

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРОБЛЕМ ЗДОРОВЬЯ СЕМЬИ И
РЕПРОДУКЦИИ ЧЕЛОВЕКА»**

На правах рукописи

Григорова Екатерина Владимировна

**РОЛЬ НАРУШЕНИЙ МИКРОБИОТЫ ТОЛСТОЙ КИШКИ У ДЕТЕЙ
ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ
ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНЫХ РАССТРОЙСТВ**

14.03.03 – патологическая физиология (биологические науки)

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Научные руководители:

д.м.н., профессор

Л.Ф. Шолохов

д. м. н., профессор РАН

Л.В. Рычкова

ИРКУТСК – 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ИЗМЕНЕНИЯХ МИКРОБИОТЫ ТОЛСТОЙ КИШКИ У ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНЫХ РАССТРОЙСТВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)..	12
1.1. Структура микробиоты толстой кишки у детей первого года жизни и факторы, влияющие на становление кишечного гомеостаза	12
1.1.1. Значимость различных видов вскармливания у детей первого года жизни с функциональными гастроинтестинальными расстройствами.....	14
1.1.2. Роль индигенной микробиоты у детей первого года жизни в сохранении колонизационной резистентности толстой кишки.....	16
1.1.3. Характеристика наиболее значимых условно-патогенных бактерий, участвующих в формировании нарушений микробиоты толстой кишки у детей первого года жизни	22
1.2. Функциональные гастроинтестинальные расстройства у детей в критические периоды первого года жизни.....	28
1.3. Особенности микробиоты толстой кишки и взаимоотношений ассоциативных симбионтов у детей первого года жизни с функциональными гастроинтестинальными расстройствами	35
1.4. Принципы и методы лечения нарушений микробиоты толстой кишки у детей первого года жизни с функциональными гастроинтестинальными расстройствами	41
1.4.1. Бактериофагия как принцип патогенетически обоснованной коррекции нарушений микробиоты толстой кишки у детей первого года жизни с функциональными гастроинтестинальными расстройствами.....	42
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	44
2.1. Материалы исследования	44
2.2. Методы исследований	49
2.2.1. Статистические методы	54

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	55
3.1. Изменение состояния индигенной микробиоты толстой кишки у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами с учетом вида вскармливания.....	55
3.2. Характер взаимоотношений между различными вариантами <i>E. coli</i> с измененными свойствами в микробиоте толстой кишки у детей первого года жизни и их роль в формировании функциональных гастроинтестинальных расстройств с учетом вида вскармливания.....	62
3.3. Изменение состояния условно-патогенной микробиоты толстой кишки у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами в зависимости от вида вскармливания.....	66
3.4. Роль и характер взаимоотношений условно-патогенных бактерий-ассоциантов в микробиоте толстой кишки у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами в зависимости от вида вскармливания.....	73
3.5. Взаимовлияние представителей индигенной и условно-патогенной микробиоты на формирование микробиоценоза толстой кишки у детей первого года жизни с учетом вида вскармливания.....	76
3.6. Характеристика чувствительности к бактериофагам штаммов бактерий рода <i>Klebsiella</i> , как основного бактериального агента микробиоты толстой кишки у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами в различные периоды первого года жизни	81
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	87
ВЫВОДЫ	101
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	103
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	104

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и уровень ее разработанности

Функциональные гастроинтестинальные расстройства занимают одно из ведущих мест в структуре заболеваний пищеварительного тракта у детей первого года жизни (Малолетняя С.В. и др., 2009; Богданова Н.М., 2013; Бельмер С.В. Хавкин А.И., Печкуров Д.В., 2016). Взаимоотношения микроорганизмов представляют важную проблему патологической физиологии, поскольку именно от них зависит развитие и регрессия различных патологических состояний (Урсова Н.И., 2011; Barbara G. et al., 2016).

Результаты экспериментальных и клинических исследований показали, что изменения состава кишечной микробиоты лежат в основе формирования кишечной диспепсии (Чередниченко Ю.В., 2015; Nino D.F. et al., 2016). У грудных детей микробиота кишечника характеризуется неустойчивостью, связанной с сукцессией, обусловленной неадекватным иммунным ответом организма на заселение кишечника условно-патогенными микроорганизмами (Ипатова М.Г. и др., 2010; Рыбальченко О.В., Бондаренко В.М., 2013; Cacho N., Neu J., 2014).

В патогенезе развития гастроинтестинальных расстройств важную роль играют нарушения симбиотических и антагонистических взаимоотношений бактерий индигенной и условно-патогенной микробиот, приводящих к увеличению доли патогенных микроорганизмов в кишечнике (Бухарин О.В., Кремлева Е.А., Сгибнев А.В., 2012; Белова И.В. и др., 2015; Беляева И.А. и др., 2017; Blanton L.V. et al., 2016; Riviera-Perez J.I., González A.A., Toranzos G.A., 2016). В результате этого происходит изменение качественного состава индигенной и условно-патогенной микробиот, обеспечивая манифестацию клинической картины заболевания (Кешишян Е.С., Бердникова Е.А., Хавкин

А.И., 2012; Янковский Д.С. и др., 2013; Булатова Е.М., Богданова Н.М., 2013; Patel M.P., 2015).

Следует отметить, что в формировании функциональных гастроинтестинальных расстройств у детей первого года жизни ведущую роль играют измененная индигенная и агрессивная условно-патогенная микробиоты (Lopetuso L.R. et al., 2013).

В настоящее время известно, что существует взаимосвязь микробного разнообразия в кишечнике детей первого года жизни с различными видами вскармливания. При этом, у детей, находящихся на грудном вскармливании, наблюдается высокий уровень колонизации толстой кишки условно-патогенными видами бактерий, и особенно их ассоциациями, выделяемых чаще и в более высоких титрах, чем у детей, находящихся на других видах вскармливания (Германенко И.Г., 2014; Hoen A.G. et al., 2015; Patel K. et al., 2015).

Установлено, что нарушения микробиоты кишечника, обусловленные увеличением концентраций условно-патогенных микроорганизмов с высокой активностью факторов персистенции, как правило, неэффективно поддаются коррекции и требуют длительного лечения бактериофагами, пробиотическими препаратами и, при необходимости, антибиотиками (Габриэлян М.И. и др., 2011; Николаева И.В., Купчихина Л.А., 2013; Vernaola A.G. et al., 2010; Backhed F. et al., 2015).

В связи с этим для разработки патогенетически обоснованной терапии дисбиотических состояний толстой кишки у детей первого года жизни с функциональными гастроинтестинальными расстройствами необходимо оценить биологические свойства и характер взаимоотношений микроорганизмов индигенной и условно-патогенной микробиот (Бухарин О.В., Усвяцов Б.Я., Хуснутдинова Л.М., 2003, 2012; Madan J.C. et al., 2012; Sha S. et al., 2013).

Все вышеизложенное позволило сформулировать **цель работы**, заключающуюся в установлении роли нарушений состава микробиоты

толстой кишки при формировании функциональных гастроинтестинальных расстройств у детей первого года жизни при различных видах вскармливания для патогенетического обоснования принципов их коррекции.

Для достижения указанной цели последовательно решались следующие **задачи**:

1. Установить особенности индигенной микробиоты толстой кишки у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами в различные периоды первого года жизни с учетом вида вскармливания.
2. Определить состав условно-патогенных бактерий–ассоциантов при формировании патологической микробиоты толстой кишки у детей первого года жизни с функциональными гастроинтестинальными расстройствами с учетом вида вскармливания.
3. Оценить характер симбиотических и антагонистических взаимоотношений различных ассоциаций бактерий микробиоты толстой кишки детей первого года жизни с функциональными гастроинтестинальными расстройствами в зависимости от вида вскармливания.
4. Установить уровень чувствительности штаммов бактерий рода клебсиелл к специфическим бактериофагам у детей первого года жизни с функциональными гастроинтестинальными расстройствами для патогенетического обоснования принципов коррекции нарушений микробиоты толстой кишки.

Научная новизна

Доказано, что ведущую роль в патогенезе функциональных гастроинтестинальных расстройств у детей в различные периоды первого года жизни, находящихся как на грудном, так и на смешанном вскармливании, играют микрoэкологические нарушения биоценоза кишечника, приводящие к увеличению доли условно-патогенных микроорганизмов и формированию патологической микробиоты.

Приоритетными являются данные о том, что функциональные гастроинтестинальные расстройства у детей в возрасте до 6 месяцев ассоциированы с изменениями микробиоты кишечника, проявляющиеся дисбалансом состава индигенной микрофлоры за счет замещения полноценных эшерихий и дефицитом бифидобактерий, в том числе и увеличением доли ассоциаций аномальных эшерихий независимо от вида вскармливания.

Установлено, что значимую роль в патогенезе функциональных гастроинтестинальных расстройств у детей, находящихся на грудном вскармливании играет преобладание микроорганизмов-антагонистов (*S. aureus* + *Clostridium* spp. в период до 3 месяцев; *S. aureus* + *Enterobacter* spp. в период 3–6 месяцев и *S. aureus* + *Candida* spp. в период 6–12 месяцев), тогда как у детей на смешанном – микроорганизмов-симбионтов (в возрасте 3–12 месяцев доминируют *Klebsiella* spp., *Clostridium* spp., *S. aureus*).

Важными являются данные, что наиболее выраженные патологические нарушения микробиоценоза толстой кишки у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами, находящихся на грудном вскармливании в возрасте от трех до шести месяцев, характеризуются снижением концентрации микроорганизмов индигенной микробиоты, что обусловлено сменой взаимоотношений не только у микроорганизмов индигенной, но и условно-патогенной микробиот.

Впервые установлено, что штаммы *K. pneumoniae* имеют большую чувствительность (в два раза) к действию бактериофагов клебсиелл пневмоний и секста, выделенных у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами в возрасте от трех до шести месяцев по сравнению со штаммами *K. oxytoca* аналогичного периода. Показано что, 80% штаммов бактерий рода *Klebsiella*, выделенных из толстой кишки у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами, обладают резистентностью к бактериофагам, что может являться одной из причин неэффективного использования данных препаратов.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты настоящей работы вносят дополнительный вклад в теорию адаптации макроорганизма к изменениям микробиоты кишечника при функциональных гастроинтестинальных расстройствах у детей первого года жизни.

Учитывая патогенетическую значимость дисбаланса индигенной и условно-патогенной микробиот в обеспечении общего гомеостаза организма при прогрессировании функциональных нарушений в толстой кишке у детей первого года жизни, необходима своевременная оценка проявлений измененной микробиоты кишечника и ее коррекция с помощью бактериофагии.

Полученные результаты могут быть использованы при составлении клинических рекомендаций для практического здравоохранения, в разработке новых протоколов лечения функциональных гастроинтестинальных расстройств у детей и при прогнозировании дисбиocenотических нарушений в микробиоте кишечника.

В случае выделения бактерий *Klebsiella* spp. из микробиоты толстой кишки у детей первого года жизни, и особенно *K. oxytoca*, для её коррекции необходимо определять чувствительность к специфическим бактериофагам для подавления патогенной микрофлоры.

Методология и методы исследования

Использованы бактериологические методы (определение степени чувствительности штаммов бактерий рода *Klebsiella* к бактериофагам, расчет коэффициента сходства Жаккара, как методики установления совместимости видов и их взаимоотношений), и статистические методы исследования.

Положения, выносимые на защиту

1. У детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами, находящихся на грудном вскармливании, микробиота толстой кишки в период от рождения до трех месяцев характеризуется

увеличением концентраций патогенной индигенной и условно-патогенной микрофлоры; от трех до шести месяцев – стабилизацией патогенной индигенной и снижением концентрации условно-патогенной; от шести до двенадцати месяцев – увеличением концентраций условно-патогенных бактерий и стабилизацией измененных свойств у представителей индигенной микробиоты.

2. В толстой кишке детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами, находящихся на смешанном вскармливании, в период 3–6 месяцев микробиота толстой кишки характеризуется перестройкой, заключающейся в увеличении концентраций условно-патогенной и подавлении нормальной индигенной, а в 6–12 месяцев – снижении агрессивности условно-патогенной и увеличении концентраций нормальной индигенной.

3. Важную роль в патогенезе функциональных гастроинтестинальных расстройств у детей первого года жизни, находящихся как на грудном, так и на смешанном вскармливании, играют ассоциации условно-патогенных бактерий, оказывающих негативное воздействие на микробов-ассоциантов индигенной микробиоты, угнетая нормальных симбионтов и увеличивая микробную плотность бактерий с аномальными свойствами.

Степень достоверности

Научные положения и выводы обоснованы достаточным объемом исследований, выполненных с использованием современных методов, сертифицированного оборудования и реактивов. Статистическая обработка полученных результатов проведена с помощью пакета современных статистических компьютерных программ.

Апробация результатов работы

Основные материалы диссертации представлены:

- на Научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора Сибирского региона «Диагностика, профилактика и надзор за природно-очаговыми и другими инфекционными болезнями» (Иркутск, 2013);

- на III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Развитие физико-химической биотехнологии на современном этапе», посвященной 35-летию кафедры физико-химической биологии ИГУ и 95-летию Иркутского государственного университета (Иркутск, 2013);

- на IV Межрегиональном семинаре «Организация санитарно-эпидемиологического мониторинга за инфекционными заболеваниями» (Иркутск, 2013);

- Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 20-летию кафедры профилактической медицины ФПКВ ГБОУ ВПО НИЖГМА МИНЗДРАВА России (Нижний Новгород, 2013);

- на Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Здоровье и экология населения» (Иркутск, 2015);

- на 83-й Всероссийской Байкальской научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием, посвященной 140-летию со дня рождения профессора Н.Д. Бушмакина «Актуальные вопросы современной медицины» (Иркутск, 2016);

- на конференции с международным участием «Научно-методические проблемы нормальной физиологии и медицинской физики», посвященной 80-летию кафедр нормальной физиологии и медицинской физики Московского государственного медико-стоматологического университета имени А.И. Евдокимова (Москва, 2017).

Публикации:

Соискатель имеет 16 печатных работ, из которых 12 статей в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, и 4 в прочих изданиях.

Личный вклад соискателя

Автору принадлежит ведущая роль в проведении экспериментов, анализе и обобщении полученных результатов. В работах вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования: в отборе и посеве биологического материала, выделении, идентификации и оценке чувствительности к бактериофагам всех выделенных микроорганизмов, статистической обработке результатов, анализе полученных данных, в обобщении и оформлении результатов. Лабораторные исследования проведены непосредственно автором настоящей работы на базе лаборатории микробиома и микроэкологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека».

Объем и структура диссертации:

Диссертация изложена на 128 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, собственных результатов, общего заключения и выводов, включает 19 таблиц, 8 рисунков и список литературы, содержащий 215 источников, в том числе 143 отечественных и 72 зарубежных.

ГЛАВА 1

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ИЗМЕНЕНИЯХ МИКРОБИОТЫ ТОЛСТОЙ КИШКИ У ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНЫХ РАССТРОЙСТВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Структура микробиоты толстой кишки у детей первого года жизни и факторы, влияющие на становление кишечного гомеостаза

Кишечный микробиом, как целостная система организма ребенка, особенно в первый год жизни является информативным маркером изменений макроорганизма, который отражает систему адаптационных процессов. Процесс формирования нормальной микробиоты кишечного биотопа форсируется сразу же после рождения ребенка и продолжается в течение первого года жизни (Азарова Е.В. и др., 2007; Edwards C.A., Parret A.M., 2002; Jost T., Lacroix C., Braegger C.P., Chassard C., 2012). На долю кишечной микрофлоры приходится 60% всех бактерий в организме (Кушнир И.Э., 2015).

Микрофлора, приобретенная в самый ранний период жизни ребенка, определяет состояние микробиоты взрослого организма (Clemente, J.C.C. et al., 2012; Backhed F. et al., 2015; Stroll V.J. et al., 2015). Нормальная бактериальная микрофлора кишечника находится в динамическом равновесии и не вызывает заболевания. Когда равновесие нарушается, безвредные микроорганизмы становятся причиной различных патологических процессов. У ослабленных детей большинство имеющихся бактерий рассматриваются в качестве потенциально патогенных микроорганизмов (Анастасевич Л.А., 2008; Иванова Е.И., 2014; Кулуев Б.Р. и

др., 2012; Indrio F., Neu J., 2011). Это связано с тем, что любой патологический процесс обусловлен измененной реактивностью организма, возникающий под воздействием различных патогенных факторов (Меерсон Ф.З. и др., 1989; Шолохов Л.Ф., 2004).

Общепринято, что становление кишечной микробиоты не ограничивается только неонатальным периодом жизни ребенка, при этом именно первое полугодие является наиболее ответственным и напряженным этапом развития нормальной микрофлоры у детей (Копанев Ю.А., Соколов А.Л., 2008).

