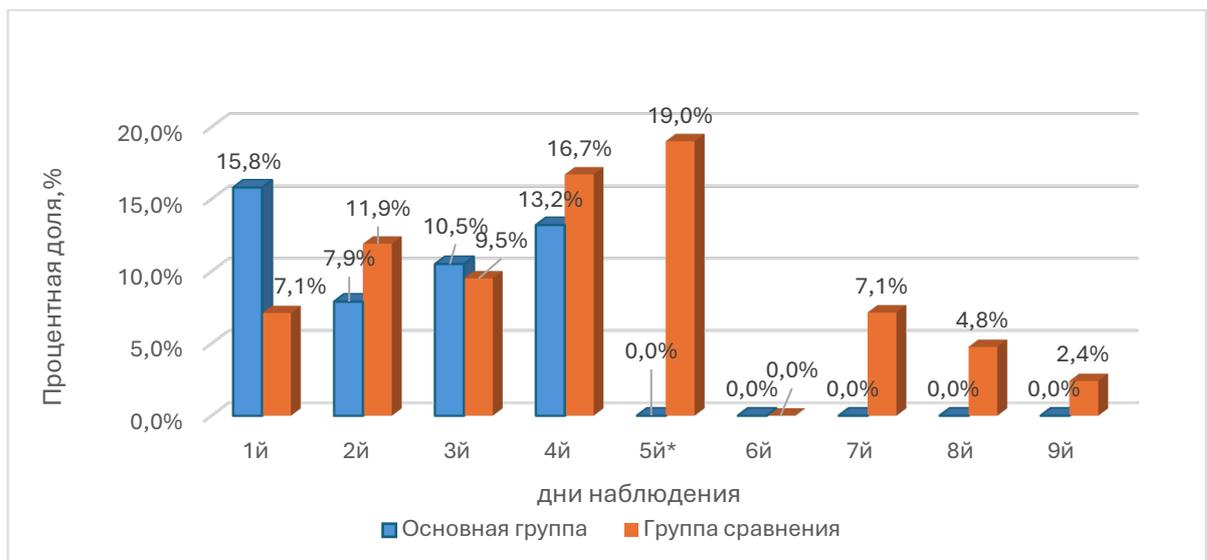


Рисунок 3.12 – Доля пациентов с жалобами на абдоминальные боли в сравниваемых группах в динамике (* – $p < 0,05$)

Межгрупповое сравнение показало, что на момент начала терапии боли в животе отмечались у пациентов обеих групп: в ОГ у 6 детей (15,8 %), в ГС у 3 детей (7,1 %), $p=0,296$. На фоне проводимого лечения боль в животе к 5 суткам достоверно уменьшилась у пациентов с пробиотической коррекцией, и напротив,

ГС частота болей в животе среди пациентов выросла с 3 человек (7,1 %) до 8 человек (19,0 %), ($p=0,006$) (Рисунок 3.12).

Таким образом, включение пробиотической коррекции в базисную терапию детей с пневмонией, достоверно способствовало уменьшению вздутия живота, боли в животе к 5 дню лечения.

Ежедневное наблюдение пациентов обеих сравниваемых групп в период АБТ позволило зафиксировать замедление кишечного транзита и отсутствие стула в течение суток (запор) у 23,7 % пациентов ОГ и 26,2 % пациентов ГС. Представленные на Рисунке 3.13 данные показывают на отсутствие достоверной связи замедления кишечного транзита с пробиотической поддержкой.

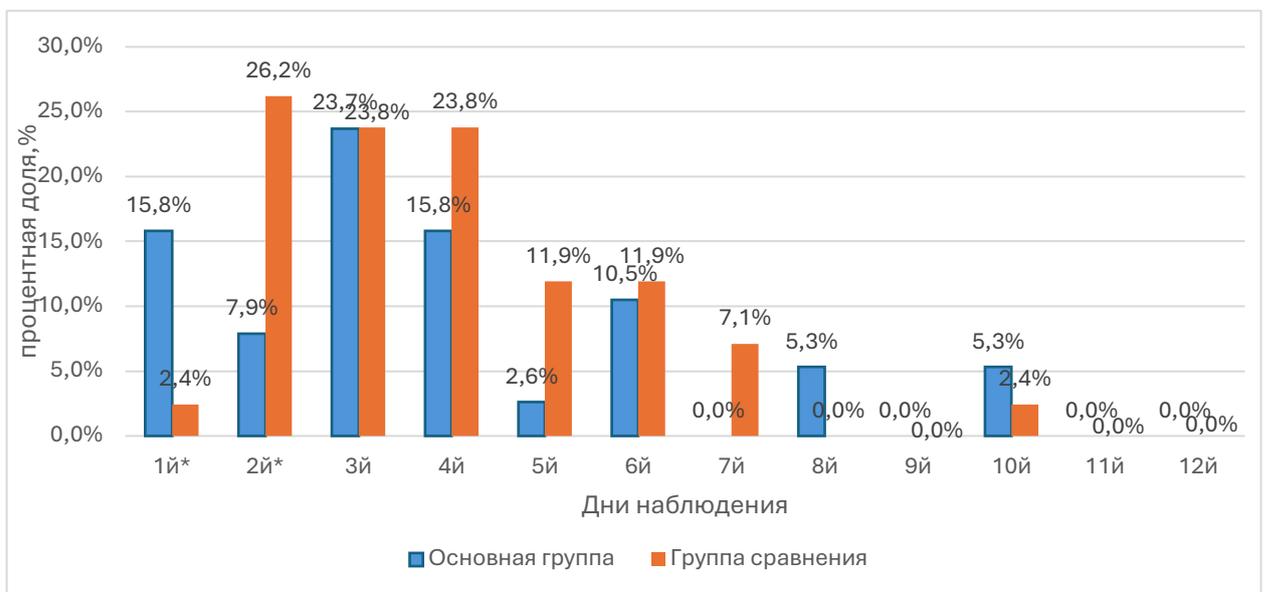


Рисунок 3.13 – Доля пациентов с отсутствием стула в динамике среди пациентов сравниваемых групп (* – $p < 0,05$)

Анализ проявления желудочно-кишечных расстройств, в частности жидкого стула у детей за период пребывания на стационарном лечении выявил, что жидкий стул чаще фиксировался в ГС. У 19 пациентов (45,3 %) в ГС против 10 пациентов (26,3 %) в ОГ. Анализ динамики проявления жидкого стула среди пациентов за время пребывания на стационарном лечении представлен на Рисунке 3.14. У

пациентов, не получавших пробиотическую коррекцию, к 4 дню пребывания на стационарном лечении регистрировали проявления жидкого стула, к 6 дню доля пациентов с проявлением жидкого стула достигала максимальной выраженности.

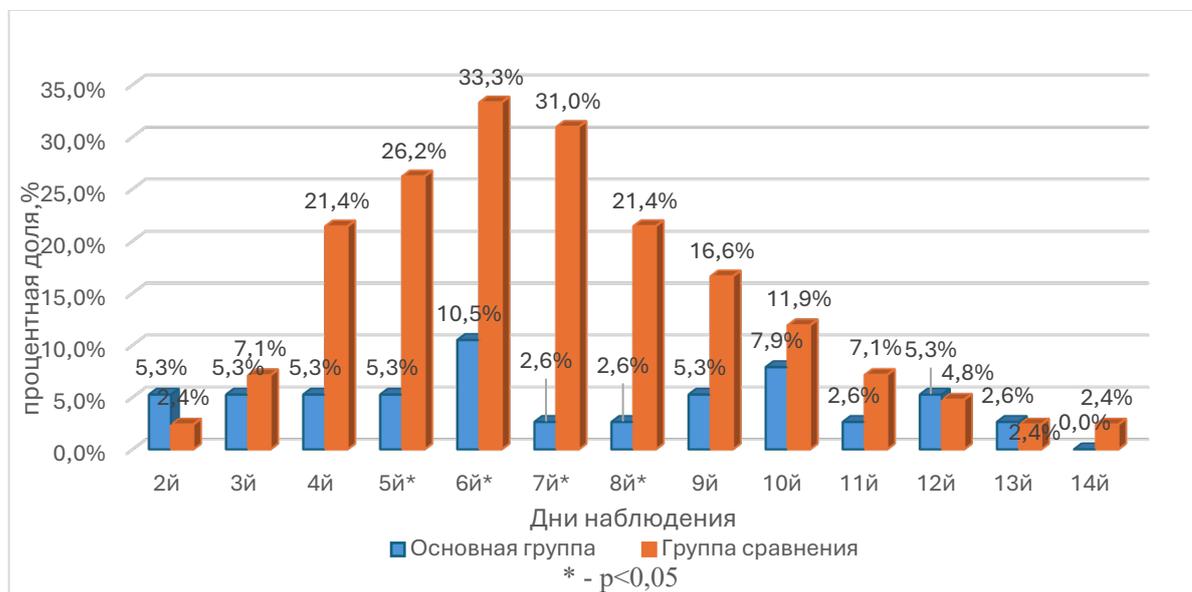


Рисунок 3.14 – Доля пациентов с регистрацией жидкого стула среди пациентов сравниваемых групп в динамике (* – $p < 0,05$)

Ежедневный мониторинг характера стула согласно Бристольской шкале, позволил зафиксировать характер кала от 1 до 7 типа. В ходе клинической оценки ни в одной группе не было отмечено появления крови в стуле.

При поступлении в стационар у 16 пациентов (42,1 %) ОГ при оценке кала по БШ преобладал 4 тип, в ГС у 19 пациентов (45,2 %) также преобладал 4 тип и 3 тип у 10 пациентов (23,8 %), $p > 0,05$. После проведенной терапии в группе с пробиотической коррекцией у большей части пациентов при оценке характера кала по БШ преобладал 4 тип – 27 пациентов (71,1 %). В группе без пробиотической коррекции при оценке характера кала по Бристольской шкале преобладали 3 тип – 11 пациентов (26,2 %), 6 тип (31 %) и 7 тип у 2 пациентов (4,8 %). Данные представлены на Рисунке 3.15.

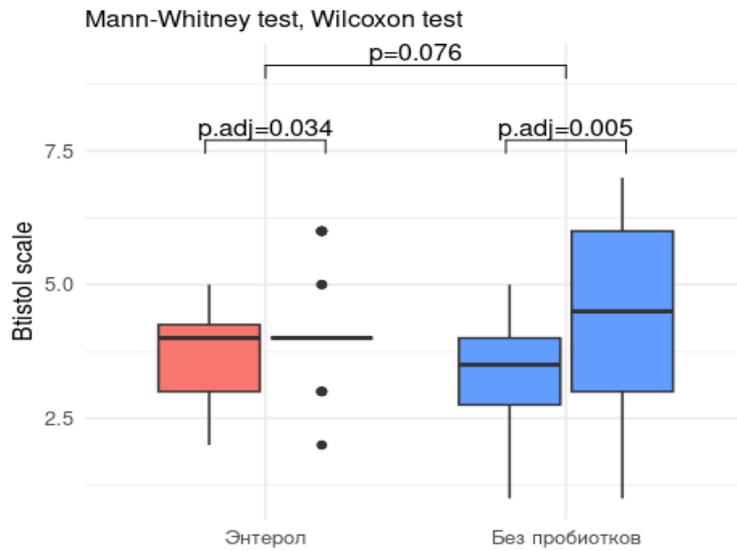
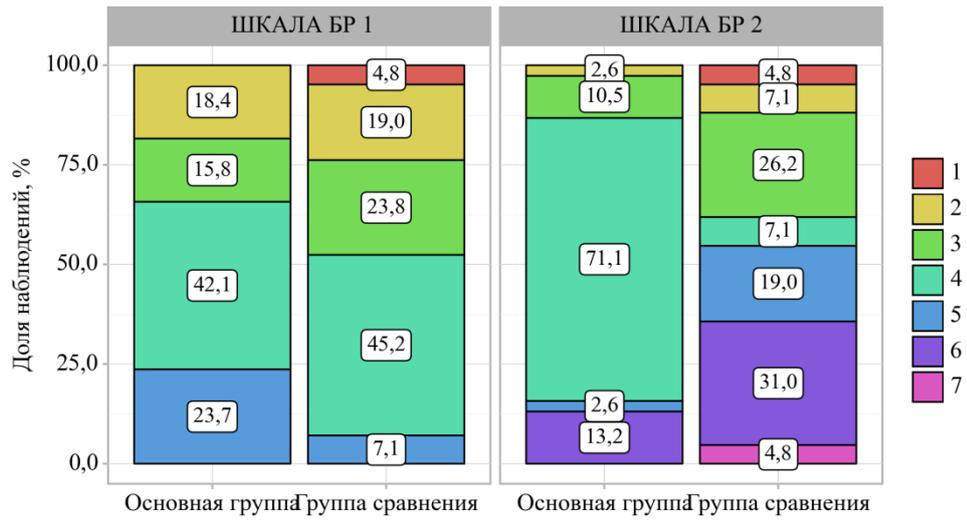


Рисунок 3.15 – Оценка кала в динамике по Бристольской шкале у пациентов обследованных групп

Характер кала для удобства оценки был определен следующим образом: замедление транзита с 1 по 3 виды, физиологический 4 вид, ускорение транзита с 5 по 7 виды. Полученные данные представлены на Рисунке 3.16.

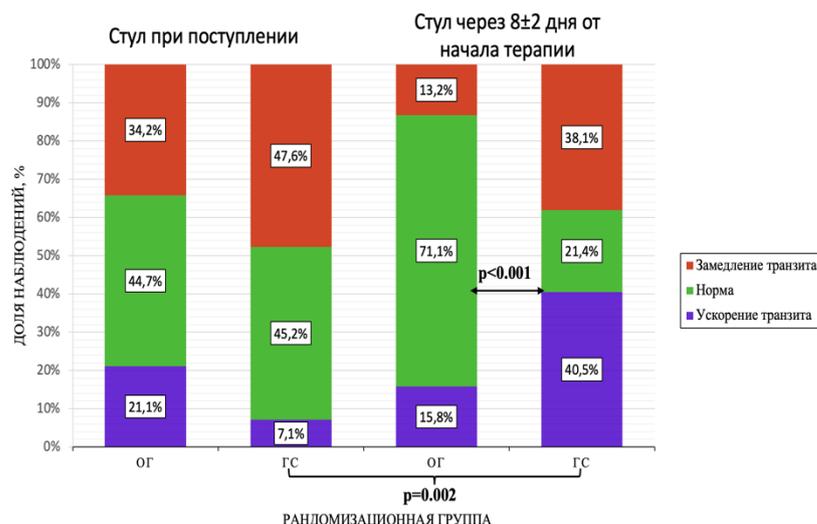


Рисунок 3.16 – Динамика характера стула при оценке по Бристольской шкале в сравниваемых группах

Анализ отклонения значений балльной оценки консистенции стула от нормы, согласно БШ, продемонстрировал значимое его улучшение в группе с включением пробиотика ($p=0,009$, критерий МакНемара) и не выявил улучшений у пациентов ГС ($p=0,169$). Влияние *S. boulardii* CNCM I-745 было статистически значимо ($p=0,005$, точный критерий Фишера).

Таким образом, за время стационарного лечения отмечалась тенденция к нормализации консистенции кала у большинства пациентов, получавших монопробиотический препарат на основе *S. boulardii* CNCM I-745. Без пробиотической поддержки на фоне АБТ показатель консистенции кала по Бристольской шкале смещался в сторону умеренной диареи и проявлялась склонность к запорам.

На момент окончания терапии у пациентов ГС балл по БШ был выше, чем у пациентов группы с пробиотической коррекцией.

Результаты исследования позволяют предположить, что монопробиотический препарат *S. boulardii* CNCM I-745, применяемый в ходе АБТ, стабилизирует консистенцию кала.

3.1.4. Симптомы поражения кожных покровов и слизистых оболочек

При поступлении и за период антибактериальной терапии были исследованы ассоциированные с изменением микробиоты поражения кожи и слизистых оболочек. На момент поступления сухость кожных покровов при осмотре пациентов в ОГ отмечалась у 2 человек (5,4 %), в ГС сухость кожных покровов не отмечалась, $p=0,216$. В период стационарного лечения сухость кожных покровов среди пациентов сравниваемых групп стала проявляться чаще, в ОГ – 6 человек (15,8 %), и в ГС – 12 человек (28,6 %), тем не менее различия не достигали статистической значимости – $p=0,192$ (Рисунок 3.17).

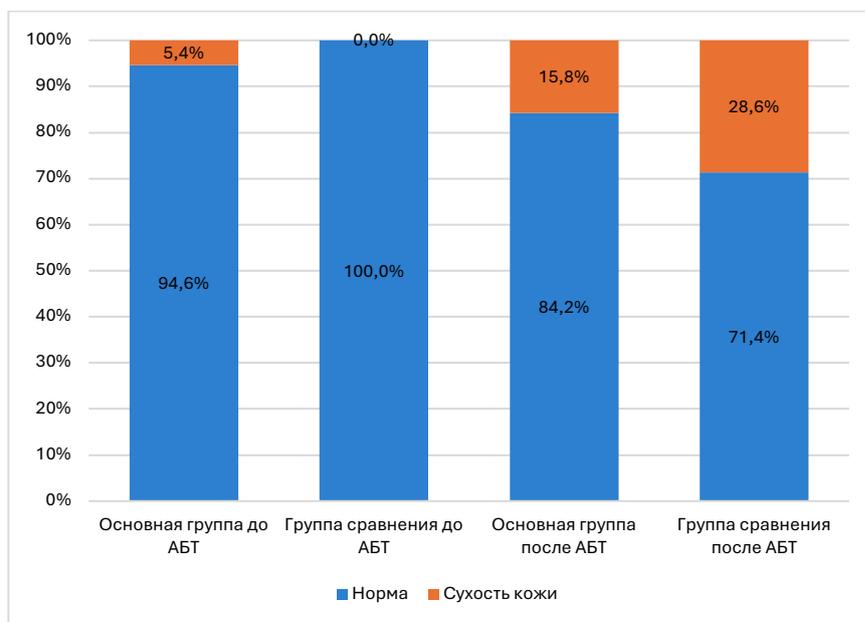


Рисунок 3.17 – Оценка состояния кожных покровов у пациентов сравниваемых групп в динамике

Таким образом, за период стационарного лечения увеличилось проявление сухости кожных покровов в обеих сравниваемых группах, на момент окончания терапии в ГС сухость кожных покровов отмечалась чаще, $p > 0,05$.

3.1.4.1. Оценка выраженности симптомов поражения слизистых оболочек у пациентов сравниваемых групп

В ходе клинического наблюдения мы оценивали состояние слизистых оболочек ротоглотки детей и наружных половых органов девочек.

При анализе состояния слизистых ротовой полости на момент поступления проявление стоматита зафиксировали у 1 ребенка (2,4 %) ГС. В период АБТ в группе без пробиотической коррекции отмечался значительный рост пациентов с проявлением стоматита – 16 человек (38,1 %), в то время как в группе с включением пробиотика *S. boulardii* CNCM I-745 стоматит регистрировали лишь у 3 детей (7,9 %).

На момент начала терапии у 1 пациента ГС отмечали признаки афтозного и кандидозного стоматита (2,4 %), в период лечения АБП регистрировался кандидоз слизистой полости рта у 11 пациентов (26,2 %), афтозный стоматит регистрировался у 5 пациентов (11,9 %). В ОГ у 3 пациентов (7,9 %) зафиксирован только кандидозный стоматит.

У 3 пациентов (7,9 %) в терапию которых включен пробиотик, при анализе состояния слизистой полости рта регистрировался кандидозный стоматит. Без коррекции пробиотиком стоматит регистрировался у 16 пациентов (38,1 %), из них у 11 пациентов (26,2 %) отмечалось ухудшение проявления кандидоза слизистых, у 5 пациентов (11,9 %) регистрировались проявления афтозного стоматита. В ГС уменьшение проявления стоматита регистрировалось у 1 ребенка (2,4 %), у него отмечалось купирование афтозного и кандидозного стоматита. Слизистая ротовой полости оставалась без изменений у 35 детей (92,1 %) ОГ и у 22 человек (59,5 %) ГС. Данные были статистически значимы, $p=0,003$.

При анализе изменений со стороны слизистых урогенитального тракта у девочек обеих сравниваемых групп на момент поступления в стационар гиперемия вульвы регистрирована у 3 девочек (16,7 %) ОГ и у 3 девочек (14,3 %) ГС. За время терапии в группе с пробиотической поддержкой гиперемия вульвы купирована у 3 девочек (16,7 %), у 3 девочек (16,7 %) появилась гиперемия

вульвы, у 12 девочек (66,7 %) изменений не наблюдалось. В группе без пробиотической поддержки за время терапии зарегистрировано усиление гиперемии вульвы у 14 девочек (66,7 %), у 7 девочек (33,3 %) изменений со стороны слизистой уrogenитального тракта не отмечалось.

Выделения из влагалища на момент поступления в ГС отмечали у 4 девочек (19 %) и у 1(5,6 %) девочки в терапию, которой включили пробиотик. За время АБТ мы отмечали тенденцию к увеличению жалоб у девочек на выделения из влагалища в ГС – 12 (57,1 %), в то время как в ОГ только у 1 девочки (5,6 %).

За время терапии в группе с пробиотической поддержкой появление выделений из влагалища регистрировалось у 1 девочки (5,6 %), выделения из влагалища купированы у 1 девочки (5,6 %), у 16 девочек (88,9 %) изменения не зарегистрированы. В группе без пробиотической поддержки увеличение выделений из влагалища регистрировали у 10 девочек (47,6 %), у 9 девочек (42,9 %) изменений не наблюдалось (Рисунок 3.18).

На фоне проводимой АБТ за время стационарного лечения у пациентов ОГ уменьшались проявления стоматита, гиперемии вульвы и выделений, в то время как доля пациентов в ГС с данными симптомами росла.



Рисунок 3.18 – Динамика симптомов поражения слизистых полости рта и гениталий в сравниваемых группах

Таким образом, использование пробиотической коррекции *S. boulardii* CNCM I-745 способствовало уменьшению симптомов ААС, таких как метеоризм, боли в животе, диарейный синдром, склонность к запорам, препятствовало развитию стоматита, вульвита, сухости кожных покровов.

Проводилось копрологическое исследование для оценки проявления креатореи, стеатореи 1 и 2 типов, амилореи и лейкории, характеризующих нарушение полостного пищеварения. За период АБТ в группе с включением пробиотического препарата *S. boulardii* CNCM I-745 зафиксировали статистически значимое уменьшение выраженности креатореи у 7,9 % пациентов, стеатореи 1 типа у 36,8 % пациентов, стеатореи 2 типа у 36,8 % пациентов, амилореи у 44,7 % пациентов, лиентореи – 65,8 %, выделение перевариваемой клетчатки – 63,2 %, слизи в кале – 26,3 %, а также фиксировали нормализацию числа лейкоцитов в стуле (63,2 %). В ГС наблюдали абсолютно противоположную картину в виде увеличения выраженности креатореи у 19 % пациентов, стеатореи 1 типа у 42,9 % пациентов, стеатореи 2 типа у 38,1 % пациентов, амилореи у 38,1 % пациентов, лиентореи – 38,1 %, выделение перевариваемой клетчатки – 28,6 %, слизи в кале – 45,2 %, а также лейкоорею 50 %. Результаты представлены в Таблице 3.2.

Таблица 3.2 – Динамика копрологических показателей у пациентов с внебольничной пневмонией

Показатели	Категории	Группа		p (p<0,05)
		Основная	Сравнения	
1	2	3	4	5
КРЕАТОРЕЯ	без изм	35 (92,1)	32 (76,2)	0,017
	хуже	0 (0,0)	8 (19,0)	
	лучше	3 (7,9)	2 (4,8)	
АМИЛОРЕЯ	без изм	19 (50,0)	21 (50,0)	<0,001
	хуже	2 (5,3)	16 (38,1)	
	лучше	17 (44,7)	5 (11,9)	

Продолжение таблицы 3.2

1	2	3	4	5
СТЕАТОРЕЯ 1	без изм	24 (63,2)	20 (47,6)	<0,001
	хуже	0 (0,0)	18 (42,9)	
	лучше	14 (36,8)	4 (9,5)	
СТЕАТОРЕЯ 2	без изм	22 (57,9)	19 (45,2)	0,001
	хуже	2 (5,3)	16 (38,1)	
	лучше	14 (36,8)	7 (16,7)	
КЛЕТЧАТКА ПЕРЕВАРИВАЕМАЯ	без изм	12 (31,6)	20 (47,6)	<0,001
	хуже	2 (5,3)	12 (28,6)	
	лучше	24 (63,2)	10 (23,8)	
КЛЕТЧАТКА НЕПЕРЕВАРИВАЕМАЯ	без изм	10 (26,3)	17 (40,5)	<0,001
	хуже	3 (7,9)	16 (38,1)	
	лучше	25 (65,8)	9 (21,4)	
СЛИЗЬ	без изм	27 (71,1)	19 (45,2)	<0,001
	хуже	1 (2,6)	19 (45,2)	
	лучше	10 (26,3)	4 (9,5)	
ЛЕЙКОЦИТЫ	без изм	32 (84,2)	17 (40,5)	<0,001
	хуже	0 (0,0)	21 (50,0)	
	лучше	6 (15,8)	4 (9,5)	

Таким образом, согласно копрологическому исследованию, уменьшались креаторея, стеаторея 1 и 2 типов, лейкорея, выделение переваримой и неперевариваемой клетчатки, что свидетельствует о том, что применение пробиотической коррекции достоверно купировало симптомы ААС и восстанавливало ферментативную активность поджелудочной железы.

При сравнении клинического течения ВП средней степени тяжести у детей от 1 до 14 лет в зависимости от применения или отсутствия пробиотической коррекции были выявлены следующие закономерности: включение пробиотического препарата *S. boulardii* CNCM I-745 в терапию детей с

инфекциями ЛОР-органов и нижних дыхательных путей ускоряло купирование основных симптомов заболевания. Чаще всего ААС проявлялся изменением характера и частоты стула, метеоризмом и болевым синдромом, тенденцией к запору и стоматитом. Помимо симптомов поражения ЖКТ регистрировались и экстраинтестинальные проявления ААС, в частности воспалительные изменения наружных половых органов у девочек и сухость кожных покровов. Стоматит регистрировался у 19 пациентов (23,75 %) из них реже у 3 пациентов (7,9 %), получавших пробиотик, и чаще у 16 пациентов (38,1 %) не получавших пробиотик. Среди девочек развивался вульвовагинит – 18 пациентов 46,1 %. При этом у девочек, получавших пробиотик вульвовагинит развивался реже, у 3 пациентов (16,7 %), в группе пациентов без пробиотика вульвовагинит развивался у 15 пациентов (71,4 %), сухость кожных покровов за время пребывания на стационарном лечении в 2 раза чаще проявлялась в ГС у 12 человек (28,6 %), чем в ОГ у 6 человек (15,8 %). Включение пробиотического препарата, содержащего *S. boulardii* CNCM I-745, в терапию детей с инфекциями нижних дыхательных путей и сопутствующим заболеванием ЛОР-органов препятствовало развитию ААС и способствовало ускорению разрешения симптомов со стороны ЖКТ: метеоризм, боли в животе, диарейный синдром и склонность к запорам. Таким образом, согласно данным копрологического исследования, уменьшались креаторея, стеаторея 1 и 2 типов, лейкорея, выделение переваримой и неперевариваемой клетчатки, что свидетельствует о том, что применение монопробиотического препарата *S. boulardii* CNCM I-745 достоверно купировало симптомы ААС и восстанавливало ферментативную активность поджелудочной железы.

3.1.5. Оценка изменения орофарингеальной, фекальной и генитальной (у девочек) микробиоты у детей с ИНДП

В рамках исследования проведена оценка изменения орофарингеальной, фекальной и генитальной (у девочек) микробиоты у детей с ВП. Для

сравнительного анализа у пациентов сравниваемых групп проведен забор образцов кала, мазков ротоглотки и наружных половых органов в две временные точки (в момент поступления, в момент завершения АБТ (через 8 ± 2 дня)), у условно здоровых детей представлен образец кала 1 временной точки.

При анализе состояния микробиома локусов ротоглотки, кишечника и наружных половых органов девочек проводили определение альфа-разнообразия, бета-разнообразия и оценку суммарного количества микробов в каждом образце (при помощи количественной полимеразной цепной реакции).

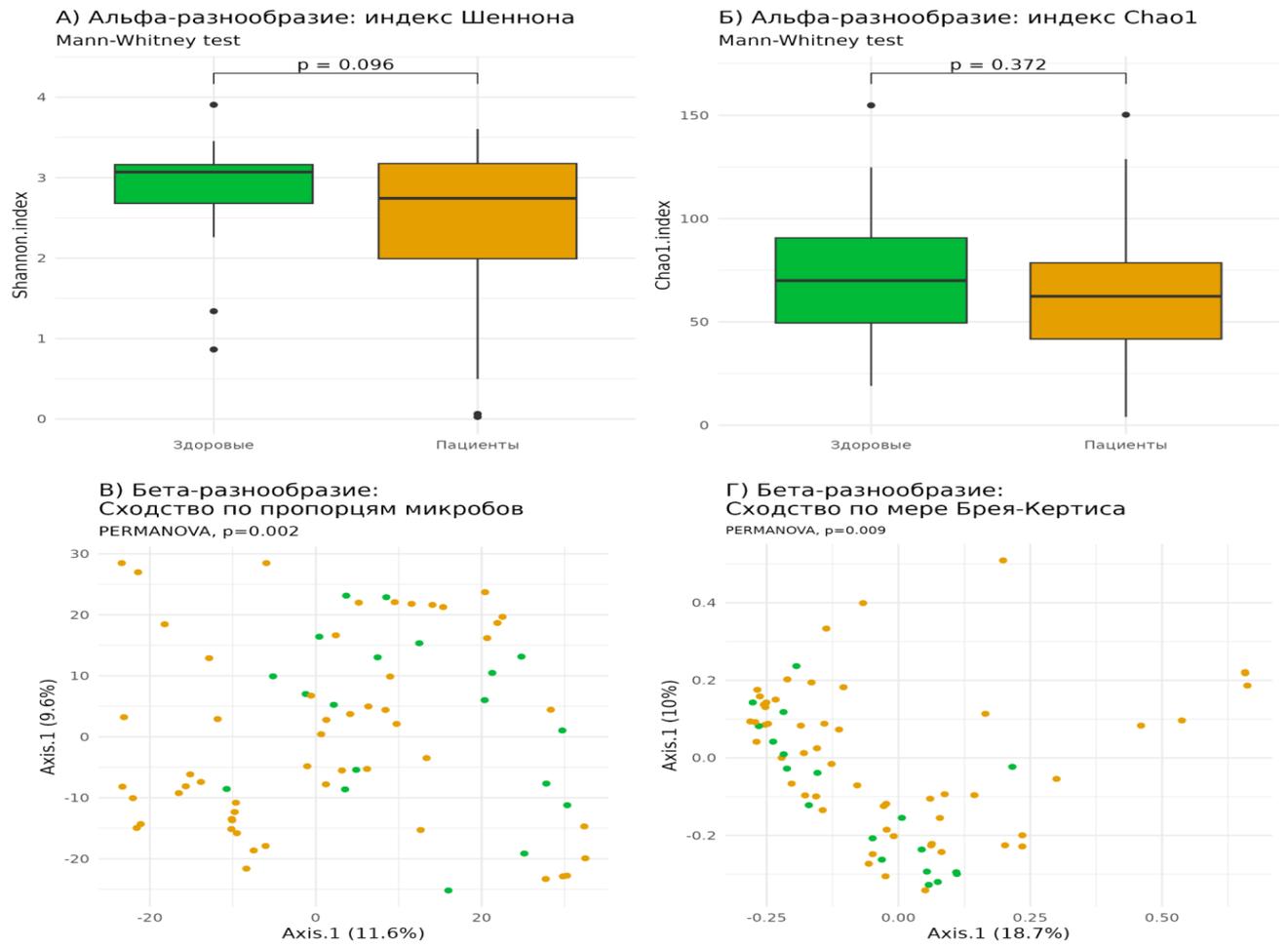
Влияние внебольничной пневмонии на микробиом ротоглотки, кишечника и наружных половых органов девочек анализировался по альфа-разнообразию и бета-разнообразию образцов всех пациентов ($n=80$), собранных до АБТ и образцов условно здоровых детей ($n=19$).

Оценка альфа-разнообразия до начала АБТ, показала, что в ротовой полости количество микроорганизмов снизилось, в микробиоте половых органов снизилась равномерность представления микроорганизмов. Для стула статистически значимых отличий в альфа-разнообразии между больными и здоровыми нет (Таблица 3.3).

Заболевание отразилось на бета-разнообразии всех трех типов: образцы из одной и той же группы – пациентов до лечения либо условно здоровых – были более схожи, чем образцы из разных групп. Отличие прослеживали как по расстоянию Эйтчисона, характеризующему сходство пропорций основных микробов, так и по мере Брея-Кёртиса, характеризующей сходство образцов по всем найденным микробам (Рисунок 3.19, Рисунок 3.20, Рисунок 3.21).

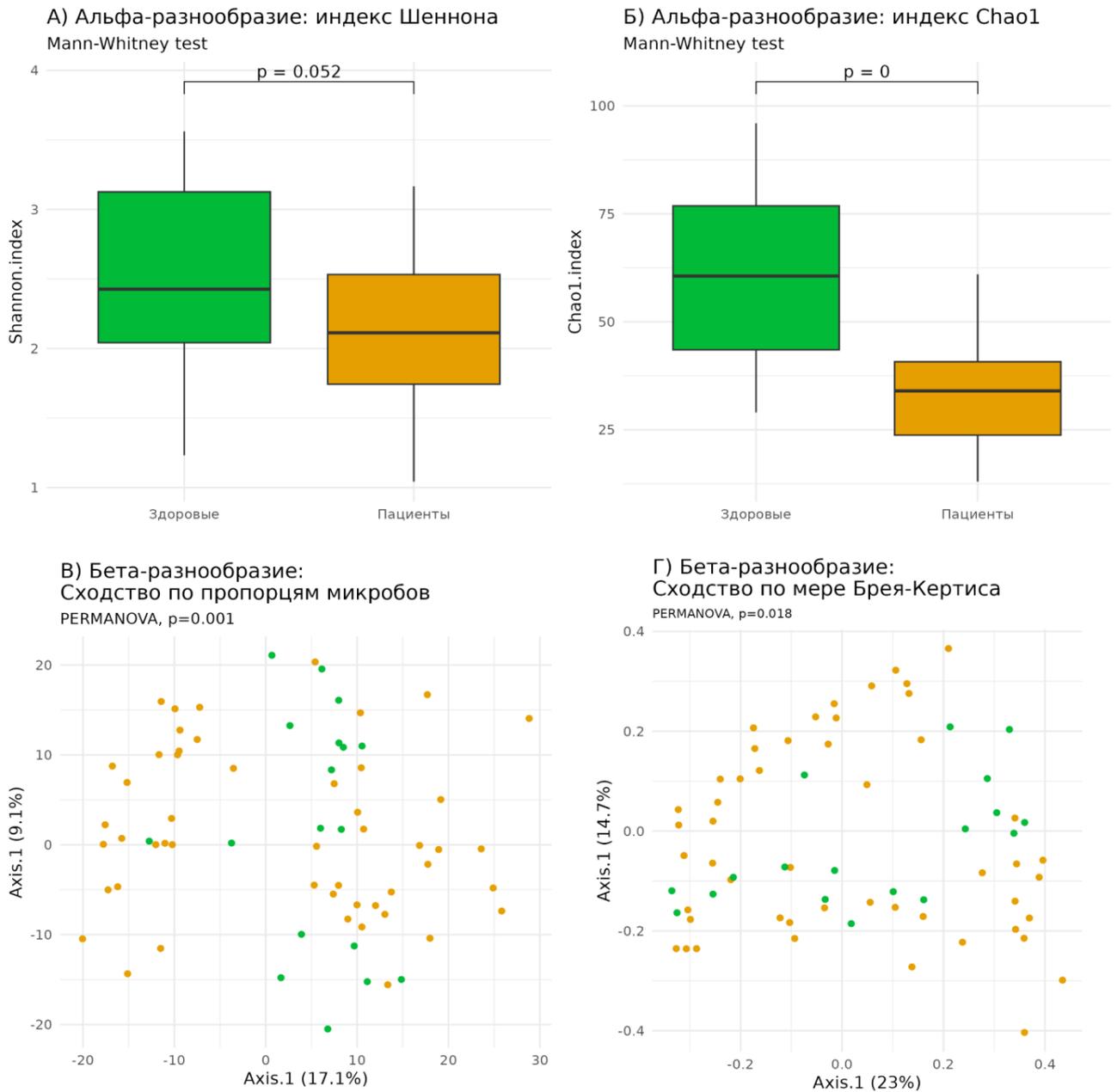
Таблица 3.3 – Статистическая значимость различий микробиоты пациентов до лечения и здоровых детей (* – $p < 0,05$)

Показатель	Метод сравнения	Способ оценки показателя	p-значение		
			Стул	Ротовая полость	Половые органы девочек
Альфа-разнообразие	Критерий Манна-Уитни	Индекс Шеннона	0,096	0,0535	0,02*
		Индекс Chao1	0,372	0,000*	0,01*
Пропорции микроорганизмов	PERMANOVA	Расстояния Эйтчисона	0,001*	0,001*	0,001*
Бета-разнообразие Брея-Кертиса	PERMANOVA	Бета-разнообразие Брея-Кертиса	0,007*	0,019*	0,001*



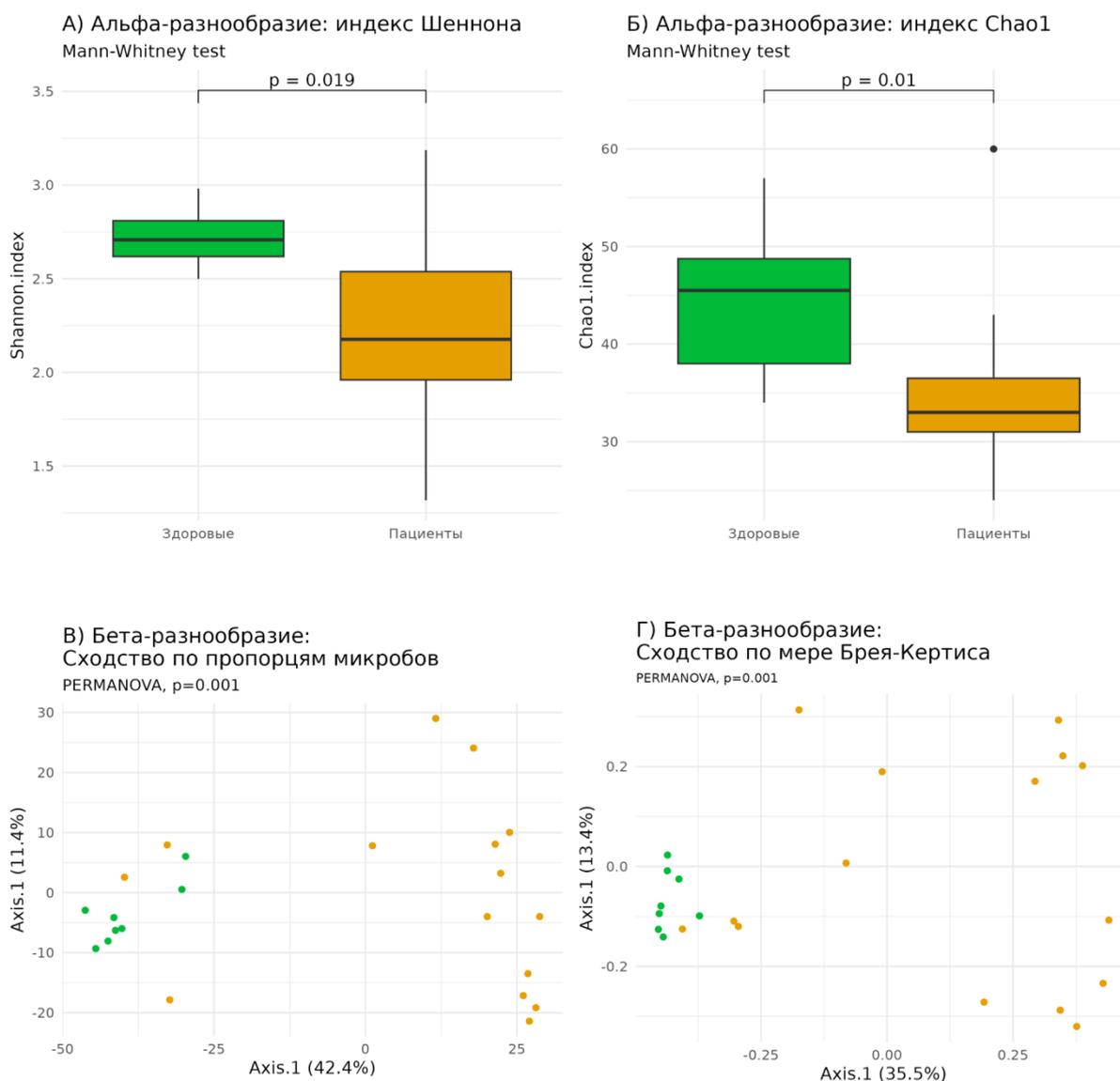
А) Индекс Шеннона; Б) Индекс Chao1; В) PCoA для бета-разнообразия
Эйтчисона; Г) PCoA для бета-разнообразия Брея-Кертиса.

Рисунок 3.19 – Сравнение микробиоты кишечника пациентов с инфекцией
нижних дыхательных путей до лечения и условно здоровых детей по альфа-
разнообразию и бета-разнообразию



А) Индекс Шеннона; Б) Индекс Chao1; В) РСоА для бета-разнообразия
Эйтчисона; Г) РСоА для бета-разнообразия Брея-Кертиса.

Рисунок 3.20 – Сравнение микробиоты ротовой полости пациентов до лечения и условно здоровых детей по альфа-разнообразию и бета-разнообразию



А) Индекс Шеннона; Б) Индекс Chao1; В) РСоА для бета-разнообразия Эйтчисона, которое характеризует различие между образцами по пропорциям основных микробов; Г) РСоА для бета-разнообразия Брея-Кертиса.

Рисунок 3.21 – Сравнение микробиоты половых органов пациенток до лечения и условно здоровых детей по альфа-разнообразию и бета-разнообразию

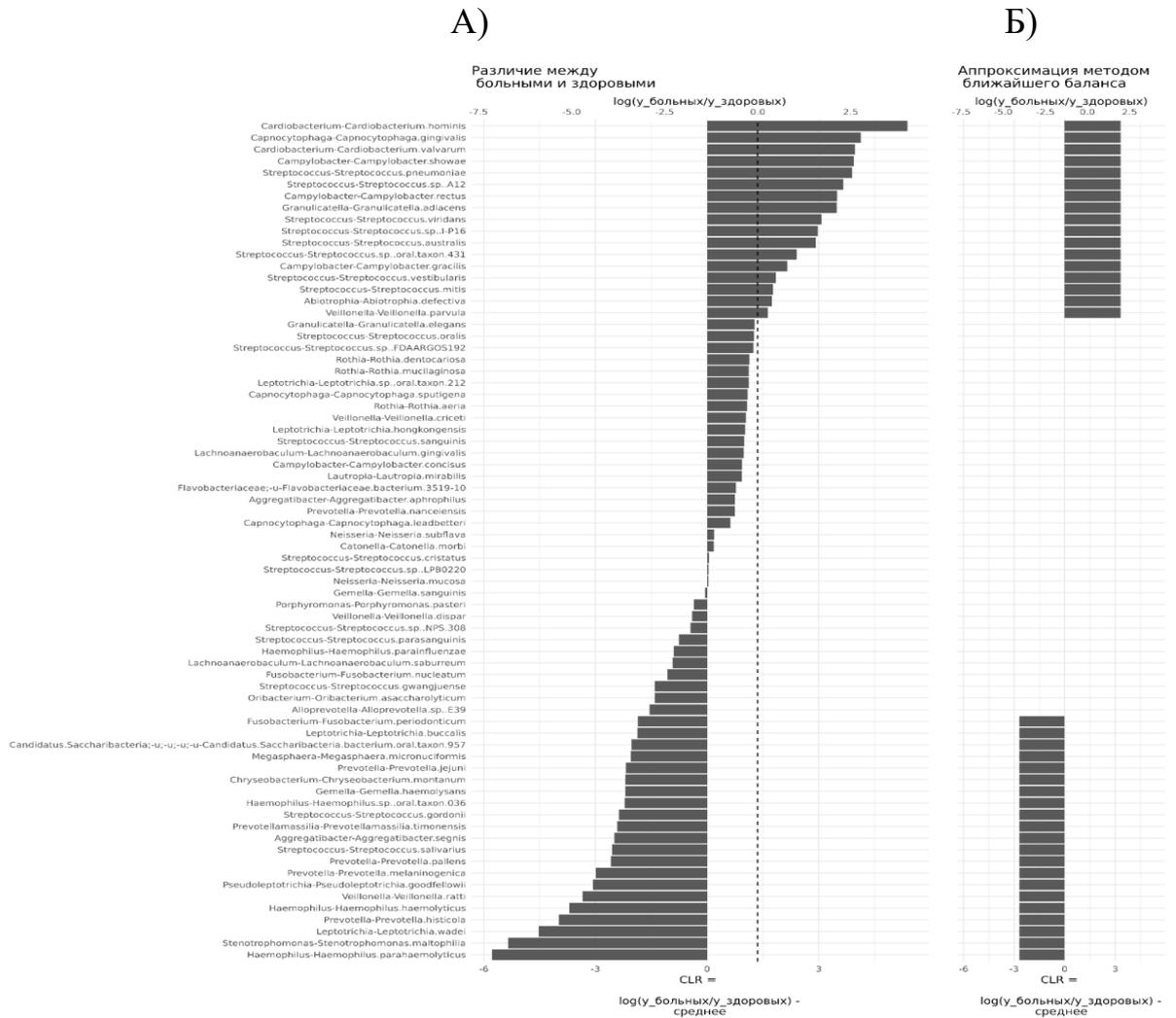
На рисунках РСоА оранжевым обозначены пациенты с ВП, зеленым условно здоровые. Каждая точка соответствует одному образцу, а расстояния между ними приблизительно отображает бета-разнообразие (чем ближе расположены точки, тем сильнее они похожи по составу).

При сравнении образцов детей до лечения и здоровых детей с помощью метода ближайшего баланса были верифицированы три группы микроорганизмов. Первая группа состоит из микроорганизмов, которых больше у условно здоровых пациентов и их больше, чем в среднем по всем микроорганизмам, и она ассоциирована со здоровьем. Вторая группа ассоциирована с заболеванием, состоит из микроорганизмов, которых больше у детей внебольничными пневмониями и их больше, чем в среднем по всем микроорганизмам. Третья группа – остальные, она состоит из микроорганизмов, которые встречаются как у здоровых, так и у больных пациентов без отличия от всех микроорганизмов в целом. Соотношение (баланс) между этими группами имело достоверное ($p < 0,05$) различие у больных и здоровых. В дальнейшем этот баланс был использован как мера схожести микробиоты со здоровой.