В период внутриутробного развития кишечник плода считается стерильным (DiGiulio D.V. et al., 2008; Indrio F., Neu J., 2011). Однако с использованием молекулярно-генетических методов обнаружено большое разнообразие микроорганизмов в меконии, амниотической жидкости и в плаценте (Беляева И.А. и др., 2017). Принципиальным является признанный факт – заселение микроорганизмами основных экологических ниш новорожденного ребенка начинается с момента прохождения его через родовые пути матери. Однако, в противовес таким данным, появилась и другая точка зрения – нормальная микробиота толстого кишечника у плода закладывается во второй половине беременности от матери при помощи феномена бактериальной транслокации (Урсова Н.И., 2011; Sherman M.P., 2010). Транслокационным путем из организма матери, преимущественно после 23–ей недели беременности часть микроорганизмов – пептострептококки, клостридии, лактобациллы, актиномицеты появляются в кишечном биотопе плода. Именно эта микрофлора и представляет микробиоценоз мекония у новорожденного (Moles L. et al., 2013; Ardissonne A.N. et al., 2014). Однако роль транслокационных микроорганизмов до настоящего времени остается невыясненной (Behrman R.E., 2007; Moles L. et al., 2013). Такой ступенчатый процесс микробной колонизации кишечника может быть ассоциирован уже внутриутробно микробиотой, которая была в плаценте и амниотической жидкости (Беляева И.А. и др., 2017).

Во время родов желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) у новорожденного значительно колонизируется через рот, путем заглатывания околоплодных вод, секрета половых органов при прохождении по родовым путям матери (Cacho N., Neu J., 2014). У новорожденных после естественных родов кишечная микробиота сходна с микрофлорой влагалища матери, и содержит бактерии рода *Bifidobacterium* и *Escherichia*. При быстрых родах или родах путем кесарева сечения кишечник новорожденного обсеменяется условно-патогенными микроорганизмами (УПМ) (Анастасевич Л.А., 2008; Беляева И.А. и др., 2017). Установлено, что дети, рожденные путем кесарева сечения, имеют низкое общее разнообразие микробиоты в течение первых двух лет жизни (Беляева И.А. и др., 2017). Таким образом, в кишечнике плода происходит образование воспалительной реакции, приводящей к преждевременным родам, при этом, данная связь подтверждается микрофлорой мекония у новорожденных (Cacho N., Neu J., 2014).

Отмечено, что в кишечнике человека микробиота ограничивается 4 доминирующими типами: вирмикуты, бактериоды, актиномицеты и протеобактерии. Хотя обычно считается, что с болезнью связаны патогены, из которых большинство кишечных микробов комменсалы и симбионты, обеспечивающие полезные эффекты в плане питания, развития иммунной системы, и постнатального созревания кишечника. Они выполняют функции, которые не могут быть выполнены сама по себе у человека-носителя (Cacho N., Neu J., 2014).

1.1.1. Значимость различных видов вскармливания у детей первого года жизни с функциональными гастроинтестинальными расстройствами

Чрезвычайно важную роль в становлении микробиоты кишечника играет питание новорожденных. Как известно в грудном молоке содержится ряд факторов, обеспечивающих формирование нормальной микробиоты (Национальная программа оптимизации вскармливания детей первого года

жизни в Российской Федерации, 2009; Ожегов А.М., Пенкина Н.И., 2010, 2013; Indrio F., Neu J., 2011; Jost T. et al., 2012; McGuire M.K., McGuire M.A., 2015; Underwood M.A. et al., 2015).

Доказано, что в грудном молоке родильниц в первые 7 суток после родов обнаруживаются бифидобактерии, лактобактерии, энтерококки и факультативные микроорганизмы (Урсова Н.И., 2011). Состав микрофлоры грудного молока отличается от других локусов и не является результатом контаминации (Беляева И.А. и др., 2017). По результатам Martin R. (2007), было высказано предположение о том, что грудное молоко может быть источником лактобактерий для новорожденных (Martin R. et al., 2007). У детей, находящихся на грудном вскармливании, нормофлора с достаточно стабильными характеристиками, формируется к концу первого года жизни (Копанев Ю.А., Соколов А.Л., 2008; Турти Т.В. и др., 2014; Liu Z. et al., 2015).

Отмечено, что на протяжении первой недели жизни в микробиоте кишечника новорожденных, находящихся на грудном или смешанном вскармливании, существенных различий нет (Backhed F. et al., 2015). Однако, грудное вскармливание обеспечивает преимущество формирования микробных сообществ на первом году жизни с доминированием бифидо- и лактофлоры, при этом микробиота кишечника у детей сохраняет функциональное сходство с материнской микробиотой, и более многокомпонентно, чем при искусственном вскармливании (Беляева И.А. и др., 2017). У детей на грудном вскармливании разнообразие и разнородность видов бактерий продолжает расти в течение первых 2–3 лет жизни (Patel K. et al., 2015).

Установлено, что грудное вскармливание связано со снижением риска астмы, ожирением, инфекций, метаболического синдрома, и сахарного диабета, и других болезней. Лежащие в основе механизмы не вполне понятны, но появляется все больше доказательств, связывающих с данным

фактом действие микрофлоры, которая присутствует во влагалище (Ip S. et al., 2007; Aagaard K. et al., 2012; Madan C.J. et al., 2016).

Таким образом, раннее прикладывание к груди и как можно более длительное кормление материнским молоком – основные факторы, препятствующие развитию дисбиотических состояний у детей первого года жизни.

1.1.2. Роль индигенной микробиоты у детей первого года жизни в сохранении колонизационной резистентности толстой кишки

Главное место в структуре кишечной микробиоты занимают представители индигенной микробиоты толстой кишки человека – бифидобактерии, лактобактерии, эшерихии и энтерококки.

Различные штаммы бифидобактерий и бактероиды появляются в ЖКТ спустя 10 дней после рождения и достигают микробного числа 10^8 - 10^9 КОЕ/гр. Бифидобактерии в виде грампозитивных палочек с облигатными анаэробными свойствами в толстой кишке детей составляют около 95% популяции бактерий. Отмечено, что у детей, находящихся только на естественном вскармливании, в микробиоте кишечника преобладают бифидобактерии, с чем связывают меньший риск развития гастроинтестинальных расстройств (Копанев Ю.А., Соколов А.Л., 2008).

Согласно данным Урсовой Н.И. (2005), олигосахариды, являющиеся одним из наиболее важных компонентов грудного молока, считаются естественным бифидогенным фактором и обладают способностью влиять на характер кишечной микробиоты детей первого года жизни. Олигосахариды, доходящие в неизменном виде до толстой кишки, подвергаются процессу ферментации бифидобактериями, в результате чего образовавшаяся молочная кислота и короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК) воздействуют на консистенцию кала и частоту актов дефекации (Cenit M.C. et al., 2015). У детей, находящихся на грудном вскармливании, рН кала ниже,

чем у детей, получающих искусственные смеси. Подавление роста патогенных бактериальных агентов происходит благодаря высокой кислотности кала (Ардатская М.Д., 2009; Урсова Н.И., 2011). Бифидобактерии выполняют защитные и трофические функции. Продукты жизнедеятельности бифидобактерий являются питательным материалом для эпителиальных клеток толстой кишки. Бифидобактерии питаются метаболитами лактофлоры, потому так важно их равновесие и оптимальное присутствие в био пленке ЖКТ. Являясь сахаролитическими микробами, бифидобактерии выделяют большое количество кислых продуктов. Образующаяся молочная, уксусная кислоты способствуют усилению всасывания ионов кальция, железа, витамина D. Значительное количество выделяемых бифидобактериями лизоцима, бактериоцинов, спиртов и высокая антагонистическая активность по отношению к патогенным бактериям препятствуют проникновению микробов в верхние отделы ЖКТ. У бифидобактерий отмечают высокую способность к синтезу аминокислот, белков, витаминов группы B, которые затем всасываются в кишечнике. Поэтому при стойких, тяжелых нарушениях функций бифидобактерий может развиваться комплекс белково-витаминно-минеральной недостаточности. Они препятствуют микробному декарбоксилированию пищевого гистидина и повышению количества гистамина (Корниенко Е.А., Нетребенко О.К., Украинцев С.Е., 2009; Николаева И.В. и др., 2012).

Лактобактерии заселяют организм новорожденного ребенка в антенатальном и раннем постнатальном периоде и определяются через несколько дней после рождения и у 75–100 % грудных детей, составляя 1 млрд микробных клеток в 1 г испражнений (Ракова Е.Б., 2012; Приворотский В.Ф., Луппова Н.Е., 2012). Дети, рожденные путем кесарева сечения, имеют значительно более низкое содержание лактобактерий, чем появившиеся естественным путем (Копанев Ю.А., Соколов А.Л., 2008). Лактобактерии – грампозитивные, неспорообразующие неподвижные палочки, преимущественно анаэробы. Они присутствуют во всех отделах

пищеварительного тракта и выполняют защитную функцию. Род лактобактерий включает 44 вида, из них основными являются *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. fermentum*. У детей, находящихся на грудном вскармливании доминирующим видом является *L. infantis*, синтезирующие холестерин, ответственный за развитие головного мозга на данном этапе. Подавление гнилостных, гноеродных микробов и антибактериальная активность лактобактерий связаны с выработкой молочной кислоты, спирта и лизоцима, продуктов с высокой антибиотической активностью, интерферонов, интерлейкина 1, ряда других факторов неспецифической защиты. Исчезновение лактобактерий приводит к сдвигу реакции среды в щелочную сторону, резко снижая утилизацию кишечником биологически активных соединений (Зюбр Т.П., Мурашкина И.А., Васильев И.Б., 2008; Morelli L. et al., 1998).

Наряду с бифидо- и лактобактериями группу нормальных кислотообразователей составляют анаэробные пропионибактерии. Снижая рН окружающей среды, пропионибактерии проявляют антагонистические свойства в отношении патогенных и УПМ (Приворотский В.Ф., Луппова Н.Е., 2012).

Бактерии *E. coli* и стрептококки можно обнаружить в ЖКТ уже через несколько часов после рождения. В кишечнике человека представители рода эшерихий появляются в первые дни после рождения в количестве 10^7 - 10^8 колоний образующих единиц на 1 грамм (КОЕ/г) фекалий и сохраняются на протяжении жизни на этом уровне (Отраслевой стандарт, 2003). В копро материале здорового человека кишечные палочки (типичные, полноценные или иначе с нормальной ферментативной активностью) выявляются в количестве 10^7 - 10^8 КОЕ/г, при этом кишечные палочки с гемолитической активностью (ГА) должны отсутствовать. Кроме того, в человеческом организме встречается кишечная палочка со сниженной ферментативной активностью (СФА). Численность таких грамотрицательных бактерий не должна превышать 10% от общего количества найденной

микрофлоры. Кишечная палочка с СФА – неполноценная *E. coli*, которая не способна нанести организму никакого вреда, но и не приносит пользы. Если анализы показывают повышенное число данных микроорганизмов, то это может свидетельствовать о начале дисбактериоза, так как подобная картина характерна для дисбактериоза 2, 3 и 4 стадии (Ильина Н.А., Карпеева Е.А., Гусева И.Т., 2008; Иванова Е.И., 2014). Кишечные палочки являются основными конкурентами УПМ в отношении заселения ими кишечника (Байко С.В., 2007). Они вместе с бифидо- и лактобактериями препятствуют ее размножению. Кишечные палочки забирают из просвета кишечника кислород, который вреден для полезных для человека бифидо- и лактобактерий. *E.coli* вырабатывают ряд необходимых для человека витаминов: В1, В2, В3, В5, В6, В9, В12, К, участвует в обмене холестерина, билирубина, холина, желчных и жирных кислот, оказывает влияние на всасывание железа и кальция, способствует гидролизу лактозы, продуцирует антибиотикоподобные вещества, тормозящие рост патогенной кишечной палочки, а также участвует в создании местного, кишечного иммунитета (Осадчук М.А., Осадчук М.М., 2010; Ильина Н.А., Карпеева Е.А., Гусева И.Т., 2008; Carvalho F.A. et al., 2009). Некоторые штаммы эшерихий продуцируют колицины, которые тормозят рост энтеропатогенных штаммов кишечной палочки (Hoen A.G. et al., 2015). Эти свойства обусловлены, в первую очередь, механизмом синтеза секреторных иммуноглобулинов в кишечнике. Эшерихии принимают участие в синтезе витамина К, обеспечивая гемостатические процессы (Chow J. et al., 2010).

Нормальная кишечная микробиота в организме ребенка выполняет важнейшие физиологические функции, что позволяет рассматривать ее как отдельный метаболический орган (Куяров А.А., 2015). Прежде всего, она препятствует колонизации пищеварительного тракта факультативными и патогенными микроорганизмами, обеспечивая защитную функцию, в основе которой лежит принцип микробного антагонизма. Колонизационная резистентность обеспечивается конкуренцией за питательные вещества и

рецепторы для адгезии, изменения уровня рН, выработки бактериоцинов и других веществ с противомикробной активностью. Нормальная микрофлора также обладает способностью распознавания и элиминации вирусов, что позволяет обеспечивать противовирусную защиту макроорганизма.

Бифидо-, лактобактерии и энтерококки обеспечивают гипополипидемический и гипотензивный эффекты путем деконъюгации солей желчных кислот, ассимиляции и преципитации холестерина, снижения активности тканевого ангиотензинпревращающего фермента. Нормальная микрофлора участвует в синтезе аминокислот, витаминов группы В, РР, К, С, биотина, пантотеновой кислоты, гормонов, антибиотических и других веществ, способствует всасыванию ионов железа, кальция, витамина D.

Сахаролитические микроорганизмы – бифидобактерии, лактобациллы, *Enterococcus faecalis* – производят большое количество активных углеводных ферментов, способствующих расщеплению растительных полисахаридов, пищевых волокон до КЦЖК (бутирата, пропионата, ацетата) (Сугян Н.Г., 2010).

Индигенная кишечная микробиота поддерживает метаболическую функцию, осуществляя переваривание основных пищевых субстанций и синтезируя новые. Многие виды белков, жиров и углеводов, входящие в состав питательных рационов человека, могут быть расщеплены только определенными кишечными микроорганизмами. Гидролиз белков осуществляется с помощью ферментов, вырабатываемых протеолитической микрофлорой – бактериоидами, нормальной кишечной палочкой. Жирные кислоты обеспечивают энергетический потенциал, поддерживают физико-химический гомеостаз кишечного эпителия, способствуя его созреванию и регенерации, являются лигандами различных рецепторов, а также играют важную роль в осмотическом регулировании, обеспечении и контроле моторной функции кишечника.

Одной из важнейших функций нормальной кишечной микробиоты является участие в формировании местной и общей иммунологической

реактивности. Бактерии способны стимулировать продукцию секреторного иммуноглобулина А и фагоцитарные реакции, активировать и поддерживать состояние собственной лимфоидной ткани слизистой оболочки кишечника (gut-associated lymphoid tissue – GALT). Взаимодействие микробиоты с иммунной системой кишечника реализуется посредством системы Toll-подобных рецепторов (TLR). На сегодняшний день известно 13 типов TLR, которые представлены в большом количестве на поверхности кишечного эпителия, и в то же время обнаружены на моноцитах, макрофагах, в системном кровотоке и периферических органах и тканях (Indrio F., Neu J., 2011).

Биологическое равновесие нормофлоры детей легко нарушается многочисленными факторами экзогенной и эндогенной природы. Экзогенные факторы включают в себя техногенное загрязнение окружающей среды (ионизирующее излучение, тяжелые металлы и другие токсические соединения); социально-экономическую нестабильность в обществе, неблагоприятные санитарно-гигиенические условия жизни; климатогеографические изменения; профессиональную деятельность, связанную с воздействием вредных факторов (промышленные яды и др.). К эндогенным факторам относят первичные нарушения процесса формирования биоценоза в период новорожденности (перинатальные инфекции, ухудшение репродуктивного здоровья населения, патология беременных и родильниц, искусственное вскармливание детей, нарушения условий содержания новорожденных, неадекватная терапия, врожденные анатомические аномалии и др.); стрессовые состояния; нерациональное питание; возрастные изменения; не рациональная медикаментозная терапия (антибиотики, цитостатики, иммунодепрессанты, лучевая и химиотерапия, гормональные препараты, обволакивающие, отхаркивающие, слабительные препараты и др.) (Лукьянова Е.М. и др., 2009; Немченко У.М. и др., 2014).

Таким образом, нормальная микробиота кишечника – это неограниченное хранилище микробных плазмидных и хромосомных генов,

осуществляющее постоянный обмен генетическим материалом как с клетками человека, так и с представителями нормальной микробиоты и патогенными видами, попадающими в ту или иную экологическую нишу. В результате такого обмена достигается иммунологическая толерантность микробиоты и организма хозяина (Урсова Н.И., 2011; Учайкин В.Ф., Молочный В.П., 2013; Кушнир И.Э., 2015; Indrio F., Neu J., 2011). Так как одним из главных звеньев патогенеза функциональных гастроинтестинальных расстройств (ФГИР) у детей первого года жизни является становление микробиоты кишечника целесообразно обеспечить рост нормальной микрофлоры, поскольку колонизация кишечного микробиома в детстве может сохраняться на протяжении всей жизни (Houghteling P.D., Walker W.A., 2016).