На Рисунке 3.22 показаны результаты анализа методом ближайшего баланса для микробиоты ротоглотки. На Рисунке 3.22 А) проиллюстрированы различия до терапии между средней микробиотой больных и условно здоровых пациентов: степень отличия долей каждого микроорганизма, а также степень отличия от среднего по всем микроорганизмам. На Рисунке 3.22 Б) показана аппроксимация различий методом ближайшего баланса.

Рисунок 3.22 иллюстрирует усредненные различия между орофарингеальной микробиотой условно здоровых и больных, а на Рисунке 3.23 представлено соотношение микроорганизмов ассоциированные со здоровьем и с заболеванием в каждом образце в отдельности. На Рисунке 3.23 А) показаны доли микроорганизмов, ассоциированных со здоровьем и с заболеванием в каждом из образцов. Соотношение этих микроорганизмов в каждом из образцов можно выразить в виде так называемого баланса этих групп микроорганизмов – величины, характеризующей на сколько порядков в среднем, доля микроорганизмов, ассоциированных с заболеванием больше, чем ассоциированных со здоровьем. На Рисунке 3.23 Б) показаны значения этого баланса в образцах. В дальнейшем мы будем использовать значение баланса в образце как характеристику того, насколько сильно микробиота отличается от

здоровой. Это позволит оценить, улучшается ли состояние микробиоты к концу исследования.



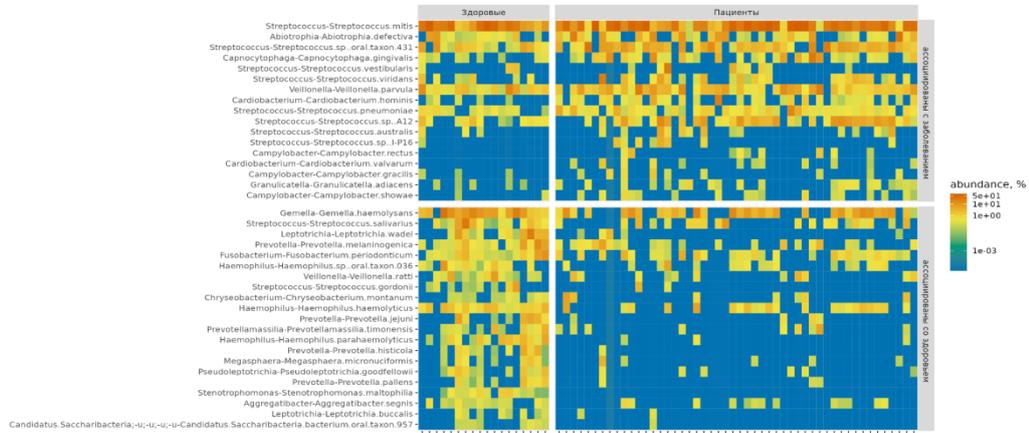
А) Различие между средней микробиотой пациентов до лечения и средней микробиотой здоровых; Б) Аппроксимация различий между больными и здоровыми различием, состоящим в изменении только между двумя группами бактерий.

Рисунок 3.22 – β -разнообразие в микробиоте ротовой полости пациентов до лечения и здоровых детей с помощью метода ближайшего баланса

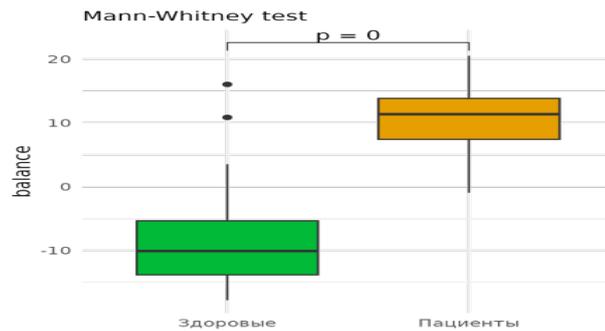
Столбики и значение на нижней оси показывают, насколько сильно изменения для конкретного микроба отличаются от среднего изменения по всем микробам. На верхней оси показаны сами значения, то есть отношение доли

микроба у здоровых к доле микроба у больных в логарифмическом масштабе. Пунктирная линия обозначает среднее значение различий по всем микробам.

А)

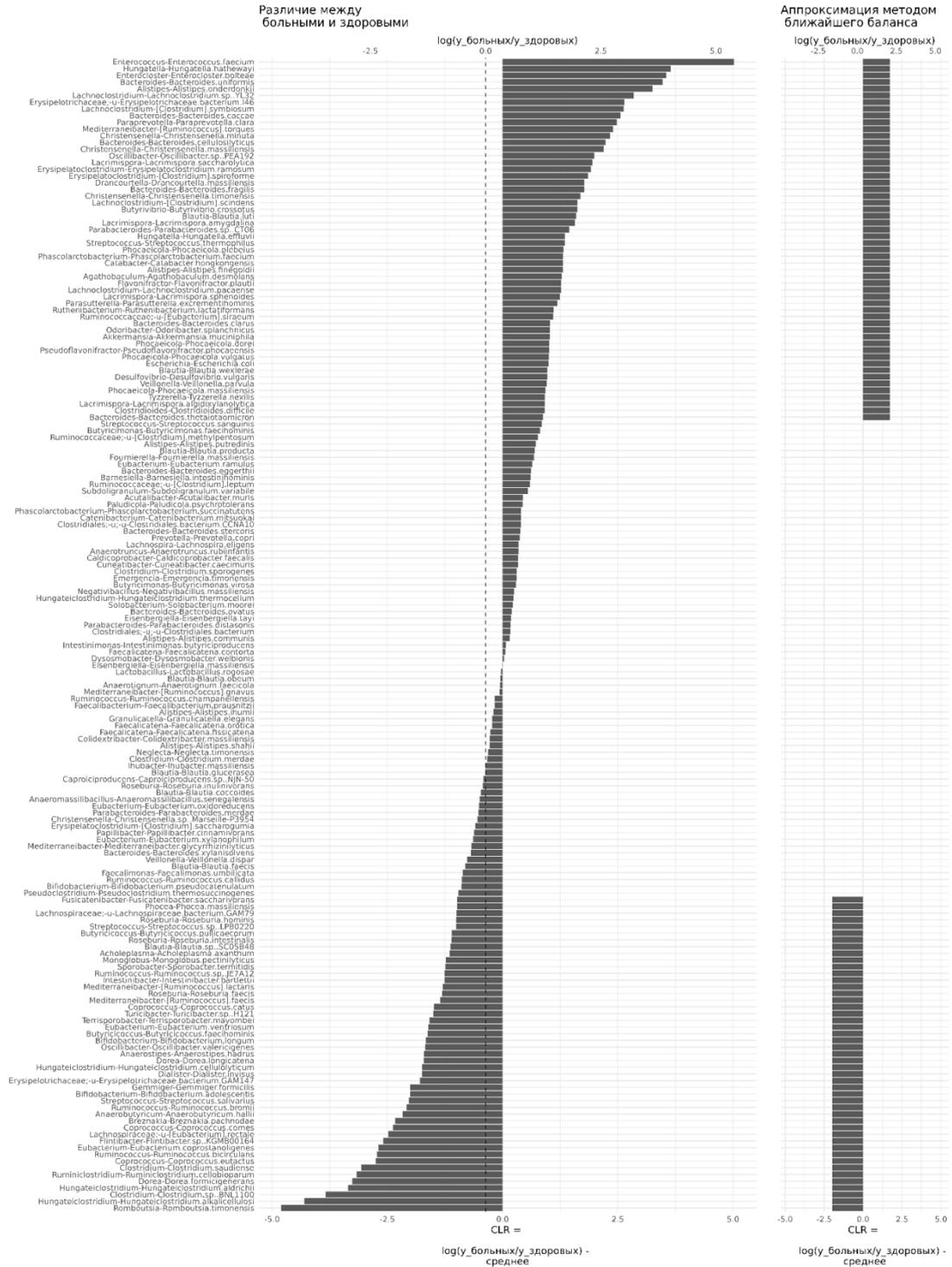


Б)



А) Тепловая карта представленности бактерий, ассоциированных с состоянием здоровья и с внебольничной пневмонией в образцах из ротоглотки; Б) Баланс данных групп микробов.

Рисунок 3.23 – Соотношение микроорганизмов ассоциированные со здоровьем и с заболеванием

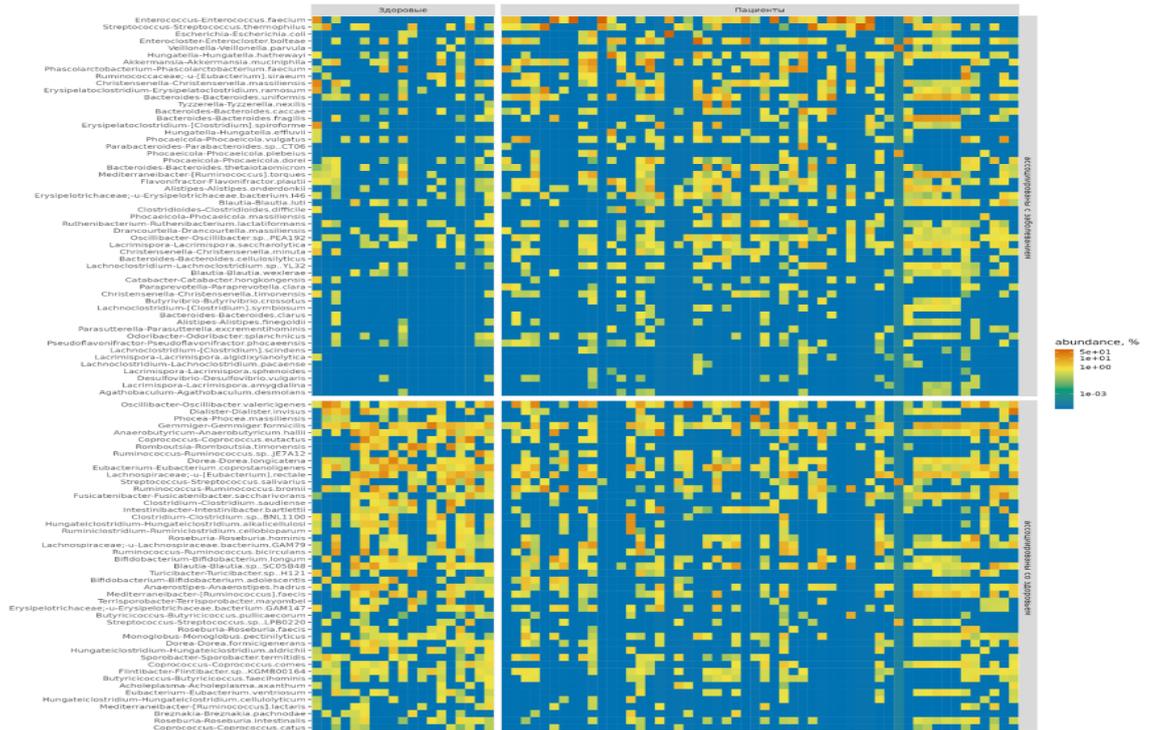


А) Различие между средней микробиотой пациентов до лечения и средней микробиотой здоровых; Б) Аппроксимация различий между больными и здоровыми различием, состоящим в изменении только между двумя группами бактерий

Рисунок 3.24 – β-разнообразие в микробиоте кишечника пациентов до лечения и здоровых детей с помощью метода ближайшего баланса

Столбики и значение на нижней оси показывают, насколько сильно изменения для конкретного микроба отличаются от среднего изменения по всем микробам. На верхней оси показаны сами значения, то есть отношение доли микроба у здоровых к доле микроба у больных в логарифмическом масштабе. Пунктирная линия обозначает среднее значение различий по всем микробам.

А)

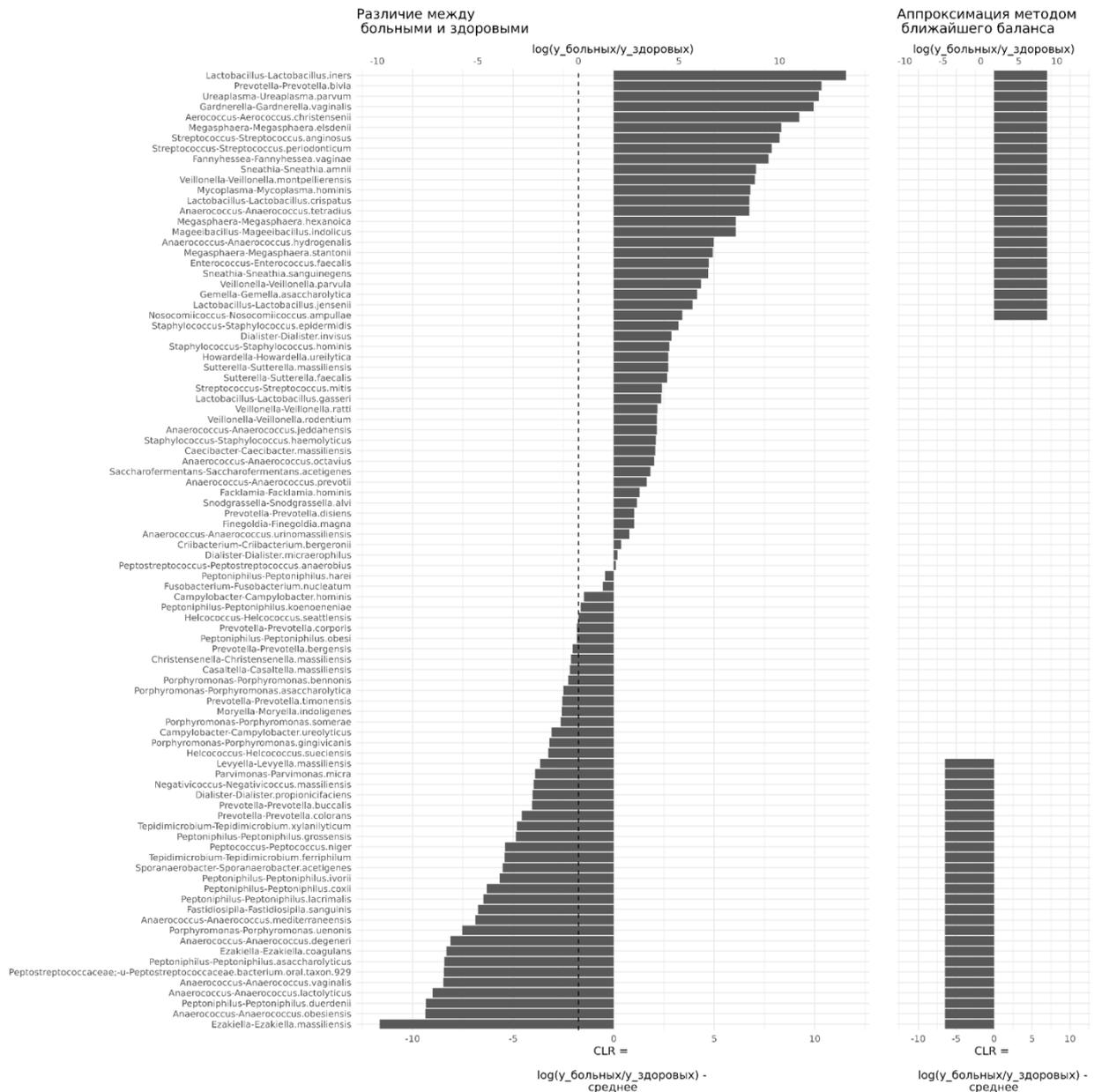


Б)



А) Тепловая карта представленности бактерий в образцах кала, ассоциированных с состоянием здоровья и с внебольничной пневмонией в образцах; Б) Баланс двух данных групп микроорганизмов в образцах кала больных с ВП с сопутствующей ЛОР-патологией

Рисунок 3.25 – Соотношение микроорганизмов ассоциированные со здоровьем и с заболеванием

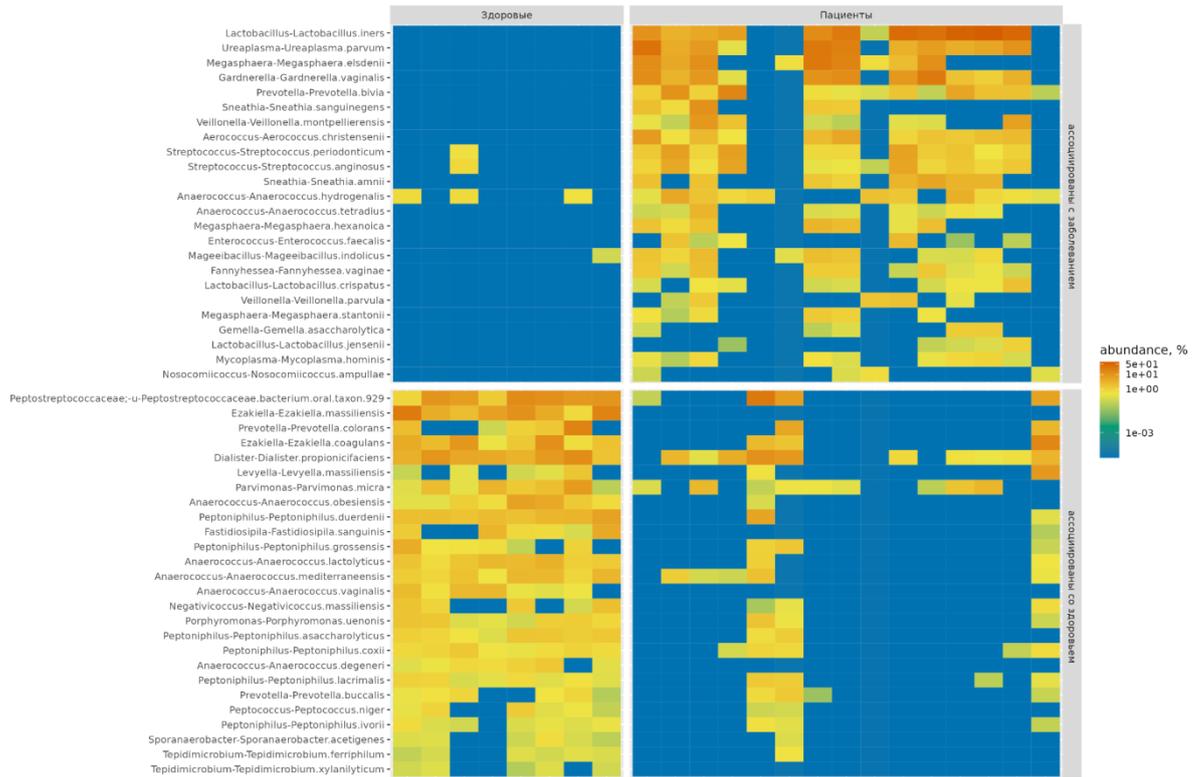


А) Различие между средней микробиотой пациентов до лечения и средней микробиотой здоровых; Б) Аппроксимация различий между больными и здоровыми различием, состоящим в изменении только между двумя группами бактерий

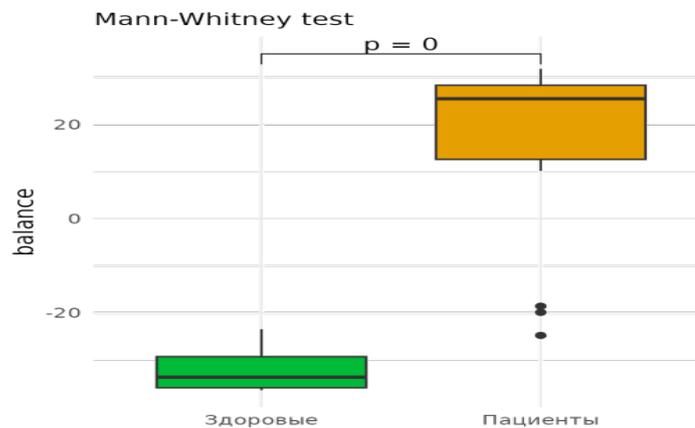
Рисунок 3.26 – β -разнообразие в микробиоте половых органов пациенток до лечения и здоровых детей с помощью метода ближайшего баланса

Столбики и значение на нижней оси показывают, насколько сильно изменения для конкретного микроба отличаются от среднего изменения по всем микробам. На верхней оси показаны сами значения, то есть отношение доли микроба у здоровых к доле микроба у больных в логарифмическом масштабе. Пунктирная линия обозначает среднее значение различий по всем микробам.

А)



Б)



А) Тепловая карта представленности генитальных микроорганизмов, ассоциированных со здоровьем и с болезнью у здоровых девочек и пациенток до лечения в образцах; Б) Баланс двух данных групп микроорганизмов в образцах. Рисунок 3.27 – Соотношение микроорганизмов ассоциированные со здоровьем и с заболеванием

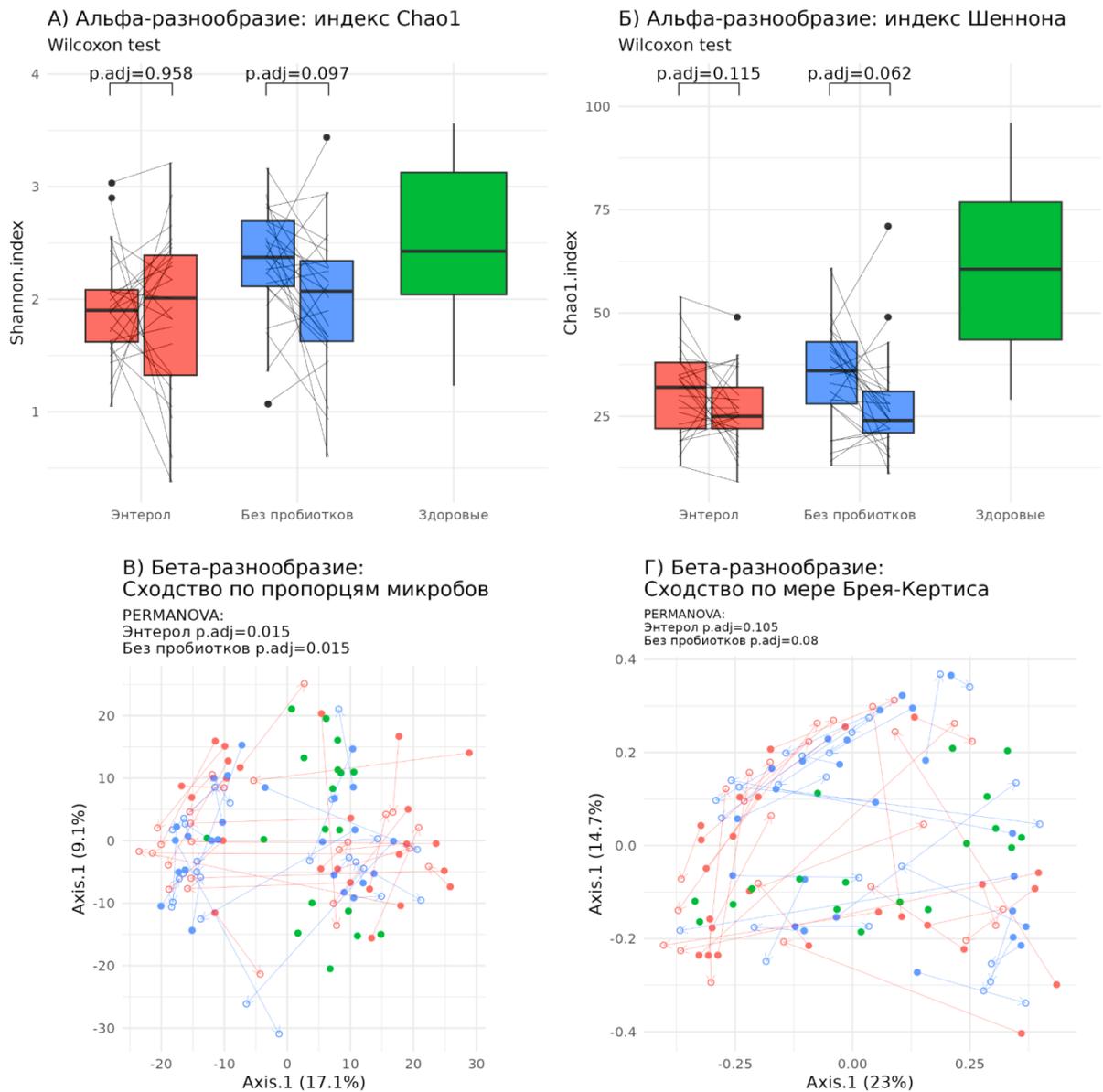
Таким образом, анализ образцов микробиоты локусов ротоглотки, кишечника и наружных половых органов (у девочек) показал, что у пациентов с инфекцией нижних дыхательных путей до начала терапии АБП происходят нарушения альфа-разнообразия микробиоты ротовой полости и половых органов,

бета-разнообразии всех трех типов. Анализ образцов микробиоты ротоглотки выявил, что у пациентов с инфекцией нижних дыхательных путей до назначения АБТ происходят нарушения бета-разнообразия, характеризующиеся увеличением количества условно-патогенных стрептококков. При этом среди орофарингеальных микроорганизмов, была обнаружена *Streptococcus pneumoniae*. При анализе образцов генитальной микробиоты детектировалось увеличение *Lactobacillus iners*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis*. Фекальная микробиота оказалась единственным из изучавшихся локусов, которая не изменилась существенно, но в дебюте заболевания было отмечена тенденция к увеличению *Enterococcus faecium* и некоторых представителей рода *Bacteroides*.

При исследовании орофарингеальной микробиоты до начала АБТ были выявлены значимые отличия в составе микробиоты здоровых детей – достоверное более низкие параметры альфа-разнообразия, также отмечались отличия бета-разнообразия Брея-Кертиса (Рисунок 3.28).

Изменения альфа-разнообразия к концу АБТ не были статистически значимы, образцы орофарингеальной микробиоты, собранные на одном и том же визите, не были более схожи по бета-разнообразию Брея-Кертиса, чем собранные на разных визитах. Сравнение этих изменений не показало статистически значимых различий ни по размеру изменений (Рисунок 3.28 А)), ни с учетом их направления ($p=0,068$). Баланс между двумя группами микроорганизмов, одни из которых ассоциированы со здоровьем, а вторые с заболеванием, существенно не изменился у детей, в терапию которых был включен пробиотик (Рисунок 3.29). При анализе таксономического состава микробиоты ротоглотки после окончания АБТ выявили бактерии, доля которых существенно выросла (Рисунок 3.30). На рисунке 3.30 представлены тепловые карты орофарингеальной микробиоты пациентов с включенным пробиотиком (Рисунок 3.30 А)) и без пробиотического компонента. Среди видов, доля которых увеличилась, преобладали различные *Streptococcus*, *Haemophilus* и *Rothia*. У пациентов с пробиотической коррекцией на тепловой карте визуализируется сохранение представителей комменсалов –

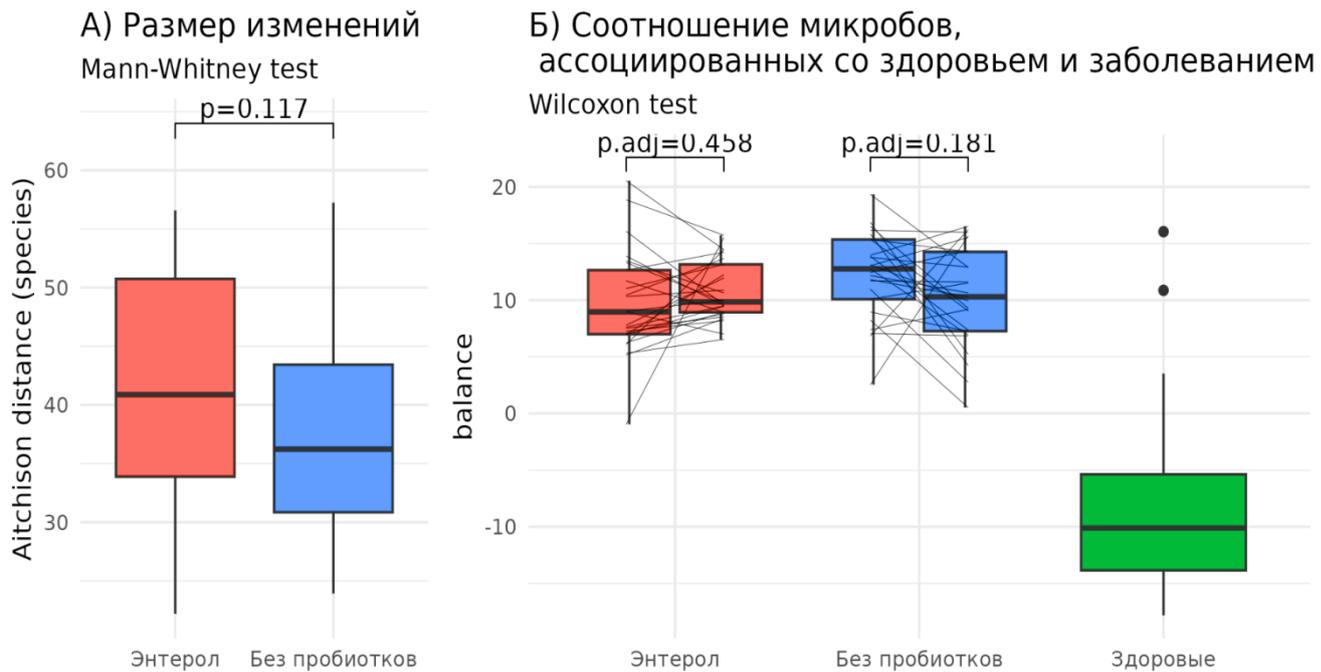
стрептококков (*Streptococcus salivarius*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus A12*). У пациентов группы без пробиотической коррекции мы видим к моменту завершения АБТ снижение представителей нормальной микрофлоры (комменсалов), таких как, *Streptococcus sanguinis*, *Abiotrophia defective*, *Neisseria mucosa*. Отметим, что общее количество бактерий в орофарингеальных образцах достоверно снизилось (Рисунок 3.31).



А) Индекс Шеннона; Б) Индекс Чоа1; В) РСoА для бета-разнообразия Эйтчисона; Г) РСoА для бета-разнообразия Брея-Кертиса, которое характеризует отличие между образцами по пропорциям всех найденных видов.

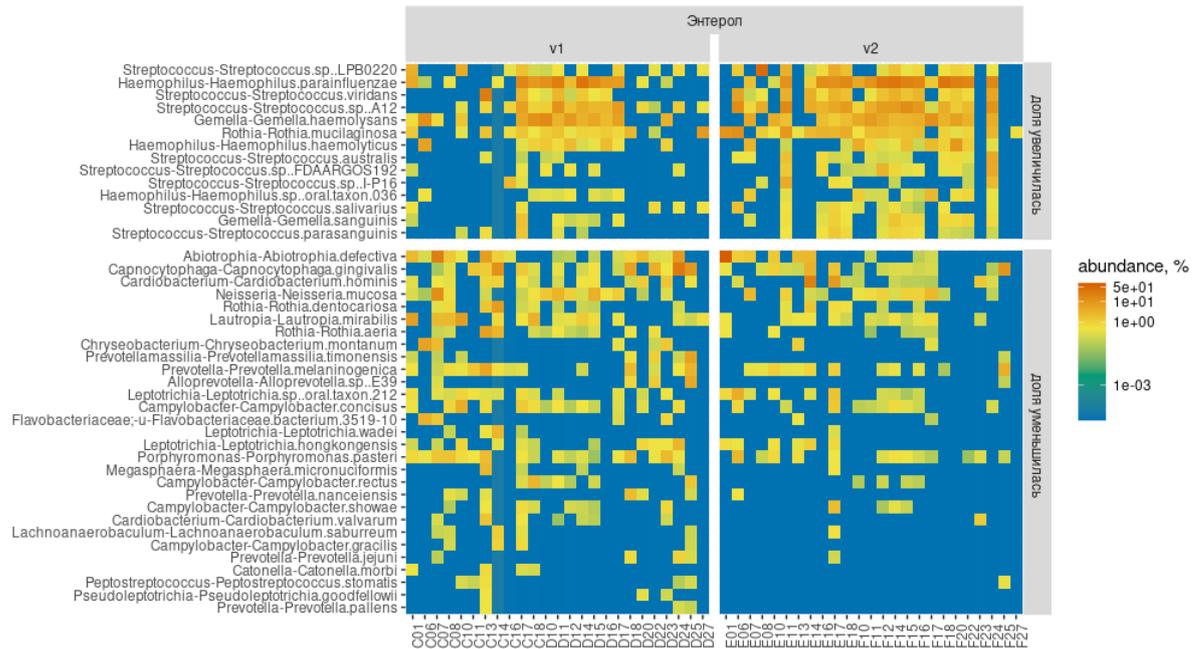
Рисунок 3.28 – Сравнение по альфа- и бета-разнообразию орофарингеальной микрофлоры до и после АБТ

На рисунках РСоА каждая точка соответствует одному образцу. Красным обозначены образцы пациентов с пробиотиком, синим без пробиотика, зеленым условно здоровых. Закрашенные собраны до лечения, не закрашенные после. Расстояния между точками приблизительно отображает бета-разнообразие (чем ближе расположены точки, тем сильнее они похожи по составу).

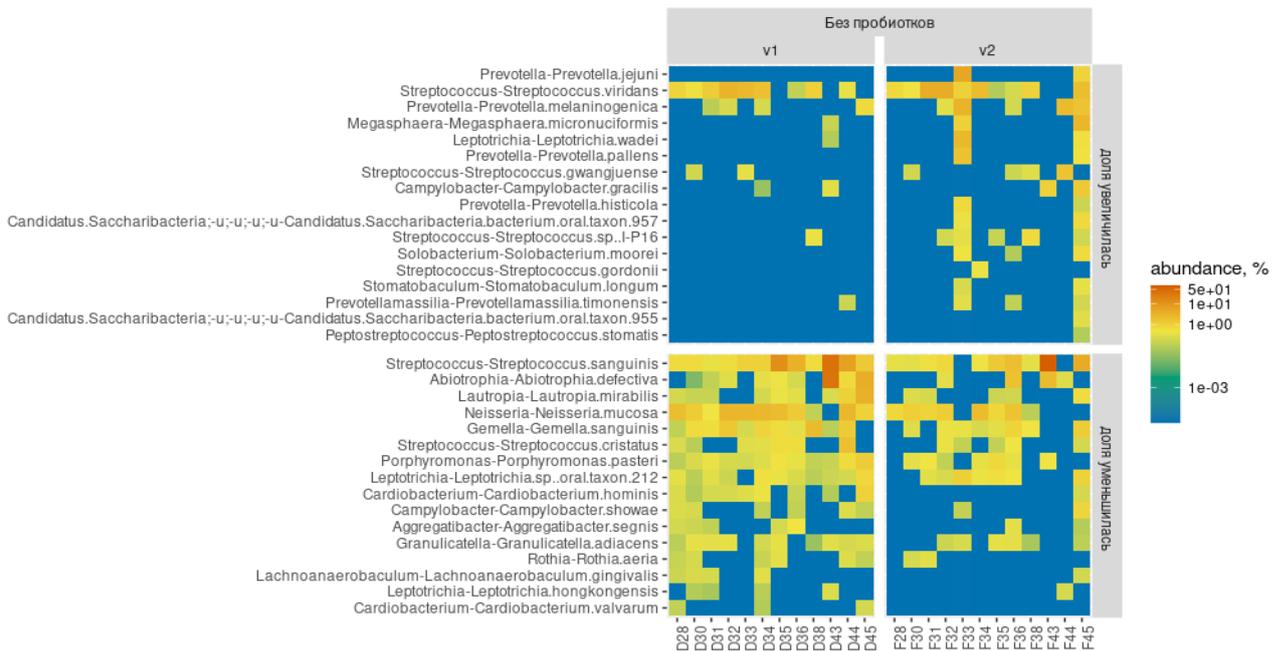


(А) сравнение степени изменений пропорций микроорганизмов ротовой полости;
(Б) сравнение динамики отличий от здоровой микробиоты у пациентов принимавшими и не принимавших *S. boulardii* CNCM I-745.
Рисунок 3.29 – Сравнения изменений микробиоты ротовой полости и динамика отклонений от здоровой микробиоты у пациентов с приемом и без приема *S. boulardii* CNCM I-745

А) Изменения пропорций микроорганизмов ротовой полости в группе S. boulardii CNCM I-745



Б) Изменения пропорций ротовых микробов в группе без пробиотиков



А) S. boulardii CNCM I-745; Б) Без пробиотиков.

Рисунок 3.30 – Тепловые карты для ротовых микроорганизмов, доля которых сильнее всего изменилась за время лечения в группе пациентов

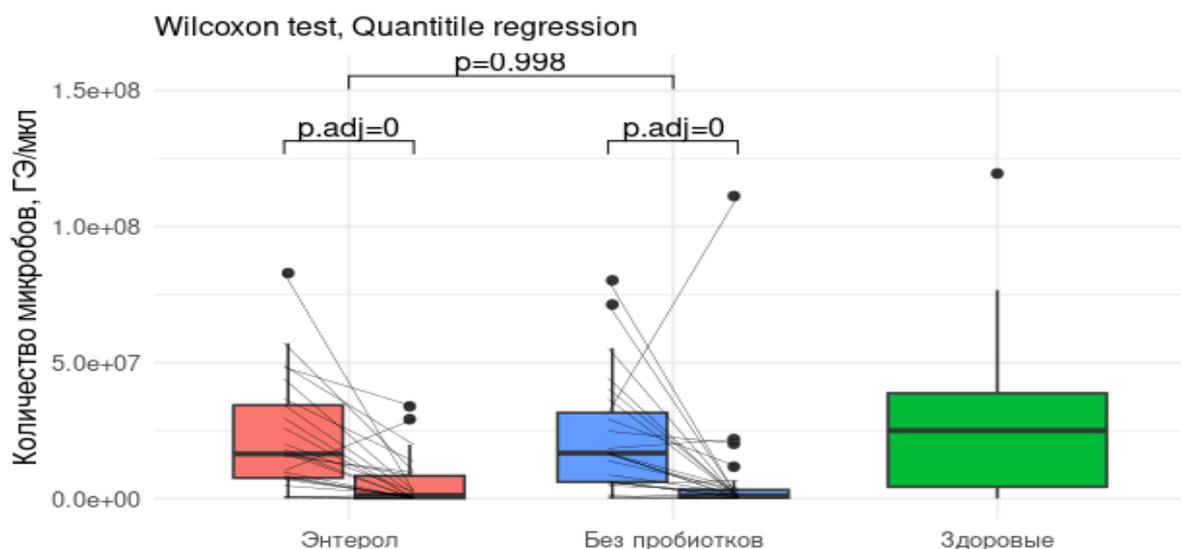
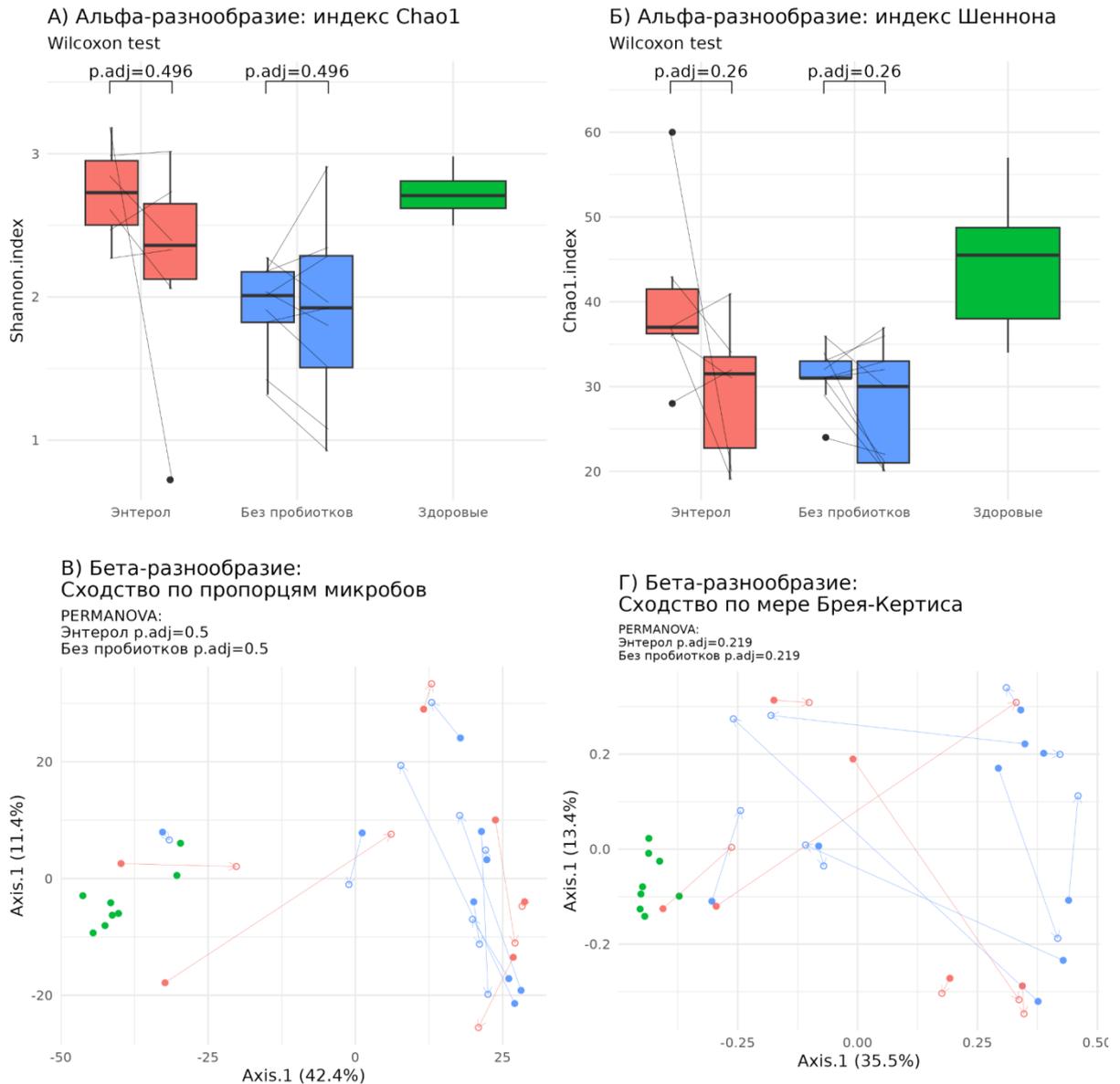


Рисунок 3.31 – Изменение количества микробов в образцах из ротовой полости

В данном исследовании в когорте пациентов женского пола мы проанализировали изменение микробиоты наружных половых органов до начала и по завершении АБТ и приема пробиотика *S. boulardii* CNCM I-745. У пациенток с ВП в начальном периоде заболевания установили, что микробиота наружных половых органов характеризовалась близким к статически значимому повышением общего числа микробов, снижением альфа-разнообразия и пропорций микробов, а также регистрировали отличия по бета-разнообразию Брея-Кертиса в сравнении со здоровыми детьми. В обследованной группе пациенток на фоне АБТ одновременное включение пробиотика *S. boulardii* CNCM I-745 не показало статистически значимых положительных или негативных изменений микробиоты (Рисунок 3.32), в частности не поменялись количество микроорганизмов (индекс $Chao1$), равномерность их представленности (индекс Шеннона), состав образцов в целом (мере Брея-Кертиса) и пропорции основных бактерий (расстояние Эйтчисона) собранных в одной и той же временной точке, в сравнении с собранными в разных временных точках. При оценке изменение соотношения микробов, ассоциированных со здоровьем и с заболеванием, у пациентов с ВП, получавших пробиотик *S. boulardii* CNCM I-745 во время АБТ, значимых изменений не обнаружено. Сравнение изменений соотношения

микроорганизмов с учетом начального значения различия между пациентами принимавшими, и не принимавшими *S. boulardii* CNCM I-745 не значимы (Рисунок 3.33).

Таким образом, изменения генитальной микробиоты девочек, обнаруженные в начале заболевания, не имели дальнейшей негативной тенденции в динамике (Рисунок 3.34).



А) Индекс Шеннона; Б) Индекс Chao1; В) РСoA для бета-разнообразия Эйтчисона; Г) РСoA для бета-разнообразия Брея-Кертиса.
Рисунок 3.32 – Сравнение по альфа- и бета-разнообразию микробиоты половых органов девочек до и после лечения

На рисунках РСоА каждая точка соответствует одному образцу. Красным обозначены образцы пациентов с пробиотиком *S. boulardii* CNCM I-745, синим без пробиотика, зеленым условно здоровых. Закрашенные собраны до лечения, не закрашенные после. Расстояния между точками приблизительно отображает бета-разнообразие (чем ближе расположены точки, тем сильнее они похожи по составу).