1.1.3. Характеристика наиболее значимых условно-патогенных бактерий, участвующих в формировании нарушений микробиоты толстой кишки у детей первого года жизни

При формировании ФГИР у детей грудного возраста необходимо проводить полный и развернутый анализ, поскольку появление условно-патогенных микроорганизмов в кишечной микробиоте может свидетельствовать не только о незначительных сдвигах, но и усугублять ФГИР посредством формирования инфекции (Рубцова А.А., 2011; Hill D.A., Artis D., 2010; Stroll B.J., 2011).

Массивная колонизация кишечника здорового доношенного новорожденного, происходящая в момент рождения, имеет определенные закономерности и состоит из нескольких последовательных стадий. Первая стадия, которую с современных позиций можно считать «условно» асептической, берет начало в интранатальном периоде. Вторая, наступающая через 10–20 ч после рождения, стадия «нарастающей колонизации». Первоначально этот процесс не зависит от степени зрелости, перинатальных

условий развития плода и вида вскармливания (Ахмадеева Э.Н., Амирова В.Р., Брюханова О.А., 2006; Fanaro S. et al., 2003). В этот период колонизация осуществляется гетерогенными микроорганизмами. Поскольку ткани кишечника новорожденного богаты кислородом, то в первую очередь в нем идет активный рост аэробных и условно аэробных бактерий, таких как *Escherichia coli*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Enterococcus* (Edwards С.А., Parret А.М., 2002; Cenit М.С. et al., 2015). Они быстро размножаются, поглощая кислород, и создают при этом необходимые условия для роста бифидобактерий, при этом являясь положительным фактором при становлении полезной кишечной микробиоты (Fukuda S. et al., 2011). Начиная с 3-5 дня, наступает третья стадия – «трансформации микробиоты», в результате которой происходит вытеснение бифидофлорой других микроорганизмов. В этот период бифидобактерии становятся основной (резидентной) микрофлорой кишечника, чему в значительной мере способствует грудное вскармливание (Нетребенко О.К., 2005).

Установлено, что к пятому дню жизни контаминация зева, кожи, кишечника отмечается у 92% здоровых новорожденных (Беляева И.А. и др., 2007).

Коагулазонегативные стафилококки колонизируют кишечник с первых дней жизни ребенка. Среди грамположительных возбудителей лидируют именно коагулазонегативные стафилококки (КНС), чаще *S. epidermidis*, а также *S. aureus*, *Streptococcus spp.* и *Enterococcus spp.*, выделяются они в 56-73% случаев (Бегиашвили Л.В., 2010; Самсыгина Г.А., 2010; Hidayat L.K. et al., 2008).

Также возрастает число детей с инфекциями, обусловленными дрожжеподобными грибами рода *Candida*. В настоящее время кандидоз регистрируется приблизительно у 16,5% новорожденных (Гриценко Л.З. и др., 2006; Дементьева Г.М. и др., 2007; Самсыгина Г.А., Буслаева Г.Н., 2008; Веселов А.В., 2011; Romo M.G. et al., 2011).

Энтерококки являются распространенными нозокомиальными патогенами, на долю которых приходится от 9 до 16% случаев внутригоспитального инфицирования (Стецюк О.У. и др., 2011).

Бациллы в кишечнике могут быть представлены аэробными и анаэробными видами микроорганизмов. В их числе *Bacillus subtilis*, *B. pumilis*, *B. cereus* являются аэробными спорообразующими бактериями; *Clostridium perfringens*, *C. novyi*, *C. septicum*, *C. histolyticum*, *C. tetanus*, *C. difficile* - анаэробными. Наибольший интерес представляют анаэробные спорообразующие бактерии *C. difficile*. В кишечнике здорового ребенка их количество обычно не превышает 10^3 КОЕ/г фекалий. Из углеводов или пептона они образуют смесь органических кислот и спиртов (Отраслевой стандарт, 2003). Клостридии также принимают участие в деконъюгации желчных кислот, многие поддерживают колонизационную резистентность (Lopetuso L.R. et al., 2013), подавляют рост патогенных клостридий. Большинство специалистов указывает на значительную роль *C. difficile* в развитии некротических колитов новорожденных. *Clostridium difficile* и *C. perfringens* способны вырабатывать энтеротоксины. Микробные пептидные токсины оказывают провоспалительный эффект, вызывают хемотаксис нейтрофилов, выделяют сериновые протеазы, окислители, формируют хроническое воспаление. При их участии происходит местная и системная сенсibilизация антигенами энтеральной системы, пищевая сенсibilизация (Cenit M.C. et al., 2015). Клостридии, находясь в тесной взаимосвязи с клетками кишечника, участвуют в качестве решающих факторов в модуляции физиологических, метаболических и иммунных процессов толстой кишки (Lopetuso L.R. et al., 2013).

Аэробная микрофлора кишечника детей первого года жизни в основном представлена преимущественно энтеробактериями (Нилова Л.Ю., 2009). Значимыми возбудителями нозокомиальных инфекций являются *Klebsiella* spp. (Бусленко А.О. и др., 2015), *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Enterobacter* spp., частота регистрации которых составляет

от 10 до 27%. Доказано, что на протяжении первых 5-6 дней жизни ребенка происходит вытеснение штаммов микроорганизмов, полученных от матери в процессе родов и интенсивная колонизация кишечника госпитальными штаммами бактерий, в частности *K. pneumoniae* (Урсова Н.И., 2011).

В последние годы наблюдается значительный рост инфекционных заболеваний, этиологически ассоциированных с УПМ, среди которых одно из ведущих мест занимают бактерии рода *Klebsiella* семейства Enterobacteriaceae (Бурганова Р.Ф., 2011). Клебсиелла (лат. *Klebsiella*) - род капсульных неспороносных бактерий. Характерным представителем является *Klebsiella pneumoniae* (палочка Фридендера), имеет удлиненную форму (0,3—0,5 мкм), располагается одиночно или попарно. Неподвижные, грамнегативные бактерии, могут образовывать слизистую капсулу, благодаря которой проявляют устойчивость к воздействию окружающей среды. Отмечается хороший рост клебсиелл на обычных питательных средах. На плотных средах образуют круглые, выпуклые, блестящие, слизистые колонии. Бактерии рода *Klebsiella* сбраживают глюкозу, сахарозу, лактозу с образованием кислоты и газа, желатин не разжижают, в молоке изменяют рН в кислую сторону, но не свёртывают, сероводорода и индола не образуют, активно восстанавливают нитраты. По типу дыхания клебсиеллы являются факультативными анаэробами. Оптимальная температура роста для клебсиелл - 37°C. Обитают представители этого рода энтеробактерий на слизистой оболочке носа, ротоглотки и кишечника здоровых людей. Бактерии рода *Klebsiella* известны как возбудители заболеваний дыхательных путей: пневмонии, риносклеромы и озены. В последние годы их выделение описано при заболеваниях урогенитального тракта, мозговых оболочек, глаз, суставов и позвоночника, при различных гнойно-септических осложнениях, а так же при острых желудочно-кишечных заболеваниях (Бондаренко В.М., Мацулевич Т.В., 2007).

У грудных детей микробиота кишечника характеризуется неустойчивостью, связанной с микробной сукцессией при ее формировании,

особенностями иммунной системы, неадекватным иммунным ответом организма на заселение кишечника УПМ (Кафтырева Л.А., Егорова С.А., Кожухова Е.А., 2009; Завгородняя Е.Ф., Сташкевич Л.А., Битус Е.А., 2010). Поэтому транзиторные микроорганизмы кишечника *Klebsiella* spp., при наличии вирулентных свойств, становятся причиной инфекционно-воспалительных заболеваний. Установлено, что клебсиеллез проявляется при ФГИР по причине наличия многочисленных факторов патогенности (Кунилова Е.С. и др., 2012), которые представлены, в частности, *полисахаридной капсулой* (по составу ее антигенов выделяют более 70 сероваров), *эндотоксином* и *фимбриями* (выделяют толстые манноза-чувствительные и тонкие манноза-резистентные), обеспечивающие адгезию к эпителию. Помимо фимбриальных адгезию к эпителию опосредуют плазмидные факторы, кодирующие образование поверхностных белков, обуславливающих диффузную адгезию. Определенный вклад вносит сидерофорная система бактерий, связывающая ионы Fe^{2+} и снижающая их содержание в тканях. Следует отметить, что способность конкурировать за железо характерна для большинства бактерий семейства Enterobacteriaceae. У бактерий рода *Klebsiella* выявлены хелаторы железа – энтеробактин (энтерохелин) и аэробактин, а также термолабильные и термостабильные токсины (Покровский В.И., Поздеев О.К., 1998; Поздеев О.К., 2010).

Важную роль при формировании кишечной микробиоты ребенка первого года жизни имеет микрофлора родовспомогательного учреждения. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) главной причиной роста заболеваемости и смертности у детей первого года жизни является инфекция (Агаева М.И., Агаева З.А., 2011). Из-за особенностей барьерной функции кожи и слизистых, а также особенностей иммунитета, дети подвержены внебольничной и госпитальной инфекции (Дементьева Г.М. и др., 2007). Проблема инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в акушерских стационарах и детских больницах остается одной из актуальных в здравоохранении (Nagata E. et al., 2006). Колонизация

нормальной флорой и УПМ происходит при контакте с медицинским персоналом через руки и предметы окружающей среды (Захарова Е.А., Азизов Е.С., 2012; Захарова Ю.В., 2012). Уровень соблюдения гигиены рук персоналом в детских и акушерских учреждениях составляет от 10 до 52%. Развитие нозокомиальных инфекций зависит от профиля отделения, от выбора антибактериальной терапии (АБТ) и эпидемиологической ситуации в них (Ахваткина Н.Б., Малахова А.А., 2012; Веселов А.В., 2011). Именно по этой причине следует анализировать и исследовать адаптивные возможности представителей кишечного биотопа детей грудного возраста с целью профилактики его нарушений различной степени тяжести.

Таким образом, заселение организма новорожденных характеризуется постепенным возрастанием степени микробной обсемененности и зависит от микрофлоры половых путей матери и внутрибольничной среды. Резистентные свойства микрофлоры приобретают все большее значение в неонатологии и педиатрии. С помощью лабораторной диагностики необходимо создать систему персонифицированного мониторинга за микробной экологией кишечника ребенка, это даст возможность осуществить индивидуальную и своевременную коррекцию кишечного биотопа в зависимости от состояния индигенной микробиоты толстой кишки.

1.2. Функциональные гастроинтестинальные расстройства у детей в критические периоды первого года жизни

ФГИР представляют одну из наиболее широко распространенных проблем у детей первого года жизни (Холодова И.В., Ильенко Л.И., Рубцова А.А., 2015). Согласно Международной классификации болезней 2010 г. к функциональной желудочно-кишечной диспепсии (нарушение пищеварения) (K-30) относят – запор, функциональную диарею, неврогенную возбудимость кишечника, мегаколон, спазм анального сфинктера и другие уточненные функциональные кишечные нарушения (Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем, 2003).

Согласно Рабочего протокола диагностики и лечения функциональных расстройств органов пищеварения у детей (2004, 2005, 2010), в диагностических исследованиях необходимо учитывать продолжительность нарушений, составляющую не менее 12 недель (3 мес.) в тех случаях, когда жалобы беспокоят больного в течение данного промежутка времени без перерыва; но если жалобы непостоянно беспокоят больного, то суммарная длительность периода должна составить 3 месяца в течение года наблюдения (Отраслевой стандарт, 2003; Захарова И.Н. и др., 2010; Рабочий протокол диагностики и лечения функциональных заболеваний органов пищеварения у детей, 2010).

Причины функциональных расстройств (ФР) часто лежат вне пораженного органа и обусловлены нарушением нервной и гуморальной регуляции деятельности пищеварительного тракта, но не связаны с органическими причинами, влияющими на состояние здоровья (Leung A.K., Lemau J.F., 2004; Paul S.P., Johnson H.R., Speed H.R., 2013).

Согласно Римским критериям III предложенными Комитетом по изучению ФГИР у детей, и Международной рабочей группой по разработке критериев ФР в 2006 г. (Blaschek W. et al., 2006), ФГИР у новорожденных и детей раннего возраста проявляются в виде младенческих срыгиваний (G1),

абдоминальной боли (особенно выражены кишечные колики – G4), расстройств дефекации (диарея (G5), запор (G7) и др.). Римские критерии IV (2016 г.) согласуются с критериями 2006 года – в классификации сохранились идентичные разделы G и H. Причем согласно классификации функциональных расстройств органов пищеварения для детей раннего возраста отведен класс G – функциональные гастроинтестинальные расстройства (Бельмер С.В., Хавкин А.И., Печкуров Д.В., 2016). При ФГИР могут изменяться как моторная функция, переваривание и всасывание пищевых веществ, так и состав кишечной микробиоты и активность иммунной системы макроорганизма (Ильенко и др., 2010; Акопян А.Н., 2014; Холодова И.В., Ильенко Л.И., Рубцова А.А., 2015).

В последние годы в формировании ФГИР (колик, запоров, диареи и др.) особое внимание уделяют роли отдельных представителей микробиоты кишечника (как индигенной, так и условно-патогенной) (Хавкин А.И., 2012; Безлер Ж.А., Баранаева Е.А., 2013; Ткач С.М. и др., 2014). При этом, отмечают значительные изменения состава толстой кишки, которые характеризуются снижением бифидо- и лактофлоры, а также увеличением микробной плотности УПМ (Мазанкова Л.Н. и др., 2012; Дубровская М.И., 2013; Корниенко Н.А. и др., 2013).

Первый год жизни ребенка является самым важным этапом при формировании систем органов и их активности (Беляева И.А. и др., 2007; Донских Е.Е., 2010). Поэтому очевидно, что неизбежным следствием поражения микробной экологической системы являются иммунные нарушения, которые влекут за собой дальнейшее развитие каскада патологических изменений в организме (Алибек К. и др., 2008; Щеглов В.А., 2015; Cabreiro, F., Gems, D., 2013). Иммунная защита включает в себя два компонента – воспалительная реакция, которая реализуется без распознавания чужеродных антигенов посредством активации естественных неспецифических факторов защиты (натуральные киллеры, фагоциты, система комплемента и др.), и с распознаванием чужеродного антигена

(размножение и дифференцировка лимфоцитов). Данный процесс обозначают иммунным ответом (Коршунова Е.Ю., 2003). В связи с этим, при развитии иммунной системы ребенка первого года жизни выделяют 3 «критических» периода.

Во внутриутробном периоде критическим следует считать возраст 8—12 недель гестации, в который происходит формирование центральных и периферических органов иммунной системы (что соответствует критерию критических периодов П. Г. Светлова в антенатальном развитии) (Стефани Д.В., Вельтищев Ю.П., 1996).

Первым критическим периодом после рождения является период новорожденности, когда организм внезапно встречается с огромным количеством антигенов. Иммунная система подвержена сильным супрессорным влияниям, пассивный гуморальный иммунитет обеспечивается материнскими антителами (Коршунова Е.Ю., 2003; Iyengar S.R., Walker W.A., 2012).

Определяется расхождение фенотипа и функций Т-лимфоцитов, при этом все Т-лимфоциты новорожденных несут маркер незрелости CD 1_a (ОКТ6), исчезающий в зрелых клетках. На В-лимфоцитах экспрессированы типичные антигены, но лишь ограниченное их число способно к синтезу и секреции иммуноглобулинов и только класса IgM. Нейтрофилез в крови сменяется абсолютным лимфоцитозом. Процессинг антигенов снижен и в силу функциональной слабости фагоцитов. Низкая активность естественных киллеров сочетается с ограниченным синтезом гамма - интерферона. Для этого периода характерны низкая резистентность по отношению к условно-патогенной, гноеродной, грамотрицательной флоре, некоторым вирусам (герпес, цитомегаловирус, Коксаки В). Отмечается склонность к генерализации микробно-воспалительных процессов (септические состояния). По данным Левановой ЛА. (2003) у новорожденных детей на фоне сниженного уровня бифидо- и лактофлоры в кишечной микробиоте преобладают представители семейства Enterobacteriaceae. Доминирующее положение среди них занимают

клебсиеллы, кишечные палочки с измененными свойствами и микроорганизмы рода *Proteus* (Леванова Л.А., 2003).

Второй критический период (3—6 месяца) характеризуется ослаблением пассивного гуморального иммунитета в связи с катаболизмом материнских антител. В этот период сохраняется супрессорная направленность иммунных реакций при выраженном лимфоцитозе. На большинство антигенов (инфекции) развивается первичный иммунный ответ с преимущественным синтезом IgM-антител, не оставляющим иммунологической памяти. Такой тип иммунного ответа наступает также при вакцинации против столбняка, дифтерии, коклюша, полиомиелита, кори и только после 2—3-й ревакцинации развивается вторичный иммунный ответ с образованием IgG-антител и стойкой иммунологической памяти. Вакцинация может не повлечь иммунного ответа, если в крови детей еще циркулируют материнские антитела или если дети получали по показаниям препараты крови, гамма - глобулина, плазмы. Дети сохраняют очень высокую чувствительность к РС-вирусу, вирусам парагриппа, аденовирусам (пневмонии, бронхолиты). Вирус гепатита В редко вызывает желтушные формы болезни, чаще — акродерматит (синдром Джанотти — Крости). Атипично протекают коклюш, корь, не оставляя иммунитета. Проявляются недостаточность системы местного иммунитета, многие наследственные иммунодефициты, нарастает частота пищевой аллергии. В этом периоде усугубляются дисбиотические процессы. У детей 3—6 месяцев снижается уровень бифидо- и лактофлоры, возрастает удельный вес кишечных палочек с измененными свойствами, микроорганизмов рода *Proteus*, коагулазопозитивных стафилококков. Пик частоты колонизации детей УПМ приходится на второе полугодие жизни. В этот период (на фоне введения прикорма) достоверно возрастает частота выделения грамотригативных энтеробактерий в основном за счет клебсиелл и гемолизирующих эшерихий. Возможно, этим изменением кишечной микробиоты можно объяснить повышенный риск развития кишечных инфекций в период введения

прикормов грудному ребенку (Николаева И.В., Анохин В.А., Халиуллина С.В., 2012).