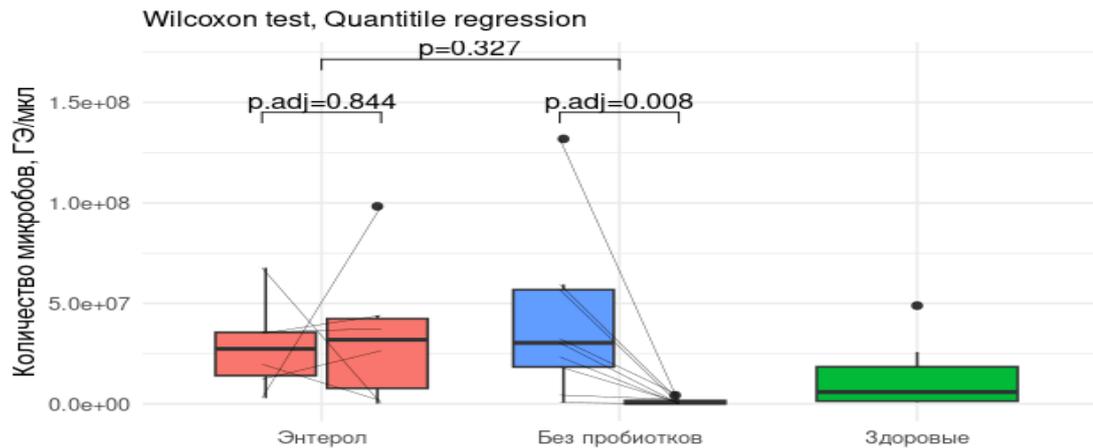
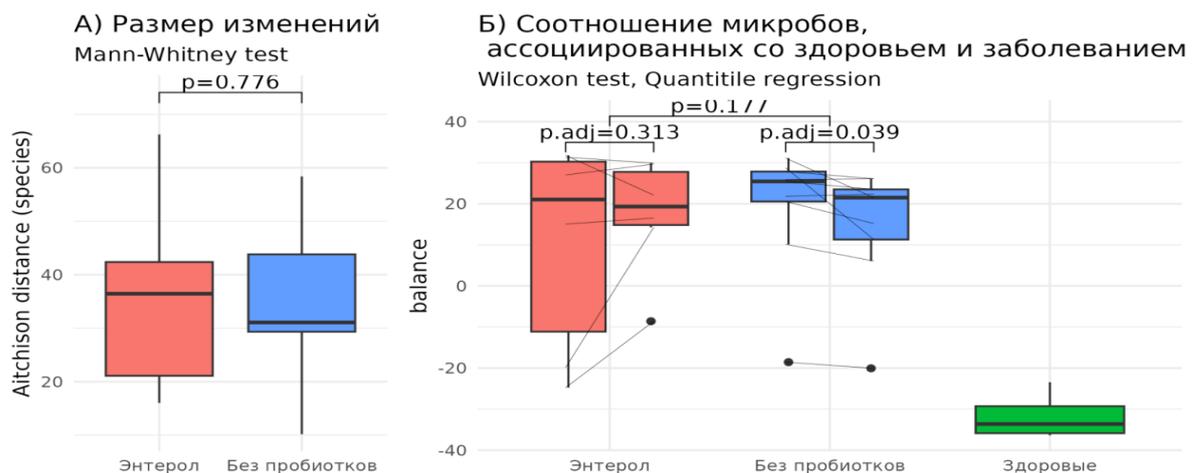


Рисунок 3.33 – Изменение количества микроорганизмов в образцах микробиоты половых органов девочек

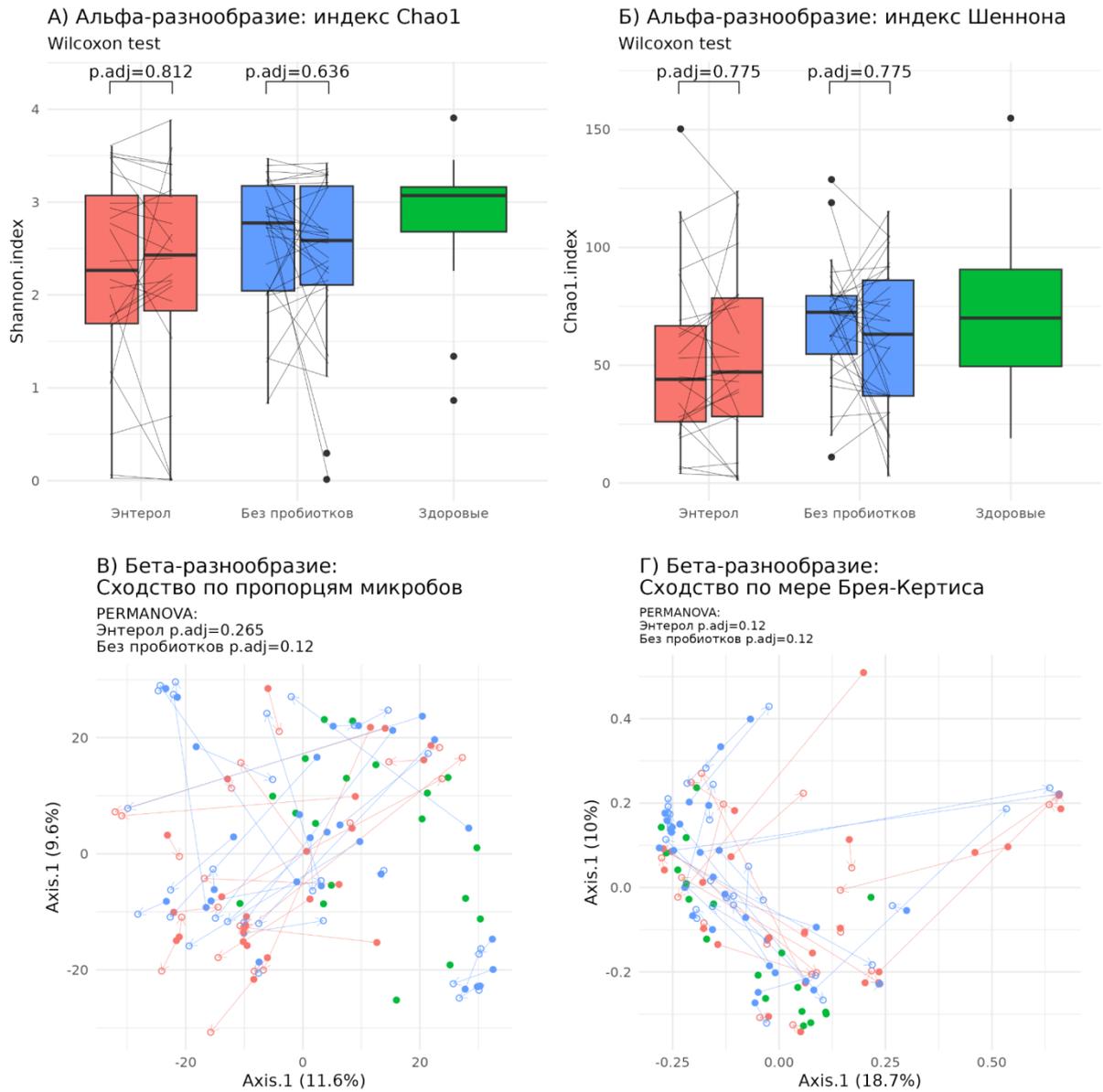


(А) сравнение динамики пропорций микроорганизмов наружных половых органов девочек и (Б) динамики отличия от условно здоровой микрофлоры у девочек сравниваемых групп, принимавших и не принимавших *S. boulardii* CNCM I-745.

Рисунок 3.34 – Сравнения изменений микробиоты гениталий (у девочек) и динамика отклонений от здоровой микробиоты у пациентов с приемом и без приема *S. boulardii* CNCM I-745

Анализ параметров кишечной микробиоты, представленных на Рисунке 3.35, Рисунке 3.36, Рисунке 3.37, позволяет сделать вывод об отсутствии значимых различий между условно здоровыми пациентами и пациентами с ВП до начала АБТ по уровню альфа-разнообразия и общему количеству микробов, но наблюдались отличия по составу (пропорциям основных микробов и бета-разнообразию Брея-Кертиса). К моменту завершения АБТ альфа-разнообразие фекальной микробиоты пациентов, получавших пробиотик *S. boulardii* CNCM I-745, практически не изменилось (Рисунок 3.35 А), Б)). Схожесть образцов, собранных в одной временной точке, не была выше, чем у собранных в разных временных точках (Рисунок 3.35 В), Г)). Общее количество микроорганизмов в образцах кишечной микробиоты также статистически значимо не изменилось за период АБТ. Что касается соотношения между микроорганизмами, ассоциированными с состоянием здоровья и с заболеванием, то оно достоверно увеличилось на фоне АБТ и в еще большей степени отделилось от значений, характерных для здоровых детей (Рисунок 3.36, Рисунок 3.37).

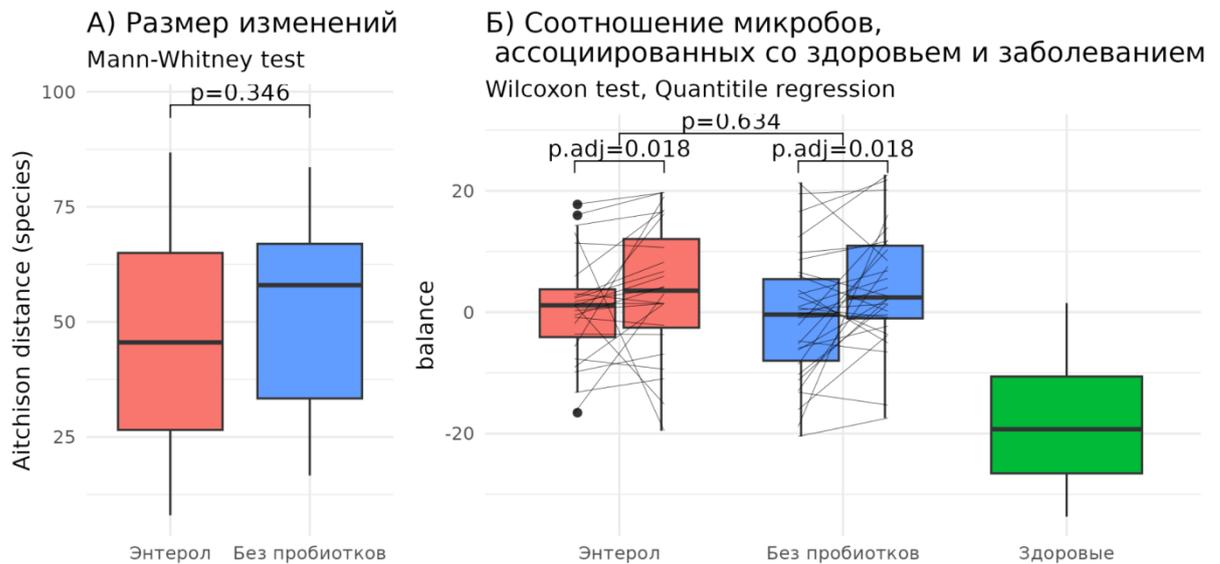
Таким образом, на фоне применения пробиотика *S. boulardii* CNCM I-745 альфа-разнообразие фекальной микробиоты пациентов, получавших АБТ, практически не поменялось, не изменилось и общее количество микробов в образцах кишечной микробиоты.



А) Индекс Шеннона; Б) Индекс Chao1; В) РСоА для бета-разнообразия
Эйтчисона; Г) РСоА для бета-разнообразия Брея-Кертиса.

Рисунок 3.35 – Сравнение по альфа- и бета-разнообразию микробиоты стула до и после лечения

На рисунках РСоА каждая точка соответствует одному образцу. Красным обозначены образцы пациентов с *S. boulardii* CNCM I-745, синим без пробиотика, зеленым условно здоровых. Закрашенные собраны до лечения, не закрашенные после. Расстояния между точками приблизительно отображает бета-разнообразие (чем ближе расположены точки, тем сильнее они похожи по составу).



(А) Сравнение динамики пропорций кишечных микробов и (Б) динамики отклонения от здоровой микробиоты детей, принимавших и не принимавших *S. boulardii* CNCM I-745.

Рисунок 3.36 – Сравнения изменений кишечной микробиоты и динамика отклонений от здоровой микробиоты у пациентов с приемом и без приема *S. boulardii* CNCM I-745

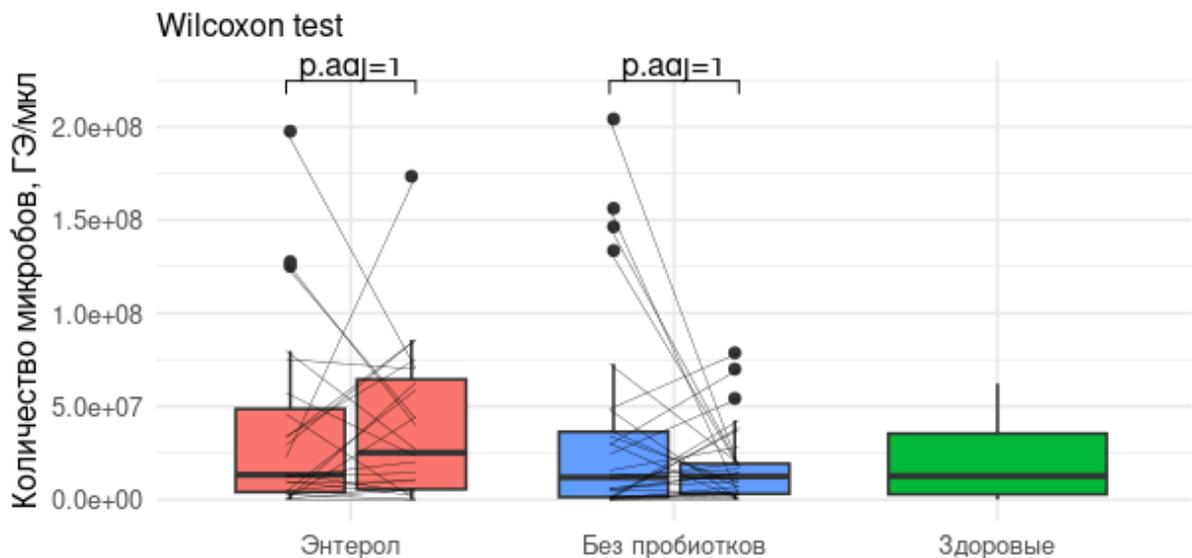


Рисунок 3.37 – Изменение количества микробов в образцах кишечной микробиоты

При анализе изменения микробиоты детей в зависимости от возраста, было выявлено, что медианный возраст пациентов был несколько ниже, чем условно

здоровых (в зависимости от типа микробиоты и группы пациентов различия более или менее выражены (Рисунок 3.38). В зависимости от динамики возрастных изменений микробиоты каждого из сайтов мог меняться и вклад несбалансированности по данному признаку в результаты сравнения больных и здоровых детей.

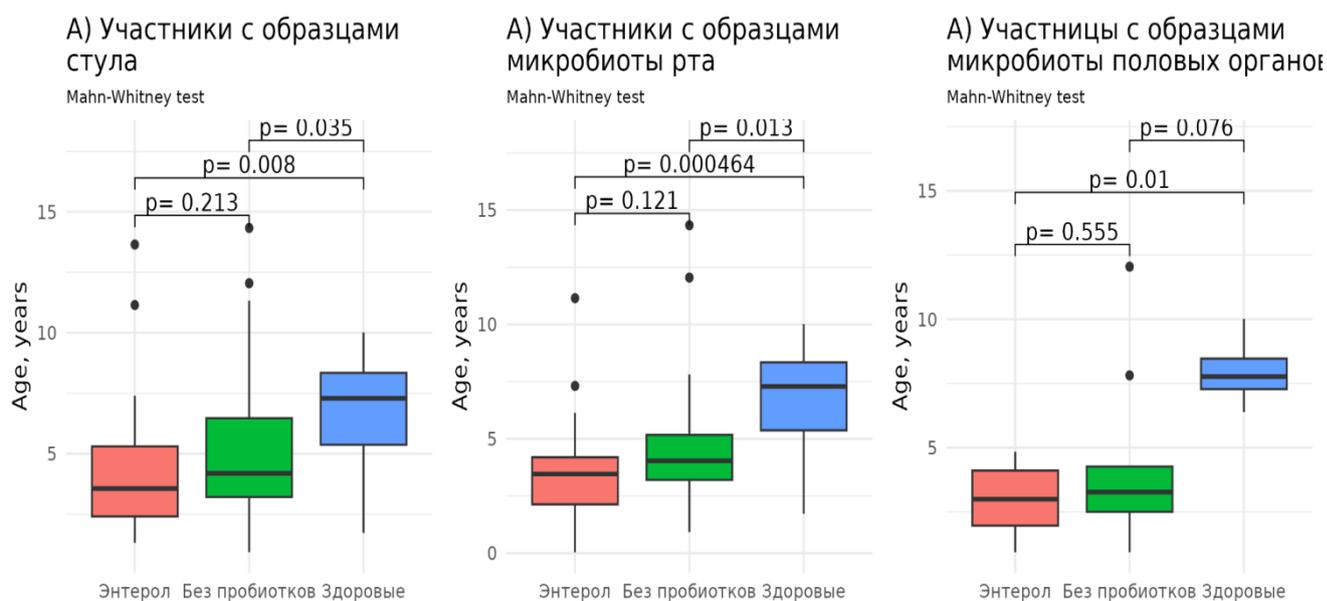


Рисунок 3.38 – Возраст участников, для которых получен состав образцов разных локусов микробиоты в зависимости от рандомизацированной группы

При анализе зависимости возраста и пропорции видов и расстояния Брея-Кертиса, либо альфа-разнообразия Chao1 не выявлено статистической значимости ни у условно здоровых, ни у детей с ВП (Таблица 3.4).

При анализе зависимости возраста и индекса Шеннона образцов стула обнаружили связь у детей с ВП: у более старших пациентов разные микробы были представлены более равномерно. Однако корреляция была слабой (0,26).

Таким образом в данной выборке, возрастные характеристики детей оказывают небольшое влияние на результаты сравнения микробиоты больных и здоровых.

Таблица 3.4 – Статистическая значимость ассоциации микробиоты с возрастом у пациентов

Показатель	Метод сравнения	Способ оценки показателя	р-значение					
			Стул		Полость рта		Наружные половые органы девочек	
			Пациенты	Здоровые	Пациенты	Здоровые	Пациенты	Здоровые
Альфа-разнообразие	Корреляция Спирмена	Индекс Шеннона	0,04	0,349	0,264	1	0,571	0,417
		Индекс Chaol	0,104	0,273	0,42	1	0,396	0,75
Пропорции микробов	PERMANOVA	Расстояние Эйтчисона	0,079	0,991	0,336	0,833	0,907	0,75
Бета-разнообразие Брея-Кертиса	PERMANOVA	Бета-разнообразие Брея-Кертиса	0,122	0,558	0,107	0,833	0,669	0,75

Анализ связи состава микробиоты с консистенцией стула у детей с внебольничной пневмонией, выявил что консистенция стула у пациентов до начала лечения не была ассоциирована с количеством различных видов (индексом Chaol) или равномерностью представленности микробов (индексом Шеннона), их общей численностью (Таблица 3.5). Однако была близкая к значимой связь с пропорциями бактерий. На Рисунке 3.39 показана представленность в образцах

микроорганизмов, ассоциированных с более жидким и более твердым стулом, а также корреляция соотношения между ними (баланса) и консистенцией стула.

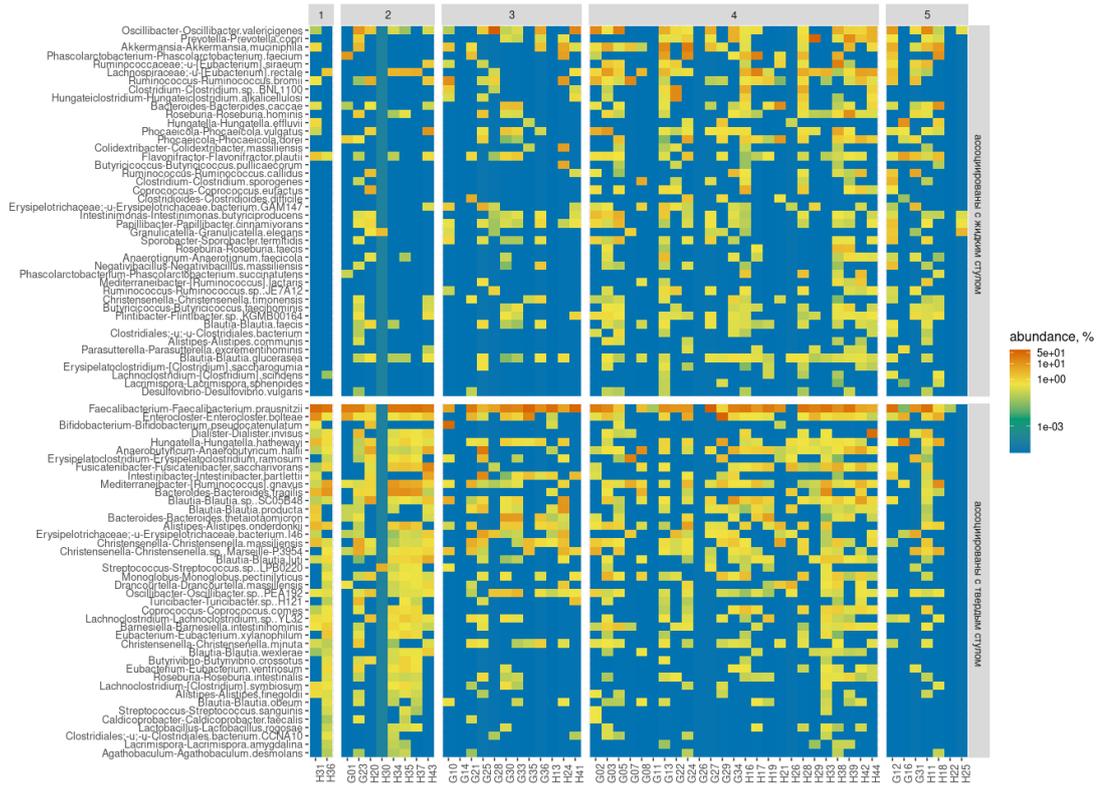
При межгрупповом сравнении значение данного баланса значимо не различалось до лечения, не различалось у здоровых и больных до лечения (Рисунок 3.40 А)). За время лечения ни в одной из групп оно значимо не изменилось (Рисунок 3.40 Б)).

Изменение микробиоты в целом (Таблица 3.5) и отдельно этого баланса не коррелировало с изменением балла по бристольской шкале ($p=0,17$).

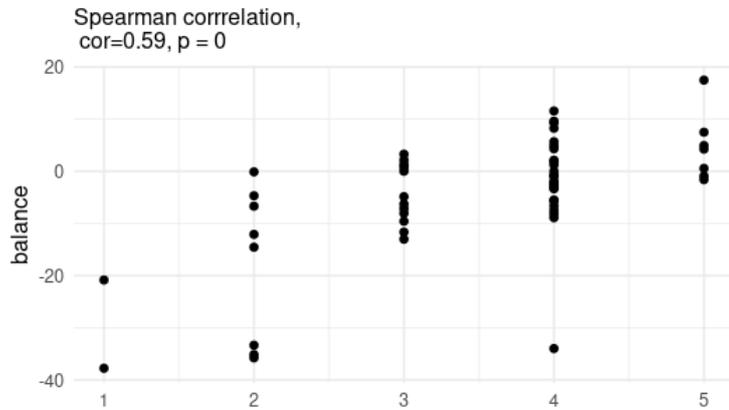
Таблица 3.5 – Статистическая значимость ассоциации кишечной микробиоты пациентов и консистенции стула по Бристольской шкале

Показатель	Метод сравнения	Способ оценки показателя	р-значение	
			до лечения	изменение
Альфа-разнообразие	Корреляция Спирмена	Индекс Шеннона	0,993	0,187
		Индекс Chao1	0,742	0,325
Пропорции микробов	PERMANOVA	Расстояния Эйтчисона	0,054	0,191
Бета-разнообразие Брея-Кертиса	PERMANOVA	Бета-разнообразие Брея-Кертиса	0,132	-
Количество микробов	Корреляция Спирмена	qPCR	0,292	0,165

A)

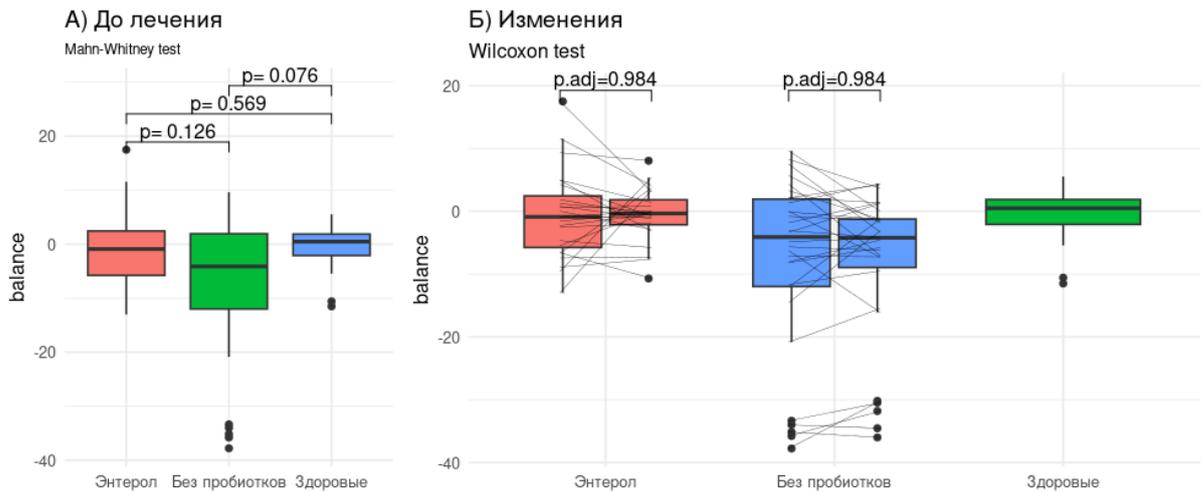


B)



A) Тепловая карта представленности этих микробов в образцах. Б) График балансов этих двух групп микробов в образцах. Баланс – величина, характеризующая на сколько порядков в среднем доля микробов «ассоциированных с жидким стулом» превосходит долю микробов «ассоциированных с твердым стулом» (среднее считается для каждого образца по всем парам микробов).

Рисунок 3.39 – Соотношение генитальных микробов, ассоциированных с консистенцией стула



А) сбалансированность выборки и отличия пациентов от здоровых; Б) изменение в ходе лечения.

Рисунок 3.40 – Соотношение микробов, ассоциированных с твердым и жидким стулом, в образцах здоровых и пациентов

Возникновение у девочек симптомов, связанных с половыми органами, не было связано ни с альфа-разнообразием микробиоты, ни с ее составом, ни с общим количеством микробов.

Результаты позволяют сделать вывод, что включение моноштаммового пробиотика *S. boulardii* CNCM I-745 в терапию детей с ИНДП и ЛОР-органов способствовало более быстрому купированию основных симптомов заболевания. Включение моноштаммового пробиотика *S. boulardii* CNCM I-745 с первых дней лечения детей, получавших антибактериальные препараты широкого спектра действия, препятствовало развитию и ускоряло регресс клинических проявлений ААС, как со стороны ЖКТ, так и экстраинтестинальных.

Таким образом, для оценки эффективности моноштаммового пробиотика, содержащего *S. boulardii* CNCM I-745 были сопоставлены полученные результаты, демонстрирующие клиническую и профилактическую эффективность монопробиотика с данными по состоянию микробиоты локусов, на уровне которых регистрировали симптомы нежелательных реакций при использовании АБП. При анализе установили, что еще до начала АБТ у пациентов с пневмонией наиболее существенным образом происходит перестройка орофарингеальной и генитальной микробиоты: регистрировали смещение пропорций бактерий,

снижение альфа-разнообразия микробиоты, увеличение общей численности микроорганизмов. В то же время состояние кишечной микробиоты отличалось от показателей здоровых детей лишь по соотношению пропорций основных микроорганизмов и бета-разнообразию Брея-Кертиса. Стоит заметить, что среди орофарингеальных микробов часто был обнаружен *Streptococcus pneumoniae*. На фоне АБТ в сравниваемых группах к концу лечения наблюдали снижение общего количества бактерий, что, вероятно, связано с действием АБП. Однако включение в терапию *S. boulardii* CNCM I-745 оказывало профилактический эффект в части развития стоматита, что, возможно, было ассоциировано с увеличением доли облигатных *Streptococcus*, *Haemophilus* и *Rothia*.

У пациентов с пневмонией изменение генитальной микробиоты проявлялось значимым повышением общего числа микробов, снижением альфа-разнообразия и пропорций микроорганизмов, а также прослеживались отличия по бета-разнообразию Брея-Кертиса в сравнении со здоровыми детьми. Микроорганизмы, ассоциированные со здоровьем, практически не встречались у пациенток, а микробы, ассоциированные с заболеванием, почти не регистрировались у здоровых девочек. Микробы, ассоциированные в нашем исследовании со здоровьем, описаны в литературе как комменсальные, характерные для генитальной микробиоты девочек.

В нашем исследовании у здоровых девочек в генитальной микробиоте присутствовали представители родов *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Ezakiella* и *Peptoniphilus*, а у пациенток сравниваемых групп их количество снижалось. Среди микробов, которые, детектировались в основном у пациенток с пневмонией, выявлены несколько известных условных патогенов: *Lactobacillus iners*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis*. Такое выраженное нарушение микробиоты согласуется со значительной частотой нежелательных явлений со стороны половых органов: гиперемия вульвы или выделения из влагалища наблюдались у половины участниц исследования. Несмотря на указанные факторы, у пациенток, больных пневмонией и получавших в период АБТ монопробиотик *S. boulardii* CNCM I-745, к окончанию лечения не было

зафиксировано сдвига ни в сторону здоровой микробиоты, ни в сторону более тяжелых дисбиотических нарушений. Фекальная микробиота оказалась единственным из изучавшихся локусов, которая существенно не изменилась в дебюте заболевания и до начала АБТ. Тем не менее стоит отметить отличие микробиоты больных от здоровых по составу – пропорциям основных микробов и бета-разнообразию Брея-Кертиса. На фоне использования монопробиотика *S. boulardii* CNCM I-745 альфа-разнообразие кишечной микробиоты пациентов, получавших АБТ, практически не изменилось, в образцах фекальной микробиоты не поменялось и общее количество микробов.

В связи с этим, можно заключить, что короткие курсы споросодержащих пробиотиков в частности *S. boulardii* CNCM I-745 мало влияют на состояние микробиома, особенно ЖКТ. Данное исследование подтверждает положительное влияние *S. boulardii* CNCM I-745 на здоровье госпитализированных пациентов с пневмонией, получавших АБТ: клинически препятствовало развитию ААС и способствовало более быстрому разрешению его симптомов со стороны ЖКТ (уменьшение вздутия живота, боли в животе, диарейного синдрома, снижение склонности к запорам). Данные о мультилокусном составе микробиоты, полученные с помощью новейших молекулярно-генетических методов свидетельствуют об изменениях, связанных как с болезнью, так и с лечением.

ГЛАВА 4. ОЦЕНКА ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ МУЛЬТИКОМПОНЕНТНОГО ПРОБИОТИКА ПРИ ААС У ДЕТЕЙ БОЛЬНЫХ ОСТРОЙ РЕСПИРАТОРНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

4.1. Оценка профилактической эффективности мультикомпонентного пробиотика при ААС у детей раннего возраста больных острой респираторной инфекцией

В исследование были включены 120 детей больных ОРИ средней степени тяжести (62 пациента ОГ и 58 ГС). Распределение пациентов по гендерному признаку представлены на Рисунке 4.1



Рисунок 4.1 – Распределение больных с острой респираторной инфекцией по гендерному признаку

Для решения поставленной задачи в наше исследование были включены две возрастные когорты: в 1 возрастную группу из 53 человек (44,2 %) входили дети от 1 года до 3 лет, во 2-ю возрастную группу из 67 человек (55,8 %) – от 3 до 7 лет (Рисунок 4.2). Средний возраст обследованных пациентов составил 39 ± 19 месяцев. Ме возраст обследованных пациентов – 38 месяцев (IQR 25-49 месяцев).

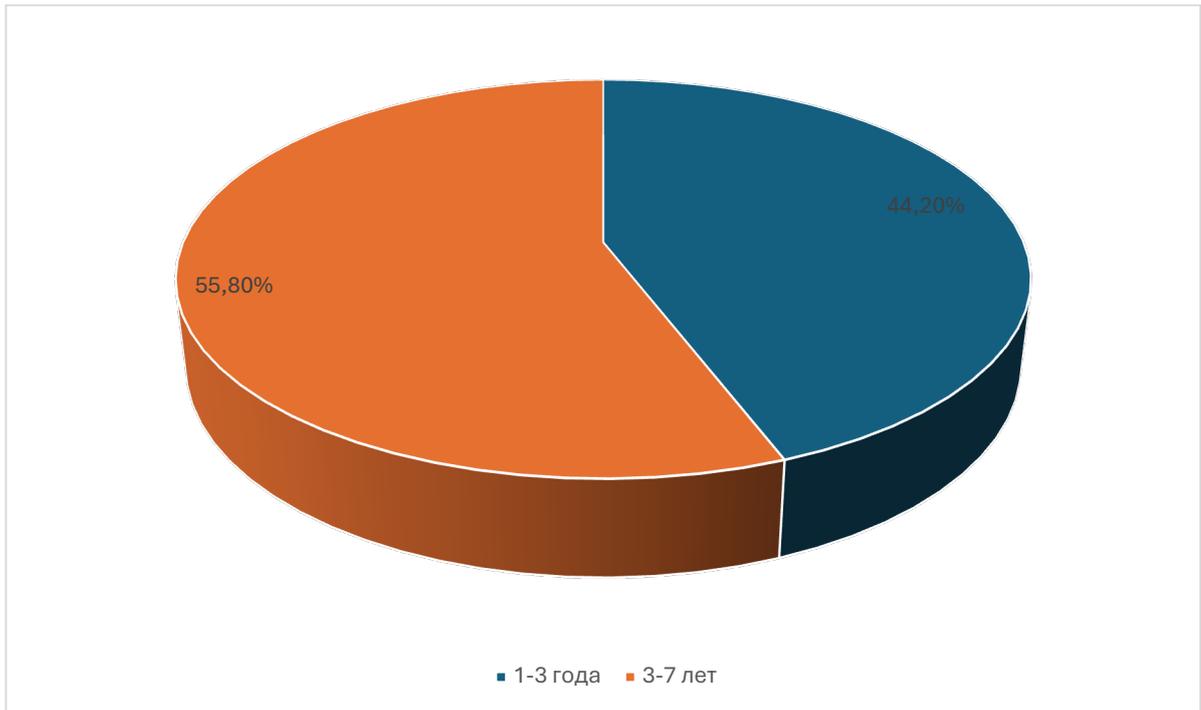


Рисунок 4.2 – Возрастная структура пациентов с ОРИ

В терапию пациентов, в зависимости от возрастной характеристики, были включены мультиштаммовые пробиотические комплексы у детей до 3 лет в состав которого входит 7 видов живых пробиотических бактерий в высоких концентрациях: *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *S. thermophilus*, *V. breve*, *V. infantis*, *V. longum* и у детей 3-7 лет, в состав которого входит 14 видов живых пробиотических бактерий в высоких концентрациях: *L. casei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *V. bifidum*, *V. breve*, *V. longum*, *L. acidophilus*, *L. lactis*, *St. thermophilus*, *V. infantis*, *L. bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. salivarius*, *L. Fermentum*.

Продолжительность лечения в стационаре пациентов обеих групп составила от 4 до 15 дней (Me 6 суток (IQR 5–7 суток). Продолжительность лечения в стационаре пациентов ОГ Me 6 дней IQR (5–7 суток) & Me 6 IQR (6–7 дней) в ГС).

При обследовании пациентов в соответствии с клиникой и лабораторными данными, были выявлены следующие заболевания, представленные в Таблице 4.1.

Таблица 4.1 – Структура заболеваемости ОРИ среди пациентов рандомизационных групп

Показатель	Категории	Рандомизационная группа		p
		Основная группа	Группа сравнения	
Диагноз клинический	Отит, абс (%)	1 (1,6)	0 (0,0)	0,405
	Пневмония, абс (%)	48 (77,4)	39 (67,2)	
	Пневмония+Синусит, абс (%)	0 (0,0)	1 (1,7)	
	Синусит, абс (%)	7 (11,3)	12 (20,7)	
	Синусит+отит, абс (%)	1 (1,6)	0 (0,0)	
	Тонзиллит, абс (%)	5 (8,1)	4 (6,9)	
	Тонзиллит+Ларингит, абс (%)	0 (0,0)	1 (1,7)	
	Тонзиллит+Синусит, абс (%)	0 (0,0)	1 (1,7)	

* – статистически значимое различие показателей ($p < 0,05$)

Пациенты сравниваемых групп были вполне сопоставимы по фоновой сопутствующей патологии.

Пациентам с ОРИ по показаниям в соответствии с анамнестическими, клиническими, лабораторными обследованиями назначалась антибактериальная терапия. Антибиотик назначали в соответствии с рекомендациями Союза педиатров РФ 2016, 2018, 2019, 2022 гг. АБТ была представлена следующими группами антибактериальных препаратов: цефалоспорины (цефотаксим, цефтриаксон) 58 пациентов (93,5 %) ОГ, 58 пациентов (100 %) ГС; смена Цефотаксима на Цефтриаксон – 3 человека (4,8 %) ОГ; Амикацин получал 1 пациент (1,6 %) ОГ.

Целью исследования, проведенного на данном этапе работы явилось изучение протективных свойств мультиштаммового пробиотического препарата на фоне применения антибактериальной терапии на состояние микробиома

желудочно-кишечного тракта и развитие антибиотик-ассоциированных осложнений при острых респираторных инфекциях у детей раннего возраста.

В рамках исследования при изучении возрастной когорты 1-3 года (1 группа) пациенты были распределены на 2 группы: основная группа (принимала АБП и пробиотический препарат) – 27 пациентов 50,9 % и ГС (пробиотическая терапия отсутствовала) – 26 пациентов 49,1 %.

В группе 1-3 лет распределение по гендерному признаку представлено 31 девочкой (58,5 %) и 22 мальчиками (41,5 %).

В большинстве случаев у пациентов ОГ и ГС была диагностирована пневмония – их было 17 (63,0 %) и 20 человек (76,9 %) соответственно, $p > 0,05$. Синусит был диагностирован у пациентов обеих групп: у 4 детей (14,8 %) ОГ, против 3 детей (11,5 %) ГС, $p > 0,05$. У 4 пациентов (14,8 %) ОГ и 1 пациента (3,8 %) ГС наблюдался тонзиллит, $p > 0,05$. У 1 пациента (3,7 %) ОГ был диагностирован отит, $p > 0,05$. Пневмония с сопутствующим синуситом были диагностированы у 1 пациента (3,8 %) ГС, $p > 0,05$. Синусит с сопутствующим отитом наблюдался у 1 пациента (3,7 %) ОГ, $p > 0,05$. У 1 пациента (3,8 %) ГС был диагностирован тонзиллит с сопутствующим ларингитом, $p > 0,05$. Спектр заболеваний у пациентов сравниваемых групп демонстрирует отсутствие значимых различий (Таблица 4.2).

Пациенты 1 когорты сравниваемых групп получали АБТ, данные представлены в таблице 4.2, которая представлена следующими группами АБП: аминогликозиды (амикацин) получал 1 пациент 3,7 % ОГ, цефалоспорины (цефотаксим, цефтриаксон) – 25 человек (92,6 %) в ОГ, 26 человек (100 %) ГС, и АБТ со сменой АБП (цефотаксим на цефтриаксон) произошла у 1 человека (3,7 %) ОГ. Длительность АБТ составила от 5 до 15 дней (Me 6 дней IQR (5-7 дней) в ОГ & Me 6 IQR (5-7 дней) в ГС).

Таблица 4.2 – Характеристика детей возрастной группы 1-3 года

Показатели	Категории	Рандомизационная группа		p
		Основная группа	Группа сравнения	
1	2	3	4	5
Возрастная группа	Возраст 1-3 года, абс (%)	27 (100,0)	26 (100,0)	–
Пол	женский пол, абс (%)	17 (63,0)	14 (53,8)	0,501
	мужской пол, абс (%)	10 (37,0)	12 (46,2)	
Диагноз клинический	Отит, абс (%)	1 (3,7)	0 (0,0)	0,404
	Пневмония, абс (%)	17 (63,0)	20 (76,9)	
	Пневмония+Синусит, абс (%)	0 (0,0)	1 (3,8)	
	Синусит, абс(%)	4 (14,8)	3 (11,5)	
	Синусит+отит, абс (%)	1 (3,7)	0 (0,0)	
	Тонзиллит, абс (%)	4 (14,8)	1 (3,8)	
	Тонзиллит+Ларингит, абс (%)	0 (0,0)	1 (3,8)	
Пневмония	наличие, абс (%)	17 (63,0)	21 (80,8)	0,224
Тонзиллит	наличие, абс (%)	4 (14,8)	2 (7,7)	0,669
Синусит	наличие, абс (%)	5 (18,5)	4 (15,4)	1,000
Отит	наличие, абс (%)	2 (7,4)	0 (0,0)	0,491
Ларингит	наличие, абс (%)	0 (0,0)	1 (3,8)	0,491
Фебрильные судороги	наличие, абс (%)	1 (3,7)	0 (0,0)	1,000
Группа АБП	Аминогликозиды, абс (%)	1 (3,7)	0 (0,0)	0,547
	Цефалоспорины, абс (%)	25 (92,6)	26 (100,0)	
	Цефотаксим, смена на Цефтриаксон, абс (%)	1 (3,7)	0 (0,0)	
Цефотаксим	наличие, абс (%)	23 (85,2)	22 (84,6)	1,000
Цефтриаксон	наличие, абс (%)	4 (14,8)	4 (15,4)	1,000
Амикацин	наличие, абс (%)	1 (3,7)	0 (0,0)	1,000
Глицериновая свеча	наличие, абс (%)	1 (3,7)	2 (7,7)	0,610
Родоразрешение	самопроизвольное, абс (%)	24 (88,9)	21 (80,8)	0,467
	кесарево сечение, абс (%)	3 (11,1)	5 (19,2)	

Продолжение таблицы 4.2

1	2	3	4	5
Характер вскармливания	грудное вскармливание, абс (%)	24 (88,9)	21 (80,8)	0,554
	искусственное вскармливание, абс (%)	2 (7,4)	2 (7,7)	
	смешанное вскармливание, абс (%)	1 (3,7)	3 (11,5)	

* – статистически значимое различие показателей ($p < 0,05$)

Таким образом пациенты сравниваемых групп были однородны по полу, возрасту, характеру вскармливания, способу родоразрешения, заболеванию (ОРИ), сопутствующей патологии, назначенному АБП, частоте стула, его оценке по БШ.

При анализе клинических проявлений болезни группы детей раннего возраста мы обратили внимание, что в сравниваемых группах у всех пациентов доминировали симптомы интоксикации.

Так, при поступлении в стационар у пациентов раннего возраста обеих сравниваемых групп регистрировали лихорадку до фебрильных цифр. При выписке из стационара температура снижалась до нормальных цифр в обеих группах. В ходе оценки температурных кривых была отмечена следующая тенденция купирования лихорадки, у пациентов ОГ снижение температуры в течение первых суток отмечалось у 10 детей (37,0 %) и только у 5 детей (19,2 %) в ГС. На 3 сутки у 22 детей (81,5 %) ОГ отмечалось купирование лихорадки, в то время как в ГС лишь у половины детей – 14 детей (53,8 %), $p=0,042$ (Рисунок 4.3). Продолжительность лихорадки в ОГ (Me) составила 2 суток (IQR 1-2 суток), в ГС – Me 2 суток (IQR 2-3 суток), $p=0,033$ (Рисунок 4.4).

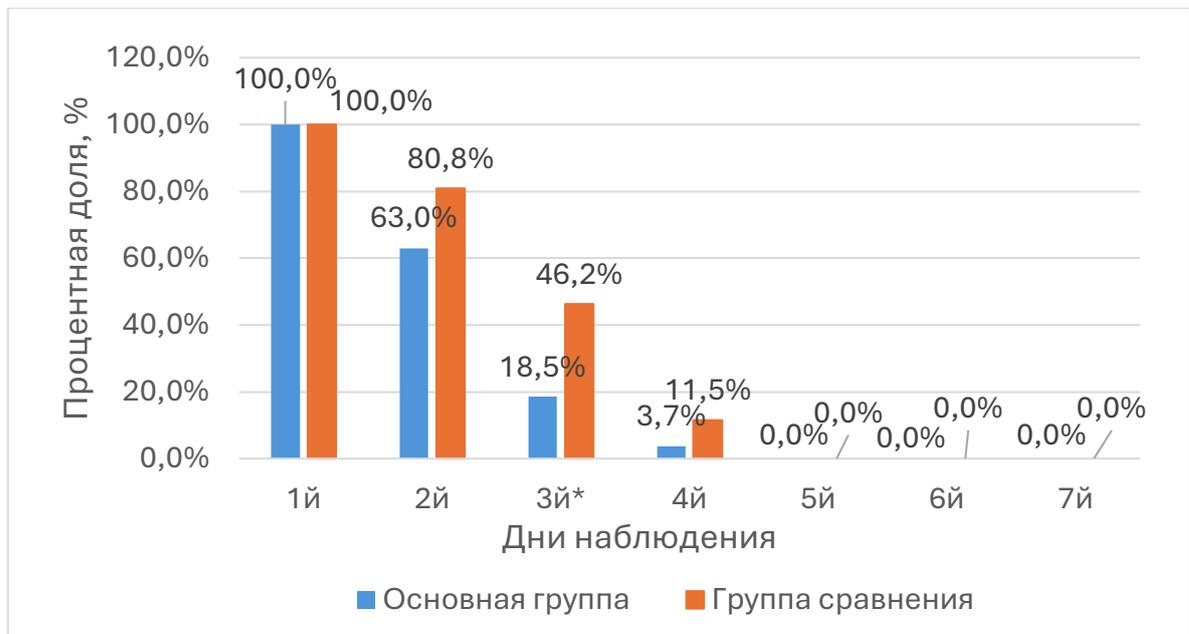


Рисунок 4.3 – Доля пациентов с лихорадкой в возрастной группе 1-3 года в сравниваемых группах в динамике

* – различия показателей статистически значимы ($p=0,042$)

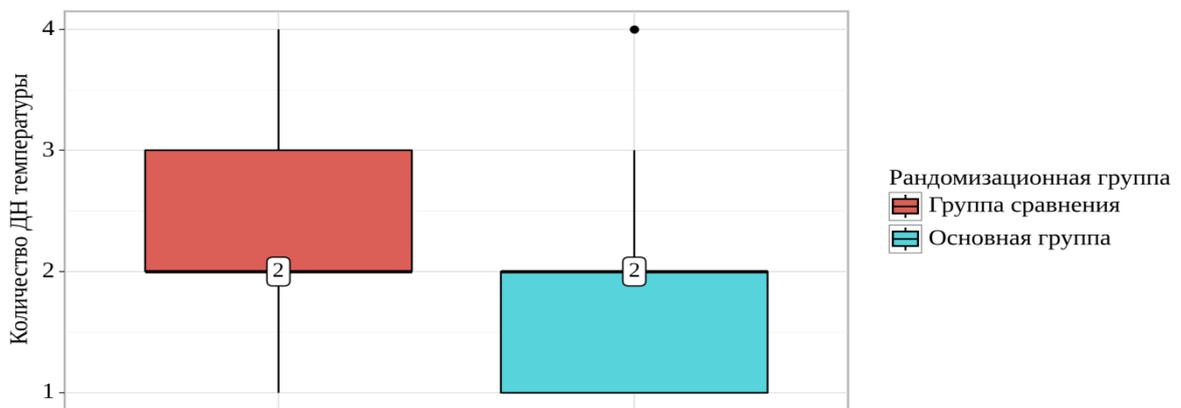


Рисунок 4.4 – Анализ продолжительности лихорадки в 1 возрастной когорте зависимости от рандомизационной группы

Нами было проанализировано самочувствие пациентов до начала терапии, установлено, что у 72 % обследованных детей отметили повышенную раздражительность: ОГ – 20 человек (74,1 %), ГС – 18 человек (69,2 %) (Рисунок 4.5). Мы зарегистрировали улучшение самочувствия к 3 суткам наблюдения у трети детей сравниваемых групп. К моменту выписки из стационара (7 ± 2 дня) выраженная раздражительность сохранялась в 11,1 % наблюдений в ОГ

и в 57,7 % – в ГС, $p < 0,001$. В большинстве случаев беспокойство детей ГС мы связывали с желудочно-кишечным дискомфортом (метеоризм и боли в животе).