Третий критический период – 2-й год жизни. В это время значительно расширяются контакты ребенка, получившего навыки свободного передвижения, с внешним миром. Сохраняется первичный характер иммунного ответа на многие антигены, однако синтез IgM антител уже переключается на образование антител класса G. В этот период дифференцируются клоны В-лимфоцитов, синтезирующие субклассы IgG1 и IgG3. Однако синтез субклассов IgG2 и IgG4 запаздывает. Содержание лимфоцитов в крови достигает максимальных значений. Супрессорная направленность иммунной системы сменяется преобладанием хелперной функции по отношению к клонам В – лимфоцитов, синтезирующих IgM, IgG1, IgG3. Система местного иммунитета остается неразвитой, дети чувствительны к респираторным вирусным инфекциям. Полисахаридные антигены отдельных серотипов пневмококка вообще не индуцируют гуморального иммунитета, он отсутствует по отношению к *Haemophilus influenzae* у 30% детей данного возраста. В этот период начинают проявляться многие минорные аномалии иммунитета, иммунокомплексные, аутоиммунные болезни. Проявления иммунопатологического диатеза (атопия, аутоиммунный диатез) четко не дифференцируются. Дети особенно склонны к повторным вирусным и микробно-воспалительным заболеваниям органов дыхания. С возрастом дисбиотические состояния улучшаются – повышается частота высеваемости типичных кишечных палочек, снижается встречаемость лактозонегативных, гемолизирующих эшерихий, клебсиелл, протей, стафилококков. Однако по сравнению с более старшими возрастными группами у двухлетних детей группы условно-патогенных микроорганизмов еще занимают значительное место в общей микробиоте кишечника. Что касается грибов рода *Candida*, их высеваемость возрастает по сравнению с детьми 1-го года жизни (Амерханова А.М., 2011).

Согласно исследованию Беляевой И.А. (2006) детей грудного возраста разделяют на 3 группы в зависимости от периода постнатального развития: от рождения до 3 месяцев, 3–6 месяцев, 6–12 месяцев. Показано, что в возрасте до 3 месяцев дисфункции ЖКТ, в основном, сочетаются с запорами у детей, родившихся недоношенными, тогда как у доношенных детей – с диареей и запорами, а к 6–12 месяцам преобладает диарея. Данные состояния связаны с изменением влияния симпатической (от рождения до 3 месяцев) на парасимпатическую нервную систему (6–12 месяцев) (Беляева И.А., 2006). Следует отметить, что согласно исследованию Турти Т.В. с соавт. (2012) показано, что с четвертого месяца жизни у доношенных детей происходит функциональное созревание органов пищеварения: нормализуется проницаемость слизистой оболочки тонкой кишки, достигает оптимального уровня активность ферментов, появляется способность проглатывать более густую пищу. Данный возрастной период считается безопасным для начала введения здоровым детям прикорма, а в 3–6 месяцев к хорошо усваиваемым продуктам развивается толерантность (из докладов проф. Т.Э. Боровик) (Турти Т.В. и др., 2012).

Главной задачей организма ребенка грудного возраста является адаптация к новым условиям существования. Особенно важно становление и правильное функционирование микробиоты как органа, регулирующего взаимоотношения между организмом и окружающей средой, обеспечивая гомеостаз макроорганизма (Бондаренко В.М., Рябиченко Е.В., 2010; Morison J.E., 2007; Lee Y.K., Mazmanian S.K., 2010; Costello E.K. et al., 2012). В случаях их нарушений происходит развитие различных заболеваний желудочно-кишечного тракта, включая функциональные гастроинтестинальные расстройства (рис.1).



* - по литературным данным

Рисунок 1 – Концептуальная схема формирования функциональных гастроинтестинальных расстройств у детей первого года жизни.

Таким образом не только формирование структуры кишечной микробиоты на первом году жизни ребенка закладывает фундамент для его дальнейшего здоровья, но и его иммунная система, которая определяет развитие как сбалансированного иммунного ответа, так и развитие локализованных форм заболеваний с типичной клинической симптоматикой (Щербак В.А., Щербак Н.М., 2014).

1.3. Особенности микробиоты толстой кишки и взаимоотношений ассоциативных симбионтов у детей первого года жизни с функциональными гастроинтестинальными расстройствами

В онтогенезе в равных соотношениях с первого часа жизни участвуют аэробные и анаэробные микроорганизмы. Процесс нарастания анаэробной флоры идет параллельно с ростом оппортунистических микроорганизмов, минуя «стадию трансформации». Согласно данным ряда авторов в 92% случаев оппортунистические микроорганизмы в значимых количествах выделяют у здоровых детей в возрасте от месяца до года, в то время как у больных в тот же временной промежуток происходит резкое снижение частоты встречаемости представителей анаэробной части флоры – лакто- и бифидобактерий. Например, в возрасте от 1 до 11 месяцев частота выделения УПМ варьирует от 30,0% до 91,6% случаев.

Согласно исследованию Беловой И.В. и соавт. (2015), установлено, что суммарная численность сообществ симбиотических микроорганизмов у «здоровых» людей на один – два порядка выше, чем у больных. Возникновение патологического процесса можно объяснить не количеством выделяемых УПМ, а их измененными свойствами и подавлением лакто- и бифидобактерий (Белова И.В. и др., 2015). Выделяемые из кишечной микробиоты у детей первого года жизни лакто- и бифидобактерии, *E.coli*, *Enterococcus* spp., *S. epidremidis*, *S. aureus*, *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp., *Proteus* spp., *Enterobacter* spp. определяют как информационно значимые критерии, которые могут быть использованы в процедурах скрининга и диагностики дисбиотических состояний. Процесс нарастания лакто- и бифидобактерий идет параллельно с ростом УПМ (Patel M.P., Denning M.P., 2015).

Наиболее важным показателем для нормального функционирования ЖКТ является наличие кислотообразующих бактерий в кишечнике детей.

Снижение абсолютной концентрации пропионовой кислоты указывает на угнетение основных продуцентов кислоты (*Veilonella*, *Propionibacterium*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Clostridium* и др.) или избыток соответствующих субстратов (сахара, крахмал, пектины), вызванный недостаточностью переваривания в верхних отделах ЖКТ или ферментопатией. Пропионовая кислота регулирует микроциркуляцию в слизистой оболочке кишечной стенки, поддерживает трофические процессы, участвует в глюконеогенезе и синтезе биогенных аминов, блокирует адгезию патогенов. Основными представителями протеолитической микрофлоры являются: *Bacteroides*, *Proteus*, *Clostridium*, *E. coli*, *Enterobacter*. Данные микроорганизмы с участием протеаз и уреаз расщепляют пищевой белок до токсичных аминов, фенолов, индолов, аммиака и других продуктов, которые всасываются и метаболизируются в печени, превращаясь в нетоксичные соединения. Масляная кислота – энергосубстрат для эпителиоцитов толстой кишки. Показатели валериановой кислоты, продуцируемой клостридиями, пептококками и пептострептококками характеризуют протеолитическую активность микрофлоры, гипопроотеинемия, дефицит аминокислот в кишечнике, поступление в толстый кишечник белков, недостаточно подготовленных для микробной ферментации. Низкие показатели данного критерия отмечают в 100% случаев у детей с запорами (Комарова Е.В., 2010; Осадчук М.А., Балашов Д.В., Осадчук М.М., 2015). Появление УПМ, их гиперколонизацию регистрируют на фоне снижения маслянокислого и пропионовокислого брожения, а также на фоне повышения доли уксуснокислого ферментирования.

Таким образом, наиболее информативными в патогенезе нарушений ЖКТ у детей первого года жизни на фоне сниженной индигенной микробиоты являются грамотрицательные представители сем. Enterobacteriaceae (кишечная палочка, клебсиелла, протей, энтеробактер, цитробактер) и грампозитивные представители кокковой флоры – золотистый и эпидермальный стафилококки, энтерококки. Следует отметить, что

необходимо учитывать не только изменение свойств и состава микробиоты представителей условно-патогенной микрофлоры толстой кишки, но и метаболическую активность дианостически значимых УПМ, для предотвращения усугубления клинической картины ФГИР.

Бухариным О.В. с соавт. (2009, 2010, 2011) взаимодействие человека и микроорганизмов предложено рассматривать с позиции ассоциативного симбиоза (Бухарин О.В., Кремлева Е.А., Сгибнев А.В., 2012;). Симбиотические ассоциации – это форма существования микроорганизмов в экологических нишах. Это понятие включает в себя организм человека в качестве макропартнера, стабильный доминантный микросимбионт (нормальную, индигенную микробиоту) и минорные ассоциированные микросимбионты (условно-патогенные микроорганизмы) с разнонаправленными воздействиями, определяющими формирование, стабильность существования и продуктивность симбиоза в целом. Доминантная микрофлора оказывает мутуалистическое влияние на организм макросимбионта, включение же в этот симбиоз ассоциативных микросимбионтов может иметь разные последствия для макроорганизма. Это связано с тем, что межмикробные взаимодействия внутри ассоциаций – от синергизма до антагонизма – могут изменять биологические свойства микробов (Бондаренко В.М., 2013; Бухарин О.В., Кремлева Е.А., Сгибнев А.В., 2012).

Нарушение стабильности ассоциативного симбиоза вследствие качественных и количественных изменений доминантной и ассоциативной микрофлоры может привести к развитию дисбиотических изменений и формированию хронических персистирующих инфекционно-воспалительных заболеваний человека. По данным Ю.В. Захаровой, при изменении ассоциативного симбиоза в сторону аллохтонной микрофлоры за счет антагонизма и последующей интерференции доминантного микросимбионта происходит формирование совершенно новых типов микробных ассоциаций, крайне нежелательных для макроорганизма (Захарова Ю.В., 2010).

Самым многочисленным как по видовому разнообразию, так и в количественном отношении является ассоциативный симбиоз микробных сообществ толстой кишки. Популяции микроорганизмов, вступая в конкурентные или кооперативные взаимоотношения при заселении различных органов и тканей, формируют его специфический микросимбиоз (Габидуллин З.Г., Ахтариева А.А., 2006; Backhed F. et al., 2015). В микробных сообществах, относящихся к нормальной микрофлоре человека, эволюционно сформировались межклеточные кооперации. Эти межклеточные взаимоотношения образуют систему трофических и энергетических взаимосвязей внутри кишечной микрофлоры. Практически ни один биосубстрат, находящийся в распоряжении того или иного микробного эпитопа, не используется только в интересах одной популяции микроорганизмов (Гриневич В.Б., Захаренко С.М., Осипов Г.А., 2008).

До настоящего времени дискутируется вопрос о роли отдельных видов УПМ в формировании нормальной микрофлоры человека, участии их в этиологии и патогенезе ряда заболеваний (Шендеров Б.А. и др., 2016). В частности, нуждаются в углублении и детализации научные исследования по роли отдельных УПМ, а также их ассоциаций, наиболее часто формирующих дисбиоз (Стоян М.В., 2016). Способность к продукции токсинов является одной из основных характеристик, вызывающих поражение пищеварительного тракта, при котором ведущее место занимают не УПМ, а представители индигенной микрофлоры, такие как кишечная палочка. Под воздействием различных факторов данный вид микроорганизма изменяет свои свойства на патогенные – появляются аномальные, измененные свойства – гемолитическая и слабоферментативная активность (Иванова Е.И., 2014).

Изучение особенностей межмикробных взаимодействий в ассоциациях бактерий определенного биотопа, включающее не только оценку модификации роста и размножения симбионтов, но и изменение уровня экспрессии факторов их патогенности и персистенции, может позволить

получить новые знания по механизму формирования микросимбиоценозов при разных формах инфекционного процесса, предложить критерии диагностики нормо- и патоценоза, открывает перспективы биорегуляции персистентного потенциала микроорганизмов (Бухарин О.В., 2009). Поражение кишечника при сочетанных инфекциях в основном связано с токсинами, которые считаются основным фактором патогенности, вызывающих пищевые отравления и энтероколиты у детей грудного возраста (Кунилова Е.С. и др., 2012; Николаева И.В., Купчихина Л.А., 2013). Наиболее существенными для изменения патогенности УПМ являются генетические рекомбинации, которые определяют геномную пластичность бактерий, реализуемую через несколько конкретных механизмов, связанных, в частности, с «островами» и «островками» патогенности (Бурганова Р.Ф., Потатуркина-Нестерова Н.И., Немова И.С., 2011). Именно интеграция, стабилизация и экспрессия генов вирулентности лежат в основе формирования новых патогенных свойств бактерии (Егорова С.А., Макарова М.А., Кафтырева Л.А., 2011; Николаева И.В., 2013).

Таким образом, организм человека обеспечивается четко организованной работой ферментов, кодируемых геномами всех симбиотических микроорганизмов (Вахитов Т.Я., Ситкин С.И., 2014). Ключевая роль в формировании ФГИР у детей первого года жизни принадлежит *E. coli* с аномальными свойствами, как одного из важнейших представителей индигенной микробиоты, и бактериям рода *Klebsiella*, как наиболее часто встречающихся бактериальных агентов кишечной микробиоты. В связи с этим, для получения более полных данных о характере взаимоотношений необходимо исследовать ассоциативную структуру микробиоты толстой кишки у детей первого года жизни, что позволит патогенетически обосновать принципы коррекции нарушений ее состава.

1.4. Принципы и методы лечения нарушений микробиоты толстой кишки у детей первого года жизни с функциональными гастроинтестинальными расстройствами

Исходя из особенностей формирования и функционирования микробно-тканевого комплекса, патогенеза дисбиотических состояний основными принципами их коррекции в настоящее время являются: адекватное питание; восстановление естественных процессов полостного и пристеночного пищеварения; коррекция моторно-эвакуаторных нарушений ЖКТ; коррекция секреторных расстройств (желудочной, панкреатической и тонкокишечной секреции, желчеотделения); собственно воздействие на кишечный микробиоценоз: пребиотики; пробиотики; симбиотики; синбиотики; антимикробные средства, бактериофаги. Про- и пребиотики, а также сим- и синбиотики направлены на восстановление индигенной микробиоты кишечника у детей (Кафарская Л.И. и др., 2011; Казначеева Л.Ф., Ишкова Н.С., Казначеев К.С., 2012; Дудникова Э.В., Кобзева Е.С., Приходская Е.С., 2013; Кешишян Е.С., Бердникова Е.К., 2013; Сахарова Е.С., 2015; Смирнова Г.И., Манкуте Г.Р., 2015; Bernaola A.G. et al., 2010; Johnston V.C., Goldenberg J.Z., Vandvik P.O., 2011).

Антимикробные средства, а также лечебные бактериофаги рассматриваются всегда в аспекте «эрадикационной терапии» и находят достаточно широкое применение в повседневной практике (Гриневич В.Б., Захаренко С.М., Осипов Г.А., 2008; Дьяченко П.А., 2012). Низкая эффективность эмпирического использования антибиотических препаратов (АБП) сочетается с побочными явлениями или нежелательными реакциями в виде снижения иммунитета, подавления нормальной микробиоты кишечника и последующим формированием дисбактериозов (Барбоса Т.М., Леви С.Б., 2001; Бегиашвили Л.В., 2010). Одной из основных причин является высокий рост устойчивости микроорганизмов к антибиотикам. Главную роль в этом процессе играет неправильное и необоснованное применение антибиотиков,

что приводит к появлению устойчивых штаммов микроорганизмов, обладающих селективными преимуществами, высокой устойчивостью к неблагоприятным факторам окружающей среды (ультрафиолетовое облучение, действие дезинфектантов). Выбор рациональной АБТ должен основываться на результатах антибиотикочувствительности УПМ (Beaugerie L. et al., 2003; Novak F.R. et al., 2005). АБТ приводит к нарушению состава и свойств микроорганизмов, заселяющих кишечный биотоп, снижению его колонизационной резистентности, активации условно-патогенной и потенциально патогенной микробиоты, что приводит к развитию бактериальной инфекции с последующим формированием дисбиозов (Анастасевич Л.А., 2008; Allerberger F., Lechner A., 2008; Kaibni M.H. et al., 2009). Выделение возбудителя в этиологически значимой концентрации и определение его чувствительности к АБП позволяют проводить целенаправленное и эффективное лечение (Dyachenko A.G., 2012).