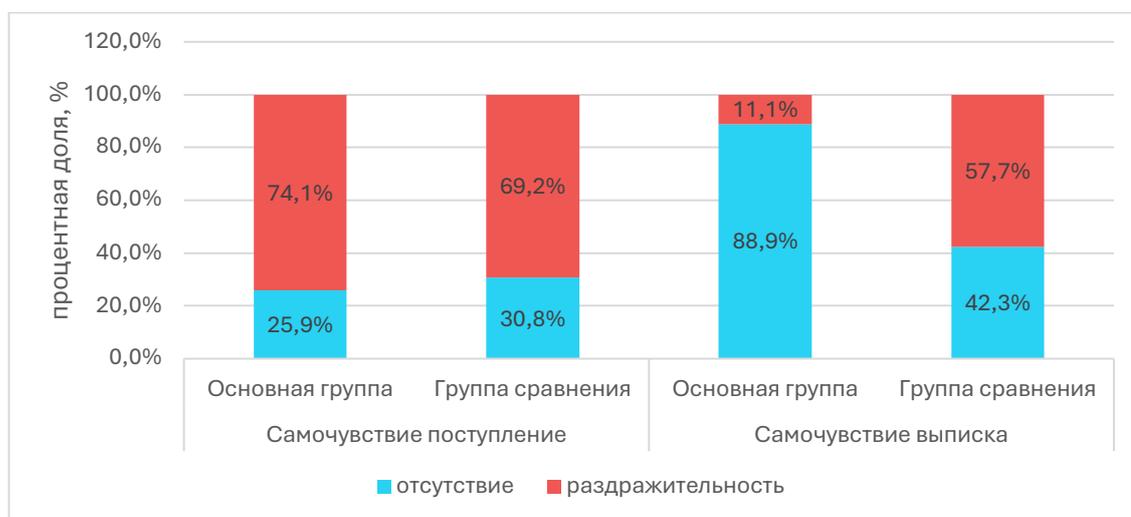


Рисунок 4.5 – Анализ динамики самочувствия пациентов в зависимости от рандомизационной группы

Межгрупповое сравнение к окончанию АБТ показало снижение выраженности симптомов интоксикации у пациентов обеих групп. Применение пробиотической коррекции позволило достоверно снизить температуру у трети пациентов в первые сутки. Общая продолжительность лихорадки у детей в обеих группах не превышала 4 суток. При этом более чем у половины детей без пробиотиков сохранялась повышенная раздражительность после завершения АБТ.

В период стационарного лечения и в течение двух недель после него мы оценивали выраженности симптомов со стороны желудочно-кишечного тракта у пациентов первой возрастной группы.

Снижение аппетита наблюдали у пациентов обеих сравниваемых групп раннего возраста. У пациентов без пробиотической коррекции при поступлении снижение аппетита регистрировали у 11 пациентов (42,3 %), у пациентов с применением пробиотической коррекции – у 11 (40,7 %). На момент окончания АБТ терапии снижение аппетита наблюдалось в ГС – у 12 человек (46,2 %), в ОГ у 6 человек (22,2 %), $p = 0,086$.

При оценке продолжительности снижения аппетита во время стационарного лечения было выявлено, что снижение аппетита длительностью ≤ 3 суток наблюдалось у 21 пациента (77,8 %) ОГ и у 17 пациентов (65,4 %) из ГС. В то же время продолжительность снижения аппетита более 3 суток в ОГ была зарегистрирована у 2 пациентов (7,4 %), и у 6 пациентов (23,1 %) в ГС. После выписки из стационара у пациентов обеих групп отмечалось снижение аппетита, однако нормализация аппетита отмечалась у большинства – 19 пациентов (70,4 %) в ОГ, тогда как в ГС этот показатель составил 11 пациентов (42,3 %). Снижение аппетита продолжительностью более 3 суток регистрировалось у 5 пациентов (19,2 %) ГС и у одного пациента (3,7 %) ОГ, (Таблица 4.3, Рисунок 4.6).

В ходе наблюдения было установлено, что в ОГ продолжительность снижения аппетита за все время наблюдения (Me) составила 1 сутки (IQR 1-3 суток), а в ГС Me 3 суток (IQR от 1 до 5 суток).

Таблица 4.3 – Анализ динамики снижения аппетита в группе детей раннего возраста в зависимости от рандомизационной группы

Рандомизационная группа	Показатели	Этапы наблюдения				p
		Снижение аппетита (7±2 дня)		Снижение аппетита (21±2 дня)		
		Абс.	%	Абс.	%	
Основная группа	отсутствие	4	14,8	19	70,4	0,001*
	≤ 3 суток	21	77,8	7	25,9	
	> 3 суток	2	7,4	1	3,7	
Группа сравнения	отсутствие	3	11,5	11	42,3	0,050*
	≤ 3 суток	17	65,4	10	38,5	
	> 3 суток	6	23,1	5	19,2	
p		0,280		0,070		–

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

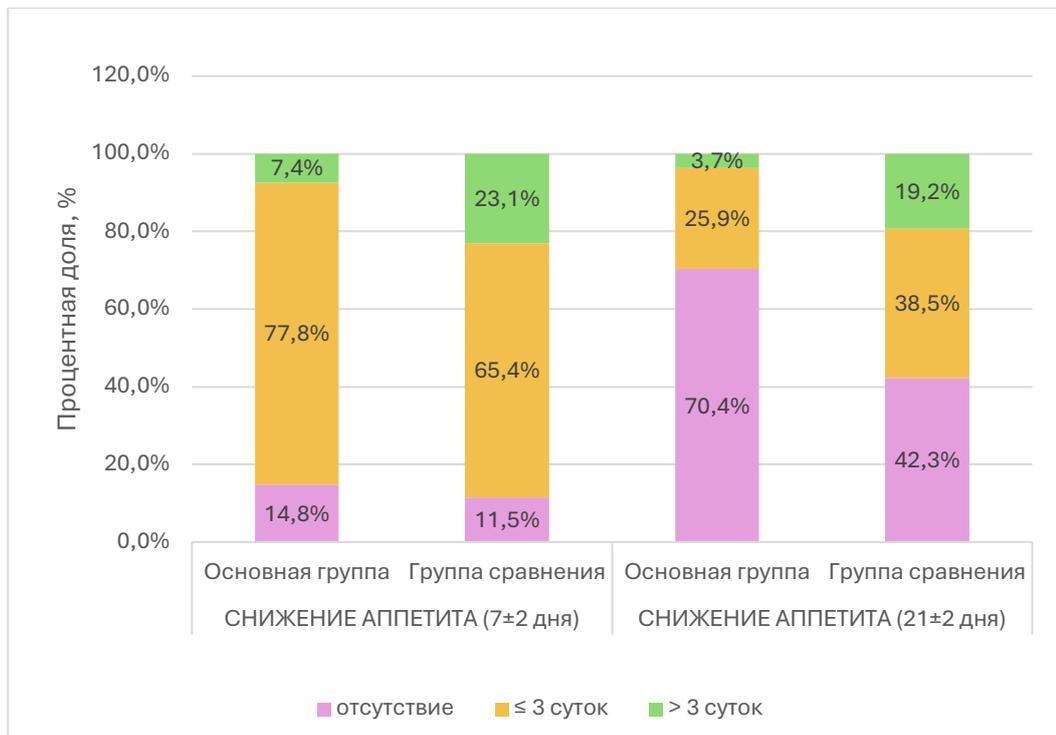


Рисунок 4.6 – Продолжительность снижения аппетита в зависимости от рандомизационной группы за весь период наблюдения

Таким образом, подключение к базисной антибактериальной терапии мультикомпонентного пробиотика также значительно сокращало продолжительность снижения аппетита среди пациентов, а в период восстановления способствовало сохранению аппетита.

В ходе исследования было установлено, что у 8 детей раннего возраста (29,6 %) ОГ и у 15 детей раннего возраста (57,7 %) ГС наблюдались боли в животе ($p=0,039$) (Рисунок 4.7).

Среди пациентов обеих сравниваемых групп при поступлении одинаково выявляли боли в животе: в ОГ у 1 человека (3,7 %) и у 1 человека (3,8 %) в ГС. К моменту завершения АБТ боли в животе отмечали у 1 человека (3,7 %) в ОГ и у 4 человек (15,4 %) ГС, $p=0,180$. За время пребывания в стационаре боли в животе регистрировали у большинства пациентов ГС – 14 человек (53,8 %), и только у 8 человек (29,6 %) ОГ, $p=0,074$. В период восстановления после АБТ боли в животе фиксировали среди 12 человек ГС, в ОГ боли в животе отмечались лишь у 3 человек (11,1 %), $p=0,006$. Мы ежедневно регистрировали проявление боли в

животе у детей и оценили продолжительность проявления симптома среди пациентов сравниваемых групп во время лечения в стационаре, и в период после окончания АБТ (Таблица 4.4).

Продолжительность боли в животе (Ме) у пациентов ОГ составила 0 суток (IQR от 0 до 1 суток), в ГС Ме составила 1 сутки (IQR от 0 до 2 суток), $p=0,026$.

Таким образом включение мультипробиотика в терапию детей, способствовало уменьшению и сокращению продолжительности проявлений болей в животе.

Таблица 4.4 – Анализ боли в животе в зависимости от рандомизационной группы в динамике (* – $p < 0,05$).

Рандомизационная группа	Показатели	Этапы наблюдения				p
		Боль в животе стационарный период		Боль в животе после выписки		
		Абс.	%	Абс.	%	
Основная группа	отсутствие	19	70,4	24	88,9	0,025*
	≤ 3 суток	8	29,6	3	11,1	
Группа сравнения	отсутствие	12	46,2	14	53,8	0,317
	≤ 3 суток	14	53,8	12	46,2	
p		0,074		0,006*		–

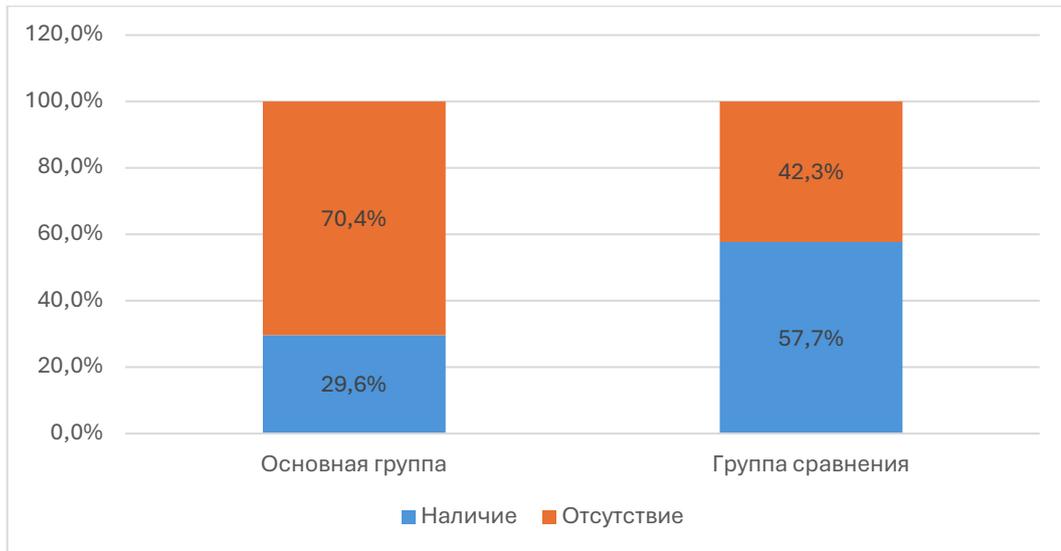


Рисунок 4.7 – Анализ проявления симптома «боли в животе» у пациентов в зависимости от рандомизационной группы за весь период наблюдения

На момент поступления у пациентов обеих групп отмечались признаки метеоризма: в ОГ у 6 человек (22,2 %), в ГС у 7 человек (26,9 %). К моменту окончания стационарного лечения в ГС доля пациентов с проявлением вздутия живота выросла в 2 раза – 16 детей (61,5 %), $p=0,020$, в ОГ была отмечена обратная тенденция доля пациентов с метеоризмом снизилась в 2 раза – 3 ребенка (11,1 %), $p=0,317$, ($p < 0,001$).

В течение всего периода наблюдения у пациентов отмечался метеоризм. При анализе продолжительность проявления симптома у пациентов за стационарный период в ОГ не превышала 3 суток у 21 пациента (77,8 %), в ГС у 4 пациентов (15,4 %) метеоризм проявлялся более 3 суток, и у 19 человек (73,1 %) не превышал 3 суток, $p=0,079$. После окончания стационарного лечения метеоризм фиксировали в ГС более 3 дней у 3 детей (11,5 %), менее 3 суток у 16 человек (61,5 %), в ОГ продолжительность метеоризма не превышало 3 дней у 11 пациентов (40,7 %), $p=0,024$.

Мы оценили продолжительность проявления вздутия живота за весь период наблюдения (Me) в ОГ 2 суток (IQR 1-2 сутки), в ГС Me составила 5 суток (IQR 3-6 суток), $p < 0,001$.

Таблица 4.5 – Оценка вздутия живота у пациентов возрастной когорты 1-3 года в динамике в зависимости от рандомизационной группы (*- $p < 0,05$)

Рандомизационная группа	Показатели	Этапы наблюдения				p
		Живот вздут при поступлении		Живот вздут выписки		
		Абс.	%	Абс.	%	
Основная группа	отсутствие	21	77,8	24	88,9	0,317
	наличие	6	22,2	3	11,1	
Группа сравнения	отсутствие	19	73,1	10	38,5	0,020*
	наличие	7	26,9	16	61,5	
p		0,757		<0,001*		–

Таким образом у детей без пробиотической коррекции чаще фиксировали метеоризм к моменту завершения стационарного лечения. В период восстановления после АБТ метеоризм регистрировали в обеих группах, но продолжительность проявления симптома в группе с пробиотической коррекцией не превышала 3 суток. На протяжении всего периода стационарного лечения и восстановления в ГС метеоризм регистрировался в два раза дольше, чем в ОГ.

В ходе наблюдения задержка стула была зарегистрирована у 26 пациентов (96,3 %) ОГ и у 23 пациентов (88,5%) ГС из первой возрастной когорты сравниваемых групп. При анализе отсутствия дефекации в динамике у пациентов сравниваемых групп в ОГ за время пребывания в стационаре продолжительность задержки стула более 3 суток встречалась у 2 человек (7,7 %), не превышала 3 суток у 22 человек (84,6 %), после окончания АБТ у пациентов ОГ проявление задержки стула более 3 суток встречалось у 1 пациента (3,8 %), менее 3 суток у 14 человек (53,8 %), $p=0,012$. В ГС за время пребывания в стационаре продолжительность задержки стула не превышала 3 суток у 20 детей (76,9 %), после окончания терапии задержка стула не превышала 3 суток у 19 детей (73,1

%). Продолжительность (Me) задержки дефекации у детей возрастной когорты 1-3 года обеих групп составила 2 суток (IQR 2-3 суток).

В период наблюдения за пациентами мы регистрировали увеличение или уменьшение кратности стула. До начала АБТ ни у одного из наблюдаемых детей первого года жизни частота стула не превышала 3 раз в сутки. По завершении АБТ учащение стула до пяти раз в сутки было отмечено у двух пациентов (7,4 %) ОГ и у 22 детей (84,6 %) в ГС ($p < 0,001$). Через 21 ± 2 дня от начала терапии у большинства наблюдаемых пациентов частота стула нормализовалась. У 7 детей (26 %) ГС, и у 2 детей (7,4 %) из ОГ сохранялось учащение стула по сравнению с моментом поступления, максимально до 3 раз в сутки, $p=0,08$.

Итак, на момент завершения АБТ у большинства пациентов ГС отмечали увеличение кратности стула. Тем не менее в период восстановления после АБТ кратность стула нормализовалась у большинства пациентов обеих сравниваемых групп, однако в группе без мультипробиотика у 26 % сохранялось учащение дефекации.

Таким образом, исследование наглядно продемонстрировало, что применение мультипробиотического препарата в сочетании с АБТ у детей характеризуется благоприятным профилем безопасности и приводит к снижению интенсивности синдрома интоксикации и желудочно-кишечных нарушений по сравнению с детьми, получавшими только АБТ без пробиотической поддержки.

У пациентов сравниваемых групп на первом этапе проводилась визуальная оценка характера стула. Сопоставлялись попарно 3 временные точки. Анализ характеристик стула проводился с использованием Бристольской шкалы. В ходе клинической оценки ни у одного пациента ОГ и ГС не было обнаружено крови в стуле.

В процессе наблюдения регистрировались различные типы стула по Бристольской шкале – от 1 до 7. На момент поступления у пациентов ОГ и ГС при оценке кала по БШ преобладал 4 тип. В ОГ 15 пациентов (55,6 %), в ГС 11 пациентов (42,3 %), $p > 0,05$. После проведенного лечения антибактериальными препаратами в группе с пробиотической коррекцией у большей части пациентов

преобладал 4 тип кала по Бристольской шкале – 11 пациентов (40,7 %). В группе без пробиотической коррекции при оценке характер стула по бристольской шкале преобладали 6 тип – 12 человек (46,2 %), 5 тип – 6 человек (23,1 %) и у 2 человек (7,7 %) встречался 7 тип кала. Через 21 ± 2 дня от начала терапии у большинства наблюдаемых пациентов сравниваемых групп произошла нормализация характеристики кала по Бристольской шкале. В ОГ преваляировал 4 тип – у 25 ребенка (96,2 %), 5 тип встречался лишь у 1 пациента 3,7 %. В ГС у большинства детей отмечался 5 тип у 10 детей (38,5 %) и 4 тип наблюдался у 9 детей (34,6 %) (Рисунок 4.8). Для удобства оценки у детей раннего возраста мы определяли кал с 1-го по 3-й вид как замедление транзита, 4-й и 5-й вид считали физиологическим вариантом, с 6-го по 7-й вид – ускорение транзита, данные представлены на Рисунке 4.9.

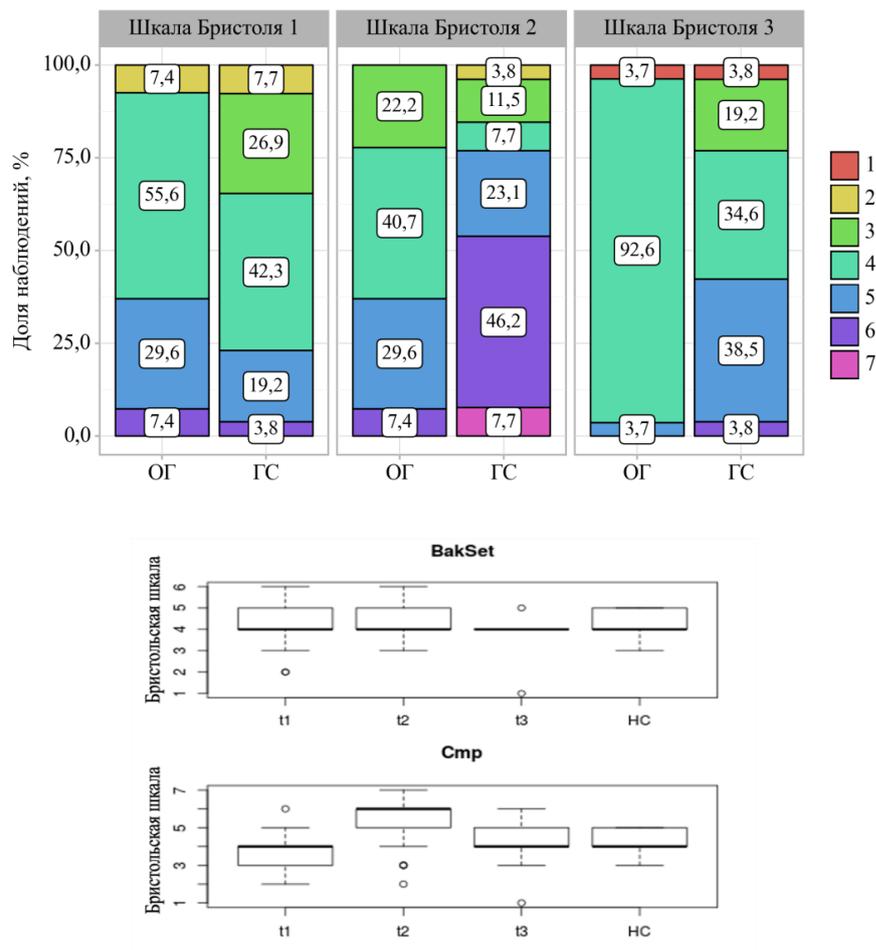


Рисунок 4.8 – Анализ динамики характера стула при оценке по Бристольской шкале в зависимости от рандомизационной группы у детей раннего возраста

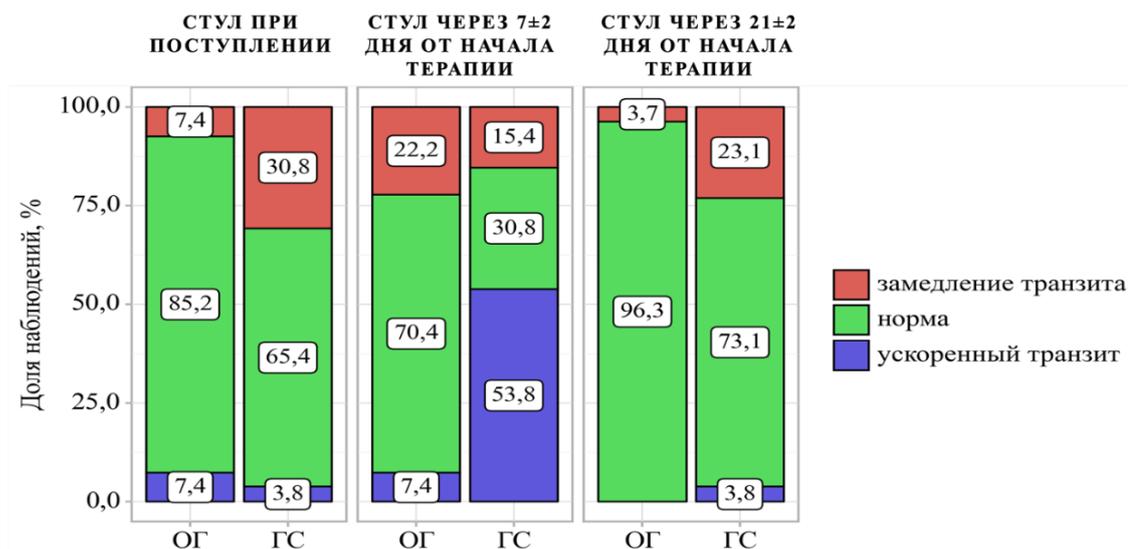


Рисунок 4.9 – Динамика характера стула при оценке по Бристольской шкале в сравниваемых подгруппах в группе детей 1-3 лет

При анализе консистенции кала по Бристольской шкале в ОГ не было обнаружено статистически значимых изменений (парный тест Вилкоксона). В ГС наблюдалось значимое увеличение оценки во временной точке 2 ($p=0,0080$, парный тест Вилкоксона), однако к 3 временной точке происходило возвращение к первоначальным значениям (для точек t_1 и t_2 $p=0,0112$; для t_1 и t_3 $p=0,2174$).

При сравнении изменений консистенции кала между группами было выявлено, что в ГС наблюдалось более выраженное повышение балла по Бристольской шкале от точки 1 к точке 2 по сравнению с ОГ. Среднее изменение баллов составило $-0,1363$ в ОГ и $1,39$ в ГС (тест Манна-Уитни, $p=0,0023$). Также было отмечено, что снижение балла к 3 точке было значимо больше в ГС по сравнению с основной группой ($p=0,0429$).

Для определения того, отличалась ли у пациентов консистенция кала от таковой у здоровых детей, было проведено сравнение образцов, полученных у детей из обеих групп в каждой временной точке с образцами группы здоровых. С учетом поправки на множественное сравнение значимых результатов найдено не было ни для одной из групп ни в одной точке времени. Среди всех сопоставлений

наиболее значимые отличия – однако не достигнувшие порога значимости – наблюдались между ГЗ и ГС во второй точке ($p=0,074$, критерий Манна-Уитни).

Таким образом, анализ возрастной группы от 1 года до 3 лет показал, что в ходе терапии у пациентов ОГ не было отмечено значимых изменений консистенции кала. В то же время в ГС этот показатель в процессе АБТ увеличился между точками 1 и 2, перейдя в область умеренной диареи. Эти изменения статистически значимо превышают изменения в ОГ.

После завершения АБТ консистенция стула участников ГС возвратилась к первоначальному состоянию.

Полученные результаты позволяют предположить, что прием 7-компонентного мультипробиотического препарата способствует поддержанию нормальной консистенции кала во время АБТ и после нее в периоде восстановления.

В период стационарного лечения пациентам было проведено копрологическое исследование, включающее оценку основных клинико-лабораторных синдромов, которые отражают нарушение полостного пищеварения: креаторея, стеаторея I и II типа, амилорея, лиенторея и лейкорея.

В процессе АБТ в ОГ у 40,7 % детей наблюдалось уменьшение креатореи. В то же время в ГС показатели не изменились в 69,2 % случаев, а в 23,1 % случаев проявления креатореи усилились ($p=0,020$). При оценке стеатореи I типа улучшение было отмечено у 44,4 % пациентов. В ГС у 42,3 % детей фиксировалось ухудшение показателей, $p=0,043$. При анализе амилореи также отмечали улучшение показателей в ОГ у 48,1 % пациентов, в ГС у большинства детей 46,2 % отмечалось сохранение амилореи и ухудшение показателей в 34,6 % случаев. При оценке лиентореи у 51,9 % пациентов ОГ уменьшилось выделение непереваренной клетчатки, в то время как в ГС у большинства детей 34,6 % лиенторея сохранялась и отмечали ухудшение показателей в 42,3 % случаев. При анализе выделения переваренной клетчатки также отмечали улучшение показателей в ОГ – у 40,7 % детей, в ГС напротив фиксировали увеличение выделения переваренной клетчатки – у 46,2 % пациентов. При анализе лейкореи

замечена тенденция к улучшению показателей в группе с включением мультикомпонентного пробиотика, в ГС проявление лейкореи осталось неизменным у большинства пациентов 84,6 %. В группе без пробиотика отмечали у 15,4 % детей появление йодофильной флоры и дрожжеподобного грибка у 34,6 % в кале, в ОГ йодофильный грибок появился только у 3,7 % пациентов, а выявление дрожжеподобного флоры уменьшилось у 18,5 %, результаты представлены в Таблице 4.6.

Таблица 4.6 – Динамика копрологических показателей у пациентов с ОРИ возрастной группы 1-3 года

Показатели	Категории	Рандомизационная группа		p
		Основная группа	Группа сравнения	
1	2	3	4	5
Оценка креатореи	также	12 (44,4)	18 (69,2)	0,020*
	хуже	4 (14,8)	6 (23,1)	
	лучше	11 (40,7)	2 (7,7)	
Оценка стеатореи 1	также	10 (37,0)	11 (42,3)	0,043*
	хуже	5 (18,5)	11 (42,3)	
	лучше	12 (44,4)	4 (15,4)	
Оценка амилореи после	также	11 (40,7)	12 (46,2)	0,037*
	хуже	3 (11,1)	9 (34,6)	
	лучше	13 (48,1)	5 (19,2)	
Оценка неперевариваемой клетчатки	также	10 (37,0)	9 (34,6)	0,020*
	хуже	3 (11,1)	11 (42,3)	
	лучше	14 (51,9)	6 (23,1)	
Оценка перевариваемой клетчатки	также	11 (40,7)	11 (42,3)	0,024*
	хуже	5 (18,5)	12 (46,2)	
	лучше	11 (40,7)	3 (11,5)	

Продолжение таблицы 4.6

1	2	3	4	5
Оценка лейкореи	также	20 (74,1)	22 (84,6)	0,098
	хуже	1 (3,7)	3 (11,5)	
	лучше	6 (22,2)	1 (3,8)	
Оценка йодофильной флоры	также	26 (96,3)	22 (84,6)	0,070
	хуже	0 (0,0)	4 (15,4)	
	лучше	1 (3,7)	0 (0,0)	
Оценка дрожжеподобного грибка	также	19 (70,4)	17 (65,4)	0,017*
	хуже	3 (11,1)	9 (34,6)	
	лучше	5 (18,5)	0 (0,0)	

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$).

Таким образом, применение пробиотической коррекции, согласно данным копрологического исследования, привело к достоверному уменьшению проявлений креатореи, стеатореи I типа, лейкореи, выделения перевариваемой клетчатки и лиентореи. Также было отмечено снижение количества йодофильной флоры. Это свидетельствует о восстановлении ферментативной активности поджелудочной железы (стеаторея I типа и лиенторея), а также об уменьшении симптомов ААС (лейкорей и слизь).

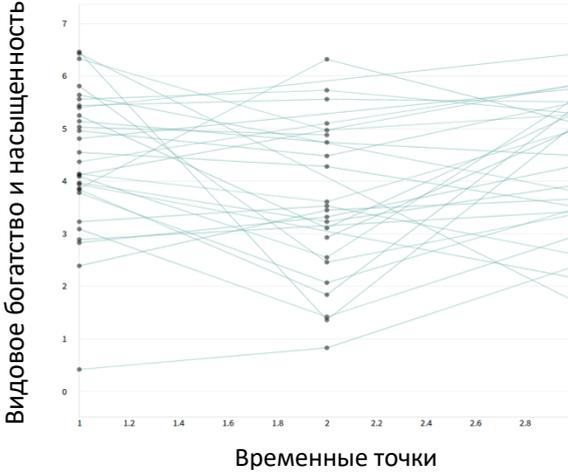
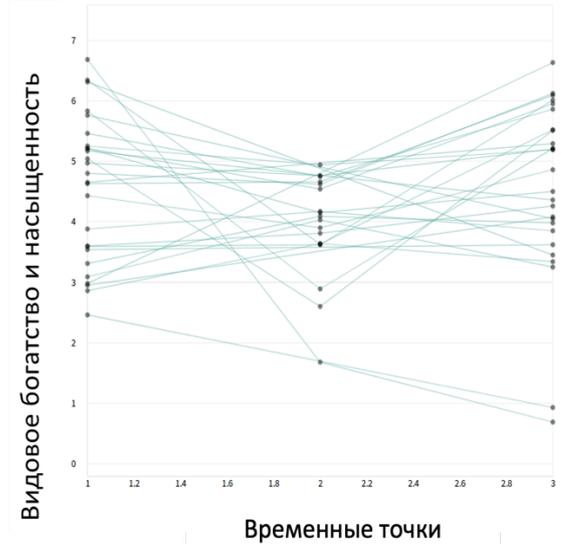
Следующим этапом нашей работы явилось изучение влияния АБТ на микробиом у пациентов I когорты в группах сравнения. Для этих целей определяли альфа-разнообразие, которое характеризует разнообразие микробного сообщества внутри конкретного образца. Оно оценивается с помощью двух индексов: Шеннона и Чоу. Индекс Шеннона оценивает равномерность представленности всех таксонов в образце, а индекс Чоу1 – количество различных видов.

При проведении попарного сравнения богатства микробиоты для каждой из обследуемых групп между всеми временными точками было зафиксировано значимое увеличение альфа-разнообразия после завершения АБТ от временной

точки 2 к 3 временной точке (парный тест Вилкоксона, в ОГ $p=0,0213$, в ГС $p=0,0230$). При этом степень увеличения альфа-разнообразия между двумя группами не различалась (ANCOVA, $p=0,7587$). Альфа-разнообразие на момент завершения наблюдения во временной точке 3 не имело значимых отличий от его значения до начала терапии во временной точке 1 (в ОГ $p=0,7241$, в ГС $p=0,5822$).

Таким образом, как в ОГ, так и в ГС наблюдалось повышение альфа-разнообразия в течение периода после АБТ с достижением его значений до начала терапии.

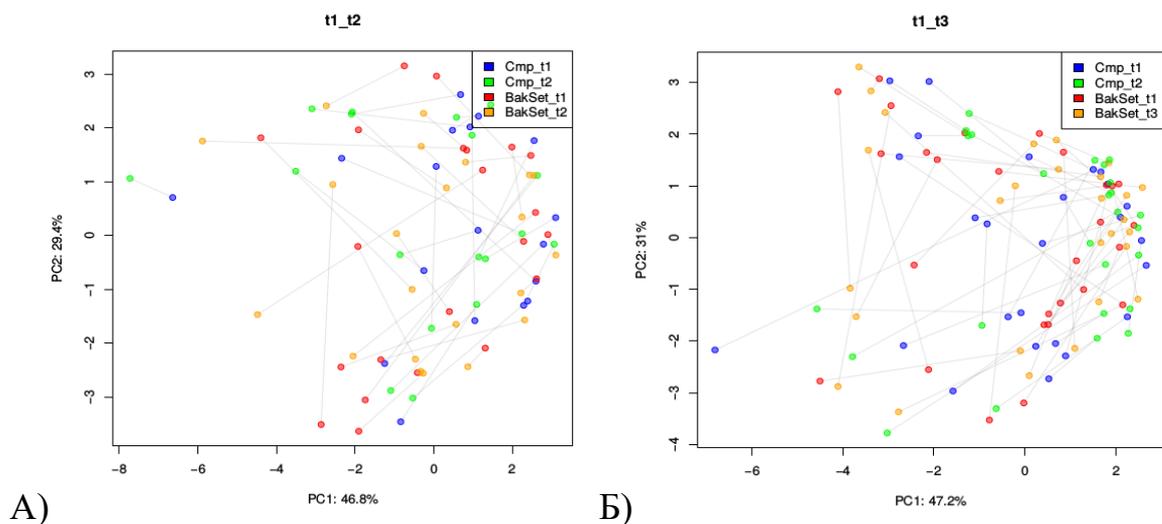
Таблица 4.7 – Изменение альфа-разнообразия в сравниваемых группах (возрастная группа 1-3 года) в ходе терапии

<u>Основная группа</u>	<u>Группа сравнения</u>
	
<p>$p_{t1-t2}=0,0951$ $p_{t2-t3}=0,0213$ $p_{t1-t3}=0,7241$</p>	<p>$p_{t1-t2}=0,1830$ $p_{t2-t3}=0,0230$ $p_{t1-t3}=0,5822$</p>

Бета-разнообразие, по метрике weighted UniFrac, между образцами ОГ и ГС было рассчитано для оценки изменений в составе микробиоты: в момент

поступления до начала терапии и на 7 ± 2 день от начала терапии; в момент поступления до начала терапии и на 21 ± 2 день от начала терапии (через 14 ± 2 дня после окончания АБТ).

Изменения состава микробиоты визуализированы на Рисунке 4.10. Затем с помощью теста Манна-Уитни было проведено межгрупповое сравнение полученных данных, не показавшее статистически значимых различий ($p > 0,05$).



А) Визуализация динамики состава микробиоты между 2 временными точками в момент поступления и 7 ± 2 день по методу главных координат (PCoA) по метрике UniFrac; Б) Визуализация динамики состава микробиоты между 2 временными точками в момент поступления и 21 ± 2 день по методу главных координат (PCoA) по метрике UniFrac. Каждая точка соответствует одному образцу. Цветом обозначены группа и время забора материала. Расстояния между точками приблизительно отображает бета-разнообразие (чем ближе расположены точки, тем сильнее они похожи по составу).

Рисунок 4.10 – Визуализация динамики состава микробиоты в возрастной группе 1-2 года между 3 временными точками по методу главных координат (PCoA) по метрике UniFrac

При анализе изменений состава микробиоты ОГ и ГС в каждую из 3 временных точек от состава микробиоты здоровых детей (с помощью метода PERMANOVA) не было установлено статистически значимых отличий ($p > 0,05$).

После предварительной обработки данных был проведён количественный таксономический анализ, в ходе которого определялось, к какому известному виду бактерий относится каждый рид 16S рРНК или его региона.

В основе анализа лежит понятие операционной таксономической единицы (ОТЕ, англ. operational taxonomic unit, OTU) – определение вида бактерий на основании одной лишь последовательности 16S рибосомной РНК.

В ходе анализа каждой из групп сравнения были определены таксономические единицы, доля которых существенно изменилась между любыми двумя временными точками. Затем применяя ANCOVA-анализ для каждого таксона, который изменился хотя бы в одной группе, было проверено, что эти изменения статистически отличаются от изменений в другой группе.

При анализе изменений представленности бактерий в ОГ за весь период курса, включая восстановление, значимых изменений не обнаружено. В ГС 1 возрастной группы наблюдалось увеличение представленности рода *Enterococcus* и снижение представленности родов *Coprococcus*, *Collinsella*, а также двух видов рода *Bifidobacterium* (неклассифицированного и *B. adolescentis*). Однако данные изменения статистически значимо не отличались от изменений в ОГ (ANCOVA $p > 0,05$).

В ОГ после завершения АБТ к концу периода восстановления наблюдалось увеличение доли отдела *Actinobacteria*, преимущественно за счет класса *Coriobacteriia*. В ГС отмечено значимое снижение доли рода *Enterococcus* и увеличение представленности родов *Coprococcus*, *Dorea*, *Clostridium*, SMB53 (семейство *Clostridiaceae*) и неклассифицированного рода семейства *Clostridiaceae*. Однако сравнение изменений в ОГ и ГС не выявило значимых различий между ними.

У пациентов ОГ от момента поступления до окончания периода восстановления не было обнаружено изменений. В ГС увеличилась доля неклассифицированного рода семейства *Clostridiaceae*, но сравнение этих изменений также не показало значимых отличий между группами.

Проведен анализ относительной представленности родов *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* в стуле участников. Поправка на множественное сравнение не применялась, поскольку указанные бактерии были выбраны в качестве целевых для исследования.

В ГС наблюдалось статистически значимое снижение представленности *Bifidobacterium* от момента поступления до момента выписки (на 7 ± 2 день после начала лечения) ($p=0,0079$, парный тест Стьюдента с использованием пакета R ALDEx2). В ОГ также отмечалось некоторое снижение представленности *Bifidobacterium*, но оно не было статистически достоверным ($p=0,0811$).

В ходе исследования возрастной когорты 1-3 года было выявлено, что в процессе АБТ у пациентов без пробиотической поддержки происходят изменения микробиоты дисбиотического характера. Это проявляется в увеличении доли оппортунистических энтерококков, снижении доли ряда комменсальных кластридий и уменьшении количества бифидобактерий. Стоит отметить, что эти изменения соответствуют клиническим проявлениям в виде умеренной диареи. После завершения АБТ наблюдалось восстановление микробиома: доля энтерококков снижалась до первоначального уровня, а доля комменсальных кластридий увеличивалась. В ОГ не было обнаружено значимых изменений ни для одного таксона, ни в одной паре временных точек, что соответствует незначительным изменениям консистенции кала.

Полученные данные позволяют предположить, что применение мультиштаммового пробиотика способствует сохранению стабильности микробиома как во время АБТ, так и в процессе восстановления после нее.

Результаты позволяют предположить, что прием препарата мультипробиотика способствует поддержанию стабильности состава микробиома в ходе АБТ и в период восстановления после нее.

Отдельно, с помощью алгоритма Deblur, определили микробный состав образцов полипробиотика, и проанализировали детектируются ли бактериальные виды, содержащиеся в пробиотическом препарате стуле у участников исследования. Для детектированных в образцах препарата бактериальных ДНК-последовательностей был проведен сравнительный анализ их представленности в образцах кала сравниваемых групп.

В образцах мультиштаммового препарата были установлены 6 уникальных последовательностей, соответствующих бактериям рода *Lactobacillus*, и 1 –

соответствующая роду *Bifidobacterium*, а также небольшое (до 0,41%) техногенное присутствие последовательностей неклассифицированных видов рода *Geobacterium*, исключенных из анализа (Рисунок 4.11). Так как анализ участка V4 16S рРНК не всегда позволяет точно разделить бактерии на уровне видов, дополнительно было проведено картирование ОТУ, найденных в образце, с помощью алгоритма BLAST на базу NCBI nr. Согласно этому анализу, в образцах детектируются все бактерии, указанные на упаковке препарата, кроме *Streptococcus thermophilus*.

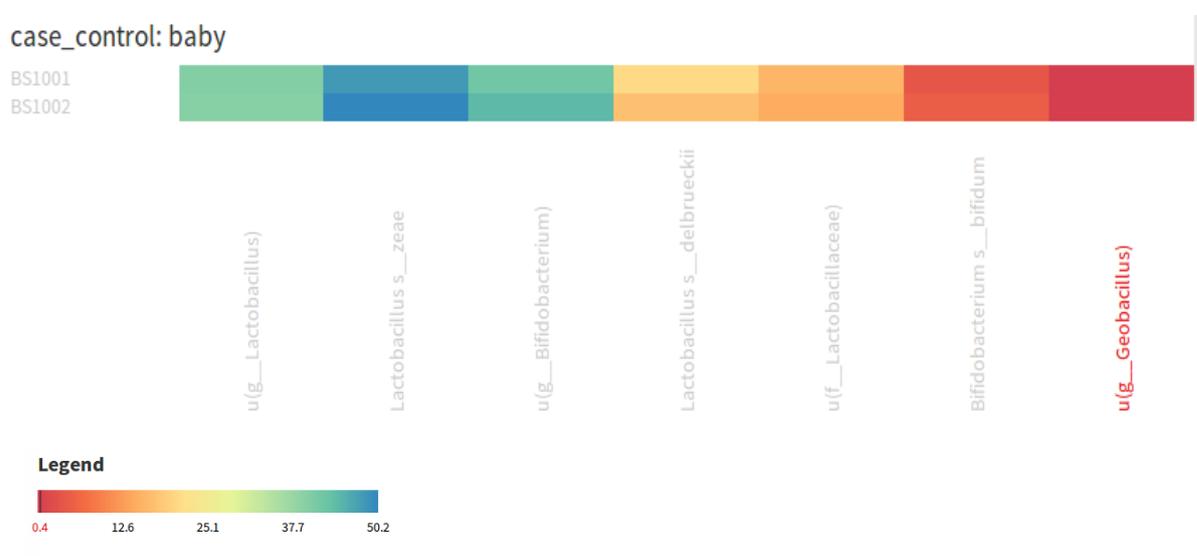


Рисунок 4.11 – Тепловая карта таксономического состава образцов пробиотического препарата на уровне видов

Важно отметить, что в период исследования ни у одного пациента ОГ не было отмечено побочных реакций на фоне применения мультипробиотического препарата.

В ходе катамнестического наблюдения, в течение 3 месяцев, нами оценивалось частота встречаемости эпизодов ОРИ и ОКИ у пациентов раннего возраста сравниваемых групп. (с целью определения ОРИ и ОКИ). Среди пациентов в ходе лечения, которых была включена пробиотическая терапия, в течение последующих 3 месяцев у 6 человек (22,2 %) фиксировали повторные

заболевания ОРИ, в ГС повторные эпизоды ОРИ регистрировали у 18 человек (69,2 %), $p < 0,001$.

Среди пациентов ОГ эпизоды ОКИ возникали у 5 человек (18,5 %), в то время как в ГС у 7 (26,9 %).

Таким образом включение пробиотической терапии в период АБТ, а также в последующие 14 дней (± 2 дня) способствует снижению частоты повторных эпизодов ОРИ в 3 раза, а также снижению частоты повторных эпизодов ОКИ.

4.2. Оценка профилактической эффективности мультикомпонентного пробиотика при ААС у детей дошкольного возраста больных острой респираторной инфекцией

Целью исследования, проведенного на данном этапе работы явилось изучение защитных свойств мультиштаммового пробиотического препарата на фоне использования антибактериальной терапии на состояние желудочно-кишечного тракта, микробиома и развитие антибиотик-ассоциированных осложнений при острых респираторных инфекциях у детей от 3 лет до 7 лет.

При анализе возрастной когорты 3-7 лет пациенты были распределены на 2 группы: основная группа (принимала мультиштаммовый пробиотический препарат) – 35 пациентов, 52,2 %, и группа сравнения (пробиотическая терапия отсутствовала) – 32 пациента, 47,8 %. В возрастной когорте 3-7 лет распределение по гендерному признаку представлено 36 девочками (53,7 %), 31 мальчиком (46,3 %).

Группы сравнения были сопоставимы по сопутствующей патологии. В большинстве случаев у пациентов ОГ и ГС была диагностирована пневмония – 31 (88,6 %) и 19 человек (59,4 %) соответственно, $p > 0,05$. Синусит был диагностирован у пациентов обеих групп: у 3 детей (9 %) ОГ, против 9 детей (28 %) ГС, $p > 0,05$. У 1 пациентов (3 %) ОГ и 4 пациентов (13 %) ГС наблюдался

тонзиллит, $p > 0,05$. Характер заболеваний в сравниваемых группах достоверных различий не имел (Таблица 4.8).

Таблица 4.8 – Характеристика детей возрастной группы 3-7 лет

Показатели	Категории	Рандомизационная группа		p
		Основная группа	Группа сравнения	
Возрастная группа	Возраст 3-7 лет, абс (%)	35 (100,0)	32 (100,0)	–
Пол	женский пол, абс (%)	21 (60,0)	15 (46,9)	0,282
	мужской пол, абс (%)	14 (40,0)	17 (53,1)	
Диагноз клинический	Пневмония, абс (%)	31 (88,6)	19 (59,4)	0,051
	Синусит, абс (%)	3 (8,6)	9 (28,1)	
	Тонзиллит, абс (%)	1 (2,9)	4 (12,5)	
	Тонзиллит+ пансинусит, абс (%)	0 (0,0)	1 (3,1)	
Группа АБТ (АБП)	Цефалоспорины, абс (%)	30 (85,7)	28 (87,5)	0,371
	Цефотаксим, смена на Цефтриаксон, абс (%)	5 (14,3)	4 (12,5)	
Глицериновая свеча	наличие, абс (%)	1 (2,9)	3 (9,4)	0,342
Цефотаксим	наличие, абс (%)	30 (85,7)	28 (87,5)	1,000
Цефтриаксон	наличие, абс (%)	7 (20,0)	4 (12,5)	0,517
Родоразрешение	самопроизвольное, абс (%)	31 (88,6)	29 (90,6)	1,000
	кесарево сечение, абс (%)	4 (11,4)	3 (9,4)	
Характер вскармливания	грудное вскармливание, абс (%)	25 (71,4)	26 (81,2)	0,621
	искусственное вскармливание, абс (%)	4 (11,4)	2 (6,2)	
	смешанное вскармливание, абс (%)	6 (17,1)	4 (12,5)	

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$).

Пациенты обеих групп получали АБТ, данные представлены в Таблице 4.8, которая представлена следующими группами АБ: цефалоспорины (цефотаксим, цефтриаксон) – 33 человека (94,3 %) в ОГ & 32 человека (100 %) ГС, и АБТ со сменой АБ (цефотаксим на цефтриаксон) произошла у 2 человек (5,7 %) ОГ. Длительность АБТ составила от 5 до 15 дней (Ме 6 дней IQR (6-7) в ОГ & Ме 6 IQR (5-7 дней) в ГС).

При анализе клинических проявлений болезни возрастной когорты 3-7 лет нами установлено, что в сравниваемых группах у всех пациентов доминировали симптомы интоксикации.

Так, при поступлении в отделение у пациентов сравниваемых групп отмечалось повышение температуры до фебрильных цифр. На момент окончания стационарного лечения лихорадка купировалась в обеих группах. В ходе оценки температурных кривых была зафиксирована следующая тенденция купирования лихорадки, в течение первых суток снижение температуры отмечалось у 20 детей (57,1 %) у пациентов ОГ, и только у 12 детей (37,5 %) в ГС. При дальнейшем анализе купирования лихорадки зафиксирована тенденция к снижению температуры на 3 сутки у 29 детей (82,9 %) ОГ, в то время как в ГС лишь у 20 детей (62,5 %), $p=0,097$.

Продолжительность лихорадки в ОГ (Ме) составила 1 сутки (IQR 1 – 2 суток), в ГС – Ме 2 суток (IQR 1-3 суток), $p=0,076$.

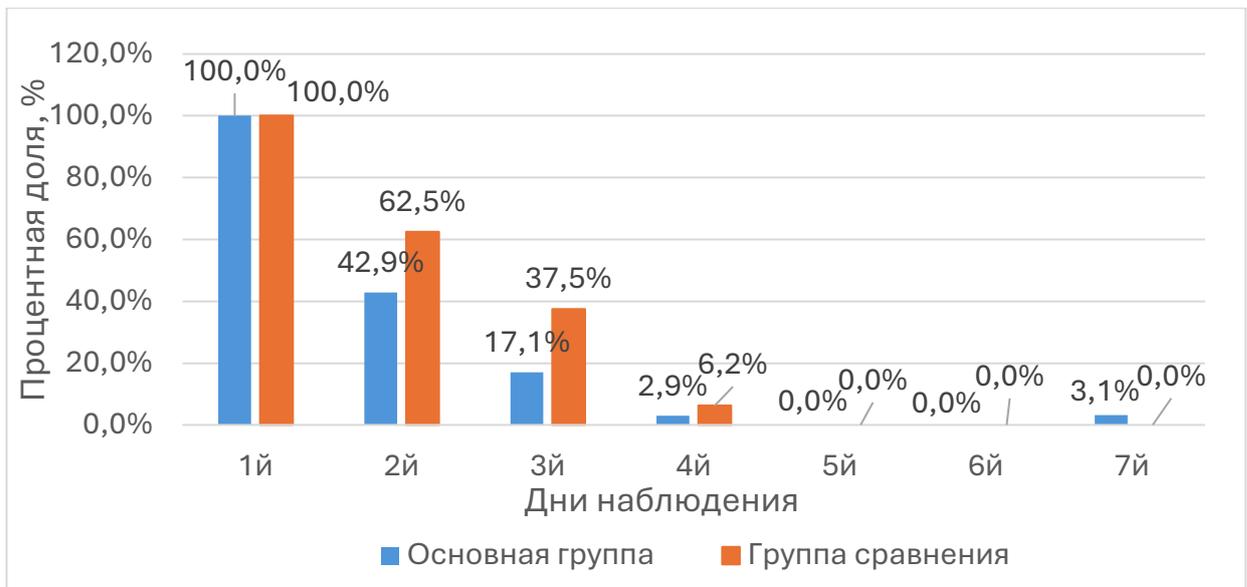


Рисунок 4.12 – Доля пациентов с лихорадкой в возрастной группе 3-7 лет в сравниваемых группах в динамике

При анализе самочувствия пациентов до начала терапии у 43,3 % обследованных детей отмечалась повышенная раздражительность: ОГ – 15 человек (42,9 %), ГС – 14 человек (43,8 %). К моменту завершения стационарного лечения (7 ± 2 дня) выраженная раздражительность сохранялась в 14,3 % наблюдений в ОГ, ($p=0,004$) и в 34,4 % – в ГС, $p=0,084$ (Рисунок 4.13). В большинстве случаев беспокойство детей ГС мы связывали с желудочно-кишечным дискомфортом (метеоризм и боли в животе).

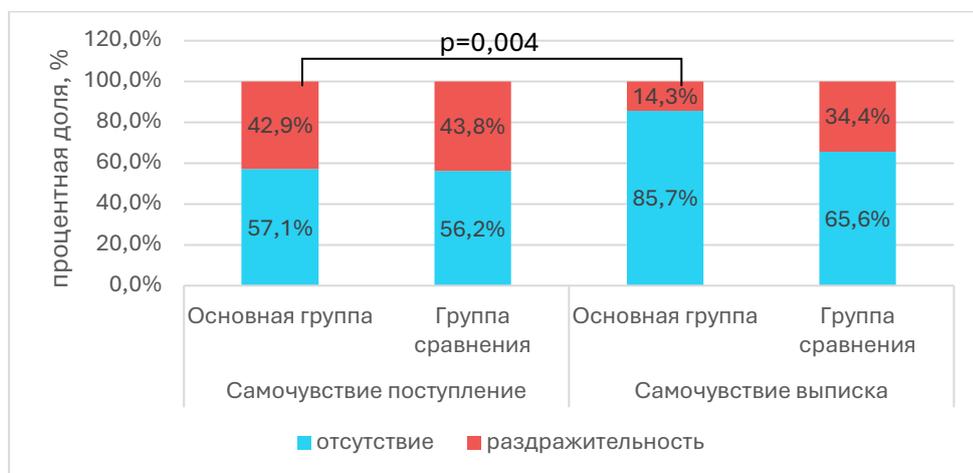


Рисунок 4.13 – Анализ динамики самочувствия пациентов возрастной группы 3-7 лет в зависимости от рандомизационной группы

Таким образом, при межгрупповом сравнении в группе дошкольного возраста к моменту завершения АБТ у пациентов обеих групп снижалась выраженность симптомов интоксикации. Включение пробиотической коррекции способствовало снижению температуры у половины пациентов в течение первых суток. Общая продолжительность лихорадки у детей сравниваемых групп не превышала 4 суток. Повышенную раздражительность в ОГ на момент завершения АБТ отмечали достоверно реже, чем на момент поступления. Сохранение повышенной раздражительности на момент завершения стационарного лечения фиксировали в 2 раза чаще у детей без пробиотической коррекции.

В период проведения стационарного лечения, а также в течение последующих 2 недель наблюдения нами проводилась оценка выраженности симптомов со стороны ЖКТ у пациентов 2 возрастной группы.

Снижение аппетита наблюдали у пациентов обеих сравниваемых групп дошкольного возраста. У пациентов без пробиотической коррекции при поступлении снижение аппетита регистрировали у 18 пациентов (56,2 %), у пациентов с применением пробиотической коррекции – у 18 (51,4 %). На момент окончания АБТ терапии снижение аппетита наблюдалось в ГС – у 10 человек (31,2 %), в ОГ у 7 человек (20,0 %), $p > 0,05$.

Продолжительность снижения аппетита за все время наблюдения в ОГ (Ме) составила 2 сутки (IQR 0–3 суток), в ГС Ме составила 4 суток (IQR 2-6 суток), $p < 0,001$.

При оценке продолжительности снижения аппетита за время лечения в стационаре в сравниваемых группах ≤ 3 суток снижение аппетита наблюдалось у 19 человек (54,3 %) в ОГ и у 15 детей (46,9 %) ГС. Продолжительность снижения аппетита более 3 суток в ОГ фиксировали у 2 детей 5,7 %, в ГС у 9 (28,1 %). После выписки из стационара у пациентов обеих групп регистрировали снижение аппетита, но у большинства пациентов ОГ 25 детей (71,4 %) наблюдали нормализацию аппетита, в то время как в ГС это произошло лишь у 10 детей

(31,2 %). Более 3 суток снижение аппетита не наблюдалось ни в одной из групп (Рисунок 4.14).

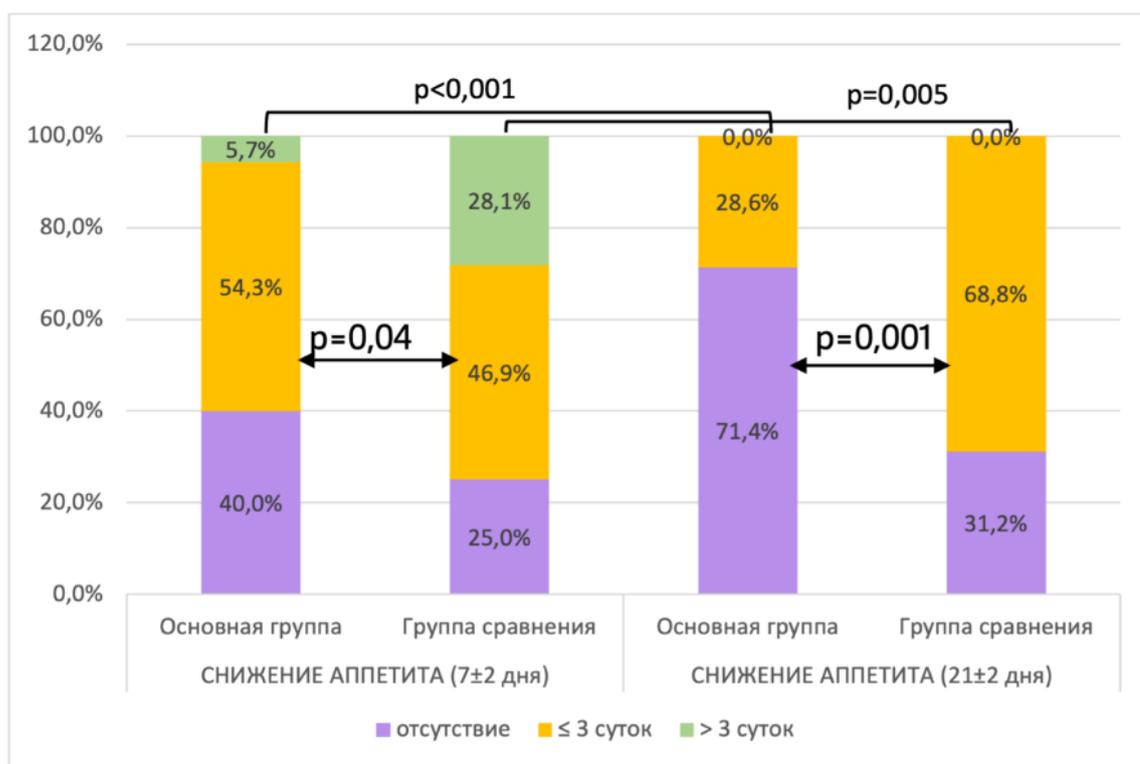


Рисунок 4.14 – Продолжительность снижения аппетита в зависимости от рандомизационной группы за весь период наблюдения у детей 2 возрастной когорты

Таким образом, подключение к антибактериальной терапии мультиштаммового пробиотика у детей 2 возрастной группы значительно сокращало продолжительность снижения аппетита среди пациентов, а в период восстановления способствовало сохранению аппетита.

Боли в животе за все время наблюдения регистрировались у 4 человек (11,4 %) ОГ и у 11 человек (34,4 %) ГС, $p=0,039$ (Рисунок 4.15).

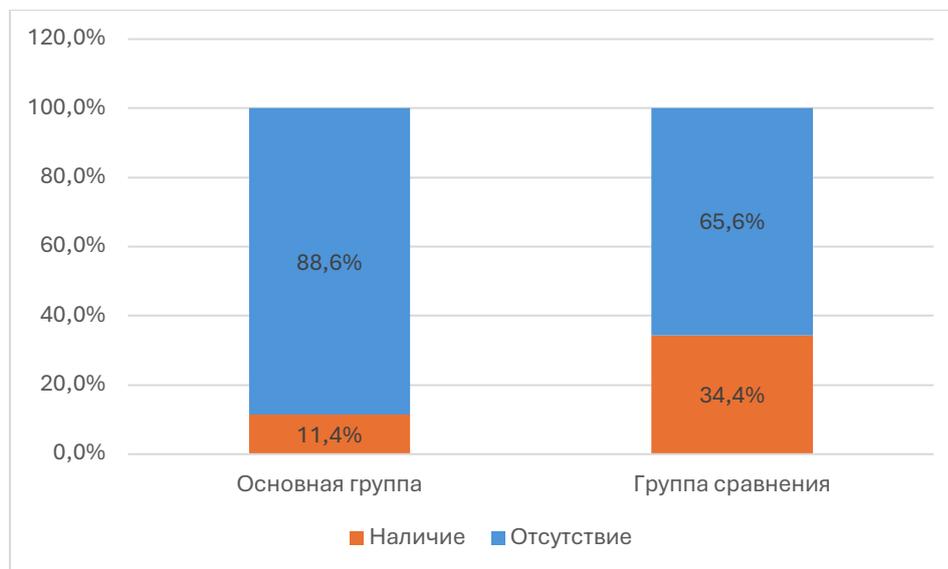


Рисунок 4.15 – Анализ проявления симптома «боли в животе» у пациентов возрастной группы 3-7 лет в зависимости от рандомизационной группы

У пациентов обеих сравниваемых групп при поступлении одинаково фиксировали боли в животе: в ОГ у 2 человек (5,7 %) и у 1 человека (3,1 %) в ГС. На момент окончания АБТ боли в животе отмечали у 1 человека (2,9 %) в ОГ и у 4 человек (12,5 %) ГС, $p=0,185$. За время пребывания в стационаре боли в животе регистрировали у большинства пациентов ГС – 10 человек (31,2 %), и только у 4 человек (11,4 %) ОГ, $p=0,115$. После окончания АБТ в ГС боли в животе регистрировали у 8 человек (25 %), в ОГ - лишь у 2 человек (5,7 %), $p=0,039$. Мы ежедневно фиксировали проявление боли в животе у пациентов обеих сравниваемых групп и оценили продолжительность проявления симптома у пациентов сравниваемых групп во время лечения в стационаре, и после окончания АБТ, данные представлены в Таблице 4.9.

Продолжительность боли в животе (Me) у пациентов ОГ составила 0 суток (IQR 0-0 суток), в ГС Me 0 сутки (IQR 0-2 суток), $p=0,018$.

Таблица 4.9 – Анализ динамики боли в животе у пациентов возрастной когорты 3-7 лет в зависимости от рандомизационной группы

Рандомизационная группа	Показатели	Этапы наблюдения				p
		Боль в животе за время лечения		Боль в животе после выписки		
		Абс.	%	Абс.	%	
Основная группа	отсутствие	31	88,6	33	94,3	0,157
	≤ 3 суток	4	11,4	2	5,7	
	> 3 суток	0	0,0	0	0,0	
Группа сравнения	отсутствие	22	68,8	24	75,0	0,180
	≤ 3 суток	9	28,1	8	25,0	
	> 3 суток	1	3,1	0	0,0	
p		0,115		0,039*		–

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$).

Таким образом включение 14 компонентного мультипробиотика в терапию детей, способствовало уменьшению и сокращению продолжительности проявлений болей в животе.

При первичном осмотре пациентов обеих групп был выявлен метеоризм: в ОГ у 14 пациентов (40 %), а в ГС у 8 пациентов (25,0 %). К моменту завершения стационарного лечения в ГС доля пациентов с метеоризмом увеличилась до 10 детей (31,2 %). В ОГ наблюдалась противоположная динамика: доля пациентов с этим симптомом снизилась в 2,5 раза и составила 5 детей (14,3 %), $p=0,013$, данные представлены Таблице 4.10.

Таблица 4.10 – Оценка вздутия живота у пациентов возрастной когорты 3-7 лет в динамике в зависимости от рандомизационной группы

Рандомизационная группа	Показатели	Этапы наблюдения				p
		Живот вздут при поступлении		Живот вздут выписки		
		Абс.	%	Абс.	%	
Основная группа	отсутствие	21	60,0	30	85,7	0,013
	наличие	14	40,0	5	14,3	
Группа сравнения	отсутствие	24	75,0	22	68,8	0,564
	наличие	8	25,0	10	31,2	
p		0,192		0,143		–

В ходе АБТ и в период последующего восстановления у пациентов обеих групп отмечался метеоризм. В процессе ежедневного наблюдения оценивалась продолжительность этого симптома. В ОГ продолжительность метеоризма составляла до 3 суток у 18 детей (51,4 %), а более 3 суток только у 1 ребенка (2,9 %). В ГС у пяти пациентов (15,6 %) метеоризм регистрировали более 3 дней, а у 20 человек (62,5 %) он длился не дольше 3 суток, $p=0,046$. После окончания стационарного лечения метеоризм фиксировали в ГС более 3 дней у 2 детей (6,2 %), менее 3 суток у 20 человек (62,5 %), $p=0,083$, в ОГ продолжительность метеоризма не превышала 3 дней у 8 пациентов (22,9 %), $p=0,001$ (Таблица 4.11).

При анализе продолжительности проявления вздутия живота за весь период наблюдения (Me) в ОГ 2 суток (IQR 0-2 сутки), в ГС Me составила 4 суток (IQR 3-5 суток), $p < 0,001$.

Таблица 4.11 – Оценка вздутия живота у пациентов возрастной когорты 3-7 лет в динамике в зависимости от рандомизационной группы

Рандомизационная группа	Показатели	Этапы наблюдения				p
		Живот вздут за время лечения		Живот вздут после выписки		
		Абс.	%	Абс.	%	
Основная группа	отсутствие	16	45,7	27	77,1	0,001*
	≤ 3 суток	18	51,4	8	22,9	
	> 3 суток	1	2,9	0	0,0	
Группа сравнения	отсутствие	7	21,9	10	31,2	0,083
	≤ 3 суток	20	62,5	20	62,5	
	> 3 суток	5	15,6	2	6,2	
p		0,046*		<0,001*		–

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$).

Таким образом у детей без пробиотической коррекции чаще фиксировали проявления вздутия живота к моменту завершения стационарного лечения, а включение 14 компонентного мультипробиотика положительно коррелировало с тенденцией к уменьшению проявлений метеоризма. В период восстановления после АБТ метеоризм регистрировали в обеих группах, но в группе с мультипробиотической коррекцией метеоризм выявляли достоверно реже, также продолжительность проявления симптома в группе с пробиотической коррекцией не превышала 3 суток. Продолжительность проявления вздутия живота в группе без пробиотической коррекции в 2 раза превышала продолжительность проявления метеоризма у детей в группе с пробиотиком за весь период стационарного лечения и восстановления.

У обследуемых пациентов сравниваемых групп возрастной когорты 3-7 лет за время наблюдения отмечали замедление кишечного транзита и отсутствие стула в течение суток (запор). Продолжительность задержки стула (Me) в ОГ составила 2 суток (IQR 1-4 сутки), в ГС 3 суток (IQR-2-4 суток), $p=0,058$. Нами

проанализирована доля пациентов в сравниваемых группах с задержкой стула в динамике. За время пребывания в стационаре в ОГ отсутствие стула более 3 суток встречали у 1 человека (2,9 %), не превышало 3 суток у 27 человек (77,1 %), после окончания АБТ у пациентов ОГ проявление задержки стула более 3 суток выявляли у 1 пациента (2,9 %), менее 3 суток у 19 человек (54,3 %), $p=0,059$. В ГС за время пребывания в стационаре продолжительность задержки стула более 3 суток отмечали у 1 пациента (3,1 %), не превышала 3 суток у 25 детей (78,1 %), после окончания терапии задержка стула более 3 суток встречалось у 3 пациентов (9,4 %), не превышала 3 суток у 22 детей (68,8 %).

Таким образом, у большинства пациентов группы без пробиотической коррекции в постантибактериальный период наблюдалась склонность к задержке стула. Однако у всех пролеченных детей продолжительность отсутствия дефекации за весь период наблюдения не превышала 4 суток.

За весь период наблюдения за пациентами мы регистрировали увеличение или уменьшение кратности стула. До начала АБТ ни у одного из наблюдаемых детей частота стула не превышала 2 раз в сутки. Перед выпиской из стационара учащение стула, максимально до 5 раз в сутки, было отмечено в ОГ у 7 пациентов (20 %) и в ГС у 20 (62,5 %), $p=0,002$. Через 21 ± 2 дня после начала терапии у большинства наблюдаемых пациентов частота стула нормализовалась. Только у 9 детей (28,1 %) в ГС, и у 2 детей (5,7 %) в ОГ частота стула сохранялась максимально до 3 раз в сутки, $p=0,045$.

У пациентов возрастной группы 3-7 лет аналогично анализу возрастной когорты 1-3 года проводили визуальную оценку характера кала по БШ попарно сравнивая 3 временные точки. Результаты оказались сходны с наблюдениями для когорты 1-3 года, принимавшей 7-компонентный мультипробиотик. В ходе клинической оценки характера кала ни у одного пациента ОГ и ГС не было зафиксировано появления крови в стуле.

В ходе наблюдения зафиксирован характер кала по БШ от 1 до 7 типа. На момент поступления в обеих группах преобладал 4 тип кала по Бристольской шкале: в ОГ у 17 пациентов (50,0 %), в ГС у 17 пациентов (53,1 %), $p> 0,05$. После

проведенной терапии в ОГ у 14 пациентов (41,2 %) преобладал 4 тип, у 9 пациентов (26,5 %) 3 тип кала, у большинства пациентов не было установлено статистически значимых изменений оценки кала по Бристольской шкале ($p > 0,05$, парный тест Вилкоксона).

В ГС при оценке характера кала по Бристольской шкале наблюдалось значимое увеличение оценки во 2 временной точке ($p=0,0127$, парный тест Вилкоксона) и спад к первоначальным значениям к 3 временной точке (для $t1$ и $t2$ $p=0,0127$, для $t1$ и $t3$ $p=0,3040$). В ГС у 13 человек (40,6 %) преобладал 5 тип, у 8 человек (25 %) 4 тип, у 7 человек (21,9 %) 6 тип и у 1 человека (3,1 %) 7 тип кала по БШ.

Через 21 ± 2 дня от начала терапии у большинства наблюдаемых пациентов сравниваемых групп произошла нормализация характеристики кала по Бристольской шкале. В ОГ превалировал 4 тип – у 21 ребенка (61,8 %), 3 тип – 10 детей (29,4 %), 5 тип встречался лишь у 1 пациента 2,9 %. В ГС 4 тип у 16 детей (50,0 %), 3 тип – 11 (31,4 %), 5 тип наблюдался у 3 детей (9,4 %), $p > 0,05$.

Характер кала для удобства оценки был определен следующим образом: замедление транзита с 1 по 3 виды, физиологический 4 вид, ускорение транзита с 5 по 7 виды. Полученные данные представлены на Рисунке 4.17.

В возрастной когорте от 3 до 7 лет при сравнении изменений консистенции кала между ОГ и ГС было выявлено, что в ОГ наблюдалось более значительное увеличение балла по шкале Бристоля от временной точки 1 к точке 2, чем в ГС: среднее изменение баллов составило 1,0909 в ОГ и 0,2083 в ГС (тест Манна-Уитни, $p=0,0193$). Также было отмечено более выраженное снижение балла к третьей точке в ОГ по сравнению с ГС ($p=0,0044$).

Для определения того, отличалась ли консистенция стула у пациентов от таковой у здоровых детей, было проведено сравнение образцов, полученных у детей из ОГ и ГС в каждой временной точке, с образцами группы здоровых. При межгрупповом анализе балл по БШ был статистически значимо выше в точке 2 у ГС, чем у детей ГЗ ($p=0,0037$, тест Манна-Уитни; Рисунок 4.16).

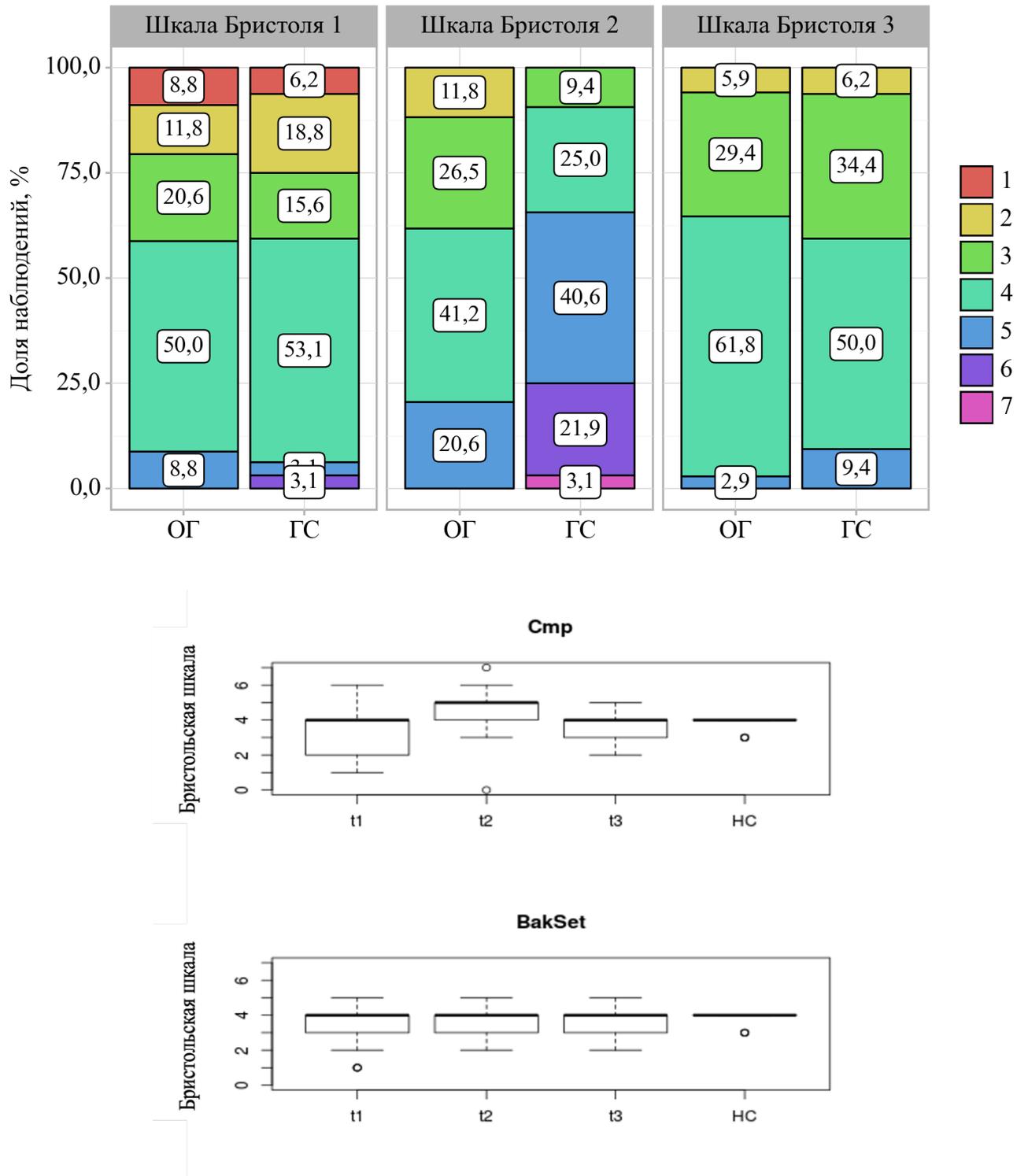


Рисунок 4.16 – Распределение значений бристольской шкалы кала у детей возрастной когорты 3-7 лет

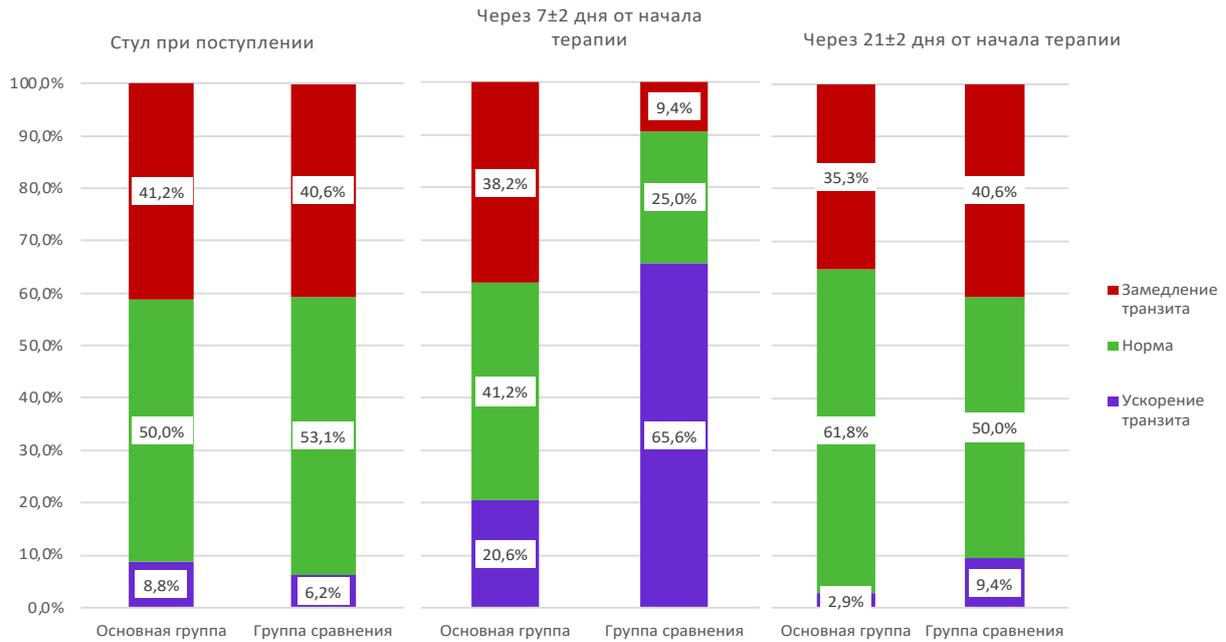


Рисунок 4.17 – Динамика характера стула при оценке по Бристольской шкале в сравниваемых подгруппах в группе детей дошкольного возраста

Таким образом, при анализе консистенции кала по БШ в возрастной когорте 3-7 лет в период стационарного лечения в ОГ у большинства пациентов сохранялась нормальная консистенция стула, в то время как в ГС данный показатель (между точками 1 и 2) увеличился – сместившись в область умеренной диареи – и эти изменения статистически значимо выше изменений ОГ. При анализе на 21±2 день консистенция кала у большинства участников ГС имела тенденцию к возвращению к первоначальным параметрам. На момент окончания АБТ у ГС балл по Бристольской шкале был выше, чем у здоровых детей.

Таким образом, анализ полученных результатов позволяет прийти к выводу, что применение мультипробиотического препарата содействует поддержанию стабильности консистенции кала в ходе антибактериальной терапии и в период восстановления после нее.

Важно отметить, что в процессе исследования ни у одного пациента ОГ не было отмечено побочных реакций на фоне применения мультипробиотического препарата.

Пациентам проводилось копрологическое исследование, которое включало оценку основных клинико-лабораторных синдромов, отражающих нарушение полостного пищеварения: креаторея, стеаторея 1 и 2 типа, амилорея, лиенторея, выделение слизи.

За период АБТ в группе с включением 14 компонентного пробиотического препарата произошло уменьшение креатореи у 22,9 % детей, в то время как в ГС показатели в 62,5 % случаев не изменились и в 31,2 % случаев проявления креатореи усилилось, $p=0,044$. При оценке стеатореи 1 типа у 34,3 % пациентов отмечали улучшение ферментативной активности поджелудочной железы, в то время как в ГС у 37,5 % детей фиксировали ухудшение показателей, $p=0,032$. При анализе амилореи также отмечали улучшение показателей в ОГ среди 51,4 % пациентов, в ГС у большинства детей 43,8 % показатель оставался неизменным и ухудшение показателей в 31,2 % случаев, $p=0,017$. При оценке выделения непереваренной клетчатки у 42,9 % пациентов ОГ уменьшилось выделение непереваренной клетчатки, в то время как в ГС отмечали ухудшение показателей у большинства детей 31,2 %. Результаты представлены в Таблице 4.12.

Таблица 4.12 – Динамика показателей копрологического исследования у детей с ОРИ возрастной группы 3-7 лет

Показатели	Категории	Рандомизационная группа		p
		Основная группа	Группа сравнения	
1	2	3	4	5
Оценка креатореи	также, абс (%)	23 (65,7)	20 (62,5)	0,044*
	хуже, абс (%)	4 (11,4)	10 (31,2)	
	лучше, абс (%)	8 (22,9)	2 (6,2)	
Оценка стеатореи	также, абс (%)	18 (51,4)	16 (50,0)	0,032*
	хуже, абс (%)	5 (14,3)	12 (37,5)	
	лучше, абс (%)	12 (34,3)	4 (12,5)	

Продолжение таблицы 4.12

1	2	3	4	5
Оценка стеаторея 2	также, абс (%)	32 (91,4)	24 (75,0)	0,054
	хуже, абс (%)	1 (2,9)	7 (21,9)	
	лучше, абс (%)	2 (5,7)	1 (3,1)	
Оценка амилорея	также, абс (%)	5 (14,3)	14 (43,8)	0,017*
	хуже, абс (%)	12 (34,3)	10 (31,2)	
	лучше, абс (%)	18 (51,4)	8 (25,0)	
Оценка неперевариваемой клетчатка	также, абс (%)	16 (45,7)	17 (53,1)	0,024*
	хуже, абс (%)	4 (11,4)	10 (31,2)	
	лучше, абс (%)	15 (42,9)	5 (15,6)	
Оценка перевариваемой клетчатка	также, абс (%)	15 (42,9)	21 (65,6)	0,155
	хуже, абс (%)	9 (25,7)	6 (18,8)	
	лучше, абс (%)	11 (31,4)	5 (15,6)	
Оценка слизи	также, абс (%)	27 (77,1)	20 (62,5)	0,233
	хуже, абс (%)	2 (5,7)	6 (18,8)	
	лучше, абс (%)	6 (17,1)	6 (18,8)	

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$).

Таким образом, при включении 14 компонентного пробиотика по данным копрологического исследования регистрировали достоверно уменьшение креатореи, стеатореи 1 и 2 типа, слизи, выделения неперевариваемой клетчатки, что свидетельствует о восстановлении ферментативной активности поджелудочной железы (стеаторея 1 типа, лиенторея), уменьшения проявления ААД (стеаторея 2 типа, слизь).

Итак, анализ представленных выше данных по возрастной группе детей 3-7 лет позволяет предположить положительный характер воздействия мультипробиотического препарата на фоне антибактериального лечения. Включение мультиштаммового препарата в терапию ОРИ способствовало снижению температуры у половины пациентов в течение первых суток, к моменту

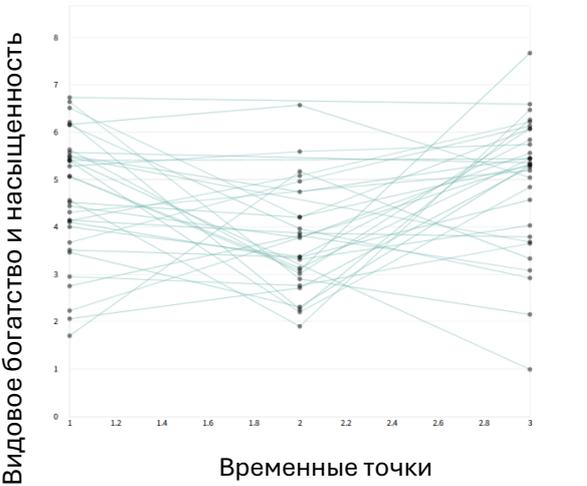
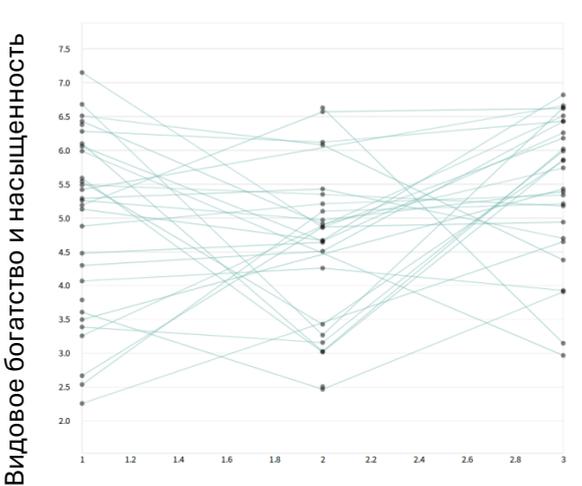
выписки из стационара снижению выраженности раздражительности. Пробиотическая поддержка способствовало уменьшению и сокращению продолжительности проявлений болей в животе, метеоризма, улучшению консистенции стула, а также способствовала стабилизации кратности и регулярности дефекации.

Следующим этапом нашей работы явилось изучение влияния АБТ на микробиом у пациентов 2 когорты в группах сравнения. Для этих целей было проведено попарное сравнение богатства микробиоты, проведенное между всеми 3 временными точками (в момент поступления, в момент выписки (через 7 ± 2 дня) и в момент окончания периода восстановления (через 21 ± 2 дня)), для исследуемых групп, показало, что альфа-разнообразие в ОГ значительно увеличилось в период после окончания АБТ (от 2 точки к точке 3) (парный тест Вилкоксона, $p=0,0039$ в ОГ). Тем не менее эти изменения значительно не отличались от изменений в ГС, (ANCOVA, $p=0,1633$) $p. \text{shapiro } 0,0528$. В третьей точке отмечалось возвращение к первоначальным значениям и обогащение альфа-разнообразия и ($p=0,2097$) (Таблица 4.13). В ГС не было установлено значимых изменений ни между одной из пар точек. Сравнение альфа-разнообразия с данным показателем у группы здоровых детей показало значимое снижение данного параметра для обеих групп в момент завершения АБТ (ГС $p=0,04$, ОГ $p=0,004$).

Таким образом анализ возрастной группы 3-7 лет показал, что применение мультиштаммового пробиотического комплекса в течение антибактериальной терапии, а также в течение периода после окончания этиологического лечения способствовало поддержанию богатства микробиоты, и содействовало ее повышению (альфа-разнообразия) в течение периода после окончания АБТ с достижением его значений до начала терапии. В ГС таких изменений нами не зафиксировано.

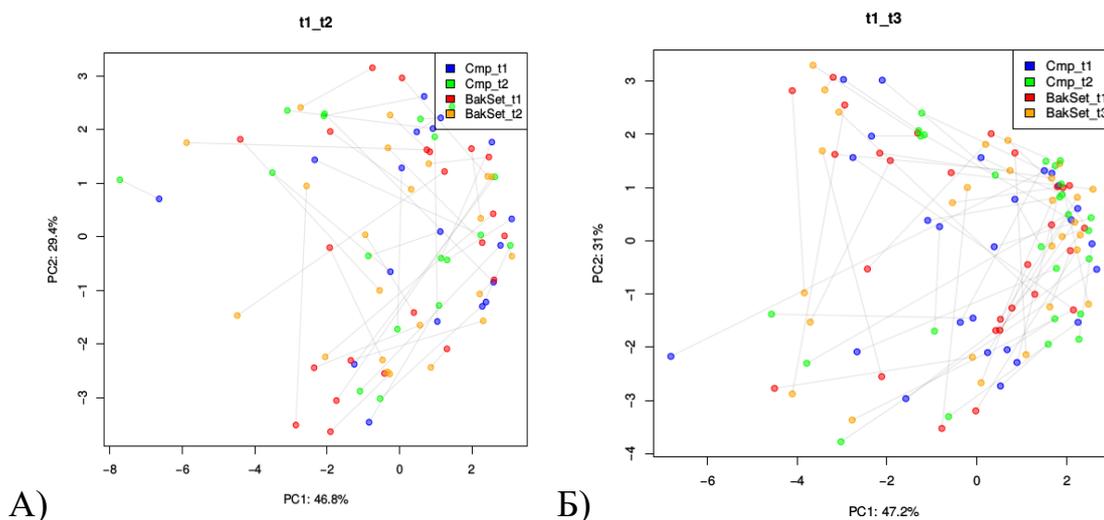
Тем не менее степень отклонения альфа-разнообразия у пациентов была в целом небольшой во всех точках в обеих группах.

Таблица 4.13 – Изменение альфа-разнообразия в ходе терапии в сравниваемых группах (возрастная группа 3-7 лет)

А) <u>Основная группа</u>	Б) <u>Группа сравнения:</u>
 <p>Видовое богатство и насыщенность</p> <p>Временные точки</p>	 <p>Видовое богатство и насыщенность</p> <p>Временные точки</p>
<p>$p_{t1-t2}=0,0510$</p> <p>$p_{t2-t3}=0,0039$</p> <p>$p_{t1-t3}=0,2097$</p>	<p>$p_{t1-t2}=0,0854$</p> <p>$p_{t2-t3}=0,0687$</p> <p>$p_{t1-t3}=0,0851$</p>

По динамике изменения состава микробиоты в целом было вычислено β -разнообразие (по метрике weighted UniFrac) между образцами для сравнения ОГ и ГС: в момент поступления до начала лечения и при выписке (на 7 ± 2 день о начала лечения); в момент поступления до начала лечения и на 21 ± 2 день от начала терапии (через 14 ± 2 дня после окончания АБТ).

Визуализация приведена на Рисунке 4.18. Далее проводилось сравнение полученных расстояний для групп сравнения и ОГ с помощью теста Манна-Уитни. Значимых различий обнаружено не было.



А) Визуализация динамики состава микробиоты между 2 временными точками в момент поступления и 7 ± 2 день по методу главных координат (РСоА) по метрике UniFrac; Б) Визуализация динамики состава микробиоты между 2 временными точками в момент поступления и 21 ± 2 день по методу главных координат (РСоА) по метрике UniFrac. Каждая точка соответствует одному из образцов. Расстояния между точками приблизительно отображает бета-разнообразие между ними: чем более близко расположены точки, тем более они похожи по составу. Цвет образцов обозначает группу и время забора материала.

Рисунок 4.18 – Визуализация динамики состава микробиоты в возрастной группе 3-7 лет между 3 временными точками по методу главных координат (РСоА) по метрике UniFrac

Таким образом, при анализе общего состава микробиоты в возрастной группе 3-7 лет значимых изменений не прослеживалось ни в ходе АБТ, ни в ходе всего курса включая период восстановления.

При анализе представленности таксонов бактерий в сравниваемых группах регистрировали изменения для каждой таксономической единицы, доля которой значимо поменялась между любыми двумя временными точками. Затем при помощи анализа ANCOVA была проверена статистическая значимость изменений для каждого поменявшегося таксона хотя бы в одной группе отличаются ли они от изменений в другой группе.

При анализе представленности родов *Vifidobacterium* и *Lactobacillus* в микробиоте участников, содержание было сопоставимым в трех группах на момент начала терапии. При дальнейшем рассмотрении изменений отмечено, что доля *Lactobacillus* значимо не изменялась на протяжении всего периода

наблюдения. Доля *Bifidobacterium* на момент завершения АБТ в ОГ была значимо выше, чем в ГС (ANCOVA, $p=0,0356$) и не различалась от таковой в группе здорового контроля.

От момента завершения АБТ к завершению наблюдения в период восстановления (21 ± 2 день), в обеих сравниваемых группах наблюдалось значимое увеличение представленности рода *Coprococcus* (и его отдельных видов) и семейства *Clostridiaceae*. В ГС выросла представленность рода *SMB53* и отдела *Actinobacteria*. В ОГ уменьшилась доля у родов *Akkermansia* (в том числе ее представителя *A. muciniphila*) и *Enterococcus*, повысилась – у ряда таксонов из семейств *Clostridiaceae* и *Lachnospiraceae* (в том числе рода *Blautia*). От начала терапии к 21 ± 2 дню в ГС было значимое увеличения доли родов *SMB53* и ряда неклассифицированных представителей семейства *Clostridiaceae*. В ОГ значимо изменившихся таксонов не было зафиксировано. Тем не менее изменения в сравниваемых группах не отличались друг от друга статистически значимо (ANCOVA).

Отдельно был проведен анализ представленности таксонов бактерий в каждой временной точке в межгрупповом сравнении со здоровыми детьми. В начале АБТ терапии представленность бактерий ГС не различалась от здоровых контролей. В ОГ была ниже доля ряда родов из семейств *Lachnospiraceae* (в том числе *Coprococcus*) и *Ruminococcaceae* (в том числе *Ruminococcus*).

На момент завершения АБТ, в ГС доля *Bifidobacterium*, представителей *Lachnospiraceae* (в том числе *Coprococcus* и *Dorea formicigenerans*), семейства *Clostridiaceae* была ниже. В ОГ была увеличена доля, отдела *Proteobacteria*, порядка *Vacillales*; снижена - нескольких видов порядка *Clostridiales*, семейства *Lachnospiraceae* (в т.ч. *Coprococcus*, *Dorea*, *Roseburia*) и *Ruminococcaceae*. На момент завершения периода восстановления, ни одна из групп сравнения статистически значимо не отличалась по представленности бактерий от контрольной по микробиоте.

Таким образом, в ходе анализа бета-разнообразия возрастной когорты 3-7 лет у детей ГС более значимо снижалась доля бифидобактерий. В отличие от ГС, в

группе с пробиотической коррекцией бифидобактерии поддерживались на более постоянном уровне: значимых изменений во времени и отличия от группы здоровых детей для них не было найдено. Отметим, что в постантибиотический период (от 7 ± 2 дня до 21 ± 2 дня) были установлены изменения, интерпретируемые как восстановление микробиома в каждой из групп (рост доли комменсальных таксонов; для ГС – снижение доли энтерококков).

Полученные результаты сопоставимы с положительным воздействием мультиштаммового пробиотического комплекса на богатство микробиоты в течение антибактериальной терапии, а также в течение периода после окончания этиологического лечения.

В ходе катамнестического наблюдения, в течение 3 месяцев, нами оценивалось частота встречаемости ОРИ и ОКИ у пациентов 3-7 лет сравниваемых групп (с целью определения ОРИ и ОКИ). Среди пациентов в ходе лечения, которых была включена пробиотическая терапия, в течение последующих 3 месяцев у 11 человек (31,4 %) фиксировали повторные заболевания ОРИ, в ГС повторные эпизоды ОРИ регистрировали у 23 человек (71,9 %), $p < 0,001$.

Среди пациентов ОГ эпизоды ОКИ возникали у 4 человек (11,4 %), в то время как в ГС эпизоды ОКИ встречались в 2 раза чаще – 8 детей (25 %).

Таким образом включение пробиотической терапии в период АБТ, а также в последующие 14 дней (± 2 дня) способствует снижению частоты повторных эпизодов ОРИ, а также ОКИ.

Таким образом, анализ обеих возрастных групп позволяет сделать вывод, что применение мультиштаммового пробиотического комплекса способствует более быстрому купированию симптомов интоксикации. В обеих возрастных группах включение мультиштаммового пробиотика в терапию ОРИ препятствовало развитию ААС, способствовало более быстрому разрешению симптомов со стороны ЖКТ: уменьшению вздутия живота, боли в животе, уменьшению диарейного синдрома, снижению склонности к запорам. Согласно данным копрологического исследования регистрировалось достоверное

уменьшение креатореи, стеатореи 1 и 2 типа, выделения переваримой и неперевариваемой клетчатки, слизи, что свидетельствует о восстановлении ферментативной активности поджелудочной железы (стеаторея 1 типа, лиентореи), купировании симптомов ААД (стеаторея 2 типа, лейкорея, слизь).

При анализе микробиотного состава в сравниваемых группах обеих возрастных когорт важно отметить, что включение мультипробиотика в терапию острых респираторных инфекций на фоне антибактериального лечения уменьшало негативное влияние АБП и оказывало благотворное воздействие на состояние микробиома. Включение мультиштаммового пробиотического комплекса в терапию способствовало сохранению богатства микробиоты (альфа-разнообразия) в ходе терапии антибактериальным препаратом, а в постантибиотический период в обеих возрастных когортах содействовало повышению богатства микробиоты (альфа-разнообразия).

Степень отклонения альфа-разнообразия у пациентов была в целом небольшой во всех точках и всех подгруппах.