В отношении лечения клебсиеллеза разработан особый отраслевой стандарт терапии (Отраслевой стандарт, 2003). Его необходимо придерживаться в назначении терапии клебсиеллеза: препараты выбора – аминогликозиды и β -лактамовые антибиотики широкого спектра действия (Копанев Ю.А., Соколов А.Л., 2008). Другие группы АБП, активные в отношении бактерий рода *Klebsiella* в детской практике применимы мало, так как имеют высокую токсичность и многие побочные действия.

Таким образом, большое значение для решения проблемы антибиотикорезистентности имеет мониторинг и сбор информации о назначении антибиотиков. Проведение микробиологической диагностики и раннее предоставление результатов с идентификацией выделенного возбудителя и его чувствительностью к АБП являются основными факторами, определяющими рациональный выбор и назначение адекватной АБТ.

1.4.1. Бактериофагия как принцип патогенетически обоснованной коррекции нарушений микробиоты толстой кишки у детей первого года жизни с функциональными гастроинтестинальными расстройствами

Борьба с любым заболеванием зависит от своевременного установления этиологии болезни. Одним из таких методов является фагодиагностика, осуществление которой не требует дополнительных затрат на оборудование и реактивов (Красильников И.В. и др., 2011; Бондаренко В.М., 2013; Костюкевич О.И., 2015). В последнее время значительно возрос интерес к бактериофагам, как альтернативным методам воздействия на бактерий, которые действуют только против конкретных возбудителей (Власова А.В. и др., 2013). К ним относят препараты - бактериофаг *Klebsiella pneumoniae*, бактериофаг поливалентный клебсиеллёзный, пиобактериофаг комплексный (секстафаг). Эти препараты направлены на избирательное поглощение и уничтожение клебсиелл, в отношении других микробов они неактивны. Одно из важных преимуществ бактериофагов – их высокая специфичность. В то время как антибиотики подавляют бактерии многих видов – не только патогенную, но и нормальную микробиоту, бактериофаги действуют только против возбудителей определенных родовых групп. В нашей стране бактериофаги разрешены для использования и активно применяются в различных областях медицины (Красильников И.В. и др., 2011; Wagner P.L., Waldor M.K., 2002). Они не токсичны, не имеют противопоказаний к применению, могут быть использованы в сочетании с любыми другими лекарственными препаратами, в том числе с АБП. Фаги назначают беременным, кормящим матерям и детям любого возраста, включая недоношенных новорожденных.

Основным условием успешного применения указанных лекарственных средств является чувствительность выделенной культуры к соответствующему бактериофагу. Их обычно применяют с целью подавления роста бактерий рода *Klebsiella* на фоне эпидемиологической ситуации,

особенно в условиях медицинского или закрытого учреждения, неблагоприятного анамнеза развития ребенка и склонности к кишечным инфекциям. Более того, бактериофаги могут быть использованы не только для лечения, но и для профилактики инфекционных заболеваний (Кюттер Э., 2001; Красильников И.В. и др., 2011; Kutateladze M., Adamia R., 2010).

По мнению исследователей (Красильников И.В. и др., 2011), при увеличении плотности популяции *Klebsiella* необходима элиминирующая терапия. Применение для этой цели антибиотиков, особенно в детской практике неоправданно, ввиду подавления нормальной микробиоты и других побочных эффектов. Использование для элиминации условного патогена бактериофагов, которые, обладая высокой специфичностью, не подавляют нормальную микробиоту и не нарушают естественный баланс внутренней среды организма, явилось бы одним из путей решения этой проблемы (Щербенков И.М., 2013).

Таким образом, показано, что наиболее эффективным и патогенетически обоснованным в отношении основного условно-патогенного бактериального агента микробиоценоза толстой кишки у детей первого года жизни с ФГИР – бактерий рода *Klebsiella*, является применение специфических бактериофагов, поскольку применение АБП нежелательно в условиях еще развивающегося макроорганизма ребенка. Для коррекции и восстановления качественного и количественного видового состава индигенной микробиоты кишечника у детей необходимо использовать комплексные препараты на основе культур микроорганизмов и энтеросорбентов.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы исследования

Объектами исследования были дети в различные периоды первого года жизни (n=1159): 447 человек в возрасте от рождения до трех месяцев (38,6%); 241 ребенок в возрасте от трех до шести месяцев (20,8%) и 471 ребенок в возрасте от шести до двенадцати месяцев (40,6%), проходивших обследование и лечение в гастроэнтерологическом отделении (заведующая Савелькаева М.В.) клиники ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (г. Иркутск) (главный врач, д.м.н. Бугун О.В.).

В работе с исследуемыми лицами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциацией (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, в редакции Бразилия, октябрь 2013) и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (г. Иркутск).

Критерии включения – дети с ФГИР (согласно МКБ-10, Римским критериям III (2006 г.), IV (2016 г.)), включающим абдоминальный синдром: расстройства дефекации (функциональная диарея и запоры), колики, срыгивания, дисхезия, синдром руминации и синдром циклической рвоты, продолжающихся в течение не менее двенадцати недель за последние двенадцать месяцев наблюдения (Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем: МКБ-10, 2003; Рабочий протокол диагностики и лечения функциональных заболеваний органов пищеварения у детей, 2010).

Критерии исключения – дети, имеющие органические заболевания ЖКТ; перенесшие инфекции различной локализации; принимавшие антибактериальные, пробиотические препараты и лечебные бактериофаги в предшествующие три месяца до обследования; дети, находящиеся на искусственном вскармливании.

Клиническая характеристика ЖКТ была представлена следующими симптомами: «неустойчивый» стул в виде чередующихся проявлений диареи и запоров наблюдался у половины детей (50,0% случаев), стул с примесью пигментированной слизи, чаще зеленого и желто-зеленого цвета встречался у 234 детей (20,2% случаев). Колики отмечали у 104 детей (9,0% случаев) и сопровождалась резким криком у ребенка, чаще в вечернее и ночное время, прижиманием ножек к животу, покраснением лица и в части случаев повышением температуры. Вздутие кишечника и повышенное газообразование часто сопровождали колики и наблюдались у 314 детей (27,1% случаев). Особое внимание обращалось на наличие рвоты, обильных срыгиваний. Так, срыгивание после кормления в объеме более 1 чайной ложки (5 мл) и повторяющееся до 5–8 раз в день встречалось у четверти наблюдаемых младенцев – 265 детей (22,9% случаев) (табл. 1).

Таблица 1 – Клиническая характеристика у детей первого года жизни с функциональными гастроинтестинальными расстройствами

Симптомы	Дети (n=1159)	
	Частота выявления симптома	
	абс	%
«Неустойчивый» стул	580	50,0
Стул с примесью пигментированной слизи	234	20,2
Боли в животе, колики	104	9,0
Вздутие кишечника и повышенное газообразование	314	27,1
Срыгивания	265	22,9

Из всех обследованных (n=1159) 629 детей – 54,3% находились на грудном вскармливании и 530 детей – 45,7% – на смешанном. Из них в возрасте от рождения до трех месяцев на грудном вскармливании находилось 447 детей (38,6%), в возрасте от трех до шести месяцев – 130 детей (11,2%) и в возрасте от шести до 12 месяцев – 52 ребенка (4,5%), а на смешанном вскармливании – в возрасте до трех месяцев – 111 детей (9,6%) и от шести до 12 месяцев – 419 детей (36,1%) (табл. 2).

Таблица 2 – Виды вскармливания у детей первого года жизни с функциональными гастроинтестинальными расстройствами

Вид вскармливания	Дети (n=1159)	
	Частота встречаемости	
	абс	%
Грудное	629	54,3±1,46
Смешанное	530	45,7±1,46

Лабораторные исследования 1159 копрологических проб, полученных у обследованных детей с ФГИР в период с 2012 по 2015 гг., проводили в лаборатории микробиома и микроэкологии (заведующая лабораторией, к.б.н. Иванова Е.И.). Исследования микробиоты толстой кишки проводили по стандартной методике, оценку результатов – в соответствии с отраслевым стандартом «Дисбактериоз кишечника. Протокол ведения больных» [Отраслевой стандарт, 2003]. Микробиологический мониторинг включал в себя бактериологическое исследование биологического материала, выделенного у детей первого года жизни. Поскольку различия бактериальной микрофлоры толстой кишки, выделенной как у мальчиков (n=689), так и у девочек (n=490) не были статистически значимы ($p>0,05$), что позволило объединить их в одну группу (n=1159) (рис. 2).



Рисунок 2 – Дизайн исследования

Для исследования у детей первого года жизни с ФГИР были выделены два вида бактерий семейства Enterobacteriaceae – *Klebsiella oxytoca* и *Klebsiella pneumoniae*. По культурально-ферментативным свойствам исследуемые штаммы *Klebsiella* spp. являлись типичными представителями факультативной микрофлоры толстой кишки. Выделенные микроорганизмы

идентифицировали по морфологическим, тинкториальным, культуральным и биохимическим свойствам (Определитель Берджи, 2007) с использованием АРІ-систем «bioMérieux» (Франция).

Объем выполненных исследований представлен в таблице 3.

Таблица 3 – Объем выполненных исследований

1. Оценка состояния микробиоты кишечника у детей первого года жизни	Количество образцов
Оценка дисбиозов кишечника (дети с функциональными гастроинтестинальными расстройствами)	1159
2. Анализ фагочувствительности штаммов бактерий рода <i>Klebsiella</i>, выделенных у детей первого года жизни	Количество образцов
Штаммы <i>Klebsiella</i> spp., используемые для определения чувствительности к бактериофагам	675
Итого исследований: 1834	

2.2. Методы исследования

Бактериологическое исследование

Бактериологическое исследование качественного и количественного состава содержимого кишечника проводили согласно Отраслевому стандарту «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» 91500.11.0004-2003 (Отраслевой стандарт, 2003).

Копроматериал собирали в стерильные одноразовые контейнеры с плотно закрывающейся крышкой (не менее 1 г) и доставляли в лабораторию в течение 2-х часов с момента дефекации. Посев на питательные среды осуществляли из десятикратных разведений для последующего бактериологического исследования (табл. 4).

Таблица 4 – Схема посевов копроматериала на селективные питательные среды

Питательные среды	Микроорганизмы, выделяемые со среды	Разведения
5% кровяной агар*	гемолизирующие формы бактерий	10^{-3} , 10^{-5}
Агар Эндо*	энтеробактерии	10^{-3} , 10^{-5} , 10^{-7}
Желточно-солевой агар	стафилококки	10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-7}
Агар Сабуро*	дрожжеподобные грибы	10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-6}
Среда Симмонса*	энтеробактерии	10^{-3} , 10^{-5}
Висмут-сульфит агар*	сальмонеллы	10^{-3}
Среда Плоскирева	патогенные и условно-патогенные энтеробактерии	10^{-3} , 10^{-5} , 10^{-7}
Среда Левина	патогенные и условно-патогенные энтеробактерии	10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6}
Среда ЭДДС*	энтерококки	10^{-3} , 10^{-5} , 10^{-7}
Тиогликолевая среда	бифидобактерии	10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10}
МРС-1*	лактобактерии	10^{-5} , 10^{-7}
Среда Вильсон-Блера**	клостридии	10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7}

Примечание: * – посев по 0,01 мл суспензии; ** – посев по 1,0 мл суспензии.

Посевы на всех средах инкубировали в термостате в течение 24-48 ч при 37°C с последующим изучением культуральных, морфологических, тинкториальных свойств выросших колоний. Идентификацию выделенных культур семейства Enterobacteriaceae проводили с использованием общепринятых схем идентификации, как классическим методом, так и с использованием коммерческих тест-систем для биохимической идентификации энтеробактерий: СИБ, НИИЭМ, г. Н. Новгород; ENTEROtest 16 и ENTEROtest 24, PLIVA-Lachema, Чехия; сред Гиса, Россия. Инкубация посевов на плотных средах для выделения лакто- и бифидобактерий осуществлялась в микроанаэроостате с использованием газогенерирующих пакетов «Анаэрогаз». Идентификацию дрожжеподобных грибов осуществляли с использованием хромогенного агара HiCrome Candida Agar (HiCrome Candida Differential Agar) (HiMedia Laboratories, Индия).

Для идентификации неферментирующих бактерий использовали стандартную схему (Методики клинических лабораторных исследований: под ред. В.В. Меньшикова, 2009). В результате бактериологического исследования идентифицировали виды микроорганизмов кишечного содержимого и определяли количество клеток микроорганизмов. С этой целью после ночной инкубации производили подсчет колоний аэробных бактерий на плотных питательных средах с учетом степени разведения фекалий и величины посевной дозы по формуле:

$$M = N \times 10^{n+1}, \quad (1)$$

где M – количество микроорганизмов в 1 г фекалий;

N – количество выросших на чашке колоний;

n – степень разведения фекалий.

Методика определения степени чувствительности штаммов бактерий рода *Klebsiella* к бактериофагу

Было получено 675 штаммов *Klebsiella* spp. (58,2±2,14%), из них 356 штамма принадлежали виду *K. oxytoca* (53,0±1,92%) и 319 к виду *K.*

pneumoniae ($47,0 \pm 1,92\%$). Все штаммы выделенных бактерий были протестированы на бактериофаги – поливалентный, пневмонийный, секстафаг. Специфичными бактериофагами к штаммам бактерий *K. oxytoca* были бактериофаги поливалентный и секста, а к штаммам *K. pneumoniae* – бактериофаг клебсиелл пневмоний и секста.

Определение чувствительности культур бактерий рода *Klebsiella* к бактериофагам заключается в предварительном накоплении биомассы клеток *Klebsiella* spp. на питательном агаре и последующем выявлении зон лизиса на газоне с микроорганизмами. Для этого на среду Мюллера-Хинтона в чашки Петри петлей газоном наносили 20–24-х часовую чистую культуру бактерий. Затем на засеянный агар наносили каплю бактериофага. В одной чашке испытывали одновременно 5–6 культур. При выполнении серии проб ставили общий контроль для всей серии. После постановки пробы чашки помещали в термостат при температуре 37°C и выдерживали 18-24 ч.

Просмотр посевов осуществляли в проходящем свете. Положительную реакцию (наличие лизиса) определяли по появлению на месте нанесения фага четко очерченного сливного лизиса (4+), полусливного (3+) или сосчитываемого числа отдельных негативных колоний, отчетливо видимых невооруженным глазом (2+ – скопление в месте нанесения препарата более 50 негативных колоний, что свидетельствовало об умеренном содержании фаговых частиц в образце; 1+ – единичное присутствие фага в образце от 10 до 50 колоний фага) (рис. 3).

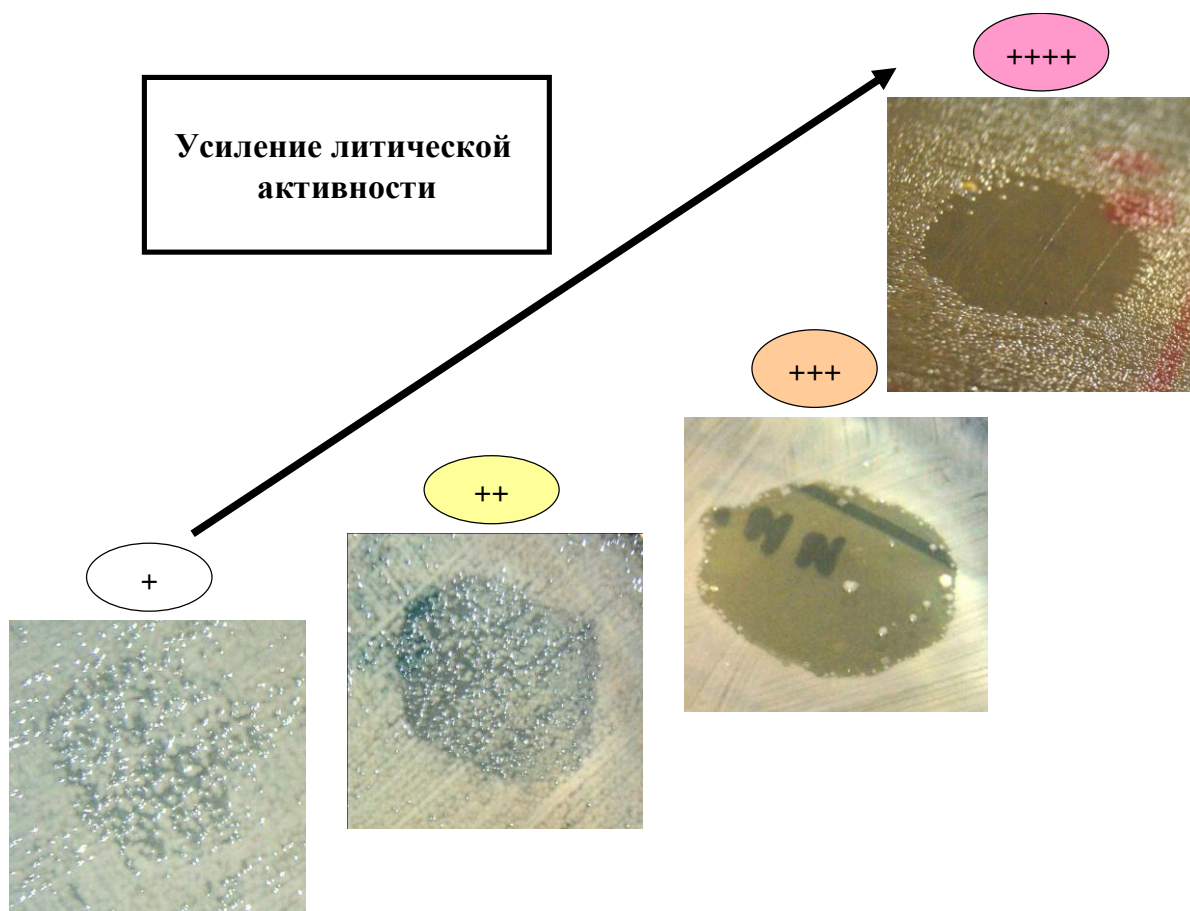


Рисунок 3 – Учет литической активности бактериофага на культуру *Klebsiella* spp.