Важно отметить, что в обеих возрастных группах на фоне применения пробиотического комплекса не было детектировано значимых изменений по какому-либо таксону ни для одной пары временных точек, что положительно коррелирует с клиническими проявлениями, – отсутствие дискомфорта и симптомов поражения со стороны ЖКТ на фоне АБТ, а также сохранение нормальной консистенции стула. Тем не менее, отметим, что в период антибактериальной терапии прослеживалась тенденция к снижению бета-разнообразия. При анализе групп сравнения в ходе терапии регистрировали изменение представленности бактерий. В группе сравнение детей раннего возраста было зафиксирован рост представленности оппортунистических энтерококков, снижение представленности родов корпорококков, коллинселлы а также видов рода бифидобактерий, что сопоставимо с увеличением симптомов поражения со стороны ЖКТ, и изменением консистенции кала до умеренной диареи. В возрастной когорте 3-7 лет в ходе стационарного лечения доля *Bifidobacterium* в ОГ была значимо выше, чем в ГС (ANCOVA, $p=0,0356$) и не

различалась от таковой в группе здорового контроля. Стоит отметить, что у детей, в терапию которых входил пробиотик на протяжении всего периода лечения и восстановления, доля *Lactobacillus* значимо не изменялась. В ГС снижалась доля *Bifidobacterium*, представителей *Lachnospiraceae* семейства *Clostridiaceae*.

В период восстановления, после лечения АБП (от точки 2 к 3), были обнаружены изменения, интерпретируемые как тренд на восстановление микробиома в каждой из групп (рост доли комменсальных таксонов; для ГС – снижение доли энтерококков), особенно в группах, где применяли сочетание АБТ и мультиштаммового пробиотика.

Включение мультиштаммового пробиотического комплекса на фоне АБТ способствует поддержанию стабильности работы ЖКТ, оказывает позитивное влияние на поддержание баланса микробиома, способствуют снижению частоты заболеваемости повторными респираторными инфекциями, а также снижает риски заболеваемости кишечными инфекциями. Результаты представлены клинически, а также подтверждены инновационным методом секвенирования фрагмента гена 16s рРНК биологических образцов.

ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ТАКТИКИ ВЕДЕНИЯ ДЕТЕЙ СТАРШЕ 1 ГОДА С ОСЛОЖНЕННЫМИ ФОРМАМИ ОРИ

На основании проведенного исследования моноштаммового и мультиштаммового пробиотиков у детей с осложненной формой ОРИ и анализа развития симптомов ААС на фоне АБТ был разработаны подходы и тактика ведения пациентов (Рисунок 5.1).

Учитывая, что развитие ААС у пациентов с осложненной формой ОРИ влияет на качество жизни (снижение аппетита, жидкий стул, боли в животе, метеоризм), в период АБТ пациенты требуют персонализированный подход к медицинскому наблюдению и обследованию. Нами была разработан и апробирован в клинической практике алгоритм тактики ведения детей с осложненными формами ОРИ старше года:

1. Всем пациентам старше года с осложненной формой ОРИ средней степени тяжести, требующей АБТ рекомендована при поступлении оценка анамнеза, а именно назначение АБТ в анамнезе, наличие дисбиотических нарушений или ФНЖКТ, перенесенных ОКИ и ОРИ за последние 3 месяца.

2. При исключении в момент поступления приема АБП, дисбиотических нарушений или ФНЖКТ, а также перенесенных ОКИ и ОРИ за последние 3 месяца рекомендовано назначение эукариотического пробиотика *S. boulardii* (7-10 дней).

3. В случае если у пациента при оценке анамнеза до момента поступления был документирован прием АБП, отмечались функциональные нарушения со стороны ЖКТ или дисбиотические нарушения, а также зафиксированы перенесенные ОКИ и ОРИ за последние 3 месяца рекомендовано использование мультиштаммового пробиотика Баксет беби или форте в зависимости от возраста пациента.

4. В процессе терапии необходимо оценивать в динамике проявления ААС состояние кожных покровов и слизистых (ротоглотка, наружные половые органы

(у девочек), функции ЖКТ (ААД, метеоризм, боли в животе, снижение, запор, оценка стула по Бристольской шкале).

5. При обнаружении симптомов ААС и сохранении их необходим контроль лабораторных и инструментальных показателей, а также проведение 16 s рРНК секвенирования.

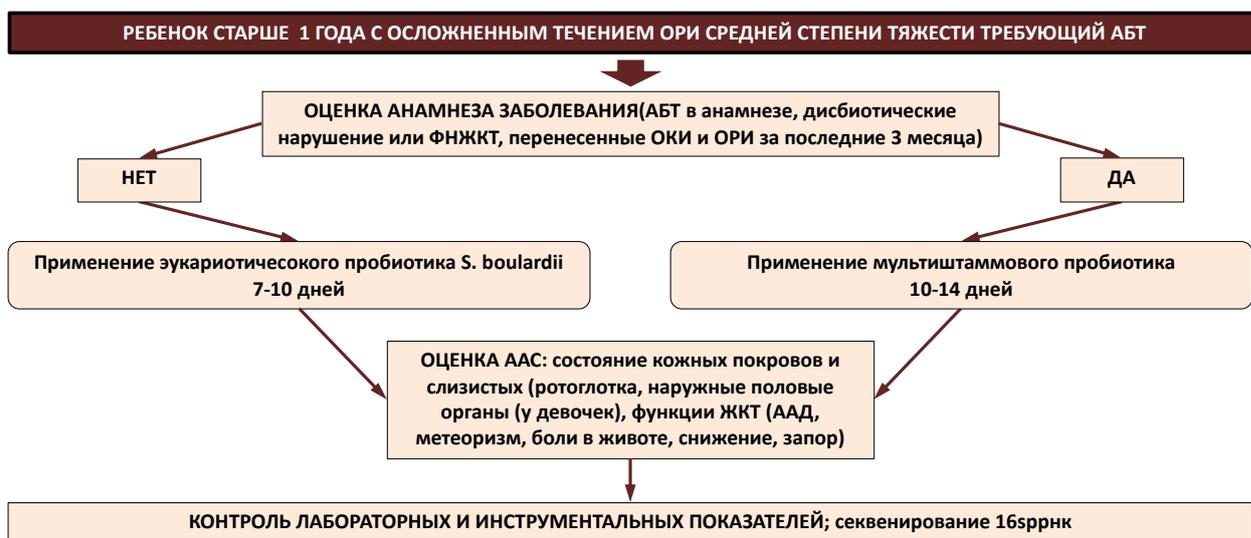


Рисунок 5.1 – Алгоритм тактики ведения детей с осложненной формой ОРИ средней степени тяжести

В целях демонстрации предлагаем нижеследующие клинические примеры использования в практике алгоритма тактики ведения детей старше 1 года с осложненными формами ОРИ на основании оценки и коррекции ААС.

Клинический пример № 1.

Пациент, С., мальчик, 8 лет, поступил в детское инфекционное отделение (ДИО) ГБУЗ МО ХБ на третьи сутки от начала заболевания с жалобами на повышение температуры, боль в горле. Начало острое с подъема температуры до фебрильных цифр, сильной боли в горле, умеренной ринореи. Получал амбулаторно симптоматическую терапию. На вторые сутки отмечен подъем температуры тела до фебрильных цифр. Бригадой скорой медицинской помощи (БСМП) доставлен в приемный покой. Из анамнеза жизни известно, что мальчик рос и развивался соответственно возрасту, привит по графику, аллергоанамнез (со

слов родителей) – не отягощен. Переносит около 2-3 эпизодов ОРИ в год. При поступлении состояние расценено, как средней тяжести, температура 38,2 °С. Правильного телосложения, масса тела – 30 кг, рост – 132 см, ИМТ – 17,2 кг/м², (вес нормальный). Сознание ясное. Аппетит снижен из-за боли в горле. Кожные покровы бледные, умеренной влажности. Видимые слизистые чистые, задняя стенка глотки ярко гиперемирована. Миндалины увеличены – 2 степени, серый налет с обеих сторон. Носовое дыхание затруднено, ринорея слизистого характера, увеличение и болезненность шейных лимфоузлов до 1-1,5 см аускультативно везикулярное дыхание. ЧД – 19 в мин. ЧСС-90 в мин. SpO₂ – 99 %. Стул оформленный, без патологических примесей 1 раз в сутки, оценка по БШ – 3 тип. По остальным органам и системам без патологии. В гемограмме зафиксирован нейтрофильный лейкоцитоз ($13,7 \cdot 10^9/\text{л}$), ускорение СОЭ до 18 мм/ч. Экспресс-тест для определения стрептококка группы А – положительный. В биохимическом анализе крови – повышение уровня СРБ до 63 мг/л. Копрологическое исследование: цвет – коричневый, непереваренная клетчатка-++, переваренная клетчатка+, амилорея+. Мазок из носо- и ротоглотки РНК SARS-CoV-2 (ПЦР), не обнаружена. Получал в отделении: АБТ (амоксициллин/клавуланат 400мг+57 мг/5мл из расчета 40мг/кг/сут по амоксициллину), моноштаммовый пробиотик – *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745. На фоне проводимой терапии температура и аппетит нормализовались на вторые сутки, к 5 суткам купированы катаральные явления. Аускультативная картина в легких – без патологии. В гемограмме все показатели находились в пределах возрастной нормы. В биохимическом анализе крови наблюдалось повышение АСЛО – 345 МЕ/мл., Копрологическое исследование цвет коричневый, непереваренная клетчатка+, переваренная клетчатка -+. Пациент выписан с выздоровлением.

На фоне АБТ и применения моноштаммового пробиотика у пациента оценивали симптоматику ААС до стабилизации клинических и лабораторных показателей, аппетит восстановился на 2 сутки, на момент выписки стул оформленный оценка по БШ – 4 тип, 1 р/сут.

Описанный клинический случай демонстрирует подтверждение положительного влияния моноштаммового пробиотика на отсутствие развития симптоматики ААС.

Клинический пример №2.

Пациент В., девочка, 5 лет, поступила в ДИО ГБУЗ МО ХБ на 6 сутки от начала заболевания с фебрильной температурой, болью в горле, продуктивным кашлем. Заболевание началось с умеренных катаральных проявлений (боль в горле). На 2 сутки заметили подъем температуры до фебрильных цифр, на 4 сутки – малопродуктивный кашель, со слов родителей появилась одышка в состоянии покоя. В этот же день обратились к врачу, назначен амоксициллин в возрастной дозировке, тем не менее купирование лихорадки не происходило, кашель усиливался, появилось снижение аппетита, вздутие живота, полуоформленный стул, учащение дефекации до 3 р/сут. По направлению из детской поликлиники обратился в ДИО Химкинской больницы. Девочка росла и развивалась соответственно возрасту, прививки по индивидуальному графику, аллергоанамнез не отягощен. Болеет ОРИ около 7 раз в год. За последние 3 месяца заболевания отрицает. На момент поступления состояние было расценено как средней тяжести, температура 37,8 °С. Аппетит снижен. Кожные покровы обычной окраски, чистые, умеренной влажности. Видимые слизистые чистые, задняя стенка глотки – гиперемирована. Миндалины не увеличены, чистые. Носовое дыхание свободное, при аускультации дыхание жесткое, влажные мелкопузырчатые хрипы справа в нижних отделах. ЧДД – 25 в минуту, ЧСС – 110 в минуту, SpO₂ – 95 %, при пальпации живота безболезненный, метеоризм, оценка стула по БШ – 5/6 тип. По остальным органам и системам без патологии. В гемограмме выявлен нейтрофильный лейкоцитоз ($15,8 \cdot 10^9/\text{л}$), ускорение СОЭ до 16 мм/ч. В биохимическом анализе крови общий белок снижен – 57 г/л, повышение уровня СРБ до 60 мг/л. Копрологическое исследование: стеаторея 1 типа-+, амилорея-++, непереваренная клетчатка-++, переваренная клетчатка-++. На рентгенограмме органов грудной клетки на момент поступления R-картина не позволяет исключить начала инфильтративного процесса справа в нижних отделах. Мазок из

носо- и ротоглотки РНК SARS-CoV-2 (методом ПЦР) не обнаружена. В серологическом анализе крови IgM/IgG к антигенам *M. pneumoniae*, *Ch. pneumoniae* не обнаружено. Получал в отделении АБТ (Цефотаксим из расчета 100мг/кг/сут), Бак-сет форте, муколитики. На фоне проводимой терапии температура купировалась на вторые сутки, катаральные явления купированы. Аускультативная картина в легких – без патологии к 6 дню госпитализации. Лабораторно – без отклонений. Рентгенологически без очаговых и инфильтративных изменений. Пациент выписан с выздоровлением.

На фоне АБТ и применения мультиштаммовго пробиотика у пациента оценивали симптоматику ААС до стабилизации клинических и лабораторных показателей, вздутие живота и снижение аппетита купировались на 3 сутки, на 4 сутки стул оформленный оценка по БШ – 4 тип, 1 р/сут.

Описанный клинический случай демонстрирует подтверждение положительного влияния мультиштаммового пробиотика на купирование симптоматики ААС. К моменту выписки происходила нормализация стула по БШ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Острые респираторные инфекции остаются серьезной проблемой общественного здоровья, сопровождаясь высокими показателями заболеваемости и смертности, особенно среди детей [142]. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ОРИ занимают четвертое место среди ведущих причин смертности в мире, вызвав около трех миллионов смертей в 2019 году [141]. Среди них, острые инфекции нижних дыхательных путей (ОИНДП), включая пневмонию и бронхиолит, стали ведущей причиной госпитализации и смертей среди детей, особенно в странах с низким и средним уровнем дохода [209]. Так, в 2023 году уровень заболеваемости внебольничными пневмониями среди детей достиг 803,6 случаев на 100 тысяч населения. Максимальный показатель заболеваемости был зафиксирован в возрастной категории от 1 до 2 лет, где показатель составил 1465,5 на 100 тысяч [32].

В конце 2019 года была зафиксирована вспышка новой коронавирусной инфекции (COVID-19), вызванная РНК – вирусом SARS-CoV-2, и была признана чрезвычайной ситуацией международного масштаба в сфере общественного здравоохранения, привлекая все больше внимания к инфекциям дыхательных путей как значимой проблеме общественного здоровья [121]. Исследования последнего десятилетия продемонстрировали разнообразие респираторных патогенов, вызывающих ОРИ или пневмонию, при этом прослеживалась значительная изменчивость в распространенности и спектре патогенов в разных странах и регионах, в зависимости от демографии населения, времени и сезонов [99, 130, 237].

Важно учитывать не только риск тяжелого течения, развития осложнений и летального исхода, но и менее очевидные, но существенные с позиции влияния на развитие и здоровье ребенка аспекты, такие как антибиотико-индуцированные нарушения микробиоты различных локусов, которые за период пандемии COVID-19 приобрели глобальные масштабы.

Согласно научным данным, риск возникновения ОРИ, таких как грипп, может быть связан с исходным состоянием микробиома верхних дыхательных путей [67, 272]. В свою очередь, изменение микробиоты может происходить под воздействием патогенных вирусов и быть тесно связано с повреждением эпителия и развитием воспалительного процесса [117, 119]. Известно, что изменения в составе микробиоты верхних дыхательных путей могут различаться в зависимости от типа возбудителя и степени тяжести заболевания [70, 173]. Дисбаланс в региональном микробном сообществе может способствовать возникновению и развитию вторичных бактериальных инфекций как верхних, так и нижних дыхательных путей, а также переходу заболевания в рецидивирующую или хроническую форму [132].

Исследование Битюниной и соавт., показало, что в период пандемии новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 у населения России в возрасте от 1-60 лет произошли достоверные изменения микробиоценоза кишечника. Они выражались в снижении уровня бифидобактерий, лактобактерий, энтерококков и лактозопозитивных кишечных палочек. Также была нарушена структура филометаболического ядра кишечного микробиоценоза с увеличением доли условно-патогенной и патогенной флоры. Данные изменения могли быть вызваны как нерациональной АБТ, которая широко применялась во время пандемии, так и непосредственным воздействием вируса SARS-CoV-2 на микробиоту желудочно-кишечного тракта [7].

Современные антибактериальные препараты, используемые в терапии инфекционных болезней, до сих пор остаются одним из чудес современной медицины и ежегодно спасают миллионы жизней. Тем не менее накапливается все больше доказательств об их негативном влиянии на человеческий микробиом и общем ущербе для здоровья на глобальном уровне. Даже краткосрочная антибактериальная терапия не остается незамеченной [165].

Среди известных негативных воздействий АБП на состав микробиоты кишечника можно выделить: повсеместное снижение разнообразия среди типов микроорганизмов, потенциальную потерю целых микробных сообществ,

чрезмерный рост патогенных видов (например, *Clostridioides difficile*), а также рост распространения генов резистентности к АБП. У госпитализированных пациентов применение АБП может способствовать внутрибольничной колонизации и появлению патогенов с множественной лекарственной устойчивостью, что увеличивает риск возникновения инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи [38, 45, 166].

При оценке влияния антибактериальной терапии на пациента в последние годы помимо развития диареи регистрируются и другие нарушения функций пищеварительной системы, такие как развитие запора, рвоты, диспепсии, стоматита. Также наблюдаются нарушения функции кожных покровов и придатков кожи. Со стороны нервной системы отмечают нарушение сна, нарушение в психоэмоциональной сфере. У лиц женского пола – развитие воспалительных изменений наружных гениталий. Кроме того, отмечают обострение аллергических заболеваний, а также развитие повторных эпизодов ОРИ в течение месяца после АБТ [35].

Преимущественно указанные изменения определяются нарушением микробиоты определенного биотопа вследствие лечения антибактериальными препаратами, что требует проведения рациональной коррекции данных нарушений.

Сохранение устойчивости микробиоты различных биотопов играет важную роль в защите организма-хозяина от различных инфекционных и неинфекционных заболеваний [3]. Многочисленные исследования подтверждают глубокую связь между микробиотой ротоглотки и иммунной системой организма-хозяина, охватывая как врожденные, так и адаптивные компоненты иммунитета. Также нарушение взаимодействия между иммунной системой и микробиотой также может приводить к ожирению, аллергии, к аутоиммунным расстройствам. Применение антибактериальной терапии или диет может усугублять данные проблемы [62, 266].

Ранее проводились исследования, в которых изучалось применение пробиотиков на основе *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 или *Lactobacillus*

rhamnosus GG одновременно с АБТ для профилактики развития ААД. Однако, клинические проявления нарушений со стороны различных биотопов, связанные с приемом системной АБТ у детей с осложненной формой ОРВИ, нуждаются в дальнейшем изучении. Требуется уточнения и место полиштаммовых пробиотиков, широко используемых в последние годы в клинической практике, а также их безопасность и эффективность в профилактике ААС.

На сегодняшний день применение антибиотических препаратов в клинической практике неотрывно связано с риском развития различных побочных реакций, среди которых наиболее распространены гастроинтестинальные расстройства и ААД. Все возрастные группы склонны к развитию ААД, однако дети подвержены наибольшему риску, поскольку частота использования АБП в педиатрии значительно выше, чем в терапевтической практике, а развитие диареи, связанной с применением АБП, среди детей составляет от 20 до 35 % [38, 100]. Ключевой частью патогенеза ААД является нарушение микробиоты кишечника, что приводит к снижению концентрации короткоцепочечных жирных кислот в кишечнике, накоплению желчных кислот и углеводов в толстой кишке, а также к изменению процессов всасывания воды.

Согласно результатам исследования, А. А. Плоскиревой становится очевидным, что АБТ приводит к целому ряду неблагоприятных состояний, которые реализуются через изменение микробиоты желудочно-кишечного тракта и может затрагивать все важные функциональные оси – «легкие–кишечник» (после АБТ в течение месяца возникновение повторных эпизодов ОРВИ), «кожа–кишечник» (поражение кожных покровов и придатков кожи – появление сухости кожи, опрелостей, ломкости ногтей, волос и т.п.), «мозг–кишечник» (развитие нарушений сна, нарушений в психоэмоциональной сфере) и др. Комплексный анализ данных процессов позволяет говорить о развитии ААС, тем не менее распространенность его в педиатрии до конца не ясна, так же как не определены подходы к профилактике и лечению. В большинстве стран внимание уделяется профилактике ААД с помощью моноштаммовой пробиотической терапии. Несмотря на убедительные данные об эффективности некоторых пробиотиков,

Saccharomyces boulardii CNCM I-745 или *Lactobacillus rhamnosus* GG (уровень доказательности 1А и 1В согласно ESPGHAN, в профилактике ААД, не все механизмы их действия полностью изучены, и остается неясным, какие именно кишечномодулирующие свойства пробиотических микроорганизмов наиболее важны для защиты от ААД [227]. Наиболее вероятно, даже эффекты монопробиотиков являются многофакторными и зависят как от штамма, так и от фона хозяина и, конечно, от индивидуальных особенностей кишечной микробиоты.

При изучении влияния пробиотиков, как правило, исследуется его воздействие лишь на один локус микробиоты, в доступной нам литературе до настоящего времени отсутствуют данные, подтверждающие или опровергающие влияние пробиотика на микробиом нескольких локусов одновременно.

Исходя из вышеизложенного необходимость дальнейших исследований изменений микробиоты различных локусов (ЖКТ, полость рта, гениталий) позволит оптимизировать патогенетически обоснованные терапевтические подходы, а также адаптировать применение пробиотической профилактики и обеспечить эффективное восстановление микробиоты.

Целью исследования стала оптимизация лечения ОРВИ у детей, требующих назначения антибактериальной терапии, на основании изучения микробиома с использованием современных молекулярно-генетических методов.

На первом этапе исследования была проведена оценка влияния и эффективности моноштаммового пробиотического препарата *S. boulardii* CNCM I-745 на развитие ААС и состояние микробиоты ротоглотки, фекалий и половых органов (девочек) у пациентов с инфекцией нижних дыхательных путей (внебольничная пневмония), получающих системную АБТ.

Анализ клинико-лабораторных особенностей ИНДП у пациентов с включением в базисную терапию моноштаммового пробиотика в сравнительном исследовании выявил достоверно более быстрое разрешение интоксикационного синдрома, купирование катаральных явлений (ЗЗСГ, гиперемия ЗЗГ), региональная ЛАП.

При анализе полученных данных установлено, что симптомы ААС развивались у большинства пациентов, получавших АБТ, – 55 детей (68,75 %). При этом у детей, получавших *S. boulardii* CNCM I-745, ААС развивался в 2 раза реже, чем у детей группы без пробиотической коррекции, $p < 0,05$.

При оценке проявлений ААС наиболее частыми были симптомы поражения ЖКТ, при этом наряду с классическими проявлениями (появление жидкого учащенного стула) пациенты предъявляли жалобы на абдоминальные боли, метеоризм, задержку стула вплоть до запора и появления «овечьего» стула.

В ходе клинического наблюдения у пациентов с комбинированной терапией АБП и моноштаммовой пробиотической поддержкой со стороны ЖКТ зафиксировано уменьшение жалоб на метеоризм к 4 суткам приема терапии 13,2 % $p < 0,05$, на боли в животе к 5-м суткам $p < 0,05$, жидкий стул не превышала 10,5 % и была максимальной к 5 суткам АБТ, $p < 0,05$.

У 23,7 % пациентов основной и 26,2 % – ГС на фоне АБТ регистрировали замедление кишечного транзита и отсутствие стула в течение суток (запор), $p > 0,05$.

Анализ отклонения значений консистенции стула по Бристольской шкале от нормы показал значимое улучшение его характеристик в ОГ ($p=0,009$, критерий МакНемара) и не выявил улучшений у пациентов получавших АБТ и не принимавших пробиотик ($p=0,169$). Влияние *S. boulardii* CNCM I-745 было статистически значимо ($p=0,005$, точный критерий Фишера).

Среди пациентов, получавших пробиотический препарат, частота гастроинтестинальных побочных эффектов АБТ, включая появление жидкого учащенного стула была реже – 16 детей (42,1 %), чем у пациентов, не получавших пробиотики – 38 детей (90,5 %).

Экстраинтестинальные проявления ААС, выявленные нами у больных с осложненным течением ОРИ, включали развитие вульвовагинита у 46,1 % девочек, получавших АБТ, однако его частота в когорте пациентов, получавших пробиотик, была достоверно ниже – 16,7 % против 71,4 % ($p=0,001$).

На момент поступления и за период антибактериального лечения была проведена оценка изменения кожи и слизистых оболочек у пациентов сравниваемых групп. Сухость кожных покровов у пациентов сравниваемых групп стала проявляться чаще за период АБТ, особенно в ГС – в 2 раза чаще (12 человек, 28,6 %), однако различия не достигали статистической значимости – $p=0,192$.

По результатам нашего исследования подключение пробиотика *S. boulardii* CNCM I-745 у детей, получавших антибактериальные препараты широкого спектра действия, способствовало снижению экстраинтестинальных проявлений ААС. Среди пациентов, получавших АБТ в сочетании с пробиотиком *S. boulardii* CNCM I-745 частота воспалительных изменения слизистой оболочки полости рта (стоматит) (ОГ – 3 (7,9 %) & ГС 16 (38,1 %)) и наружных половых органов у девочек ((гиперемия вульвы ОГ-3 (16,7 %) & ГС 15 (71,4 %) и выделения ОГ – 1 (5,6 %) & ГС – 12 (57,1 %)) оставались без изменений ($p=1$), в то время как в ГС на фоне проводимой АБТ отмечалось увеличение доли пациентов с данными симптомами, ($p < 0,05$).

Таким образом, применение пробиотического препарата *S. Boulardii* CNCM I-745 в сочетании с АБП у больных с осложненным течением ОРИ, препятствовало развитию и ускоряло регресс клинических проявлений ААС. Уникальность настоящего исследования заключается в том, что был проведен одномоментный анализ состояния микробиома локусов ротоглотки, кишечника и наружных половых органов (у девочек) у пациентов с ИНДП до АБТ, на момент ее завершения в сопоставлении с условно здоровыми пациентами. Данный анализ включал оценку суммарного количества микроорганизмов в каждом образце (с помощью количественной ПЦР), определение альфа-разнообразия (индексы Шеннона и $Chao1$), бета-разнообразия (использованы расстояние Эйтчисона и мера Брея-Кертиса), метод главных координат (РСоА) использовался для визуализации данных расстояний. При сравнении образцов орофарингеальной, генитальной и фекальной микробиоты детей до лечения и здоровых детей с помощью метода ближайшего баланса был установленны две группы микробов, одна из которых ассоциирована со здоровьем, а другая – с заболеванием.

Соотношение (баланс) между этими группами достоверно ($p < 0,05$) отличалось у больных и здоровых. В дальнейшем этот баланс был использован как мера схожести микробиоты со здоровой.

В ходе выполнения исследования полученные клинические результаты были сопоставлены с данными по состоянию микробиоты локусов, на уровне которых регистрировались симптомы нежелательных реакций при использовании АБП.

Данные секвенирования гена 16S рРНК микроорганизмов микробиоты ротоглотки, кишечника и наружных половых органов в начальном периоде ОРИ (ВП) представляют большое научное значение, так как выявляют закономерности реагирования микробиоты в связи с функциональными осями «рот-кишечник», «легкие-кишечник», «кишечник- гениталии». Эти данные также позволяют понять, какие нарушения микробиоты ассоциированы с ИНДП (внебольничная пневмония) у детей и как трансформированная воспалительным процессом микробиота реагирует на дополнительное повреждающее воздействие АБТ.

Установлено, что у детей с инфекцией нижних дыхательных путей еще до начала АБТ наблюдаются наиболее выраженные изменения орофарингеальной и генитальной микробиоты. Они выражаются в снижении альфа-разнообразия микробиоты (по индексу Шеннона и Chao1), увеличение общей численности микроорганизмов, отличия по бета-разнообразию Брея-Кертиса и расстояние Эйтчисона. Однако, состояние фекальной микробиоты отличалось от показателей здоровых детей лишь по соотношению пропорций основных микробов и бета-разнообразию Брея-Кертиса.

В раннем периоде заболевания орофарингеальной микробиота, несомненно, первой реагирует на развитие инфекционного процесса на различных уровнях дыхательной системы, при этом среди орофарингеальных микроорганизмов, ассоциированных с пневмонией, была обнаружена *Streptococcus pneumoniae*. Орофарингеальный микробиом включает более 700 видов микроорганизмов, занимая второе место по величине среди микробных сообществ человека после кишечника [261]. В ранее опубликованных исследованиях было показано, что наиболее распространенные виды здоровой полости рта – *Streptococcus oralis*,

Streptococcus mitis и *Streptococcus peroris* [52]. Также среди представителей нормального орофарингеального микробиома встречаются роды *Actinomyces*, *Corynebacterium* и *Veillonella* [216]. Выживанию в постоянно меняющейся среде полости рта способствует склонность микроорганизмов к образованию структурированных многовидовых сообществ, биопленок, на зубных и эпителиальных поверхностях. Учитывая непосредственную анатомическую связь полости рта и дыхательных путей, и, следовательно, функциональную связь ее микробиоты и легочной, такие микроорганизмы, как *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Treponema denticola*, *Prevotella oralis* и *Campylobacter gracilis*, в настоящее время были признаны системными патогенами, идентифицированными в пародонтальном кармане [178] и связанными с риском развития хронических заболеваний легких [268].

Анализ образцов орофарингеальной микробиоты у пациентов сравниваемых групп с ИНДП в ходе лечения не выявил статистически значимого изменения альфа-разнообразия, а также бета-разнообразия Брея-Кертиса, установлено лишь снижение общего количества бактерий, что, вероятно, связано с действием АБП. Однако, включение в терапию *S. Boulardii* CNCM I-745 оказывало профилактический эффект в части развития стоматита, что, возможно, было ассоциировано с увеличением доли облигатных *Streptococcus*, *Haemophilus* и *Rothia*. В литературе к настоящему моменту широко обсуждается влияние наличия заболеваний пародонта и зубов у взрослых как источника патогенных бактерий на что будет сделан акцент в последующих исследованиях.

При анализе микробиоты наружных половых органов у пациенток с ИНДП на момент поступления выявлены статистически значимые отличия от микробиоты условно здоровых детей, характеризующиеся, повышением общего числа микроорганизмов, снижением альфа разнообразия и пропорций микробов, изменением бета-разнообразия Брея-Кертиса в сравнении с условно здоровыми пациентами. Фактически, микробы, ассоциированные со здоровьем, почти не встречались у пациенток, а микробы, ассоциированные с заболеванием, почти не встречались у здоровых девочек. Микробы, ассоциированные в нашем

исследовании с пулом здоровых, описаны в литературе как комменсальные, характерные для генитальной микробиоты девочек. По данным исследования Xiaoming W. и соавт, у здоровых девочек препубертатного периода преобладали рода *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Ezakiella* и *Peptoniphilus* [85]. В нашем исследовании многие представители этих родов присутствовали у здоровых детей и отсутствовали у больных ИНДП. Среди микроорганизмов, которые регистрировались в основном у девочек с ИНДП, выявлены в основном патогенные микроорганизмы: *Lactobacillus iners* [102], *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis* [259, 290]. Выявленные в результате исследования нарушения микробиоты согласуются со значительной частотой клинических проявлений со стороны половых органов: гиперемия вульвы или выделения из влагалища, которые прослеживались у половины пациенток.

Стоит заметить, что несмотря на проводимую антибактериальную терапию и исходные изменения микробиоты у девочек до начала лечения, включение моноштаммового пробиотика в терапию способствовало поддержанию стабильности генитальной микробиоты девочек и диктует необходимость продолжения исследований в других возрастных группах.

В нашем исследовании микробиота кишечника детей страдающих ИНДП существенно не изменилась в дебюте заболевания и до начала лечения АБП. Однако при оценке параметров фекальной микробиоты между здоровыми детьми и больными ИНДП наблюдались отличия по составу (пропорциям основных микробов и бета-разнообразию Брея-Кертиса). Альфа-разнообразие, бета-разнообразие, а также общее количество микробов в образцах кишечной микробиоты больных с ИНДП с использованием *S. boulardii* CNCM I-745 за период АБТ практически не менялось. Эти данные противоречат общепринятым оценкам о снижении численности и разнообразия кишечной микробиоты в период применения антибактериальных препаратов широкого спектра. Можно предположить, что от состояния кишечной микробиоты человека до лечения, зависит степень и характер нарушений микробиоты, вызванных АБТ. Это подчеркивает еще большую прогностическую роль исходного состояния

микробиоты в оценке клинико-патологических последствий применения АБП. Возможно, именно этот феномен лежит в основе индивидуальных реакций на АБП. Поскольку лишь небольшая часть кишечной микробиоты является общей для здоровых людей [120, 221], наши результаты объясняют ранее полученные данные о том, что реакция микробиоты на АБП индивидуальна у разных людей [106, 270]. Также важно учитывать нестабильность микробиома в целом, особенно у детей раннего возраста. Важно подчеркнуть, что полученные нами данные свидетельствуют о большем «консерватизме» микробиоты ЖКТ в ответ на применение АБ по сравнению с другими эпитопами.

Таким образом, полученные результаты подтверждают позитивное влияние короткого курса *S. boulardii* CNCM I-745 у пациентов с ИНДП на совместное применение с АБТ: препятствовало развитию ААС и способствовало более быстрому купированию его симптомов со стороны ЖКТ (уменьшение вздутия живота, боли в животе, диарейного синдрома, снижение склонности к запорам). Полученные данные с применением новейших молекулярно-биологических методов о составе микробиоты свидетельствуют об изменениях, связанных как с болезнью, так и с терапией. Тем не менее короткие курсы эукариотического пробиотика *S. boulardii* CNCM I-745 в комбинации с АБТ не оказывали значимого влияния на состояние микробиома, особенно ЖКТ.

Учитывая, полученные данные на первом этапе исследования и по результатам исследования Spatz M и соавт., проведенного в 2023г, о восстановлении кишечной микробиоты после АБТ, на модели животных (мыши) было продемонстрировано, что применение *S. boulardii* CNCM I-745 на фоне АБТ оказывало весьма ограниченное воздействие на популяции кишечной микробиоты. Однако, согласно данным анализа последовательностей 16S и ITS2 рРНК, продление терапии *S. Boulardii* CNCM I-745 на 7 дней после завершения АБТ (в общей сложности 17 дней) способствовало восстановлению исходного бактериального равновесия [242]. Вероятно, для достижения значимого восстановления альфа-разнообразия, смещения соотношения видов бактерий в

сторону здоровых и восстановления баланса микроорганизмов указанных локусов требуется более продолжительная пробиотическая терапия данным пробиотиком.

В рекомендациях Европейского сообщества детских гастроэнтерологов ESPGHAN 2022 по профилактике ААД указываются только моноштаммовые пробиотики *S. boulardii* CNCM I-745 и L.GG, имеющие высокий уровень безопасности и эффективности. Вместе с тем современные тренды в пробиотической терапии предусматривают назначение также мультиштаммовых препаратов. Однако, их место в профилактике ААД до настоящего времени не определено. В связи с этим возникла необходимость оценить клинико-микробиологическую эффективность данных пробиотиков у детей.

Все вышеперечисленное определило цель второго этапа исследования, а именно оценить влияние приема мультиштаммового пробиотического препарата Бак-сет беби и Бак-сет форте на развитие ААС и состояние микробиоты кишечника у пациентов, получающих системную АБТ, с осложненной формой ОРИ.

На втором этапе исследования проводилось комплексное клинико-лабораторное и инструментальное обследование в инфекционном отделении для детей Химкинской больницы. Госпитализировано 149 пациентов в возрасте от 1 до 7 лет, из них 62 ребенка получали мультиштаммовый пробиотик, у 120 пациентов отмечалось осложненное течение ОРИ.

Анализ клинико-лабораторных особенностей ОРИ у пациентов сравниваемых групп к моменту завершения антибактериальной терапии снижалась выраженность симптомов интоксикации. Включение пробиотической коррекции способствовало снижению температуры у трети пациентов раннего возраста в течение первых суток. У пациентов обеих возрастных групп на фоне АБТ без коррекции пробиотиком лихорадка сохраняется достоверно дольше до 3 дней, сохранение повышенной раздражительности на момент завершения АБТ фиксировали более, чем у половины детей без пробиотической коррекции.

На фоне ОРИ жалобы на сниженный аппетит не редкость [126, 144, 188]. В нашем исследовании подключение к антибактериальной терапии

мультикомпонентного пробиотика значительно сокращало продолжительность снижения аппетита среди пациентов обеих возрастных групп, а в период восстановления способствовало сохранению аппетита.

Продолжительность снижения аппетита за все время наблюдения у детей 1-3 лет в ОГ (Me) – 1 сутки (IQR 1–3 суток) и в ГС (Me) – 3 суток (IQR 1–5 суток), у детей 3-7 лет в ОГ (Me) – 2 суток (IQR 0–3 суток) и в ГС (Me) – 4 суток (IQR 2–6 суток)

Для оценки состояния кишечника, оценки пищеварительной функции, присутствие скрытой крови, консистенции, а также присутствия некоторых микроорганизмов было проведено копрологическое исследование.

По нашим данным у детей раннего возраста применение пробиотической коррекции способствовало значительному улучшению показателей копрологии, которые отражают состояния ЖКТ, проявляющееся в снижении креатореи, стеатореи 1 типа, лейкореи, выделении перевариваемой клетчатки и лиентореи, а также в уменьшении йодофильной флоры к моменту выписки. Для детей дошкольного возраста использование 14-компонентного пробиотика в период АБТ также привело к достоверному уменьшению креатореи, стеатореи 1 и 2 типов, а также слизи и выделения неперевариваемой клетчатки на момент завершения стационарного лечения. Эти изменения указывают на восстановление ферментативной функции поджелудочной железы (стеаторея 1 типа, лиенторея), купировании симптомов ААД (лейкорей, стеаторея 2 типа, слизь).

В ходе первого этапа исследования нами были определены значимые нарушения функции органов пищеварения, такие как боли в животе, метеоризм, задержка стула, жидкий стул, увеличение или уменьшение кратности стула. Однако, одной из наиболее частых жалоб у пациентов раннего возраста за период стационарного лечения были жалобы на боли в животе – 22 человека (41,5 %), что превалировало над частотой жалоб от пациентов дошкольного возраста – 14 человек (21 %). Задержка дефекации за время пребывания в стационаре у пациентов раннего возраста отмечалась у 45 (84,9 %), в то время как у пациентов дошкольного возраста 54 (80,5 %).

Установлено, что подключение мультипробиотического препарата в терапию детей раннего и дошкольного возраста способствовало сокращению жалоб на боли в животе в период стационарного лечения, а также снижало число жалоб на боли в животе в период реконвалесценции после АБТ в отличие от пациентов группы без пробиотикопревенции.

Следует отметить, что в период восстановления после антибиотической терапии совместно с мультипробиотиком жалобы на абдоминальные боли среди пациентов раннего возраста – 11,1 % (3 пациента) фиксировали так же редко, как в группе дошкольного возраста 2 человека (5,7 %).

Ранее изучалось проявление метеоризма у детей раннего возраста до применения пробиотических препаратов и АБТ он встречался у 15-75 % детей. Однако, в период АБТ и подключения пробиотиков вздутие живота стало отмечаться у 40-50 % детей [36]. В нашем исследовании доля пациентов раннего возраста с проявлением метеоризма на фоне включения 7 компонентного мультипробиотика сократилась за время стационарного лечения в 2 раза (3 детей (11,1 %)), доля пациентов дошкольного возраста с включением 14-компонентного пробиотика также позволила сократить проявление метеоризма в 2 раза (5 человек (14,3 %)), в то время как в ГС обеих возрастных групп отмечалась обратная тенденция. Продолжительность проявления вздутия живота за весь период наблюдения в группе с включением мультипробиотической коррекции был в 2 раза короче, чем в группе без пробиотика. При анализе продолжительности проявления вздутия живота за весь период наблюдения (Ме) в ОГ 2 суток (IQR 0–2 сутки), в ГС Ме составила 4 суток (IQR 3-5 суток), $p < 0,001$.

На фоне АБТ нередко развивается задержка стула или запор, который развивается в результате изменений в микробиоте кишечника. АБТ, нацеленная на уничтожение патогенных микроорганизмов, воздействует на комменсальные бактерии, нарушая баланс микробиоты и уменьшая производство короткоцепочечных жирных кислот, которые способствуют перистальтике кишечника, и приводит к развитию запоров.

В нашем исследовании задержка дефекации отмечалась в обеих возрастных группах. У большинства пациентов раннего возраста обеих групп за время лечения в стационаре задержка стула не превышала 3 суток. Однако у всех пролеченных детей дошкольного возраста продолжительность отсутствия дефекации за весь период наблюдения не превышала 4 суток, хотя в группе с включением мультиштаммового пробиотика Ме составила 2 суток (IQR 1-4 сутки), в ГС 3 суток (IQR-2-4 суток), $p=0,058$.

Стоит заметить, что в постантибиотический период тенденция к запорам в группе без пробиотической коррекции обеих возрастных групп сохранялась чаще, чем в группе с пробиотиком.

Ранее было продемонстрировано, что одной из самых распространенных и серьезных клинических проблем использования антибиотических препаратов является развитие ААД [17, 19, 41]. Многочисленные исследования показывают, что дети до 7 лет подвержены более высокому риску развития ААД, причем этот риск особенно увеличивается у детей раннего возраста [37].

В нашем исследовании на момент завершения АБТ установили, что у пациентов раннего и дошкольного возраста, получавших АБП без сопровождения пробиотиков, регистрировали значительное увеличение кратности стула – 84,6 % и 62,5 % соответственно, в то время как включение мультиштаммового пробиотического препарата в лечение способствовало значительному снижению данного показателя до 7,4 % и в 20 % случаев соответственно. Стоит заметить, что в период реконвалесценции после завершения АБТ, несмотря на нормализацию кратности стула у большинства пациентов сравниваемых групп, в группе без пробиотической поддержки жалобы на увеличенную кратность стула все же сохранялись у значительного числа детей: 26 % в группе раннего возраста и 28,1% в группе дошкольного возраста. В то время как у пациентов с включением пробиотика увеличенная кратность стула сохранялась у детей раннего возраста – 7,4 %, у дошкольного возраста – 5,7 %. Что подчеркивает значимость пробиотической коррекции у детей, в особенности раннего возраста, как средства снижения побочных эффектов АБТ.

При анализе характера кала нами была использована Бристольская шкала для наглядной демонстрации различий консистенции стула у детей, получавших АБТ с применением и без применения мультиштаммового пробиотика. Анализ данных показал, что включение пробиотика в терапевтическую схему способствовало сохранению нормальной консистенции стула у большинства детей раннего возраста – 70,4 %, а также детей дошкольного возраста – 41,2 %. Заметим, что ускорение кишечного транзита у детей раннего возраста отмечали в 7,4 % случаев, а в возрастной когорте 3-7 лет – в 20,6 % случаев, так же отмечалась тенденция к замедлению кишечного транзита в 38,2 % случаев. В то время как отсутствие пробиотической коррекции у детей раннего и дошкольного способствовало тенденции к ускорению кишечного транзита, то есть развитию умеренной диареи (53,8 % и 65,6 % соответственно).

Анализ консистенции кала на 21 ± 2 день показал тенденцию к возвращению к исходным параметрам у большинства пациентов сравниваемых групп. Отсутствие пробиотической коррекции в обеих возрастных группах в период реконвалесценции способствовало сохранению тенденции к умеренной диареи. У детей раннего возраста частота случаев достигала 3,8%, и не наблюдалась в группе с пробиотической коррекцией. Эта тенденция также сохранялась у дошкольников - 9,4% против 2,9% при использовании пробиотиков.

Таким образом, наши данные ясно демонстрируют, что мультиштаммовая пробиотическая коррекция оказалась особенно эффективной у детей раннего возраста, так как она способствовала сохранению нормальной частоты и консистенции стула. Применение мультиштаммовых пробиотиков в период АБТ и после ее окончания снижает риск развития симптомов поражения ЖКТ у детей, в частности диареи, а также способствует более быстрому купированию симптомов ААС и восстановлению нормальной функции кишечника после завершения лечения, существенно улучшая качество жизни пациентов. Полученные нами данные подтверждают важность комплексного подхода в лечении острых респираторных инфекций у детей, включая использование мультиштаммовых пробиотиков для предотвращения негативных последствий АБТ.

По сей день «золотым стандартом» определения микробного пейзажа биотопов организма является метод секвенирования фрагмента гена 16S рРНК. Данный метод основан на анализе генетических последовательностей 16S рибосомной РНК, которая присутствует у всех бактерий и архей, и служит молекулярным «отпечатком пальца», позволяющим идентифицировать и классифицировать микроорганизмы на различных таксономических уровнях [147].

На данном этапе исследования был проведен анализ изменения богатства микробиоты в обеих возрастных группах на фоне применения АБП совместно с мультиштаммовым пробиотиком и без него в разные временные периоды. Фокус внимания был направлен на исследование изменения альфа-разнообразия микробиоты после завершения курса антибактериальной терапии. Исследование показало, что у детей младшего возраста наблюдалось значимое повышение богатства микробиоты после АБТ с достижением уровня, наблюдаемого до начала терапии. Тем не менее, различия в степени увеличения альфа-разнообразия между группами не были значимыми.

Анализ изменения богатства микробиоты у пациентов дошкольного возраста на фоне применения АБП совместно с мультиштаммовым пробиотиком и без него в разные временные периоды показал повышение альфа-разнообразия с достижением его исходных значений в течение периода после окончания АБТ у пациентов с пробиотиком, стоит заметить, что в ГС таких изменений нами не зафиксировано.

В рамках исследования был проведён анализ бета-разнообразия микробиоты в двух группах: одна группа получала мультиштаммовый пробиотик, другая – только АБТ. Анализ проводился в два временных интервала: до начала лечения и на 7 ± 2 день лечения, а также до начала терапии и на 21 ± 2 день от начала лечения (через 14 ± 2 дня после окончания АБТ). Сравнение результатов не выявило значимых различий в бета-разнообразии между образцами разных групп в обеих возрастных группах. Однако к моменту завершения АБТ была отмечена тенденция к снижению бета-разнообразия. Дальнейший анализ динамики

представленности микроорганизмов в каждой группе выявил таксономические единицы, пропорции которых значимо изменились между различными временными точками. Продемонстрировано на фоне приема АБТ в группе без пробиотической коррекции увеличение представленности *Enterococcus*, снижение количества *Bifidobacterium*, снижение представленности родов *Collinsella*, *Coprococcus*, а также снижение доли ряда комменсальных *Clostridium* в группе детей раннего возраста.

Описанные изменения сопоставимы с клиническими проявлениями в виде изменения консистенции кала в область умеренной диареи [147]. Также ряд ранее проведенных исследований сообщает, что снижение бифидобактерий может приводить к запорам, что сопоставимо с клинической картиной ряда пациентов.

В ранее опубликованных исследованиях сообщают, что снижение уровней бактерий *Coprococcus* и *Collinsella* в кишечной микробиоте может приводить к нарушению защиты кишечника [86, 140, 262]. *Coprococcus* способствует ферментации пищевых волокон с образованием короткоцепочечных жирных кислот, таких как бутират, который важен для поддержания гомеостаза кишечника. Уменьшение их количества может привести к снижению образования данных метаболитов, что влияет на множество аспектов здоровья, например, создает условия для размножения кислородоустойчивых микробов и может способствовать развитию инфекционных заболеваний.

В свою очередь мы отмечаем в катамнестическом наблюдении в течение 3 месяцев склонность к более частым ОРИ и ОКИ пациентов группы без пробиотической коррекции.

Согласно данным литературы бактерии рода *Coprococcus* могут быть связаны с различными неврологическими и психологическими расстройствами. В нашем исследовании у пациентов раннего возраста ГС в период применения АБТ, отмечаем сохранение повышенной раздражительности, в том числе и ухудшение настроения

При анализе представленности таксонов бактерий в сравниваемых группах у пациентов дошкольного возраста регистрировали аналогичное пациентам раннего возраста снижение доли *Bifidobacterium* в ГС. В группе, получавшей пробиотическую коррекцию, исследование показало, что концентрация *Bifidobacterium* существенно не изменялась: не было выявлено значимых изменений во времени и отличий от группы здоровых детей. На момент завершения АБТ доля *Bifidobacterium* в ОГ была значимо выше, чем в ГС, что согласуется с меньшими изменениями со стороны желудочно-кишечного тракта. Также у пациентов дошкольного возраста с пробиотической коррекцией доля *Lactobacillus* значимо не изменялась на протяжении всего периода наблюдения.

Ранее проведенные исследования, характеризующий состав кишечного микробиома, показали, что у здоровых людей относительная численность *Lachnospiraceae* составляла около 22,4 % [97]. Более того у детей относительная численность этого семейства составляет около 16,8 % [89]. По результатам нашего исследования выявлено, что в сравнении со здоровыми детьми у пациентов группы с пробиотической коррекцией до начала лечения отмечали снижение доли родов из *Lachnospiraceae* (в том числе *Coprococcus*) и *Ruminococcaceae* (в том числе *Ruminococcus*). Данные изменения можно сопоставить с повышенной раздражительностью [264], и проявлением дискомфорта со стороны ЖКТ [151]. На момент завершения АБТ в группе без пробиотической коррекции доля *Bifidobacterium*, *Lachnospiraceae*, семейства *Clostridiaceae* была ниже. В ОГ увеличилась доля *Enterococcus*, отдела *Proteobacteria*, порядка *Bacillales*, понижена *Clostridiales*, семейство *Lachnospiraceae* (в т.ч. *Coprococcus*, *Dorea*, *Roseburia*) и *Ruminococcaceae*. Данные изменения сопоставимы с нарушением консистенции стула, с проявлениями симптомов ААС.

В постантибиотический период (7 ± 2 дня до 21 ± 2 дня) наблюдалось значимое увеличение представленности рода *Coprococcus* (и его отдельных видов) и семейства *Clostridiaceae* в обеих группах. В ОГ уменьшилась доля у родов *Akkermansia* (в том числе ее представителя *A. muciniphila*) и *Enterococcus*, повысилась доля *Lachnospiraceae*, в том числе рода *Blautia*, которые участвуют в

метаболизме углеводов, производя такие КЦЖК, как бутират и пропионат, которые играют важную роль в поддержание здорового баланса кишечной микрофлоры, стимулируя рост полезных бактерий и подавляя патогенные микроорганизмы [264]. Некоторые исследования демонстрировали, что виды *Blautia*, часто ассоциируются со здоровым состоянием и являются одними из основных продуцентов КЦЖК. *Blautia* и *Roseburia* представляют собой виды, наиболее вовлеченные в контроль воспалительных процессов кишечника, атеросклероза и созревания иммунной системы, демонстрируя, что конечные продукты бактериального метаболизма (бутират) опосредуют эти эффекты. В ГС было значимое увеличение доли родов *SMB53*, *Actinobacteria*, снижение доли энтерококков.

На момент завершения исследования микробиота пациентов сравниваемых групп не отличалась от здоровой микробиоты. Полученные изменения можно интерпретировать как восстановление микробиома в каждой из групп. Также данные изменения сопоставимы с уменьшением кратности и улучшением консистенции стула, и уменьшением проявлений со стороны ЖКТ.

При анализе изменения представленности микроорганизмов у детей раннего возраста с мультипробиотической коррекцией значимых изменений по какому-либо таксону не было зарегистрировано, что сопоставимо с незначительным изменением консистенции кала, частоты дефекации, снижению выраженности желудочно-кишечных расстройств.

В ходе исследования было установлено, что применение мультиштаммового пробиотического препарата в период АБТ способствует снижению частоты некоторых проявлений ОРИ, таких как интоксикационный синдром и расстройства ЖКТ. Кроме того, использование пробиотика минимизирует негативное воздействие АБТ на микробиом и снижает риск развития ААС. Впервые в результате комплексного клинико-лабораторного исследования с использованием молекулярно-генетических методов обоснована эффективность применения и безопасность мультипробиотика в профилактике ААС.

Дальнейшее исследование изменений в составе микробиоты под воздействием АБТ, а также при использовании пробиотиков и в период восстановления, имеет большое значение. Антибиотики часто оказывают влияние на микроорганизмы продуцирующие КЦЖК, например, такие как копрококки, которые играют ключевую роль в поддержании гомеостаза кишечника. Они предотвращают развитие воспалительных заболеваний и поддерживают барьерные функции кишечника. В связи с этим дальнейшее изучение микроорганизмов, вырабатывающих КЦЖК, открывает новые перспективы для разработки пробиотических продуктов и терапевтических средств, направленных на поддержание здоровья кишечника и всего организма.

В заключение следует отметить, что данные о состоянии микробиоты в разные фазы инфекционного процесса могут быть использованы для прогнозирования динамики ее нарушений, вызванных приемом АБП, и привести к персонализированной прецизионной терапии [13]. Однако очевидно, что включение пробиотического препарата, содержащего *S. boulardii* CNCM I-745 и мультиштаммового пробиотика Баксет в зависимости от возрастной группы, в терапию детей с осложненной формой острой респираторной инфекцией, способствует профилактике развития ААС и обеспечивает более быстрое разрешение симптомов со стороны ЖКТ (метеоризм, боли в животе, диарейный синдром, склонность к запорам).

Итогом настоящей работы явилась разработка и внедрение в реальную клиническую практику научно-обоснованного алгоритма дифференцированного назначения пробиотиков совместно с АБТ, позволившего снизить риск развития ААС у детей с осложненным течением ОРИ, повысить эффективность и приверженность к терапии, улучшить исход заболевания.

ВЫВОДЫ

1. У 68,75 % детей с осложненным течением ОРИ, на фоне назначения системной АБТ развиваются гастроинтестинальные и внекишечные (вульвовагинит, сухость кожных покровов) проявления ААС, которые у 11,25 % больных сохраняются на протяжении 5 суток и более. У 67,5 % детей развиваются гастроинтестинальные симптомы среди них изолированное нарушение ЖКТ-составило 28,75 %, у 17,5 % отмечается сочетанные нарушения ЖКТ и кожных покровов, у 17,5 % – ЖКТ и вульвовагинит, у 3,75 % нарушение одновременно со стороны ЖКТ, наружных половых органов и кожных покровов, 1,25 % детей вульвовагинит и сухость кожных покровов.

2. В дебюте острых респираторных инфекций у детей с помощью метода секвенирования гена 16S рРНК образцов кала фиксируются мультилокусные нарушения микробиома наиболее выраженные в ротоглотке (индекс Chao1=0, расстояния Эйтчисона $p=0,001$, мера Брея-Кертиса $p=0,019$) и гениталиях (индекс Шеннона $p=0,02$, индекс Chao1=0,01, расстояния Эйтчисона $p=0,001$, мера Брея-Кертиса $p=0,001$), зависящих от возраста пациента, а также клинической формы заболевания, при этом микробиом ЖКТ более стабилен. Согласно методу ближайшего баланса микробы, ассоциированные со здоровьем, почти не встречались у пациентов, а микробы, ассоциированные с заболеванием, почти не встречались у здоровых.

3. Назначение АБТ у детей раннего возраста с осложненным течением ОРИ усугубляет выявленные изменения дисбиотического характера меняются соотношения микроорганизмов основного ядра микробиоты происходит увеличение представленности энтерококков, снижение количества бифидобактерий, родов копрококков, коллинселл, а также снижение доли ряда комменсальных клостридий. Тогда как у детей старшего возраста помимо снижения доли *Bifidobacterium*, представителей *Lachnospiraceae* (в том числе *Coprococcus* и *Dorea formicigenerans*, *Dorea*, *Roseburia*), семейства *Clostridiaceae*,

нескольких видов Clostridiales и Ruminococcaceae, увеличивается доля отдела Proteobacteria, порядка Bacillales.

4. Применение мультипробиотического комплекса в сочетании с антибактериальной терапией пациентам с осложненным ОРИ протективно влияет на длительность и выраженность симптомов интоксикации, а также частоту развития желудочно-кишечных расстройств, способствует восстановлению нормальной функции кишечника, восстановлению микробиома, улучшает качество жизни пациентов, сокращая в течение 3 месяцев наблюдения частоту повторных респираторных и кишечных инфекций.

5. Включение эукариотического пробиотического препарата на основе штамма *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 коротким курсом в терапию детей старше одного года при инфекциях нижних дыхательных путей без фоновых заболеваний в период АБТ способствует более быстрому купированию симптомов интоксикации, катаральных явлений, региональной лимфаденопатии, разрешению симптомов со стороны ЖКТ: боли в животе, диарейного синдрома, снижению склонности к запорам, а так же более редкому развитию внекишечных проявлений ААС, однако существенно не влияет на дисбиотические нарушения.

6. Разработанный и внедренный новый алгоритм терапевтической коррекции нарушений микробиома с использованием моно – или полиштаммовых пробиотиков и АБП при осложненных острых респираторных инфекциях у детей позволяет снизить риск неблагоприятного исхода, развития ААС, повторных инфекций, сократить сроки госпитализации и предложить пути реабилитации пациентов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для своевременной профилактики антибиотик-ассоциированного синдрома у детей с осложненным течением острой респираторной инфекции необходимо проводить динамическую оценку проявления симптомов ААС, используя комплексный подход (клиническая симптоматика/объективный осмотр, оценка кала по Бристольской шкале).

2. Изменение таксономического состава кишечной микробиоты играет важную роль в развитии и прогрессировании антибиотик-ассоциированного синдрома у пациентов с осложненным течением острой респираторной инфекции. Пациентам со среднетяжелой и тяжелой формой данного заболевания, рекомендовано исследование микробиома ротоглотки с использованием метода секвенирования бактериальных генов 16S рРНК в динамике болезни, что позволит привести к персонализированной терапии для коррекции микробного состава.

3. В стартовую терапию ОРИ с осложненным течением целесообразно включать мультиштаммовый пробиотический комплекс с *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* начиная с первого дня антибактериальной терапии и на протяжении всего курса лечения, а также 14 дней после его завершения. Это снижает риск возникновения антибиотик-ассоциированного синдрома, улучшает прогноз и повышает приверженность к терапии.

4. При инфекциях нижних дыхательных путей у детей с неотягощенным преморбидным фоном с первых дней антибактериальной терапии курсом не менее 7 дней рекомендуется включать *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745, что снижает риск возникновения симптомов поражения ЖКТ, а также экстраинтестинальных проявлений ААС.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

- Дальнейшее изучение и накопление данных о безопасности и эффективности более длительных курсов применения эукариотических штаммов пробиотиков и полиштаммовых пробиотических комплексов для профилактики и лечения различных инфекционных заболеваний.
- Использование современных технологий генетического секвенирования и метагеномики для детального анализа микробиоты и индивидуального подбора пробиотических препаратов.
- Продолжить изучение частоты развития ААС у детей различных возрастных групп с инфекционными заболеваниями.
- Продолжить накопление фактических данных по изменению микробиома различных локусов и их связи с инфекционными заболеваниями различной этиологии.
- Продолжить совершенствование и разработку схем рациональной пробиотикопревенции у пациентов с инфекционными заболеваниями различной этиологии на фоне АБТ для повышения ее эффективности и снижения антибиотикорезистентности.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АБТ – антибактериальная терапия
- АБП – антибактериальный препарат
- ААД – антибиотик-ассоциированная диарея
- ААС – антибиотик-ассоциированный синдром
- БШ – Бристольская шкала
- ВЗК – воспалительное заболевание кишечника
- ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
- ВП – внебольничная пневмония
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
- ИНДП – инфекция нижних дыхательных путей
- ИФА – иммуноферментный анализ
- КЦЖК – короткоцепочечные жирные кислоты
- ОКИ – острые кишечные инфекции
- ОРИ – острые респираторные инфекции
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- РВИ – ротавирусная инфекция
- РНК – рибонуклеиновая кислота
- р-РНК – рибосомная рибонуклеиновая кислота
- РФ – Российская Федерация
- СРК – синдром раздраженного кишечника
- CDI – инфекция *Clostridioides difficile*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антибиотик-ассоциированные диареи у детей: что нового? / И. Н. Захарова, И. В. Бережная, Ю. А. Дмитриева [и др.] // Русский медицинский журнал. – 2015. – Т. 23. – № 3. – С. 128–131. – DOI: 10.21518/2079-701X-2017-19-126-133.
2. Баранаева, Е. А. Острые респираторные вирусные инфекции у детей: клинические особенности, современные возможности профилактики и лечения / Е. А. Баранаева // Международные обзоры: клиническая практика и здоровье. – 2016. – № 2. – С. 6–15.
3. Бахарева, И. В. Роль вагинальной микробиоты в сохранении женского репродуктивного здоровья: обзор литературы (часть 1) / И. В. Бахарева // Репродуктивная медицина. – 2022. – № 1 (50). – С. 52–59. – DOI: <https://doi.org/10.37800/RM.1.2022.52-59>.
4. Бунова, С. С. Лабораторные и инструментальные методы диагностики заболеваний желудочно-кишечного тракта: учебное пособие для студентов / С. С. Бунова, Л. Б. Рыбкина, Е. В. Усачева. – Омск: Изд-во ОмГМА, 2014. – 57 с.
5. Вахитов, Т. Я. Концепция суперорганизма в биологии и медицине / Т. Я. Вахитов, С. И. Ситкин // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2014. – Т. 7. – № 107. – С. 72–85.
6. Вирусные болезни человека: учебник / Ю. В. Лобзин, Т. В. Беляева, Е. С. Белозеров, В. М. Волжанин. – 4-е изд., испр. и доп. – СПб.: СпецЛит, 2012. – 623 с.
7. Влияние пандемии COVID-19 на структуру микробиоценоза кишечника / Л. А. Битюмина, Н. Г. Куликова, А. А. Плоскирева, А. В. Горелов // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2023. – № 2. – DOI: 10.18565/epidem.2023.13.2.70-5.
8. Влияние пробиотика *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 на развитие антибиотик-ассоциированного синдрома у детей, получающих системную антибактериальную терапию по поводу инфекций нижних дыхательных путей /

А. В. Горелов, Д. В. Усенко, Е. В. Мелехина [и др.] // Вопросы практической педиатрии. – 2024. – Т. 19. – № 2. – С. 15–22. – DOI: 10.20953/1817-7646-2024-2-15-22.

9. Волынец, Г. В. Кишечный микробиом и современные методы его исследования у детей / Г. В. Волынец, А. В. Никитин, Т. А. Скворцова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2022. – Т. 67. – № 4. – С. 5–13.

10. Горелов, А. В. Разработка патогенетически обоснованных подходов терапии детей раннего возраста, больных острыми респираторными инфекциями, требующих назначения антибактериальных препаратов / А. В. Горелов, Е. В. Мелехина, Э. С. Сидельникова // Медицинский совет. – 2019. – № 17. – С. 208–216. – DOI: 10.21518/2079-701X-2019-17-208-216.

11. Дзотцоева, Э. С. Оценка применения моноштаммовых и мультиштаммовых пробиотиков при респираторной патологии у детей / Э. С. Дзотцоева, А. В. Горелов // Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение. – 2020. – Т. 4. – № 11. – С. 698–704. – DOI: 10.32364/2587-6821-2020-4-11-698-704.

12. Диарея [Электронный ресурс] // Информационные бюллетени Всемирной Организации Здравоохранения. – 2017. – Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease> (дата обращения 06.01.2024).

13. Евдокимова, Н. В. *Saccharomyces cerevisiae* (boulardii) и микробиота кишечника / Н. В. Евдокимова, В. П. Новикова, А. И. Хавкин // Вопросы детской диетологии. – 2023. – Т. 21. – № 1. – С. 45–51. – DOI: 10.20953/1727-5784-2023-1-45-51.

14. Зайцева, С. В. Острые респираторные инфекции у детей: этиопатогенетические возможности современной терапии / С. В. Зайцева, О. В. Зайцева // Медицинский совет. – 2014. – № 6. – С. 22–30.

15. Заплатников, А. Л. *Clostridium difficile*-инфекция у детей / А. Л. Заплатников, И. Н. Захарова, Н. А. Коровина // Русский медицинский журнал. – 2004. – Т. 12. – № 5. – С. 373–376. – DOI: 10.1001/jamapediatrics.2013.441.

16. Захарова, И. Н. Антибиотик-ассоциированные диареи у детей: как выявить, что делать и как лечить? / И. Н. Захарова, И. В. Бережная, Э. Б. Мумладзе // Медицинский совет. – 2016. – № 1. – С. 78–87.

17. Захарова, И. Н. Нежелательные эффекты антибактериальной терапии в педиатрической практике. Роль пре- и пробиотиков в профилактике антибиотико-ассоциированной диареи / И. Н. Захарова, Н. Г. Сугян, И. В. Бережная // Медицинский совет. – 2018. – № 2. – С. 189–194. – DOI: 10.21518/2079-701X-2018-2-194-199.

18. Изучение эффективности применения метода секвенирования ДНК по фрагменту гена 16s рРНК для идентификации микроорганизмов / Н. Е. Пестова, Е. П. Баранцевич, Н. С. Рыбкова [и др.] // Профилактическая и клиническая медицина. – 2011. – № 4 (41). – С. 54–55.

19. Какие способы профилактики и лечения антибиотик-ассоциированной диареи у детей существуют в настоящее время? / Е. В. Каннер, А. В. Горелов, М. Л. Максимов [и др.] // Медицинский совет. – 2020. – № 1. – С. 171–178. – DOI: 10.21518/2079-701X-2020-1-177-184.

20. Каннер, Е. В. Антибиотикоассоциированная диарея у детей: современный взгляд на проблему / Е. В. Каннер, А. В. Горелов, С. Б. Крутихина // Медицинский совет. – 2017. – № 1. – С. 226–230. – DOI:10.21518/2079-701X-2017-1-226-230.

21. Кишечная микробиота: современные представления о видовом составе, функциях и методах исследования / А. А. Кожевников, К. В. Раскина Е. Ю. Мартынова [и др.] // Русский медицинский журнал. – 2017. – № 17. – С. 1244–1247.

22. Клинические особенности антибиотик-ассоциированного синдрома у детей при различной антибактериальной терапии / Л. Б. Голден, А. А. Плоскирева, Е. В. Каннер, И. Д. Каннер // Русский медицинский журнал. Мать и дитя. – 2021. – Т. 4. – № 3. – С. 260–267. – DOI: 10.32364/2618-8430-2021-4-3-260-267.

23. Клинические рекомендации. Острая респираторная вирусная инфекция (ОРВИ) [Электронный ресурс] / Союз педиатров России // Министерство

здравоохранения РФ. – Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/25_2 (дата обращения: 16.07.2024).

24. Клинические рекомендации. Острый синусит [Электронный ресурс] / Национальная медицинская ассоциация оториноларингологов // Министерство здравоохранения РФ. – Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/313_2 (дата обращения: 16.07.2024).

25. Клинические рекомендации. Острый тонзиллит и фарингит (Острый тонзиллофарингит) [Электронный ресурс] / Национальная медицинская ассоциация оториноларингологов // Министерство здравоохранения РФ. – Режим доступа: <https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/306> (дата обращения: 16.07.2024).

26. Клинические рекомендации. Пневмония (Внебольничная) [Электронный ресурс] / Союз педиатров России // Министерство здравоохранения РФ. – Режим доступа: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/714_1 (дата обращения: 16.07.2024).

27. Колмакова, О. В. Современные методы определения видоспецифичных биогеохимических функций бактериопланктона / О. В. Колмакова // Журнал Сибирского федерального университета. Серия: Биология. – 2013. – Т. 6. – № 1. – 73–95.

28. Мазанкова, Л. Н. Антибиотико-ассоциированные диареи и *Cl. difficile*-инфекция у детей: факторы риска / Л. Н. Мазанкова, С. Г. Перловская // Детские инфекции. – 2015. – Т. 14. – № 2. – С. 29–34.

29. Метаболомические исследования в медицине / Р. Р. Фурина, Н. Н. Митракова, В. Л. Рыжков, И. К. Сафиуллин // Казанский медицинский журнал. – 2014. – Т. 95. – № 1. – С. 1–6.

30. Микробиом влагалища женщины во время беременности и в послеродовом периоде: динамика, взаимосвязь с кишечной микрофлорой, влияние на становление микробиоты новорожденного / А. А. Козлова, А. В. Николаева, Т. В. Припутневич [и др.] // Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения. – 2021. – Т. 9. – № 4. – С. 71–78. – DOI: 33029/2303-9698-2021-9-4-71-78.

31. Николаева, И. В. Современные стратегии диагностики и лечения *Clostridium difficile*-инфекции (обзор литературы) / И. В. Николаева, И. В. Шестакова, Г. Х. Муртазина // *Acta Biomedica Scientifica*. – 2018. – Т. 3. – № 1. – С. 34–42. – DOI: 10.29413/ABS.2018-3.1.5 УДК 616.35-022-08:615.331.

32. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2023 году: государственный доклад. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2024. – 365 с.

33. Опыт применения культурального, масс-спектрометрического и молекулярного методов в исследовании кишечной микробиоты у детей / Б. А. Ефимов, А. В. Чаплин, С. Р. Соколова [и др.] // *Вестник Российского государственного медицинского университета*. – 2019. – № 4. – С. 57–68. – DOI: 10.24075/vrgmu.2019.048.

34. Острые респираторные инфекции у детей и подростков: практическое руководство для врачей / Л. В. Осидак, В. П. Дриневский, Л. М. Цыбалова [и др.]; под ред. Л. В. Осидак. – 3-е изд. доп. – СПб.: ИнформМед, 2014. – 256 с.

35. Плоскирева, А. А. Антибиотикоассоциированный синдром в клинической практике / А. А. Плоскирева, Л. Б. Голден // *Педиатрия. Приложение к журналу Consilium Medicum*. – 2018. – № 2. – С. 59–61. – DOI: 10.26442/2413-8460_2018.2.58-61.

36. Пробиотики в профилактике антибиотико-ассоциированной диареи у детей раннего возраста / Л. А. Балыкова, Е. С. Самошкина, Л. И. Дзюбич [и др.] // *Фарматека*. – 2015. – № 1 (294). – С. 60–65.

37. Рациональные подходы к терапии нарушений функции желудочно-кишечного тракта у детей / Т. А. Руженцова, Д. А. Хавкина, А. А. Плоскирева, Н. А. Мешкова // *Медицинский совет*. – 2020. – № 1. – С. 103–109. – DOI: 10.21518/2079-701X-2020-1-106-112.

38. Резолюция Совета экспертов «Дисбиоз. Ближайшие и отдаленные последствия нарушения микробиома и варианты их коррекции с помощью пробиотиков» / А. В. Горелов, И. Н. Захарова, А. И. Хавкин [et al.] // *Вопросы*

практической педиатрии. – 2022. – Т. 17. – № 1. – С. 213–221. – DOI: 10.26442/26586630.2022.1.201535.

39. Сергеева, Е. В. Внебольничная пневмония у детей. Современные особенности / Е. В. Сергеева, С. И. Петрова // Педиатр. – 2016. – Т. 7. – № 3. – С. 5–10. – DOI: 10.17816/PED735-10.

40. Совершенствование превентивной микробиомсберегающей терапии при применении антибиотиков у детей с острыми респираторными инфекциями / А. В. Горелов, Е. В. Каннер, Е. В. Мелехина, Э. С. Сидельникова // Вопросы практической педиатрии. – 2020. – Т. 15. – № 2. – С. 41–50. – DOI: 10.20953/1817-7646-2020-2-41-50.

41. Современные подходы к профилактике и регидратационной терапии антибиотик-ассоциированной диареи у детей на фоне ОРВИ / Е. В. Каннер, А. В. Горелов, М. Л. Максимов [и др.] // Медицинский совет. – 2021. – № 1. – С. 140–147. – DOI: 10.21518/2079-701X-2021-1-149-156.

42. Стома, И. О. Микробиом в медицине: руководство для врачей / И. О. Стома. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. – 320 с. – DOI: 10.33029/9704-5844-0-MIM-2020-1-320.

43. Сурков, А. Н. Возможности коррекции и профилактики нарушений микробиоценоза кишечника у часто болеющих детей / А. Н. Сурков // Вопросы современной педиатрии. – 2013. – Т. 12. – № 2. – С. 59–65.

44. Таточенко, В. К. Антибиотико- и химиотерапия инфекций у детей: справочник / В. К. Таточенко. – Москва: ИПК Континент-Пресс, 2008. – 253 с.

45. Хавкин, А. И. Микробиом и дисмикробиоз кишечника: клиническое значение и терапевтические возможности / А. И. Хавкин, С. И. Ситкин // Вопросы практической педиатрии. – 2023. – Т. 18. – № 1. – С. 124–135.

46. Энтероколит, связанный с *Clostridium difficile*, в детской гематологии-онкологии – решенная проблема? Обзор литературы и собственный опыт / К. И. Киргизов, С. Ю. Шульга, Е. А. Пристанскова [и др.] // Российский журнал детской гематологии и онкологии. – 2014. – № 1. – С. 25–31.

47. Этиологическая структура острых респираторных инфекций у детей раннего возраста / В. В. Малиновская, И. Н. Захарова, Е. И. Исаева [и др.] // Вопросы практической педиатрии. – 2010. – Т. 5. – № 5. – С. 99–104.
48. A comprehensive repertoire of prokaryotic species identified in human beings / P. Hugon, J. C. Dufour, P. Colson [et al.] // The Lancet Infectious Diseases. – 2015. – Vol. 15. – № 10. – P. 1211–1219. – DOI: 10.1016/S1473-3099(15)00293-5.
49. A discrete genetic locus confers xyloglucan metabolism in select human gut Bacteroidete / J. Larsbrink, T. E. Rogers, G. R. Hemsworth [et al.] // Nature Nature. – 2014. – Vol. 506. – № 7489. – P. 498–502. – DOI: 10.1038/nature12907.
50. A hospital-based study of the clinical characteristics of Clostridium difficile infection in children / J. D. Crews, H. L. Koo, Z.-D. Jiang [et al.] // The Pediatric infectious disease journal. – 2014. – Vol. 33. – № 9. – P. 924–928. – DOI: 10.1097/INF.0000000000000338.
51. A routine prospective survey process to detect nosocomial bacterial colonization in a neonatal unit: risk factors for acquisition / F. Campeotto, F. Garnier, N. Kalach [et al.] // Archives de Pediatrie: Organe Officiel de la Societe Francaise de Pediatrie. – 2004. – Vol. 11. – № 11. – P. 1314–1318. – DOI: 10.1016/j.arcped.2004.05.020.
52. Acquiring and maintaining a normal oral microbiome: current perspective / E. Zaura, E. A. Nicu, B. P. Krom, B. J. Keijser // Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. – 2014. – Vol. 4. – Art. 85. – DOI: 10.3389/fcimb.2014.00085.
53. Akkermansia muciniphila improves metabolic profiles by reducing inflammation in chow diet-fed mice / S. Zhao, W. Liu, J. Wang [et al.] // Journal of Molecular Endocrinology. – 2017. – Vol. 58. – № 1. – P. 1–14. – DOI: 10.1530/JME-16-0054.
54. Akkermansia muciniphila protects against atherosclerosis by preventing metabolic endotoxemia-induced inflammation in Apoe^{-/-} mice / J. Li, P. M. Vanhoutte, C. W. Woo, A. Xu // Circulation. – 2016. – Vol. 133. – № 24. – P. 2434–2446. – DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.019645.

55. Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder / H. Jiang, Z. Ling, Y. Zhang [et al.] // *Brain, behavior, and immunity*. – 2015. – Vol. 48. – P. 186–194. – DOI: 10.1016/j.bbi.2015.03.016.

56. Amann, R. I. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation / R. I. Amann, W. Ludwig, K. H. Schleifer // *Microbiological reviews*. – 1995. – Vol. 59. – № 1. – P. 143–169. – DOI: 10.1128/mr.59.1.143-169.1995.

57. Amarenco, G. Bristol Stool Chart: Prospective and monocentric study of "stools introspection" in healthy subjects / G. Amarenco // *Progres en Urologie*. – 2014. – T. 24. – № 11. – C. 708–713. – DOI: 10.1016/j.purol.2014.06.008.

58. An antibiotic policy to prevent emergence of resistant bacilli / P. De Man, B. A. N. Verhoeven, H. A. Verbrugh [et al.] // *The Lancet*. – 2000. – Vol. 355. – № 9208. – P. 973–978. – DOI: 10.1016/S0140-6736(00)90015-1.

59. An ex vivo method for studying mucus formation, properties, and thickness in human colonic biopsies and mouse small and large intestinal explants / J. K. Gustafsson, A. Ermund, M. E. Johansson [et al.] // *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. – 2012. – Vol. 302. – № 4. – DOI: 10.1152/ajpgi.00405.2011.

60. An improved dual-indexing approach for multiplexed 16S rRNA gene sequencing on the Illumina MiSeq platform / D. W. Fadrosh, B. Ma, P. Gajer [et al.] // *Microbiome*. – 2014. – Vol. 2. – № 1. – Art. 6. – DOI: 10.1186/2049-2618-2-6.

61. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome / J. Li, H. Jia, X. Cai [et al.] // *Nature biotechnology*. – 2014. – Vol. 32. – № 8. – P. 834–841. – DOI: 10.1038/nbt.2942.

62. Ansaldo, E. Control of Immunity by the Microbiota / E. Ansaldo, T. K. Farley, Y. Belkaid // *Annual Review of Immunology*. – 2021. – Vol. 39. – P. 449–479. – DOI: 10.1146/annurev-immunol-093019-112348.

63. Antibiotic-associated bloody diarrhea in infants: clinical, endoscopic, and histopathologic profiles / M. Barakat, Z. El-Kady, M. Mostafa [et al.] // *Journal of*

pediatric gastroenterology and nutrition. – 2011. – Vol. 52. – № 1. – P. 60–64. – DOI: 10.1097/MPG.0b013e3181da215b.

64. Antibiotic-associated hemorrhagic colitis caused by cytotoxin-producing *Klebsiella oxytoca* / K. M. Hoffmann, A. Deutschmann, C. Weitzer [et al.] // *Pediatrics*. – 2010. – Vol. 125. – № 4. – P. 960–963. – DOI: 10.1542/peds.2009-1751.

65. Antibiotics-induced depletion of mice microbiota induces changes in host serotonin biosynthesis and intestinal motility / X. Ge, C. Ding, W. Zhao [et al.] // *Journal of translational medicine*. – 2017. – Vol. 15. – № 1. – P. 1–9. – DOI: 10.1186/s12967-016-1105-4.

66. Antimicrobial-associated risk factors for *Clostridium difficile* infection / Jr R. C. Owens, C. J. Donskey, R. P. Gaynes [et al.] // *Clinical Infectious Diseases*. – 2008. – Vol. 46. – № 1. – P. 19–31. – DOI: 10.1086/521859.

67. Association Between the Respiratory Microbiome and Susceptibility to Influenza Virus Infection / T. K. Tsang, K. H. Lee, B. Foxman [et al.] // *Clinical Infectious Diseases*. – 2020. – Vol. 71. – № 5. – P. 1195–1203. – DOI: 10.1093/cid/ciz968.

68. Association of protein intakes and variation of diet-scalp hair nitrogen isotopic discrimination factor in Papua New Guinea highlanders / Y. I. Naito, A. Morita, K. Natsuhara [et al.] // *American Journal of Physical Anthropology*. – 2015. – Vol. 158. – № 3. – P. 359–370. – DOI: 10.1002/ajpa.22798.

69. Bäckhed, F. Programming of host metabolism by the gut microbiota / F. Bäckhed // *Annals of Nutrition and Metabolism*. – 2011. – Vol. 58. – № 2. – P. 44–52. – DOI: 10.1159/000328042.

70. Bacterial microbiota in upper respiratory tract of COVID-19 and influenza patients / S. Rattanaburi, V. Sawaswong, S. Chitcharoen [et al.] // *Experimental Biology and Medicine (Maywood)*. – 2022. – Vol. 247. – № 5. – P. 409–415. – DOI: 10.1177/15353702211057473.

71. Bacterial protein signals are associated with Crohn's disease / C. Juste, D. P. Kreil, C. Beauvallet [et al.] // *Gut*. – 2014. – Vol. 63. – № 10. – P. 1566–1577. – DOI: 10.1136/gutjnl-2012-303786.

72. Bacteroides in the infant gut consume milk oligosaccharides via mucus-utilization pathways / A. Marcobal, M. Barboza, E. D. Sonnenburg [et al.] // *Cell host & microbe*. – 2011. – Vol. 10. – № 5. – P. 507–514. – DOI: 10.1016/j.chom.2011.10.007.

73. Bartlett, J. G. Antibiotic-associated diarrhea / J. G. Bartlett // *New England journal of medicine*. – 2002. – Vol. 346. – № 5. – P. 334–339. – DOI: 10.1093/clind/15.4.573.

74. Bashiardes, S. Use of metatranscriptomics in microbiome research / S. Bashiardes, G. Zilberman-Schapira, E. Elinav // *Bioinformatics and biology insights*. – 2016. – Vol. 10. – P. 19–25. – DOI: 10.4137/BBI.S34610.

75. Bäumlér, A. J. Interactions between the microbiota and pathogenic bacteria in the gut / A. J. Bäumlér, V. Sperandio // *Nature*. – 2016. – Vol. 535. – № 7610. – P. 85–93. – DOI: 10.1038/nature18849.

76. Bezirtzoglou, E. Microbiota profile in feces of breast-and formula-fed newborns by using fluorescence in situ hybridization (FISH) / E. Bezirtzoglou, A. Tsiotsias, G. W. Welling // *Anaerobe*. – 2011. – Vol. 17. – № 6. – P. 478–482. – DOI: 10.1016/j.anaerobe.2011.03.009.

77. Bifidobacterium and Lactobacillus DNA in the human placenta / R. Satokari, T. Grönroos, K. Laitinen [et al.] // *Letters in applied microbiology*. – 2009. – Vol. 48. – № 1. – P. 8–12. – DOI: 10.1111/j.1472-765X.2008.02475.x.

78. Binder, H. J. Role of colonic short-chain fatty acid transport in diarrhea / H. J. Binder // *Annual review of physiology*. – 2010. – Vol. 72. – P. 297–313. – DOI: 10.1146/annurev-physiol-021909-135817.

79. Biocodex microbiota institute : сайт [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.biocodexmicrobiotainstitute.com/ru> (дата обращения: 11.01.2024).

80. Borriello, S. P. Evaluation of the predictive capability of an in-vitro model of colonisation resistance to *Clostridium difficile* infection / S. P. Borriello, F. E. Barclay, A. R. Welch // *Microbial Ecology in Health and Disease*. – 1988. – Vol. 1. – № 1. – P. 61–64. – DOI: 10.3109/08910608809140181.

81. Bryant, K. Clostridium difficile infections in children / K. Bryant, L. C. McDonald // *The Pediatric Infectious Disease Journal*. – 2009. – Vol. 28. – № 2. – P. 145–146. – DOI: 10.1097/INF.0b013e318198c984.

82. Can the Evidence-Based Use of Probiotics (Notably *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 and *Lactobacillus rhamnosus* GG) Mitigate the Clinical Effects of Antibiotic-Associated Dysbiosis? / D. Waitzberg, F. Guarner, I. Hojsak [et al.] // *Advances in Therapy*. – 2024. – Vol. 41. – № 3. – P. 901–914. – DOI: 10.1007/s12325-024-02783-3.

83. Cantarel, B. L. Complex carbohydrate utilization by the healthy human microbiome / B. L. Cantarel, V. Lombard, B. Henrissat // *PloS one*. – 2012. – Vol. 7. – № 6. – DOI: 10.1371/journal.pone.0028742.

84. Changing use of antibiotics in community-based outpatient practice, 1991-1999 / M. A. Steinman, R. Gonzales, J. A. Linder, C. S. Landefeld // *Annals of internal medicine*. – 2003. – Vol. 138. – № 7. – P. 525–533. – DOI: 10.7326/0003-4819-138-7-200304010-00008.

85. Characteristics of the vaginal microbiomes in prepubertal girls with and without vulvovaginitis / W. Xiaoming, L. Jing, P. Yuchen [et al.] // *The European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. – 2021. – Vol. 40. – № 6. – P. 1253–1261. – DOI: 10.1007/s10096-021-04152-2.

86. Characterization a Novel Butyric Acid-Producing Bacterium *Collinsella aerofaciens* Subsp. *Shenzhenensis* Subsp. Nov / P. Qin, Y. Zou, Y. Dai [et al.] // *Microorganisms*. – 2019. – Vol. 7. – Art. 78. – DOI: 10.3390/microorganisms7030078

87. Characterization of fecal microbiota across seven Chinese ethnic groups by quantitative polymerase chain reaction / L. Kwok, J. Zhang, Z. Guo [et al.] // *PloS one*. – 2014. – Vol. 9. – № 4. – DOI: 10.1371/journal.pone.0093631.

88. Characterization of the gut microbiota of Papua New Guineans using reverse transcription quantitative PCR / A. R. Greenhill, H. Tsuji, K. Ogata [et al.] // *PLoS One*. – 2015. – Vol. 10. – № 2. – Art. e0117427. – DOI: 10.1371/journal.pone.0117427.

89. Characterizing the Composition of the Pediatric Gut Microbiome: A Systematic Review / K. E. Deering, A. Devine, T. A. O'Sullivan [et al.] // *Nutrients*. – 2020. – Vol. 12. – № 1. – Art. 16. – DOI: 10.3390/nu12010016.

90. Clinical characteristics of symptomatic *Clostridium difficile* infection in children: conditions as infection risks and whether probiotics is effective / J. Y. Na, J. M. Park, K. S. Lee [et al.] // *Pediatric gastroenterology, hepatology & nutrition*. – 2014. – Vol. 17. – № 4. – P. 232–238. – DOI: 10.5223/pghn.2014.17.4.232.

91. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA) / S. H. Cohen, D. N. Gerding, S. Johnson [et al.] // *Infection Control & Hospital Epidemiology*. – 2010. – Vol. 31. – № 5. – P. 431–455. – DOI: 10.1086/651706.

92. *Clostridium difficile* infection / D. A. Leffler, J. T. Lamont, D. B. Lacy [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2015. – Vol. 372. – № 16. – P. 1539–1548. – DOI: 10.1038/nrdp.2016.20.

93. *Clostridium difficile* infection among children across diverse US geographic locations / J. M. Wendt, J. A. Cohen, Y. Mu [et al.] // *Pediatrics*. – 2014. – Vol. 133. – № 4. – P. 651–658. – DOI: 10.1542/peds.2013-3049.

94. *Clostridium difficile* infection in pediatric patients / D. Dop, I. R. Marcu, V. Padureanu [et al.] // *Biomedical Reports*. – 2024. – Vol. 20. – № 2. – P. 1–8. – DOI: 10.3892/br.2023.1706.

95. Cockburn, D. W. Polysaccharide degradation by the intestinal microbiota and its influence on human health and disease / D. W. Cockburn, N. M. Koropatkin // *Journal of molecular biology*. – 2016. – Vol. 428. – № 16. – P. 3230–3252. – DOI: 10.1016/j.jmb.2016.06.021.

96. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis / L. Lansbury, B. Lim, V. Baskaran, W. S. Lim // *Journal of Infectious Diseases*. – 2020. – Vol. 81. – № 2. – P. 266–275. – DOI: 10.1016/j.jinf.2020.05.046.

97. Colonic mucosal microbiome differs from stool microbiome in cirrhosis and hepatic encephalopathy and is linked to cognition and inflammation / J. S. Bajaj, P. B.

Hylemon, J. M. Ridlon [et al.] // *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. – 2012. – Vol. 303. – P. 675–685. – DOI: 10.1152/ajpgi.00152.2012.

98. Commensal-induced regulatory T cells mediate protection against pathogen-stimulated NF- κ B activation / C. O'Mahony, P. Scully, D. O'Mahony [et al.] // *PLoS Pathog.* – 2008. – Vol. 4. – № 8. – P. e1000112. – DOI: 10.1371/journal.ppat.1000112.

99. Community-acquired pneumonia requiring hospitalization among U.S. adults. / S. Jain, D. J. Williams, S. R. Arnold [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2015. – Vol. 372. – № 9. – P. 835–845. – DOI: 10.1056/NEJMoa1500245.

100. Comparison of pediatric and adult antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile* infections / L. V. McFarland, M. Ozen, E. C. Dinleyici, S. Goh // *World journal of gastroenterology*. – 2016. – Vol. 22. – № 11. – P. 3078–3104. – DOI: 10.3748/wjg.v22.i11.3078.

101. Conservative surgical treatment for toxic megacolon due to *Clostridium difficile* infection in a transplanted pediatric patient / A. Castillo, J. Lopez, E. Panadero [et al.] // *Transplant Infectious Disease*. – 2012. – Vol. 14. – № 4. – P. 34–37. – DOI: 10.1111/j.1399-3062.2012.00756.x.

102. Contribution of *Lactobacillus iners* to Vaginal Health and Diseases: A Systematic Review / N. Zheng, R. Guo, J. Wang [et al.] // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2021. – Vol. 11. – Art. 792787. – DOI: 10.3389/fcimb.2021.

103. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity / A. Everard, C. Belzer, L. Geurts [et al.] // *Proceedings of the national academy of sciences*. – 2013. – Vol. 110. – № 22. – P. 9066–9071. – DOI: 10.1073/pnas.1219451110.

104. Damrongmanee, A. Incidence of antibiotic-associated diarrhea in a pediatric ambulatory care setting / A. Damrongmanee, N. Ukarapol // *Journal-Medical Association of Thailand*. – 2007. – Vol. 90. – № 3. – P. 513–517.

105. Decreased gut microbiota diversity, delayed *Bacteroidetes* colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by caesarean section / H. E. Jakobsson, T. R. Abrahamsson, M. C. Jenmalm [et al.] // *Gut*. – 2014. – Vol. 63. – № 4. – P. 559–566. – DOI: 10.1136/gutjnl-2012-303249.

106. Dethlefsen, L. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation / L. Dethlefsen, D. A. Relman // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2011. – Vol. 108. – № 1. – P. 4554–4561. – DOI: 10.1073/pnas.1000087107.

107. Development of the human infant intestinal microbiota / C. Palmer, E. M. Bik, D. B. DiGiulio [et al.] // *PLoS Biol.* – 2007. – Vol. 5. – № 7. – Art. e177. – DOI: 10.1371/journal.pbio.0050177.

108. Developmental dynamics of the preterm infant gut microbiota and antibiotic resistome / M. K. Gibson, B. Wang, S. Ahmadi [et al.] // *Nature microbiology*. – 2016. – Vol. 1. – № 4. – P. 1–10. – DOI: 10.1038/nmicrobiol.2016.24.

109. Diagnosis and treatment of upper respiratory tract infections in the primary care setting / A. M. Fendrick, S. Saint, I. Brook [et al.] // *Clinical Therapeutics*. – 2001. – Vol. 23. – № 10. – P. 1683–1706. – DOI: 10.1016/s0149-2918(01)80137-5.

110. Diagnostic role of stool culture & toxin detection in antibiotic associated diarrhoea due to *Clostridium difficile* in children / A. Gogate, A. De, R. Nanivadekar [et al.] // *Indian Journal of Medical Research*. – 2005. – Vol. 122. – № 6. – P. 518–524.

111. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome / L. A. David, C. F. Maurice, R. N. Carmody [et al.] // *Nature*. – 2014. – Vol. 505. – № 7484. – P. 559–563. – DOI: 10.1038/nature12820.

112. Diet-induced extinctions in the gut microbiota compound over generations / E. D. Sonnenburg, S. A. Smits, M. Tikhonov [et al.] // *Nature*. – 2016. – Vol. 529. – № 7585. – P. 212–215. – DOI: 10.1038/nature16504.

113. Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut / A. Suau, R. Bonnet, M. Sutren [et al.] // *Applied and environmental microbiology*. – 1999. – Vol. 65. – № 11. – P. 4799–4807. – DOI: 10.1128/AEM.65.11.4799-4807.1999.

114. Dominant and diet-responsive groups of bacteria within the human colonic microbiota / A. W. Walker, J. Ince, S. H. Duncan [et al.] // *The ISME journal*. – 2011. – Vol. 5. – № 2. – P. 220–230. – DOI: 10.1038/ismej.2010.118.

115. Donaldson, G. P. Gut biogeography of the bacterial microbiota / G. P. Donaldson, S. M. Lee, S. K. Mazmanian // *Nature Reviews Microbiology*. – 2016. – Vol. 14. – № 1. – P. 20–32. – DOI: 10.1038/nrmicro3552.

116. Duncan, S. H. Lactate-utilizing bacteria, isolated from human feces, that produce butyrate as a major fermentation product / S. H. Duncan, P. Louis, H. J. Flint // *Applied and environmental microbiology*. – 2004. – Vol. 70. – № 10. – P. 5810–5817. – DOI: 10.1128/AEM.70.10.5810-5817.2004.

117. Dynamic oropharyngeal and faecal microbiota during treatment in infants hospitalized for bronchiolitis compared with age-matched healthy subjects / Q. Hu, W. Dai, Q. Zhou [et al.] // *Scientific Reports*. – 2017. – Vol. 7. – № 1. – Art. 11266. – DOI: 10.1038/s41598-017-11311-z.

118. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life / F. Bäckhed, J. Roswall, Y. Peng [et al.] // *Cell host & microbe*. – 2015. – Vol. 17. – № 5. – P. 690–703. – DOI: 10.1016/j.chom.2015.04.004.

119. Dynamics of Bacterial Colonization With *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis* During Symptomatic and Asymptomatic Viral Upper Respiratory Tract Infection / G. P. DeMuri, J. E. Gern, J. C. Eickhoff [et al.] // *Clinical Infectious Diseases*. – 2018. – Vol. 66. – № 7. – P. 1045–1053. – DOI:10.1093/cid/cix941.

120. Dysbiosis individualizes the fitness effect of antibiotic resistance in the mammalian gut / L. L. Cardoso, P. Durão, M. Amicone, I. Gordo // *Nature Ecology & Evolution*. – 2020. – Vol. 4. – № 9. – P. 1268–1278. – DOI: 10.1038/s41559-020-1235-1.

121. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia / Q. Li, X. Guan, P. Wu [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2020. – Vol. 382. – № 13. – P. 1199–1207. – DOI: 10.1056/NEJMoa2001316.