При отсутствии лизиса в местах нанесения фага наблюдали сплошной рост бактериальной культуры (Асланов Б.И., Зуева Л.П., Кафтырева Л.А., 2014). Для интерпретации результатов использовали показатели: R – устойчив (0 / +), i – промежуточная чувствительность (++) , S – чувствителен (+++ / ++++).

Фагочувствительность определялась к коммерческим препаратам бактериофагов – очищенному фагу клебсиелл пневмонии, очищенному бактериофагу клебсиелл поливалентному и пиобактериофагу поливалентному (секстафаг) (Отраслевой стандарт, 2003) производства НПО «Микроген» г. Пермь. Для проверки качества проведенных исследований проводили титрование по Аппельману.

Коэффициент Жаккара как методика установления совместимости видов и их взаимоотношений

Для характеристики взаимоотношений видов в микробиоценозе толстой кишки детей первого года жизни с ФГИР проводили расчеты по парным ассоциациям видов бактерий (Розенберг Г.С., 2012) индигенной и условно-патогенной микробиоты, используя коэффициент сходства Жаккара (Гайдышев И.П., 2001). В рамках конкретного микробиоценоза взаимоотношения между двумя видами оценивали, при рассмотрении отношения показателей P к C . P считалось как вероятное число выборок, в котором 2 случайно попавших вида живут совместно, равное av/N

$$P = av/N \quad (1),$$

где C – число выборок, содержащих оба вида;

a – число выборок с видом A ,

v – число выборок с видом B ,

N – общее число выборок.

При этом, считается, что если $P > C$ (или $P > 1$), то оба вида исключают друг друга; если $P = C$ (или $P = 1$), то виды могут распределяться случайно; если $P < C$ (или $P < 1$), то оба вида склонны к совместному обитанию. По результатам расчетов формулы (1) не определяется степень (уровень) совместимости или расхождения между парами видов. Нами рассчитана формула

$$K = P/C \quad (2),$$

где показатель K определяет степень (уровень) совместимости или несовместимости пар видов в микробиоценозе толстого кишечника детей, а количественные значения P и C получают из выше приведенных расчетов формулы (1). Чем выше значение K от 1, тем больше степень несовместимости пар видов.

2.2.1. Статистические методы

Статистическая обработка данных произведена при помощи лицензионных прикладных программ «MS Office Excel 2007 for Windows 7», «BioStat» v.5.0.1. 2008 (правообладатель лицензии – ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ) (Гланц С., 1998).

Вычисляли основные показатели параметрических методов вариационной статистики, основанные на нормальном распределении (Савилов Е.Д. и др., 2011):

- средняя арифметическая, стандартное отклонение.

Вычисляли основные показатели непараметрических методов:

- z критерий (проверка гипотезы о равенстве относительных частот генеральной совокупности по независимым выборкам, при $p \leq 0,05$ различия считались статистически значимыми) рассчитывали для оценки частоты встречаемости УПМ в индигенной и условно-патогенной микробиоте;

- критерий χ^2 применяли для проверки гипотезы об отсутствии различий трех применяемых препаратов бактериофагов в различные периоды первого года жизни детей с ФГИР (при $p \leq 0,05$ различия считались статистически значимыми).

ГЛАВА 3

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Изменение состояния индигенной микробиоты толстой кишки у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами с учетом вида вскармливания

Для детей различных периодов с ФГИР характерно представительство индигенной микробиоты как в пределах дефицитных показателей, так и сверхнормативных. Ассоциативная структура вариантов *E. coli* с измененными свойствами, выделенных из кишечного биотопа детей трех периодов первого года жизни была представлена нормальной (полноценной) кишечной палочкой (НКП), *E. coli* с гемолитической активностью (КП с ГА) и *E. coli* со сниженной ферментативной активностью (КП с СФА).

При оценке изменений количественных и качественных показателей бактерий, установлено, что частота встречаемости представителей индигенной микробиоты у детей с ФГИР, находящихся на грудном вскармливании, с увеличением возраста уменьшалась: дефицит бифидобактерий – от 80,1 до 67,3% случаев; сверхнормативное содержание лактобактерий (от 92,0 до 65,4% случаев), дефицитное содержание НКП (от 40,0 до 30,8% случаев), КП с СФА (от 32,9 до 23,1% случаев). Обратная ситуация наблюдалась у КП с ГА (от 12,3 до 38,5% случаев), а также у *Enterococcus* spp. – до 13,5% случаев. Представленные данные рассчитаны при помощи z критерия (табл. 5).

Таблица 5 – Характеристика показателей индигенной микробиоты у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами, находящихся на грудном вскармливании, %

Периоды первого года жизни детей	<i>Bifidobacterium</i> spp. (д)	<i>Lactobacterium</i> spp. (свн)	КП с ГА (свн)	НКП (д)	КП с СФА (свн)	<i>Enterococcus</i> spp. (свн)
От рождения до трех месяцев (n=447)	80,1± 1,88	92,4± 1,25	12,3± 1,55	40,0± 2,3	32,9± 2,22	11,9± 1,53
3–6 месяцев (n=130)	73,1± 3,88	91,5± 2,44 ² p=0,0001	15,4± 3,17 ² p=0,001	30,8± 4,04	27,7± 3,92	8,5± 2,44
6–12 месяцев (n=52)	67,3± 6,5 ³ p=0,05	65,4± 6,5 ³ p=0,0001	38,5± 6,74 ³ p=0,0001	42,3± 6,85	23,1± 5,84	13,5± 4,73

Примечание: д – дефицитные показатели, свн – сверхнормативные показатели (согласно Отраслевому стандарту, 2003); ¹ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей от рождения до трех месяцев по сравнению с периодом 3-6 месяцев; ² – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 3-6 месяцев по сравнению с периодом 6-12 месяцев; ³ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 6-12 месяцев по сравнению с периодом до 3 месяцев.

У детей с ФГИР, находящихся на смешанном вскармливании, в возрасте 3-6 месяцев с увеличением возраста отмечено повышение частоты встречаемости только у лактобактерий – до 98,1% случаев. Для остальных представителей индигенной микробиоты характерно снижение частоты встречаемости – бифидобактерий (до 61,1%), КП с ГА (до 8,8%), НКП (дефицит) (до 7,2%), а также КП с СФА (до 9,5%) и *Enterococcus* spp. (до 10,7% случаев).

У детей с ФГИР, находящихся на смешанном вскармливании были выявлены статистически значимые различия не только между периодами 3–6 и 6–12 месяцев, но и при сравнении с группами детей, находящихся на грудном вскармливании (табл. 6).

Таблица 6 – Характеристика показателей индигенной микробиоты у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами, находящихся на смешанном вскармливании, %

Периоды первого года жизни детей	<i>Bifidobacterium</i> spp. (д)	<i>Lactobacterium</i> spp. (свн)	КП с ГА (свн)	НКП (д)	КП с СФА (свн)	<i>Enterococcus</i> spp. (свн)
От рождения до трех месяцев (n=0)	0	0	0	0	0	0
3–6 месяцев (n=111)	89,2± 2,94 ¹ p=0,0001/ ₃ p=0,003	92,8± 2,45 ¹ p=0,010	18,9± 3,71 ¹ p=0,004	52,3± 4,74 ¹ p=0,0001/ ₂ p= 0,025/ ₃ p=0,0001	45,0± 4,72 ¹ p=0,0001/ ₂ p=0,023/ ₃ p=0,008	12,6± 3,14
6–12 месяцев (n=419)	61,1± 2,38 ⁵ p=0,0001	98,1± 0,66 ⁴ p=0,0001/ ₅ p=0,0001	8,8± 1,38 ⁴ p=0,0001	7,2± 1,26 ⁴ p=0,0001/ ₅ p=0,0001	9,5± 1,43 ⁴ p=0,007/ ₅ p=0,0001	10,7± 1,51

Примечание: д – дефицитные показатели, свн – сверхнормативные показатели (согласно Отраслевому стандарту, 2003); ¹ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 3–6 месяцев по сравнению с периодом 6–12 месяцев; ² – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей от рождения до трех месяцев, находящихся на грудном вскармливании по сравнению с периодом 3–6 месяцев у детей, находящихся на смешанном вскармливании; ³ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 3–6 месяцев, находящихся на грудном вскармливании по сравнению с периодом 3–6 месяцев у детей, находящихся на смешанном вскармливании; ⁴ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 6–12 месяцев, находящихся на смешанном вскармливании по сравнению с периодом 6–12 месяцев у детей, находящихся на грудном вскармливании; ⁵ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 6–12 месяцев, находящихся на

смешанном вскармливании по сравнению с периодом до трех месяцев у детей, находящихся на грудном вскармливании.

Полученные данные показывают, что дисбаланс индигенной микробиоты стабилизируется к концу первого года жизни у детей с ФГИР. Таким образом, для каждой возрастной группы первого года жизни у детей с ФГИР характерно наличие дефицитных состояний бифидобактерий, сверхнормативного количества лактобактерий, а также появление кишечных палочек с разным спектром свойств.

У детей, находящихся на грудном вскармливании – снижается концентрация бифидо- и лактофлоры, КП с СФА. Однако увеличивается частота высеваемости КП с ГА, НКП при дефиците и энтерококка. У детей с ФГИР, находящихся на смешанном вскармливании увеличится частота встречаемости сверхнормативных показателей *Lactobacterium spp*, при этом снижается частота встречаемости других представителей индигенной микробиоты, в частности *E. coli* с измененными свойствами (КП с ГА, КП с СФА). Данный факт свидетельствует о низкой способности бифидобактерий воздействовать на патогенную микрофлору, вследствие чего происходит активизация лактофлоры.

При оценке показателей сочетаний различных вариантов *E. coli* с измененными свойствами в кишечной микробиоте детей с ФГИР, находящихся на грудном вскармливании, отмечено, что ассоциативная структура эшерихий была представлена двухкомпонентными ассоциациями представителей – КП с ГА, КП с СФА, НКП как в дефицитном содержании, так и в пределах нормы. С увеличением возраста у детей до 6–12 месяцев частота встречаемости данных ассоциации статистически значимо возрастала – КП с ГА + НКП (до 19,2%), КП с ГА + НКП (дефицит) (до 25,0%), НКП (дефицит) + КП с СФА (до 59,6%).

Представленные данные рассчитаны при помощи z критерия (табл. 7).

Таблица 7 – Частота встречаемости ассоциаций микроорганизмов индигенной микробиоты у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами, находящихся на грудном вскармливании, %

Периоды первого года жизни детей	КП с ГА(свн) +НКП(н)	КП с ГА(свн) + НКП (д)	НКП (д) + СФА(свн)
От рождения до трех месяцев (n=447)	6,1±1,13	10,8±1,46 ¹ p=0,0001	27,1±2,1
3-6 месяцев (n=130)	10,8±2,72	13,8±3,02 ² p=0,040	20,0±3,5 ² p=0,204
6-12 месяцев (n=52)	19,2±5,46 ³ p=0,002	25,0±6,0 ³ p=0,0001	59,6±6,8 ³ p=0,0001

Примечание: д – дефицитные показатели, свн – сверхнормативные показатели (согласно ОСТ 2003); ¹ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей от рождения до трех месяцев по сравнению с периодом 3–6 месяцев; ² – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 3–6 месяцев по сравнению с периодом 6–12 месяцев; ³ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 6–12 месяцев по сравнению с периодом до 3 месяцев.

У детей с ФГИР, находящихся на смешанном вскармливании, к концу первого года жизни доля ассоциаций представленных микроорганизмов статистически значимо снижалась между периодами 3–6 и 6–12 месяцев в два раза, а также имела статистически значимые различия по сравнению с группой детей, находящихся на грудном вскармливании ($p \leq 0,05$) (табл. 8).

Таблица 8 – Частота встречаемости ассоциаций микроорганизмов индигенной микробиоты у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами, находящихся на смешанном вскармливании, %

Периоды первого года жизни детей	КП с ГА(свн) +НКП(н)	КП с ГА(свн) + НКП (д)	НКП (д) + СФА(свн)
От рождения до трех месяцев (n=0)	0	0	0
3–6 месяцев (n=111)	8,1±2,58	13,5±3,24 ¹ p=0,0001/ ₂	55,8±4,71 ¹ p=0,0001/ ₂

		p=0,0001	p=0,0001/ ₃
6–12 месяцев (n=419)	5,0±1,06 ⁴ p=0,0001	1,9±0,67 ⁴ p=0,0001/ ₅ p=0,004	21,2±1,99 ⁴ p=0,0001/ ₅ p=0,008

Примечание: д – дефицитные показатели, свн – сверхнормативные показатели (согласно Отраслевому стандарту, 2003); ¹ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 3–6 месяцев по сравнению с периодом 6–12 месяцев; ² – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей от рождения до трех месяцев, находящихся на грудном вскармливании по сравнению с периодом 3–6 месяцев у детей, находящихся на смешанном вскармливании; ³ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 3–6 месяцев, находящихся на грудном вскармливании по сравнению с периодом 3–6 месяцев у детей, находящихся на смешанном вскармливании; ⁴ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 6–12 месяцев, находящихся на смешанном вскармливании по сравнению с периодом 6–12 месяцев у детей, находящихся на грудном вскармливании; ⁵ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 6–12 месяцев, находящихся на смешанном вскармливании по сравнению с периодом до трех месяцев у детей, находящихся на грудном вскармливании.

Показано, что для микробиоты толстой кишки характерно представительство ассоциаций *E. coli* с измененными свойствами, доминантами из которых являлась ассоциация микроорганизмов НКП (дефицит) + КП с СФА в обеих группах сравнения – 59,6% в возрасте 6–12 месяцев при грудном вскармливании, и 55,8% в возрасте 3–6 месяцев при смешанном. В первой группе частота встречаемости увеличивалась, а во второй уменьшалась. Полученные данные свидетельствуют о взаимовлиянии данных бактериальных агентов друг на друга, а также о формировании системы симбиотических связей, что позволяет угнетать представителей нормальной микробиоты и способствовать появлению комбинаций

микроорганизмов с аномальными свойствами у представителей индигенной микробиоты толстой кишки у детей с ФГИР.

Таким образом микробиота толстой кишки у детей с ФГИР при увеличении возраста от рождения до 3–6 месяцев характеризовалась значительными изменениями индигенной микрофлоры за счет замещения полноценных эшерихий и дефицитом бифидобактерий (до 80% случаев при грудном и смешанном вскармливании), в том числе и появлением двухкомпонентных ассоциаций аномальных кишечных палочек (ГА и СФА), что свидетельствует о выраженной кишечной дисфункции. Установлено, что для двух групп сравнения в период 3–6 месяцев происходит увеличение доли ассоциаций аномальных эшерихий, а к 6–12 месяцам полностью нивелируется.

3.2. Характер взаимоотношений между различными вариантами *E. coli* с измененными свойствами в микробиоте толстой кишки у детей первого года жизни и их роль в формировании функциональных гастроинтестинальных расстройств с учетом вида вскармливания

Общеизвестно, что кишечная палочка является представителем индигенной микробиоты толстого кишечника у человека и выполняет ряд полезных функций. Появление в микробиоте кишечника детей *E. coli* с ГА и СФА на фоне дефицитных показателей бифидо- и лактобактерий свидетельствует о дисмикросимбиотических нарушениях, что впоследствии приводит к формированию ФГИР. Поэтому исследование ассоциативной структуры КП с различными свойствами позволяет получить более полные данные о роли и характере взаимоотношений данных видов микроорганизмов в микробиоте кишечника детей с ФГИР в различные периоды первого года жизни.

Анализ характера взаимоотношений разных фенотипических вариантов НКП проведен на основании расчета коэффициента Жаккара.

Показано, что микроорганизмы индигенной микробиоты имели избирательное отношение к совместному вегетированию. Однако была выявлена закономерность – ассоциация микроорганизмов НКП (дефицит) + КП с СФА, выделенная из толстой кишки, в течение первого года жизни у детей с ФГИР, находящихся на грудном вскармливании, характеризовалась высокой способностью к образованию симбиотических связей ($K < 1$). Также как и КП с ГА (более 10%) + НКП (у детей в возрасте 3–6 и 6–12 месяцев при $K = 0,47$ и $1,07$ соответственно).

В ассоциации КП с ГА и дефицит НКП микроорганизмов исключали друг друга, при $K = 11,01$ и $K = 2,46$ соответственно в первом полугодии жизни детей (табл. 9).

Таблица 9 – Характеристика склонности вариантов *E. coli* с измененными свойствами к совместному обитанию в кишечной микробиоте у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами, находящихся на грудном вскармливании

Ассоциации микроорганизмов	Периоды											
	0–3 месяца (n=447)				3–6 месяца (n=130)				6–12 месяцев (n=52)			
	Р	С	К	Склонность к совместному обитанию	Р	С	К	Склонность к совместному обитанию	Р	С	К	Склонность к совместному обитанию
КП с ГА (более 10%) + НКП (дефицит)	22,02>	2	11,01	нет	36,92>	15	2,46	нет	-	-	-	-
НКП (дефицит) + КП с СФА (более 10%)	58,86<	121	0,49	да	11,07<	26	0,42	да	5,07<	31	0,16	да
КП с ГА (более 10%) + НКП	34,2>	24	1,43	нет	6,61<	14	0,47	да	10,76>	10	1,07	да

Таким образом, у детей с ФГИР, находящихся на грудном вскармливании, во всех периодах наблюдали высокий уровень совместимости пар НКП (дефицит) + КП с СФА (более 10%).

У детей с ФГИР, находящихся на смешанном вскармливании микроорганизмы комбинации НКП (дефицит) + КП с СФА были склонны к совместному вегетированию при $K=0,42$ (3–6 месяцев) и $K=0,03$ (6–12 месяцев). В ассоциации КП с ГА (более 10%) + НКП (дефицит) в кишечном биоценозе у детей в возрасте 3–6 месяцев, как и микроорганизмы пары КП с ГА (более 10%) + НКП в возрасте 3–6 и 6–12 месяцев, исключали друг друга, что свидетельствует о проявлении антагонистических взаимоотношений между микроорганизмами (табл. 10).

Таблица 10 – Характеристика склонности вариантов *E. coli* с измененными свойствами к совместному обитанию в кишечной микробиоте у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами, находящихся на смешанном вскармливании

Ассоциации микро-организмов	Периоды											
	0–3 месяца (n=0)				3–6 месяца (n=111)				6–12 месяцев (n=419)			
	Р	С	К	Склонность к совместному обитанию	Р	С	К	Склонность к совместному обитанию	Р	С	К	Склонность к совместному обитанию
КП с ГА (более 10%) + НКП (дефицит)	-	-	-	-	10,97>	3	3,65	нет	-	-	-	-
НКП (дефицит) + КП с СФА (более 10%)	-	-	-	-	26,12<	62	0,42	да	2,86<	89	0,03	да
КП с ГА (более 10%) + НКП	-	-	-	-	18,9>	9	2,1	нет	26,49>	21	1,26	нет

Таким образом, у детей с ФГИР, находящихся на смешанном вскармливании, только микроорганизмы ассоциации НКП (дефицит) + КП с СФА проявляли симбиотическую активность по отношению друг к другу.

Резюмируя вышеизложенное, следует отметить, что при увеличении возраста у детей с ФГИР, находящихся на грудном вскармливании, происходит изменение характера взаимоотношений у микроорганизмов индигенной биоты – от антагонистических (возраст от рождения до 3 месяцев) до симбиотических (второе полугодие первого года жизни у детей) в парных ассоциациях КП с ГА (более 10%) + НКП. Ассоциация КП с ГА (более 10%) + НКП (дефицит) характеризуется антагонистическими свойствами по отношению друг к другу в первом полугодии первого года жизни детей. Пара НКП (дефицит) + КП с СФА (более 10%) склонна к совместному вегетированию в кишечной микробиоте детей в течение первого года жизни, что свидетельствует о формировании симбиотических

связей не только у детей, находящихся на грудном, но и на смешанном вскармливании. Формирование новых свойств у НКП (ГА, СФА, дефицитные состояния НКП) свидетельствует об изменении функционального состояния ЖКТ у детей первого года жизни, связанного с формированием иммунитета ребенка, перехода к смешанному питанию и ряда других факторов, приводящих к формированию ФР.

Таким образом, получены важные данные об изменении характера взаимоотношений между различными вариантами *E. coli* с измененными свойствами во всех периодах первого года жизни детей. Установлено, что наибольшую способность к совместному существованию имели следующие варианты микроорганизмов – НКП при дефиците (в концентрации менее 10^7 КОЕ/г) и КП с СФА, что позволило сделать вывод об их симбиотической взаимосвязи по отношению друг к другу.

3.3. Изменение состояния условно-патогенной микробиоты толстой кишки у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами в зависимости от вида вскармливания

Как известно, УПМ при определенных условиях становятся патогенными, при этом происходит не только изменение количественных, но и качественных характеристик агрессивных для микробиоты кишечника бактериальных агентов, что в свою очередь может быть ассоциировано с развитием и усугублением ФР у детей первого года жизни.

При регистрации микроорганизмов условно-патогенной биоты установлено, что у детей в толстой кишке, находящихся на грудном вскармливании, преобладают следующие УПМ – *Klebsiella* spp. от 39,2 до 96,2% в возрасте 6–12 месяцев, *S. aureus* – от 38,5 до 50,1% случаев в возрасте до трех месяцев. В трех периодах первого года жизни из кишечного микробиоценоза детей в высокой концентрации выделяли клостридий – до 51,9% случаев, энтеробактер – до 9,4% случаев, цитробактер – до 15,4% случаев, грибки рода *Candida* – до 17,3%. С меньшей частотой регистрировали протеи (до 15,4%) и синегнойную палочку (до 5,8% случаев). Представленные данные рассчитаны при помощи z- критерия (табл. 11).

Таблица 11 – Характеристика условно-патогенных микроорганизмов у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами, находящихся на грудном вскармливании, %

Периоды первого года жизни детей	<i>Klebsiella</i> spp. (свн)	<i>S. aureus</i> (свн)	<i>Clostridium</i> spp. (свн)	<i>Candida</i> spp. (свн)	<i>Citrobacter</i> spp. (свн)	<i>Enterobacter</i> spp. (свн)	<i>Proteus</i> spp. (свн)	<i>P. aeruginosa</i> (свн)
От рождения до трех месяцев	58,4±2,33	50,1± 2,36 ¹ p=0,026	23,5± 2,0	10,5± 1,44	5,1± 1,04	9,4± 1,38	3,1± 0,81	0,2± 0,21

(n=447)								
3–6 месяцев (n=130)	39,2± 4,28	38,5± 4,26	15,4± 3,16 ² p=0,000 1	13,1± 2,96	2,3± 1,31 ² p=0,003	6,9± 2,22	1,5± 1,06 ² p=0,000 1	0,8± 0,78
6–12 месяцев (n=52)	96,2± 2,65 ³ p=0,0001	48,1± 6,92	51,9± 6,92 ³ p=0,000 1	17,3± 5,24	15,4± 5,0 ³ p=0,009	5,8± 3,24	15,4± 5,0	5,8± 3,24 ³ p=0,00 01

Примечание: д – дефицитные показатели, свн – сверхнормативные показатели (согласно Отраслевому стандарту, 2003); ¹ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей от рождения до трех месяцев по сравнению с периодом 3–6 месяцев; ² – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 3–6 месяцев по сравнению с периодом 6–12 месяцев; ³ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 6–12 месяцев по сравнению с периодом до 3 месяцев.

Таким образом, у детей в возрасте 3–6 месяцев происходило снижение доминантных представителей УПМ в кишечном биотопе почти в два раза (клебсиеллы, золотистый стафилококк, клостридии, дрожжеподобные грибы *Candida*), а к концу первого года жизни (6–12 месяцев) вновь регистрировали высокие показатели УПМ (более чем в два раза).

Для кишечной микробиоты у детей, находящихся как на смешанном вскармливании, так и на грудном, характерно снижение частоты встречаемости доминантных УПМ в два раза – клебсиелл (50,6%), золотистого стафилококка (38,9%) и клостридий (20,8%). Полученные результаты имеют статистически значимые отличия как при сравнении периодов первого года жизни, так и при сравнении по характеру питания детей с ФГИР ($p \leq 0,05$). Представленные данные рассчитаны при помощи z критерия (табл. 12).

Таблица 12 – Характеристика условно-патогенных микроорганизмов у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами, находящихся на смешанном вскармливании, %

Периоды первого года жизни детей	<i>Klebsiella</i> spp. (свн)	<i>S. aureus</i> (свн)	<i>Clostridium</i> spp. (свн)	<i>Candida</i> spp. (свн)	<i>Citrobacter</i> spp. (свн)	<i>Enterobacter</i> spp. (свн)	<i>Proteus</i> spp. (свн)	<i>P. aeruginosa</i> (свн)
От рождения до трех месяцев (n=0)	0	0	0	0	0	0	0	0
3–6 месяцев (n=111)	90,9± 2,72 ¹ p=0,0001/ ₂ p=0,0001/ ₃ p=0,0001	56,7± 4,7 ¹ p=0,001/ ₃ p=0,007	31,5± 4,4 ¹ p=0,024/ ₃ p=0,0001	9,0± 2,71 ¹ p=0,033	9,0± 2,71 ³ p=0,044	9,9± 2,83	9,9± 2,83 ² p=0,004/ ₃ p=0,009	0
6–12 месяцев (n=419)	50,6± 2,44 ⁴ p=0,0001/ ₅ p=0,025	38,9± 2,38 ⁵ p=0,001	20,8± 1,98	17,9± 1,87 ⁵ p=0,002	6,4± 1,19 ⁴ ₃ p=0,040	9,1± 1,4	7,4± 1,27 ⁵ p=0,007	1,2± 0,53

Примечание: д – дефицитные показатели, свн – сверхнормативные показатели (согласно Отраслевому стандарту, 2003); ¹ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 3–6 месяцев по сравнению с периодом 6–12 месяцев; ² – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей от рождения до трех месяцев, находящихся на грудном вскармливании по сравнению с периодом 3–6 месяцев у детей, находящихся на смешанном вскармливании; ³ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 3–6 месяцев, находящихся на грудном вскармливании по сравнению с периодом 3–6 месяцев у детей, находящихся на смешанном вскармливании; ⁴ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 6–12 месяцев, находящихся на смешанном вскармливании по сравнению с периодом 6–12 месяцев у детей, находящихся на грудном вскармливании; ⁵ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 6–12 месяцев, находящихся на

смешанном вскармливании по сравнению с периодом до трех месяцев у детей, находящихся на грудном вскармливании.

Таким образом, у детей с ФГИР, находящихся на грудном вскармливании, в возрасте 3–6 месяцев выявлены наиболее критические показатели концентраций УПМ, что может быть связано с процессом формирования собственного иммунитета.

При оценке показателей условно-патогенной микробиоты отмечены следующие особенности: возраст до 3 месяцев у детей с ФГИР (грудное вскармливание) характеризовался наличием двухкомпонентных ассоциаций, доминирующими видами из которых были *S. aureus* в сочетании с грибами рода *Candida* (4,9%) и клостридиями (10,3% случаев), *Proteus* spp. (в 0,9%) и *Klebsiella* spp. в ассоциациях с золотистым стафилококком (50,1%) и костридиями (23,5%). В возрасте 3–6 месяцев доминируют ассоциации *Klebsiella* spp. с *S. aureus* (38,5%) и *Clostridium* spp. (15,4%), как и в 6-12 месяцев в 48,1 и 51,9% случаев соответственно.

Выявлены статистически значимые отличия при сравнении показателей между периодами. Представленные данные рассчитаны при помощи z критерия (табл. 13).

Таблица 13 – Частота встречаемости ассоциаций условно-патогенных микроорганизмов толстой кишки у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами, находящихся на грудном вскармливании, %

Периоды первого года жизни детей	Условно-патогенные микроорганизмы-ассоцианты	Частота встречаемости, %
От рождения до трех месяцев (n=447)	<i>S. aureus</i> + <i>Candida</i> spp.	4,9±1,02 ¹ p=0,021
	<i>S. aureus</i> + <i>Clostridium</i> spp.	10,3±1,43
	<i>S. aureus</i> + <i>Proteus</i> spp.	0,9±0,44
	<i>Klebsiella</i> spp. + <i>S. aureus</i>	50,1±2,36 ¹ p=0,0001
	<i>Klebsiella</i> spp. + <i>Clostridium</i> spp.	23,5±2,0 ¹

		p=0,0001
	<i>S. aureus</i> + <i>Enterobacter</i> spp.	0
3–6 месяцев (n=130)	<i>S. aureus</i> + <i>Candida</i> spp.	0
	<i>S. aureus</i> + <i>Clostridium</i> spp.	7,7±2,33 ² p=0,0001
	<i>S. aureus</i> + <i>Proteus</i> spp.	0
	<i>Klebsiella</i> spp. + <i>S. aureus</i>	38,5±4,26
	<i>Klebsiella</i> spp. + <i>Clostridium</i> spp.	15,4±3,16 ² p=0,0001
	<i>S. aureus</i> + <i>Enterobacter</i> spp.	6,9±2,22
	6–12 месяцев (n=52)	<i>S. aureus</i> + <i>Candida</i> spp.
<i>S. aureus</i> + <i>Clostridium</i> spp.		28,8±6,27 ³ p=0,0001
<i>S. aureus</i> + <i>Proteus</i> spp.		3,8±2,65
<i>Klebsiella</i> spp. + <i>S. aureus</i>		48,1±6,92
<i>Klebsiella</i> spp. + <i>Clostridium</i> spp.		51,9±6,92 ³ p=0,0001
<i>S. aureus</i> + <i>Enterobacter</i> spp.		5,8±3,24

Примечание: д – дефицитные показатели, свн – сверхнормативные показатели (согласно Отраслевому стандарту, 2003); ¹ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей от рождения до трех месяцев по сравнению с периодом 3–6 месяцев; ² – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 3-6 месяцев по сравнению с периодом 6–12 месяцев; ³ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 6–12 месяцев по сравнению с периодом до 3 месяцев.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о микробном биоразнообразии и симбиотических связях УПМ, выделенных у детей первого периода. Вследствие этого происходит увеличение концентрации условно-патогенных и патогенных бактериальных агентов.

Отмечено, что у детей, находящихся на смешанном вскармливании в возрасте 3–6 месяцев доминируют ассоциации *Klebsiella* spp. + *S. aureus* (56,7%) и *Clostridium* spp. (31,5%), а также ассоциация *S. aureus* + *Clostridium* spp. (18,9%). У детей второго полугодия в микробиоценозе толстой кишки также доминируют ассоциации *Klebsiella* spp. + *S. aureus* (38,9%) и *Clostridium* spp. (20,8%). Получены статистически значимые различия при

сравнении представителей кишечной микробиоты между периодами и грудным типом вскармливания (табл. 14).

Таблица 14 – Частота встречаемости ассоциаций условно-патогенных микроорганизмов толстой кишки у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами, находящихся на смешанном вскармливании, %

Периоды первого года жизни детей	Условно-патогенные микроорганизмы-ассоцианты	Частота встречаемости, %
От рождения до трех месяцев (n=0)		0
3–6 месяцев (n=111)		0 ²
	<i>S. aureus</i> + <i>Candida</i> spp.	p=0,035
		18,9±3,71 ² p=0,020/ ₃
	<i>S. aureus</i> + <i>Clostridium</i> spp.	p=0,017
	<i>S. aureus</i> + <i>Proteus</i> spp.	2,7±1,53
		56,7±4,7 ¹ p=0,001/ ₃
	<i>Klebsiella</i> spp. + <i>S. aureus</i>	p=0,006
6–12 месяцев (n=419)		31,5±4,4 ¹ p=0,024/ ₃
	<i>Klebsiella</i> spp. + <i>Clostridium</i> spp.	p=0,005
	<i>S. aureus</i> + <i>Enterobacter</i> spp.	6,3±2,3
	<i>S. aureus</i> + <i>Candida</i> spp.	5,5±1,11
	<i>S. aureus</i> + <i>Clostridium</i> spp.	12,9±1,63 ⁴ p=0,004
	<i>S. aureus</i> + <i>Proteus</i> spp.	3,1±0,84 ⁵ p=0,037
	<i>Klebsiella</i> spp. + <i>S. aureus</i>	38,9±2,38 ⁵ p=0,001
	20,8±1,98 ⁴ p=0,0001	
	<i>Klebsiella</i> spp. + <i>Clostridium</i> spp.	p=0,0001
	<i>S. aureus</i> + <i>Enterobacter</i> spp.	4,3±0,99

Примечание: д – дефицитные показатели, свн – сверхнормативные показатели (согласно Отраслевому стандарту, 2003); ¹ – различия статистически значимы при p≤0,05 у детей 3–6 месяцев по сравнению с

периодом 6–12 месяцев; ² – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей от рождения до трех месяцев, находящихся на грудном вскармливании по сравнению с периодом 3–6 месяцев у детей, находящихся на смешанном вскармливании; ³ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 3–6 месяцев, находящихся на грудном вскармливании по сравнению с периодом 3–6 месяцев у детей, находящихся на смешанном вскармливании; ⁴ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 6–12 месяцев, находящихся на смешанном вскармливании по сравнению с периодом 6–12 месяцев у детей, находящихся на грудном вскармливании; ⁵ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 6–12 месяцев, находящихся на смешанном вскармливании по сравнению с периодом до трех месяцев у детей, находящихся на грудном вскармливании (z критерий).