122. Effect of antibiotic treatment on the intestinal metabolome / L. C. M. Antunes, J. Han, R. B. R. Ferreira [et al.] // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2011. – Vol. 55. – № 4. – P. 1494–1503. – DOI: 10.1128/AAC.01664-10.

123. Effect of ethnicity and socioeconomic variation to the gut microbiota composition among pre-adolescent in Malaysia / C. W. Chong, A. F. Ahmad, Y. A. L. Lim [et al.] // *Scientific reports*. – 2015. – Vol. 5. – DOI: 10.1038/srep13338.

124. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* LGG® and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12® on health-related quality of life in college students affected by upper respiratory infections / T. J. Smith, D. Rigassio-Radler, R. Denmark [et al.] // *British journal of nutrition*. – 2013. – Vol. 109. – № 11. – P. 1999–2007. – DOI: 10.1017/S0007114512004138.

125. Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked, randomised, placebo-controlled trials / S. Sazawal, G. Hiremath, U. Dhingra [et al.] // *Lancet Infectious Diseases*. – 2006. – Vol. 6. – № 6. – P. 374–382. – DOI: 10.1016/S1473-3099(06)70495-9.

126. Efficacy of proprietary *Lactobacillus casei* for anti-tuberculosis associated gastrointestinal adverse reactions in adult patients: a randomized, open-label, dose–response trial / S. Lin, S. Zhao, J. Liu [et al.] // *Food & function*. – 2020. – Vol. 11. – № 1. – P. 370–377. – DOI: 10.1039/c9fo01583c.

127. Emu: species-level microbial community profiling of full-length 16S rRNA Oxford Nanopore sequencing data / K. D. Curry, Q. Wang, M. G. Nute [et al.] // *Nature Methods*. – 2022. – Vol. 19. – № 7. – P. 845–853. – DOI: 10.1038/s41592-022-01520-4.

128. Epidemiological features of *Clostridium difficile*-associated disease among inpatients at children's hospitals in the United States, 2001–2006 / J. Kim, S. A. Smathers, P. Prasad [et al.] // *Pediatrics*. – 2008. – Vol. 122. – № 6. – P. 1266–1270. – DOI: 10.1542/peds.2008-0469.

129. Epidemiology of acute respiratory infections in children-preliminary results of a cohort in a rural north Indian community / A. Krishnan, R. Amarchand, V. Gupta [et al.] // *BMC infectious diseases*. – 2015. – Vol. 15. – № 1. – P. 462–468. – DOI: 10.1186/s12879-015-1188-1.

130. Epidemiology of multiple respiratory viruses in childcare attendees / E. T. Martin, M. P. Fairchok, Z. J. Stednick [et al.] // *Journal of Infectious Diseases*. – 2013. – Vol. 207. – № 6. – P. 982–989. – DOI: 10.1093/infdis/jis934.

131. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy / J. Penders, C. Thijs, C. Vink [et al.] // *Pediatrics*. – 2006. – Vol. 118. – № 2. – P. 511–521. – DOI: 10.1542/peds.2005-2824.

132. Febrile Children with Pneumonia Have Higher Nasopharyngeal Bacterial Load Than Other Children with Fever / B. Bjornsdottir, U. B. Hernandez, A. Haraldsson, V. Thors // *Pathogens*. – 2023. – Vol. 12. – № 4. – Art. 517. – DOI: 10.3390/pathogens12040517.

133. Fecal microbiota transplantation for treatment of recurrent *C. difficile* infection: an updated randomized controlled trial meta-analysis / W. Hui, T. Li, W. Liu [et al.] // *PloS one*. – 2019. – Vol. 14. – № 1. – Art. e0210016. – DOI: 10.1371/journal.pone.0210016.

134. Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery / M. M. Grönlund, O. P. Lehtonen, E. Eerola [et al.] // *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. – 1999. – Vol. 28. – № 1. – P. 19–25. – DOI: 10.1097/00005176-199901000-00007.

135. Fecal transplant for treatment of toxic megacolon associated with *clostridium difficile* colitis in a patient with duchenne muscular dystrophy / S. Yu, A. Abdelkarim, A. Nawras [et al.] // *American journal of therapeutics*. – 2016. – Vol. 23. – № 2. – P. 609–613. – DOI: 10.1097/MJT.0000000000000062.

136. Five years' experience of *Clostridium difficile* infection in children at a UK tertiary hospital: proposed criteria for diagnosis and management / S. Pai, S. H. Aliyu, D. A. Enoch, J. A. Karas // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7. – № 12. – Art. e51728. – DOI: 10.1371/journal.pone.0051728.

137. Foley, M. H. The *Sus* operon: a model system for starch uptake by the human gut *Bacteroidetes* / M. H. Foley, D. W. Cockburn, N. M. Koropatkin // *Cellular and Molecular Life Sciences*. – 2016. – Vol. 73. – № 14. – P. 2603–2617. – DOI: 10.1007/s00018-016-2242-x.

138. Frequency of antibiotic-associated diarrhoea in 2462 antibiotic-treated hospitalized patients: a prospective study / J. Wiström, S. R. Norrby, E. B. Myhre [et al.] // *Journal of antimicrobial chemotherapy*. – 2001. – Vol. 47. – № 1. – P. 43–50. – DOI: 10.1093/jac/47.1.43.

139. Functional characterization of IgA-targeted bacterial taxa from undernourished Malawian children that produce diet-dependent enteropathy / A. L. Kau, J. D. Planer, J. Liu [et al.] // *Science translational medicine*. – 2015. – Vol. 7. – № 276. – DOI: 10.1126/scitranslmed.aaa4877.

140. Galactooligosaccharides: Synthesis, metabolism, bioactivities and food applications / K. Wang, F. Duan, T. Sun [et al.] // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. – 2024. – Vol. 64. – № 18. – P. 6160–6176. – DOI: 10.1080/10408398.2022.2164244.

141. Global Health Estimates: Life expectancy and leading causes of death and disability [Электронный ресурс] // World Health Organization. – Режим доступа: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates> (дата обращения: 27.07.2024).

142. Global, regional, and national burden of 12 mental disorders in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 / GBD 2019 Mental Disorders Collaborators // *The Lancet Psychiatry*. – 2022. – Vol. 9. – № 2. – P. 137–150. – DOI: 10.1016/S2215-0366(21)00395-3.

143. Glycan complexity dictates microbial resource allocation in the large intestine / A. Rogowski, J. A. Briggs, J. C. Mortimer [et al.] // *Nature communications*. – 2015. – Vol. 6. – № 1. – P. 1–16. – DOI: 10.1038/ncomms8481.

144. Grief, S. Guidelines for the Evaluation and treatment of Pneumonia / S. Grief, J. Loza // *Primary Care*. – 2018. – Vol. 45. – P. 485–503. – DOI: 10.1016/j.pop.2018.04.001.

145. Gut bacteria that prevent growth impairments transmitted by microbiota from malnourished children / L. V. Blanton, M. R. Charbonneau, T. Salih [et al.] // *Science*. – 2016. – Vol. 351. – № 6275. – DOI: 10.1126/science.aad3311.

146. Gut bacterial diversity of the tribes of India and comparison with the worldwide data / M. Dehingia, N. C. Talukdar, R. Talukdar [et al.] // *Scientific reports*. – 2015. – Vol. 5. – DOI: 10.1038/srep18563.

147. Gut microbiota and chronic constipation: a review and update / T. Ohkusa, S. Koido, Y. Nishikawa [et al.] // *Frontiers in medicine*. – 2019. – Vol. 6. – Art. 19. – DOI: 10.3389/fmed.2019.00019.

148. Gut microbiota disturbance during antibiotic therapy: a multiomic approach / M. Ferrer. V. A. Martins dos Santos, S. J. Ott, A. Moya // *Gut microbes*. – 2014. – Vol. 5. – № 1. – P. 64–70. – DOI: 10.1136/gutjnl-2012-303184.

149. Gut microbiota of healthy Canadian infants: profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months / M. B. Azad, T. Konya, H. Maughan [et al.] // *Canadian Medical Association Journal*. – 2013. – Vol. 185. – № 5. – P. 385–394. – DOI: 10.1503/cmaj.121189.

150. Gut microbiota richness promotes its stability upon increased dietary fibre intake in healthy adults / J. Tap, J. P. Furet, M. Bensaada [et al.] // *Environmental microbiology*. – 2015. – Vol. 17. – № 12. – P. 4954–4964. – DOI: 10.1111/1462-2920.13006.

151. Gut Ruminococcaceae levels at baseline correlate with risk of antibiotic-associated diarrhea / X. Gu, J. X. Y. Sim, W. L. Lee [et al.] // *Iscience*. – 2022. – Vol. 25. – № 1. – Art. 103644. – DOI: 10.1016/j.isci.2021.103644.

152. Gut-microbiota-targeted diets modulate human immune status / H. C. Wastyk, G. K. Fragiadakis, D. Perelman [et al.] // *Cell*. – 2021. – Vol. 184. – № 16. – P. 4137–4153. – DOI: 10.1016/j.cell.2021.06.019.

153. Handelsman, J. Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms / J. Handelsman // *Microbiology and molecular biology reviews*. – 2004. – Vol. 68. – № 4. – P. 669–685. – DOI: 10.1128/MMBR.68.4.669-685.2004.

154. Hao, Q. Probiotics for preventing acute upper respiratory tract infections / Q. Hao, B. R. Dong, T. Wu // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2015. – № 2. – DOI: 10.1002/14651858.CD006895.pub4.

155. High-throughput sequencing reveals the incomplete, short-term recovery of infant gut microbiota following parenteral antibiotic treatment with ampicillin and gentamicin / F. Fouhy, C. M. Guinane, S. Hussey [et al.] // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2012. – Vol. 56. – № 11. – P. 5811–5820. – DOI: 10.1128/AAC.00789-12.

156. Hooper, L. V. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota / L. V. Hooper, A. J. Macpherson // *Nature Reviews Immunology*. – 2010. – Vol. 10. – № 3. – P. 159–169. – DOI: 10.1038/nri2710.

157. Host-bacterial mutualism in the human intestine / F. Bäckhed, R. E. Ley, J. L. Sonnenburg [et al.] // *Science*. – 2005. – Vol. 307. – № 5717. – P. 1915–1920. – DOI: 10.1126/science.1104816.

158. Host-microbiota interactions in the pathogenesis of antibiotic-associated diseases / J. S. Lichtman, J. A. Ferreyra, K. M. Ng [et al.] // *Cell reports*. – 2016. – Vol. 14. – № 5. – P. 1049–1061. – DOI: 10.1016/j.celrep.2016.01.009.

159. How colonization by microbiota in early life shapes the immune system / T. Gensollen, S. S. Iyer, D. L. Kasper, R. S. Blumberg // *Science*. – 2016. – Vol. 352. – № 6285. – P. 539–544. – DOI: 10.1126/science.aad9378.

160. Hugerth, L.W. Analysing Microbial Community Composition through Amplicon Sequencing: From Sampling to Hypothesis Testing / L. W. Hugerth, A. F. Andersson // *Frontiers in Microbiology*. – 2017. – Vol. 8. – Art. 1561. – DOI: 10.3389/fmicb.2017.01561.

161. Human gut Bacteroidetes can utilize yeast mannan through a selfish mechanism / F. Cuskin, E. C. Lowe, M. J. Temple [et al.] // *Nature*. – 2015. – T. 517. – № 7533. – P. 165–169. – DOI: 10.1038/nature13995.

162. Human gut microbiome viewed across age and geography / T. Yatsunenko, F. E. Rey, M. J. Manary [et al.] // *Nature*. – 2012. – Vol. 486. – № 7402. – P. 222–227. – DOI: 10.1038/nature11053.

163. Human gut microbiota community structures in urban and rural populations in Russia / A. V. Tyakht, E. S. Kostyukova, A. S. Popenko [et al.] // *Nature communications*. – 2013. – Vol. 4. – № 1. – P. 1–9. – DOI: 10.1038/ncomms3469.

164. Humphreys, D. P. Antibodies for treatment of *Clostridium difficile* infection / D. P. Humphreys, M. H. Wilcox // *Clinical and Vaccine Immunology*. – 2014. – Vol. 21. – № 7. – P. 913–923. – DOI: 10.1128/CVI.00116-14.

165. Hutchings, M. I. Antibiotics: past, present and future / M. I. Hutchings, A. W. Truman, B. Wilkinson // *Current Opinion in Microbiology*. – 2019. – Vol. 51. – P. 72–80. – DOI: 10.1016/j.mib.2019.10.008.

166. Impact of antibiotics on the human microbiome and consequences for host health / D. V. Patangia, C. A. Ryan, E. Dempsey [et al.] // *Microbiologyopen*. – 2022. – Vol. 11. – № 1. – Art. e1260. – DOI: 10.1002/mbo3.1260.

167. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa / C. De Filippo, D. Cavalieri, M. Di Paola [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2010. – Vol. 107. – № 33. – P. 14691–14696. – DOI: 10.1073/pnas.1005963107.

168. Impact of dietary resistant starch on the human gut microbiome, metaproteome, and metabolome / T. V. Maier, M. Lucio, L. H. Lee [et al.] // *MBio*. – 2017. – Vol. 8. – № 5. – Art. e01343-17. – DOI: 10.1128/mBio.01343-17.

169. Impact of oral vancomycin on gut microbiota, bile acid metabolism, and insulin sensitivity / A. Vrieze, C. Out, S. Fuentes [et al.] // *Journal of hepatology*. – 2014. – Vol. 60. – № 4. – P. 824–831. – DOI: 10.1016/j.jhep.2013.11.034.

170. Incidence and risk factors of oral antibiotic-associated diarrhea in an outpatient pediatric population / D. Turck, J.-P. Bernet, J. Marx [et al.] // *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. – 2003. – Vol. 37. – № 1. – P. 22–26. – DOI: 10.1097/00005176-200307000-00004.

171. Influence of antibiotic exposure in the early postnatal period on the development of intestinal microbiota / S. Tanaka, T. Kobayashi, P. Songjindaka [et al.] // *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. – 2009. – Vol. 56. – № 1. – P. 80–87. – DOI: 10.1111/j.1574-695X.2009.00553.x.

172. Influence of mode of delivery on gut microbiota composition in seven year old children / S. Salminen, G. R. Gibson, A. L. McCartney [et al.] // *Gut*. – 2004. – Vol. 53. – № 9. – P. 1388–1389. – DOI: 10.1136/gut.2004.041640.

173. Investigation of Nasal/Oropharyngeal Microbial Community of COVID-19 Patients by 16S rDNA Sequencing / M. Rueca, A. Fontana, B. Bartolini [et al.] // International Journal of Environmental Research and Public Health. – 2021. – Vol. 18. – № 4. – Art. 2174. – DOI: 10.3390/ijerph18042174.

174. Is meconium from healthy newborns actually sterile? / E. Jiménez, M. L. Marín, R. Martín [et al.] // Research in microbiology. – 2008. – Vol. 159. – № 3. – P. 187–193. – DOI: 10.1016/j.resmic.2007.12.007.

175. Johansson, M. E. V. The two mucus layers of colon are organized by the MUC2 mucin, whereas the outer layer is a legislator of host–microbial interactions / M. E. V. Johansson, J. M. H. Larsson, G. C. Hansson // Proceedings of the national academy of sciences. – 2011. – Vol. 108. – № 1. – P. 4659–4665. – DOI: 10.1073/pnas.1006451107.

176. Johnston, B. C. Probiotics and the prevention of antibiotic-associated diarrhea in infants and children / B. C. Johnston, J. Z. Goldenberg, P. C. Parkin // Journal of the American Medical Association. – 2016. – Vol. 316. – № 14. – P. 1484–1485. – DOI: 10.1001/jama.2016.11838.

177. Juge, N. Microbial adhesins to gastrointestinal mucus / N. Juge // Trends in microbiology. – 2012. – Vol. 20. – № 1. – P. 30–39. – DOI: 10.1016/j.tim.2011.10.001

178. Kumar, P. S. From focal sepsis to periodontal medicine: a century of exploring the role of the oral microbiome in systemic disease / P. S. Kumar // The Journal of Physiology. – 2017. – Vol. 595. – № 2. – P. 465–476. – DOI: 10.1113/JP272427.

179. Lactobacillus plantarum strain maintains growth of infant mice during chronic undernutrition / M. Schwarzer, K. Makki, G. Storelli [et al.] // Science. – 2016. – Vol. 351. – № 6275. – P. 854–857. – DOI: 10.1126/science.aad8588.

180. Larcombe, S. Involvement of bacteria other than Clostridium difficile in antibiotic-associated diarrhoea / S. Larcombe, M. L. Hutton, D. Lyras // Trends in microbiology. – 2016. – Vol. 24. – № 6. – P. 463–476. – DOI: 10.1016/j.tim.2016.02.001.

181. Lehtoranta, L. Probiotics in respiratory virus infections / L. Lehtoranta, A. Pitkäranta, R. Korpela // *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*. – 2014. – Vol. 33. – № 8. – P. 1289–1302. – DOI: 10.1007/s10096-014-2086-y.
182. Lessa, F. C. Current status of *Clostridium difficile* infection epidemiology / F. C. Lessa, C. V. Gould, L. C. McDonald // *Clinical Infectious Diseases*. – 2012. – Vol. 55. – № 2. – P. 65–70. – DOI: 10.1093/cid/cis319.
183. Ley, R. E. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine / R. E. Ley, D. A. Peterson, J. I. Gordon // *Cell*. – 2006. – Vol. 124. – № 4. – P. 837–848. – DOI: 10.1016/j.cell.2006.02.017.
184. Li, J. V. Biology of the microbiome 2: metabolic role / J. V. Li, J. Swann, J. R. Marchesi // *Gastroenterology Clinics*. – 2017. – Vol. 46. – № 1. – P. 37–47. – DOI: 10.1016/j.gtc.2016.09.006.
185. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes / G. D. Wu, J. Chen, C. Hoffmann [et al.] // *Science*. – 2011. – Vol. 334. – № 6052. – P. 105–108. – DOI: 10.1126/science.1208344.
186. Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota / C. Jernberg S. Löfmark, C. Edlund, J. K. Jansson // *The ISME journal*. – 2007. – Vol. 1. – № 1. – P. 56–66. – DOI: 10.1038/ismej.2007.3.
187. Lozupone, C. UniFrac—an online tool for comparing microbial community diversity in a phylogenetic context / C. Lozupone, M. Hamad, R. Knight // *BMC Bioinformatics*. – 2006. – Vol. 7. – P. 1–14. – DOI: 10.1186/1471-2105-7-371.
188. Łukasik, J. Effect of a multispecies probiotic on reducing the incidence of antibiotic-associated diarrhoea in children: a protocol for a randomised controlled trial / J. Łukasik, H. Szajewska // *BMJ Open*. – 2018. – Vol. 8. – № 5. – Art. e021214. – DOI: 10.1136/bmjopen-2017-021214.
189. Macpherson, A. J. Stratification and compartmentalisation of immunoglobulin responses to commensal intestinal microbes / A. J. Macpherson, K. D. McCoy // *Seminars in immunology*. – 2013. – Vol. 25. – № 5. – P. 358–363. – DOI: 10.1016/j.smim.2013.09.004.

190. Major faecal microbiota shifts in composition and diversity with age in a geographically restricted cohort of mothers and their children / E. Avershina, O. Storrø, T. Øien [et al.] // *FEMS microbiology ecology*. – 2014. – Vol. 87. – № 1. – P. 280–290. – DOI: 10.1111/1574-6941.12223.

191. Maurice, C. F. Xenobiotics shape the physiology and gene expression of the active human gut microbiome / C. F. Maurice, H. J. Haiser, P. J. Turnbaugh // *Cell*. – 2013. – Vol. 152. – № 1–2. – P. 39–50. – DOI: 10.1016/j.cell.2012.10.052.

192. McFarland, L. V. Antibiotic-associated diarrhea: epidemiology, trends and treatment / L. V. McFarland // *Future Microbiology*. – 2008. – Vol. 3. – № 5. – P. 563–578. – DOI: 10.2217/17460913.3.5.563.

193. McFarland, L. V. Diarrhea acquired in the hospital / L. V. McFarland // *Gastroenterology Clinics of North America*. – 1993. – Vol. 22. – № 3. – P. 563–577.

194. McFarland, L. V. Meta-analysis of probiotics for the prevention of antibiotic associated diarrhea and the treatment of *Clostridium difficile* disease / L. V. McFarland // *American Journal of Gastroenterology*. – 2006. – Vol. 101. – № 4. – P. 812–822. – DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00465.x.

195. McFarland, L. V. Pediatric *Clostridium difficile*: a phantom menace or clinical reality? / L. V. McFarland, S. A. Brandmarker, S. Guandalini // *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. – 2000. – Vol. 31. – № 3. – P. 220–231. – DOI: 10.1097/00005176-200009000-00004.

196. McFarland, L. V. Preventing pediatric antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile* infections with probiotics: a meta-analysis / L. V. McFarland, S. Goh // *World Journal of Meta-Analysis*. – 2013. – Vol. 1. – № 3. – P. 102–120. – DOI: 10.13105/wjma.v1.i3.102.

197. McFarland, L. V. Risk factor for antibiotic-associated diarrhea. A review of the literature / L. V. McFarland // *Annales de medecine interne*. – 1998. – Vol. 149. – № 5. – P. 261–266.

198. McFarland, L. V. Systematic review and meta-analysis of *Saccharomyces boulardii* in adult patients / L. V. McFarland // *World Journal of Gastroenterology*. – 2010. – Vol. 16. – № 18. – P. 2202–2222. – DOI: 10.3748/wjg.v16.i18.2202.

199. Metabolomics of fecal extracts detects altered metabolic activity of gut microbiota in ulcerative colitis and irritable bowel syndrome / G. Le Gall, S. O. Noor, K. Ridgway [et al.] // *Journal of proteome research*. – 2011. – Vol. 10. – № 9. – P. 4208–4218. – DOI: 10.1021/pr2003598.

200. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome / S. R. Gill, M. Pop, R. T. DeBoy [et al.] // *Science*. – 2006. – Vol. 312. – № 5778. – P. 1355–1359. – DOI: 10.1126/science.1124234.

201. Metaproteomics Study of the Gut Microbiome / L. A. Lai, Z. Tong, R. Chen, S. Pan // *Methods in Molecular Biology*. – 2019 – Vol. 1871. – P. 123–132. – DOI: 10.1007/978-1-4939-8814-3_8.

202. Microbial pathways in colonic sulfur metabolism and links with health and disease / F. Carbonero, A. C. Benefiel, A. H. Alizadeh-Ghamsari, H. R. Gaskins // *Frontiers in physiology*. – 2012. – Vol. 3. – DOI: 10.3389/fphys.2012.00448.

203. Microbiota-liberated host sugars facilitate post-antibiotic expansion of enteric pathogens / K. M. Ng, J. A. Ferreyra, S. K. Higginbottom [et al.] // *Nature*. – 2013. – Vol. 502. – № 7469. – P. 96–99. – DOI: 10.1038/nature12503.

204. Mizrahi-Man, O. Taxonomic classification of bacterial 16S rRNA genes using short sequencing reads: evaluation of effective study designs / O. Mizrahi-Man, E. R. Davenport, Y. Gilad // *PloS one*. – 2013. – Vol. 8. – № 1. – DOI: 10.1371/journal.pone.0053608.

205. Mobile genetic elements: the agents of open source evolution / L. S. Frost, R. Leplae, A. O. Summers, A. Toussaint // *Nature Reviews Microbiology*. – 2005. – Vol. 3. – № 9. – P. 722–732. – DOI: 10.1038/nrmicro1235.

206. Molecular dissection of xyloglucan recognition in a prominent human gut symbiont / A. S. Tauzin, K. J. Kwiatkowski, N. I. Orlovsky [et al.] // *MBio*. – 2016. – Vol. 7. – № 2. – DOI: 10.1128/mBio.02134-15.

207. Molecular monitoring of succession of bacterial communities in human neonates / C. F. Favier, E. E. Vaughan, W. M. De Vos, A. D. Akkermans // *Applied and environmental microbiology*. – 2002. – Vol. 68. – № 1. – P. 219–226. – DOI: 10.1128/AEM.68.1.219-226.2002.

208. Moore, W. E. C. Human fecal flora: the normal flora of 20 Japanese-Hawaiians / W. E. C. Moore, L. V. Holdeman // *Applied microbiology*. – 1974. – Vol. 27. – № 5. – P. 961–979. – DOI: 10.1128/am.27.5.961-979.1974.

209. Mortality, morbidity, and hospitalisations due to influenza lower respiratory tract infections, 2017: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 / GBD 2017 Influenza Collaborators // *The Lancet Respiratory Medicine*. – 2019. – Vol. 7. – № 1. – P. 69–89. – DOI: 10.1016/S2213-2600(18)30496-X.

210. Mucin glycan foraging in the human gut microbiome / L. E. Tailford, E. H. Crost, D. Kavanaugh, N. Juge // *Frontiers in genetics*. – 2015. – Vol. 6. – DOI: 10.3389/fgene.2015.00081.

211. Natividad, J. M. M. Modulation of intestinal barrier by intestinal microbiota: pathological and therapeutic implications / J. M. M. Natividad, E. F. Verdu // *Pharmacological research*. – 2013. – Vol. 69. – № 1. – P. 42–51. – DOI: 10.1016/j.phrs.2012.10.007.

212. Neish, A. S. Microbes in gastrointestinal health and disease / A. S. Neish // *Gastroenterology*. – 2009. – Vol. 136. – № 1. – P. 65–80. – DOI: 10.1053/j.gastro.2008.10.080.

213. Normalization of host intestinal mucus layers requires long-term microbial colonization / M. E. V. Johansson, H. E. Jakobsson, J. Holmén-Larsson [et al.] // *Cell host & microbe*. – 2015. – Vol. 18. – № 5. – P. 582–592. – DOI: 10.1016/j.chom.2015.10.007.

214. Novel risk factors for recurrent *Clostridium difficile* infection in children / M. R. Nicholson, I. P. Thomsen, J. C. Slaughter [et al.] // *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. – 2015. – Vol. 60. – № 1. – P. 18–22. – DOI: 10.1097/MPG.0000000000000553.

215. Ochman, H. Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation / H. Ochman, J. G. Lawrence, E. A. Groisman // *Nature*. – 2000. – Vol. 405. – № 6784. – P. 299–304. – DOI: 10.1038/35012500.

216. Oral Biofilms from Symbiotic to Pathogenic Interactions and Associated Disease – Connection of Periodontitis and Rheumatic Arthritis by Peptidylarginine

Deiminase / K. Kriebel, C. Hieke, B. Müller-Hilke [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2018. – Vol. 9. – Art. 53. – DOI: 10.3389/fmicb.2018.00053.

217. Organismal, genetic, and transcriptional variation in the deeply sequenced gut microbiomes of identical twins / P. J. Turnbaugh, C. Quince, J. J. Faith [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2010. – Vol. 107. – № 16. – P. 7503–7508. – DOI: 10.1073/pnas.1002355107.

218. Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study / H. Goossens, M. Ferech, R. V. Stichele [et al.] // *The Lancet*. – 2005. – Vol. 365. – № 9459. – P. 579–587. – DOI: 10.1016/S0140-6736(05)17907-0.

219. Ouwerkerk, J. P. Glycobiome: bacteria and mucus at the epithelial interface / J. P. Ouwerkerk, W. M. De Vos, C. Belzer // *Best practice & research Clinical gastroenterology*. – 2013. – Vol. 27. – № 1. – P. 25–38. – DOI: 10.1016/j.bpg.2013.03.001.

220. Pépin, J. Mortality attributable to nosocomial *Clostridium difficile*-associated disease during an epidemic caused by a hypervirulent strain in Quebec / J. Pépin, L. Valiquette, B. Cossette // *Canadian Medical Association Journal*. – 2005. – Vol. 173. – № 9. – P. 1037–1042. – DOI: 10.1503/cmaj.050978.

221. Population level analysis of gut microbiome variation / G. Falony, M. Joossens, S. Vieira-Silva [et al.] // *Science*. – 2016. – Vol. 352. – № 6285. – P. 560–564. – DOI: 10.1126/science.aad3503.

222. Precision microbiome reconstitution restores bile acid mediated resistance to *Clostridium difficile* / C. G. Buffie, V. Bucci, R. R. Stein [et al.] // *Nature*. – 2015. – Vol. 517. – № 7533. – P. 205–208. – DOI: 10.1038/nature13828.

223. Prevalence and clinical features of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a tertiary hospital in northern Taiwan / M. S. Hsu, J. T. Wang, W. K. Huang [et al.] // *Journal of microbiology, immunology, and infection*. – 2006. – Vol. 39. – № 3. – P. 242–248.

224. Prevention and treatment of diarrhoea with *Saccharomyces boulardii* in children with acute lower respiratory tract infections / L. S. Shan, P. Hou, Z.-J. Wang

[et al.] // Beneficial microbes. – 2013. – Vol. 4. – № 4. – P. 329–334. – DOI: 10.3920/BM2013.0008.

225. Probiotics and antibiotic-associated diarrhea in children: A review and new evidence on *Lactobacillus rhamnosus* GG during and after antibiotic treatment / C. Mantegazza, P. Molinari, E. D'Auria [et al.] // Pharmacological Research. – 2018. – Vol. 128. – P. 63–72. – DOI: 10.1016/j.phrs.2017.08.001.

226. Probiotics for preventing acute upper respiratory tract infections / Z. Lu, B. R. Dong, C. Q. Huang, T. Wu // Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2008. – № 1. – DOI: 10.1002/14651858.CD006895.pub3.

227. Probiotics for the management of pediatric gastrointestinal disorders: position paper of the ESPGHAN Special Interest Group on Gut Microbiota and Modifications / H. Szajewska, R. B. Canani, M. Domellof [et al.] // Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. – 2022. – Vol. 76. – № 2. – P. 232–247. – DOI: 10.1097/MPG.0000000000003633.

228. Probiotics for the prevention and treatment of antibiotic-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis / S. Hempel, S. J. Newberry, A. R. Maher [et al.] // Journal of the American Medical Association. – 2012. – Vol. 307. – № 18. – P. 1959–1969. – DOI: 10.1001/jama.2012.3507.

229. Probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children / H. Szajewska, R. B. Canani, A. Guarino [et al.] // Journal of pediatric gastroenterology and nutrition. – 2016. – Vol. 62. – № 3. – P. 495–506. – DOI: 10.1097/MPG.0000000000001081.

230. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea / J. Z. Goldenberg, L. Lytvyn, J. Steurich [et al.] // Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2015. – № 12. – DOI: 10.1002/14651858.CD004827.pub4.

231. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea / B. C. Johnston, Q. Guo, J. Z. Goldenberg [et al.] // Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2011. – № 11. – DOI: 10.1002/14651858.CD004827.pub5.

232. Programming infant gut microbiota: influence of dietary and environmental factors / T. M. Marques, R. Wall, R. P. Ross [et al.] // *Current opinion in biotechnology*. – 2010. – Vol. 21. – № 2. – P. 149–156. – DOI: 10.1016/j.copbio.2010.03.020.

233. Quantitative imaging of gut microbiota spatial organization / K. A. Earle, G. Billings, M. Sigal [et al.] // *Cell host & microbe*. – 2015. – Vol. 18. – № 4. – P. 478–488. – DOI: 10.1016/j.chom.2015.09.002.

234. Recovery of the gut microbiome following fecal microbiota transplantation / A. Seekatz, J. Aas, C. Gessert // *MBio*. – 2014. – Vol. 5. – № 3. – Art. e00893-14. – DOI: 10.1128/mBio.00893-14.

235. Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach / C. Manichanh, L. Rigottier-Gois, E. Bonnaud [et al.] // *Gut*. – 2006. – Vol. 55. – № 2. – P. 205–211. – DOI: 10.1136/gut.2005.073817.

236. Relating the metatranscriptome and metagenome of the human gut / E. A. Franzosa, X. C. Morgan, N. Segata [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2014. – Vol. 111. – № 22. – P. 2329–2338. – DOI: 10.1073/pnas.1319284111.

237. Respiratory syncytial virus and other respiratory viral infections in older adults with moderate to severe influenza-like illness / A. R. Falsey, J. E. McElhaney, J. Beran [et al.] // *Journal of Infectious Diseases*. – 2014. – Vol. 209. – № 12. – P. 1873–1881. – DOI: 10.1093/infdis/jit839.

238. Risk factors and outcomes associated with severe *Clostridium difficile* infection in children / J. Kim, J. F. Shaklee, S. Smathers [et al.] // *The Pediatric infectious disease journal*. – 2012. – Vol. 31. – № 2. – P. 134–138. – DOI: 10.1097/INF.0b013e3182352e2c.

239. Risk of *Clostridium difficile* infection after perioperative antibacterial prophylaxis before and during an outbreak of infection due to a hypervirulent strain / A. Carignan, C. Allard, J. Pépin [et al.] // *Clinical infectious diseases*. – 2008. – Vol. 46. – № 12. – P. 1838–1843. – DOI: 10.1086/588291.

240. Role of *Candida* in antibiotic-associated diarrhea / R. Krause, E. Schwab, D. Bachhiesl [et al.] // *The Journal of Infectious Diseases*. – 2001. – Vol. 184. – № 8. – P. 1065–1069. – DOI: 10.1086/323550.

241. *Ruminococcus bromii* is a keystone species for the degradation of resistant starch in the human colon / X. Ze, S. H. Duncan, P. Louis [et al.] // *The ISME journal*. – 2012. – Vol. 6. – № 8. – P. 1535–1543. – DOI: 10.1038/ismej.2012.4.

242. *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 supplementation during and after antibiotic treatment positively influences the bacterial gut microbiota / M. Spatz, Y. Wang, A. Lapiere [et al.] // *Frontiers in Medicine (Lausanne)*. – 2023. – Vol. 10. – Art. 1087715. – DOI: 10.3389/fmed.2023.1087715.

243. *Saccharomyces boulardii* inhibits *Clostridium difficile* toxin A binding and enterotoxicity in rat ileum / C. Pothoulakis, C. P. Kelly, M. A. Joshi [et al.] // *Gastroenterology*. – 1993. – Vol. 104. – № 4. – P. 1108–1115. – DOI: 10.1016/0016-5085(93)90280-p.

244. Safety and efficacy of fidaxomicin and vancomycin in children and adolescents with *Clostridioides (Clostridium) difficile* infection: a phase 3, multicenter, randomized, single-blind clinical trial (SUNSHINE) / J. Wolf, K. Kalocsai, C. Fortuny [et al.] // *Clinical Infectious Diseases*. – 2020. – Vol. 71. – № 10. – P. 2581–2588. – DOI: 10.1093/cid/ciz1149.

245. Safety of probiotics used to reduce risk and prevent or treat disease / S. Hempel, S. Newberry, A. Ruelaz [et al.] // *Evidence report/technology assessment*. – 2011. – Vol. 200. – № 200. – P. 1–645.

246. Schutze, G. E. *Clostridium difficile* infection in infants and children / G. E. Schutze, R. Willoughby [et al.] // *Pediatrics*. – 2013. – Vol. 131. – № 1. – P. 196–200. – DOI: 10.1542/peds.2012-2992.

247. Sender, R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body / R. Sender, S. Fuchs, R. Milo // *PLoS biology*. – 2016. – Vol. 14. – № 8. – DOI: 10.1371/journal.pbio.1002533.

248. Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome / H. E. Jakobsson, C. Jernberg, A. F Andersson [et al.] // *PloS one.* – 2010. – Vol. 5. – № 3. – DOI: 10.1371/journal.pone.0009836.

249. Sialylated milk oligosaccharides promote microbiota-dependent growth in models of infant undernutrition / M. R. Charbonneau, D. O'Donnell, L. V. Blanton [et al.] // *Cell.* – 2016. – Vol. 164. – № 5. – P. 859–871. – DOI: 10.1016/j.cell.2016.01.024.

250. Silverman, M. A. Impact of antibiotics on necrotizing enterocolitis and antibiotic-associated diarrhea / M. A. Silverman, L. Konnikova, J. S. Gerber // *Gastroenterology clinics of North America.* – 2017. – Vol. 46. – № 1. – P. 61–76. – DOI: 10.1016/j.gtc.2016.09.010.

251. Simultaneous acute appendicitis and pseudomembranous colitis in a pediatric patient / S. R. Vidrine, C. Cortina, M. Black, S. B. Vidrine // *The Journal of the Louisiana State Medical Society.* – 2012. – Vol. 164. – № 5. – P. 265–267.

252. Smoking cessation induces profound changes in the composition of the intestinal microbiota in humans / L. Biedermann, J. Zeitz, J. Mwinyi [et al.] // *PloS one.* – 2013. – Vol. 8. – № 3. – DOI: 10.1371/journal.pone.0059260.

253. Sonnenburg, E. D. Starving our microbial self: the deleterious consequences of a diet deficient in microbiota-accessible carbohydrates / E. D. Sonnenburg, J. L. Sonnenburg // *Cell metabolism.* – 2014. – Vol. 20. – № 5. – P. 779–786. – DOI: 10.1016/j.cmet.2014.07.003.

254. Strengths and limitations of 16S rRNA gene amplicon sequencing in revealing temporal microbial community dynamics / R. Poretsky, L. M. Rodriguez, R. C. Luo [et al.] // *PloS one.* – 2014. – Vol. 9. – № 4. – DOI: 10.1371/journal.pone.0093827.

255. Structural basis for nutrient acquisition by dominant members of the human gut microbiota / A. J. Glenwright, K. R. Pothula, S. P. Bhamidimarri [et al.] // *Nature.* – 2017. – Vol. 541. – № 7637. – P. 407–411. – DOI: 10.1038/nature20828.

256. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome / J. E. Koenig, A. Spor, N. Scalfone [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* – 2011. – Vol. 108. – № 1. – P. 4578–4585. – DOI: 10.1073/pnas.1000081107

257. Symbiotic gut microbes modulate human metabolic phenotypes / M. Li, B. Wang, M. Zhang [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2008. – Vol. 105. – № 6. – P. 2117–2122. – DOI: 10.1073/pnas.0712038105.

258. Szajewska, H. Probiotics in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children: a meta-analysis of randomized controlled trials / H. Szajewska, M. Ruszczyński, A. Radzikowski // *The Journal of pediatrics*. – 2006. – Vol. 149. – № 3. – P. 367–372. – DOI: 10.1016/j.jpeds.2006.04.053.

259. Taylor-Robinson, D. Mollicutes in vaginal microbiology: *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum* and *Mycoplasma genitalium* / D. Taylor-Robinson // *Research in microbiology*. – 2017. – Vol. 168. – № 9–10. – P. 875–881. – DOI: 10.1016/j.resmic.2017.02.009.

260. The abundance and variety of carbohydrate-active enzymes in the human gut microbiota / A. El Kaoutari, F. Armougom, J. I. Gordon [et al.] // *Nature Reviews Microbiology*. – 2013. – Vol. 11. – № 7. – P. 497–504. – DOI: 10.1038/nrmicro3050.

261. The Biofilm Community-Rebels with a Cause / A. W. Aruni, Y. Dou, A. Mishra, H. M. Fletcher // *Current Oral Health Reports*. – 2015. – Vol. 2. – № 1. – P. 48–56. – DOI: 10.1007/s40496-014-0044-5.

262. The butyrate-producing and spore-forming bacterial genus *Coprococcus* as a potential biomarker for neurological disorders / F. Notting, W. Pirovano, W. Sybesma, R. Kort // *Gut Microbiome*. – 2023. – Vol. 4. – Art. e16. – DOI: 10.1017/gmb.2023.14.

263. The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life / J. M. Rodríguez, K. Murphy, C. Stanton [et al.] // *Microbial ecology in health and disease*. – 2015. – Vol. 26. – № 1. – DOI: 10.3402/mehd.v26.26050.

264. The Controversial Role of Human Gut Lachnospiraceae / M. Vacca, G. Celano, F. M. Calabrese [et al.] // *Microorganisms*. – 2020. – Vol. 8. – № 4. – Art. 573. – DOI: 10.3390/microorganisms8040573.

265. The epidemiology of *Clostridium difficile* infection in children: a population-based study / S. Khanna, L. M. Baddour, W. C. Huskins [et al.] // *Clinical infectious diseases*. – 2013. – Vol. 56. – № 10. – P. 1401–1406. – DOI: 10.1093/cid/cit075.

266. The gut microbiota and respiratory diseases: new evidence / L. Chunxi, L. Haiyue, L. Yanxia [et al.] // *Journal of immunology research*. – 2020. – Vol. 2020. – Art. 2340670. – DOI: 10.1155/2020/2340670.

267. The human small intestinal microbiota is driven by rapid uptake and conversion of simple carbohydrates / E. G. Zoetendal, J. Raes, B. Van Den Bogert [et al.] // *The ISME journal*. – 2012. – Vol. 6. – № 7. – P. 1415–1426. – DOI: 10.1038/ismej.2011.212.

268. The Oral-Lung Axis: The Impact of Oral Health on Lung Health / N. T. Gaeckle, A. A. Pragman, K. M. Pendleton [et al.] // *Respiratory Care*. – 2020. – Vol. 65. – № 8. – P. 1211–1220. – DOI: 10.4187/respcare.07332.

269. The outer mucus layer hosts a distinct intestinal microbial niche / H. Li, J. P. Limenitakis, T. Fuhrer [et al.] // *Nature communications*. – 2015. – Vol. 6. – № 1. – P. 1–13. – DOI: 10.1038/ncomms9292.

270. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing / L. Dethlefsen, S. Huse, M. L. Sogin, D. A. Relman // *PLoS Biology*. – 2008. – 6. – № 11. – Art. e280. – DOI: 10.1371/journal.pbio.0060280.

271. The principal fucosylated oligosaccharides of human milk exhibit prebiotic properties on cultured infant microbiota / Z. T. Yu, C. Chen, D. E. Kling [et al.] // *Glycobiology*. – 2013. – Vol. 23. – № 2. – P. 169–177. – DOI: 10.1093/glycob/cws138.

272. The respiratory microbiome and susceptibility to influenza virus infection / K. H. Lee, A. Gordon, K. Shedden [et al.] // *PLoS One*. – 2019. – Vol. 14. – № 1. – Art. e0207898. – DOI: 10.1371/journal.pone.0207898.

273. The respiratory tract microbiome, the pathogen load, and clinical interventions define severity of bacterial pneumonia / A. E. Pérez-Cobas, C. Ginevra, C. Rusniok [et al.] // *Cell Reports Medicine*. – 2023. – Vol. 4. – № 9. – Art. 101167. – DOI: 10.1016/j.xcrm.2023.101167.

274. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism / G. D. Besten, K. V. Eunen, A. K. Groen [et

al.] // *Journal of lipid research*. – 2013. – Vol. 54. – № 9. – P. 2325–2340. – DOI: 10.1194/jlr.R036012.

275. Theriot, C. M. Antibiotic-induced alterations of the gut microbiota alter secondary bile acid production and allow for *Clostridium difficile* spore germination and outgrowth in the large intestine / C. M. Theriot, A. A. Bowman, V. B. Young // *MSphere*. – 2016. – Vol. 1. – № 1. – Art. e00045-15. – DOI: 10.1128/mSphere.00045-15.

276. Theriot, C. M. Interactions between the gastrointestinal microbiome and *Clostridium difficile* / C. M. Theriot, V. B. Young // *Annual review of microbiology*. – 2015. – Vol. 69. – P. 445–461. – DOI: 10.1146/annurev-micro-091014-104115.

277. Thursby, E. Introduction to the human gut microbiota / E. Thursby, N. Juge // *Biochemical Journal*. – 2017. – Vol. 474. – № 11. – P. 1823–1836. – DOI: 10.1042/BCJ20160510.

278. Travisano, M. Strategies of microbial cheater control / M. Travisano, G. J. Velicer // *Trends in microbiology*. – 2004. – Vol. 12. – № 2. – P. 72–78. – DOI: 10.1016/j.tim.2003.12.009.

279. Turnbaugh, P. J. An invitation to the marriage of metagenomics and metabolomics / P. J. Turnbaugh, J. I. Gordon // *Cell*. – 2008. – Vol. 134. – № 5. – P. 708–713. – DOI: 10.1016/j.cell.2008.08.025.

280. Understanding the effects of diet on bacterial metabolism in the large intestine / P. Louis, K. P. Scott, S. H. Duncan, H. J. Flint // *Journal of applied microbiology*. – 2007. – Vol. 102. – № 5. – P. 1197–1208. – DOI: 10.1111/j.1365-2672.2007.03322.x.

281. Unique organization of extracellular amylases into amyloosomes in the resistant starch-utilizing human colonic Firmicutes bacterium *Ruminococcus bromii* / X. Ze, Y. Ben David, J. A. Laverde-Gomez [et al.] // *MBio*. – 2015. – Vol. 6. – № 5. – DOI: 10.1128/mBio.01058-15.

282. Videlock, E. J. Meta-analysis: probiotics in antibiotic-associated diarrhoea / E. J. Videlock, F. Cremonini // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. – 2012. – Vol. 35. – № 12. – P. 1355–1369. – DOI: 10.1111/j.1365-2036.2012.05104.x.

283. Vincent, C. Antimicrobial use, human gut microbiota and *Clostridium difficile* colonization and infection / C. Vincent, A. R. Manges // *Antibiotics*. – 2015. – Vol. 4. – № 3. – P. 230–253. – DOI: 10.3390/antibiotics4030230.

284. Viral and atypical bacterial etiology of acute respiratory infections in children under 5 years old living in a rural tropical area of Madagascar / J. Hoffmann, H. Rabezanahary, M. Randriamarotia [et al.] // *PloS one*. – 2012. – Vol. 7. – № 8. – DOI:10.1371/journal.pone.0043666.

285. Wang, W. Monoclonal antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics / W. Wang, E. Q. Wang, J. P. Balthasar // *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. – 2008. – Vol. 84. – P. 548–558. – DOI: 10.1038/clpt.2008.170.

286. Whitman, W. B. Prokaryotes: the unseen majority / W. B. Whitman, D. C. Coleman, W. J. Wiebe // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1998. – Vol. 95. – № 12. – P. 6578–6583. – DOI: 10.1073/pnas.95.12.6578.

287. Wilmes, P. A decade of metaproteomics: Where we stand and what the future holds / P. Wilmes, A. Heintz-Buschart, P. L. Bond // *Proteomics*. – 2015 – Vol. 15. – № 20. – P. 3409–3417. – DOI: 10.1002/pmic.201500183.

288. Wilson, K. H. Efficiency of various bile salt preparations for stimulation of *Clostridium difficile* spore germination / K. H. Wilson // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1983. – Vol. 18. – № 4. – P. 1017–1019. – DOI: 10.1128/jcm.18.4.1017-1019.1983.

289. Woese, C. R. A proposal concerning the origin of life on the planet earth / C. R. Woese // *Journal of Molecular Evolution*. – 1979. – Vol. 13. – № 2. – P. 95–101. – DOI: 10.1007/BF01732865.

290. Yuk, Y. S. Age and sex trends of *Gardnerella vaginalis* infection in patients with sexually transmitted infections in Korea / Y. S. Yuk, J. E. Choi, J. K. Kim // *Iranian Journal of Microbiology*. – 2021. – Vol. 13. – № 6. – P. 779–784. – DOI: 10.18502/ijm.v13i6.8079.