Полученные данные характеризуют микробиоту кишечника у детей с ФГИР на смешанном вскармливании увеличением микробной плотности доминирующих видов – *S. aureus*, клостридий, грибков рода *Candida*. Данные изменения характеризуются сменой характера питания ребенка, что впоследствии будет сказываться на формировании иммунитета.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о снижении количественного и качественного состава УПМ в кишечной микробиоте детей с ФГИР. Данный факт связан с началом функционирования собственного иммунитета, восстановлением индигенной микробиоты и угнетением патогенной.

3.4. Роль и характер взаимоотношений условно-патогенных бактерий-ассоциантов в микробиоте толстой кишки у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами в зависимости от вида вскармливания

УПМ, обитающие в кишечнике детей первого года жизни, составляют значительную часть нормальной аэробной микрофлоры и, как правило, не вызывают заболеваний, а даже, напротив, принимают участие в обеспечении его стабильного нормального функционирования. Однако, при увеличении концентрации УПМ и изменении их свойств на патогенные, могут формироваться дисбиотические расстройства. Анализ характеристики взаимоотношений микроорганизмов позволит получить более полные данные о формировании ФР в кишечнике детей в различные периоды первого года жизни.

При анализе степени совместимости Жаккара были выделены ассоциации УПМ, которые имели высокую частоту встречаемости в кишечном микробиоме детей с ФГИР.

У детей с ФГИР (грудное вскармливание) микробиоценоз толстой кишки характеризовался наличием парных ассоциаций, при которых данные виды исключают совместное сосуществование – *S. aureus* + *Candida* spp. (6–12 месяцев); *S. aureus* + *Enterobacter* spp. (3–6 месяцев); *S. aureus* + *Proteus* spp. (до 3 и 6–12 месяцев); *S. aureus* + *Clostridium* spp. (до 3 месяцев) – при $K > 1$.

Данные микроорганизмы были склонны к совместному обитанию в кишечной микробиоте детей в возрасте до 3 месяцев – *S. aureus* + *Candida* spp. ($K=1,07$), 3–6 месяцев и 6–12 месяцев – *S. aureus* + *Clostridium* spp. ($K=0,76$ и $0,86$ соответственно), 6–12 месяцев – *S. aureus* + *Enterobacter* spp. ($K=0,48$). Следует отметить тот факт, что ассоциации клебсиелл с золотистым стафилококком и клостридиями имели высокую склонность к совместному обитанию во всех трех периодах первого года жизни детей ($K < 1$) (табл. 15).

Таблица 15 – Характеристика склонности условно-патогенных микроорганизмов-ассоциантов к совместному обитанию в кишечной микробиоте у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами, находящихся на грудном вскармливании, %

Ассоциации микроорганизмов	Периоды											
	0–3 месяца (n=76)				3–6 месяца (n=43)				6–12 месяцев (n=45)			
	Р	С	К	Склонность к совместному обитанию	Р	С	К	Склонность к совместному обитанию	Р	С	К	Склонность к совместному обитанию
<i>S. aureus</i> + <i>Candida</i> spp.	23,55>	22	1,07	да	-	-	-	-	14,83>	9	1,64	нет
<i>S. aureus</i> + <i>Clostridium</i> spp.	52,62>	46	1,14	нет	7,69<	10	0,76	да	12,98>	15	0,86	да
<i>S. aureus</i> + <i>Proteus</i> spp.	7,02>	4	1,76	нет	-	-	-	-	3,84>	2	1,92	нет
<i>Klebsiella</i> spp. + <i>S. aureus</i>	130,79>	224	0,58	да	19,61<	50	0,39	да	24,03<	25	0,96	да
<i>Klebsiella</i> spp. + <i>Clostridium</i> spp.	61,3<	105	0,58	да	7,84<	20	0,39	да	25,96<	27	0,96	да
<i>S. aureus</i> + <i>Enterobacter</i> spp.	-	-	-	-	3,46	3	1,15	нет	1,44<	3	0,48	да

Установлено, что полученные данные свидетельствуют о низкой способности к формированию симбиотических связей у доминирующего в ассоциациях золотистого стафилококка с *Proteus* spp. и *Enterobacter* spp. Однако клостридии, грибы рода *Candida* и *Klebsiella* spp. имеют высокую склонность к симбиозу с *S. aureus* ($K < 1$).

У детей с ФГИР (смешанное питание) в микробиоте толстой кишки доминанты парных ассоциаций УПМ – *Klebsiella* spp., *S. aureus*, *Clostridium* spp., *Candida* spp., *Enterobacter* spp. и *Proteus* spp. склонялись к совместному обитанию (при $K < 1$) (табл. 16).

Таблица 16 – Характеристика склонности условно-патогенных микроорганизмов-ассоциантов к совместному обитанию в кишечной микробиоте у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами, находящихся на смешанном вскармливании, %

Ассоциации микроорганизмов	Периоды											
	0–3 месяца (n=76)				3–6 месяца (n=43)				6–12 месяцев (n=45)			
	Р	С	К	Склонность к совместному обитанию	Р	С	К	Склонность к совместному обитанию	Р	С	К	Склонность к совместному обитанию
<i>S. aureus</i> + <i>Candida</i> spp.	-	-	-	-	-	-	-	-	10,11<	23	0,43	да
<i>S. aureus</i> + <i>Clostridium</i> spp.	-	-	-	-	19,86<	21	0,94	да	33,84>	54	0,62	да
<i>S. aureus</i> + <i>Proteus</i> spp.	-	-	-	-	6,24>	3	2,08	нет	12,05<	13	0,92	да
<i>Klebsiella</i> spp. + <i>S. aureus</i>	-	-	-	-	57,3<	63	0,9	да	82,47<	163	0,5	да
<i>Klebsiella</i> spp. + <i>Clostridium</i> spp.	-	-	-	-	31,84<	35	0,9	да	44,01<	87	0,5	да
<i>S. aureus</i> + <i>Enterobacter</i> spp.	-	-	-	-	6,24	7	0,89	да	14,78<	18	0,82	да

Таким образом, наибольшей склонностью к совместному вегетированию данные ассоциации микроорганизмов приходились на третий период (6–12 месяцев).

Резюмируя вышеизложенное, показано, что микробиота кишечника детей с ФГИР при грудном вскармливании характеризовалась регистрацией микроорганизмов-антагонистов, а при смешанном – микроорганизмов симбионтов. Система данного патологического процесса свидетельствует об изменении взаимоотношений бактериальных агентов, что сопутствует нарушению взаимоотношений нормальной и условно-патогенной биоты и способствует формированию патологической микробиоты, способствующей развитию осложнений, проявляющихся ФГИР у детей первого года жизни.

3.5. Взаимовлияние представителей индигенной и условно-патогенной микробиоты на формирование микробиоценоза толстой кишки у детей первого года жизни с учетом вида вскармливания

Как известно, наиболее критическим периодом не только при развитии иммунной системы, но и при формировании стабильной кишечной микробиоты является возраст 3–6 месяцев (Нетребенко О.К., 2005), поэтому изменения характера взаимоотношений ассоциаций микроорганизмов индигенной и УПМ кишечника обуславливают состояние микробиома человека в целом. Были выделены и проанализированы доминантные парные сочетания микроорганизмов индигенной и условно-патогенной микробиоты кишечника у детей в периоды обследования детей с ФГИР с наибольшей частотой встречаемости во всех исследуемых периодах.

Установлено, что у детей на грудном вскармливании симбиотические связи микроорганизмов характерны для ассоциаций всех трех периодов – НКП (дефицит) + КП с СФА (более 10%), *S. aureus* + *Candida* spp., *S. aureus* + *Clostridium* spp., *Klebsiella* spp. + *Clostridium* spp., *Klebsiella* spp. + *S. aureus*. Получены статистически значимые различия при сравнении групп микроорганизмов между периодами. Представленные данные рассчитаны при помощи z критерия (табл. 17).

Таблица 17 – Характеристика ассоциаций микроорганизмов толстой кишки у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами, находящихся на грудном вскармливании, %

Периоды первого года жизни детей	Ассоциации	Частота встречаемости, %	Коэффициент Жаккара
От рождения до трех месяцев (n=447)	КП с ГА + НКП	6,1	1,43
	КП с ГА + НКП (дефицит)	10,8 ¹ p=0,0001	11,01
	НКП (дефицит) + КП с СФА	27,1	0,49
	<i>S. aureus</i> + <i>Candida</i> spp.	4,9 ¹ p=0,021	1,07
	<i>S. aureus</i> + <i>Clostridium</i> spp.	10,3	1,14

	<i>S. aureus</i> + <i>Proteus</i> spp.	0,9	1,76
	<i>Klebsiella</i> spp. + <i>S. aureus</i>	50,1 ¹ p=0,0001	0,58
	<i>Klebsiella</i> spp. + <i>Clostridium</i> spp.	23,5 ¹ p=0,0001	0,58
	<i>S. aureus</i> + <i>Enterobacter</i> spp.	0	-
3–6 месяцев (n=130)	КП с ГА + НКП	10,8	0,47
	КП с ГА + НКП (дефицит)	13,8 ² p=0,040	2,46
	НКП (дефицит) + КП с СФА	20,0 ² p=0,0001	0,42
	<i>S. aureus</i> + <i>Candida</i> spp.	0	-
	<i>S. aureus</i> + <i>Clostridium</i> spp.	7,7 ² p=0,0001	0,76
	<i>S. aureus</i> + <i>Proteus</i> spp.	0	-
	<i>Klebsiella</i> spp. + <i>S. aureus</i>	38,5	0,39
	<i>Klebsiella</i> spp. + <i>Clostridium</i> spp.	15,4 ² p=0,0001	0,39
	<i>S. aureus</i> + <i>Enterobacter</i> spp.	6,9	1,15
6–12 месяцев (n=52)	КП с ГА + НКП	19,2 ³ p=0,0001	1,07
	КП с ГА + НКП (дефицит)	25,0 ³ p=0,002	-
	НКП (дефицит) + КП с СФА	59,6 ³ p=0,0001	0,16
	<i>S. aureus</i> + <i>Candida</i> spp.	17,3 ³ p=0,001	1,64
	<i>S. aureus</i> + <i>Clostridium</i> spp.	28,8 ³ p=0,0001	0,86
	<i>S. aureus</i> + <i>Proteus</i> spp.	3,8	1,92
	<i>Klebsiella</i> spp. + <i>S. aureus</i>	48,1	0,96
	<i>Klebsiella</i> spp. + <i>Clostridium</i> spp.	51,9 ³ p=0,0001	0,96
	<i>S. aureus</i> + <i>Enterobacter</i> spp.	5,8	0,48

Примечание: д – дефицитные показатели, свн – сверхнормативные показатели (согласно Отраслевому стандарту, 2003); ¹ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей от рождения до трех месяцев по сравнению с периодом 3–6 месяцев; ² – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 3–6 месяцев по сравнению с периодом 6–12 месяцев; ³ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 6–12 месяцев по сравнению с периодом до 3 месяцев.

Полученные данные характеризуют взаимоотношения индигенной и условно-патогенной микробиоты как симбиотические в паре НКП (дефицит)

и КП с СФА, доминантов *Klebsiella* spp., *S. aureus*, *Clostridium* spp., и как антагонистов – КП с ГА, *Proteus* spp. Попавшие в кишечный микробиом детей УПМ оказывают негативное воздействие на микробов-ассоциантов индигенной биоты, при этом происходит угнетение нормальных симбионтов и увеличение микробной плотности бактерий с аномальными свойствами.

У детей на смешанном вскармливании ассоциация кишечных палочек НКП (дефицит) + КП с СФА (более 10%) во все периоды исследования детей выражается симбиотическими связями микроорганизмов. Увеличение доли симбионтов происходит к концу второго полугодия жизни, при этом доминантами являются не только микроорганизмы первой группы сравнения, но и *Proteus* spp. и *Enterobacter* spp. (табл. 18).

Таблица 18 – Характеристика ассоциаций микроорганизмов толстой кишки у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами, находящихся на смешанном вскармливании, %

Периоды первого года жизни детей	Ассоциации	Частота встречаемости, %	Коэффициент Жаккара
3–6 месяцев (n=130)	КП с ГА + НКП	8,1	2,1
	КП с ГА + НКП (дефицит)	13,5 ¹ p=0,0001	3,65
	НКП (дефицит) + КП с СФА	55,8¹ p=0,0001/ ₃	0,42
	<i>S. aureus</i> + <i>Candida</i> spp.	0	-
	<i>S. aureus</i> + <i>Clostridium</i> spp.	18,9³ p=0,017	0,99
	<i>S. aureus</i> + <i>Proteus</i> spp.	2,7	2,08
	<i>Klebsiella</i> spp. + <i>S. aureus</i>	56,7¹ p=0,001/ ₃ p=0,006	0,9
	<i>Klebsiella</i> spp. + <i>Clostridium</i> spp.	31,5¹ p=0,024/ ₃ p=0,005	0,9
	<i>S. aureus</i> + <i>Enterobacter</i> spp.	6,3	0,89
	6–12 месяцев (n=52)	КП с ГА + НКП	5,0 ⁴ p=0,0001
КП с ГА + НКП (дефицит)		1,9 ²	-

		p=0,0001/ ₄ p=0,0001/ ₅ p=0,004	
	НКП (дефицит) + КП с СФА	21,2 ² p=0,0001/ ₄ p=0,0001/ ₅ p=0,008	0,03
	<i>S. aureus</i> + <i>Candida</i> spp.	5,5 ² p=0,035	0,43
	<i>S. aureus</i> + <i>Clostridium</i> spp.	12,9 ² p=0,020/ ₄ p=0,004	0,62
	<i>S. aureus</i> + <i>Proteus</i> spp.	3,1 ⁵ p=0,037	0,92
	<i>Klebsiella</i> spp. + <i>S. aureus</i>	38,9 ⁵ p=0,001	0,5
	<i>Klebsiella</i> spp. + <i>Clostridium</i> spp.	20,8 ⁴ p=0,0001	0,5
	<i>S. aureus</i> + <i>Enterobacter</i> spp.	4,3	0,82

Примечание: д – дефицитные показатели, свн – сверхнормативные показатели (согласно Отраслевому стандарту, 2003); ¹ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 3–6 месяцев по сравнению с периодом 6–12 месяцев; ² – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей от рождения до трех месяцев, находящихся на грудном вскармливании по сравнению с периодом 3–6 месяцев у детей, находящихся на смешанном вскармливании; ³ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 3–6 месяцев, находящихся на грудном вскармливании по сравнению с периодом 3–6 месяцев у детей, находящихся на смешанном вскармливании; ⁴ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 6–12 месяцев, находящихся на смешанном вскармливании по сравнению с периодом 6–12 месяцев у детей, находящихся на грудном вскармливании; ⁵ – различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ у детей 6–12 месяцев, находящихся на смешанном вскармливании по сравнению с периодом до трех месяцев у детей, находящихся на грудном вскармливании (z критерий).

Таким образом, взаимоотношения микроорганизмов в толстой кишке как при грудном, так и при смешанном вскармливании у детей характеризуются увеличением доли штаммов *E. coli* с измененными свойствами (симбионты) и проявлением антагонистических свойств УПМ, что, в свою очередь, приводит к формированию ФГИР. Полученные данные в полной мере обуславливают развитие расстройств в кишечнике детей. Однако следует обратить внимание на то, что к концу периода 6–12 месяцев, микроорганизмы, не только индигенной, но и УПМ являются симбионтами, что может влиять на стабилизацию кишечного микробиоценоза в целом.

Резюмируя вышеизложенное, можно сделать вывод о том, что в период 3–6 месяцев происходит изменение взаимоотношений микроорганизмов как индигенной, так и условно-патогенной микрофлоры, что отражается на нормальной микробиоте (угнетение, дефицитные состояния основной бифидо- и сверхнормативные показатели лактофлоры). Данные вариации являются патогенетически значимыми в снижении гуморального иммунитета, что в свою очередь обуславливает формирование воспалительных процессов в толстой кишке детей первого года жизни.

3.6. Характеристика чувствительности к бактериофагам штаммов бактерий рода *Klebsiella*, как основного бактериального агента микробиоты толстой кишки у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами в различные периоды первого года жизни

Для штаммов *K. oxytoca*, выделенных у детей в возрасте от рождения до трех месяцев характерно уменьшение частоты встречаемости фагоустойчивых штаммов. У детей до трех месяцев с ФГИР было выделено 76,2% резистентных (R) штаммов к бактериофагу поливалентному, 3–6 месяцев – 75,2%, и 6–12 месяцев – 67,8% ($p > 0,05$).

Умеренную чувствительность к данному бактериофагу имели 23,8% штаммов, выделенных у детей в возрасте до трех месяцев, 26,8% штаммов – в возрасте 3–6 месяцев и 32,2% штаммов – в возрасте 6–12 месяцев. Следует отметить, что с увеличением возраста детей прослежено незначительное увеличение частоты выделения штаммов с умеренной чувствительностью (от 23,8 до 32,2% случаев) (рис. 4).

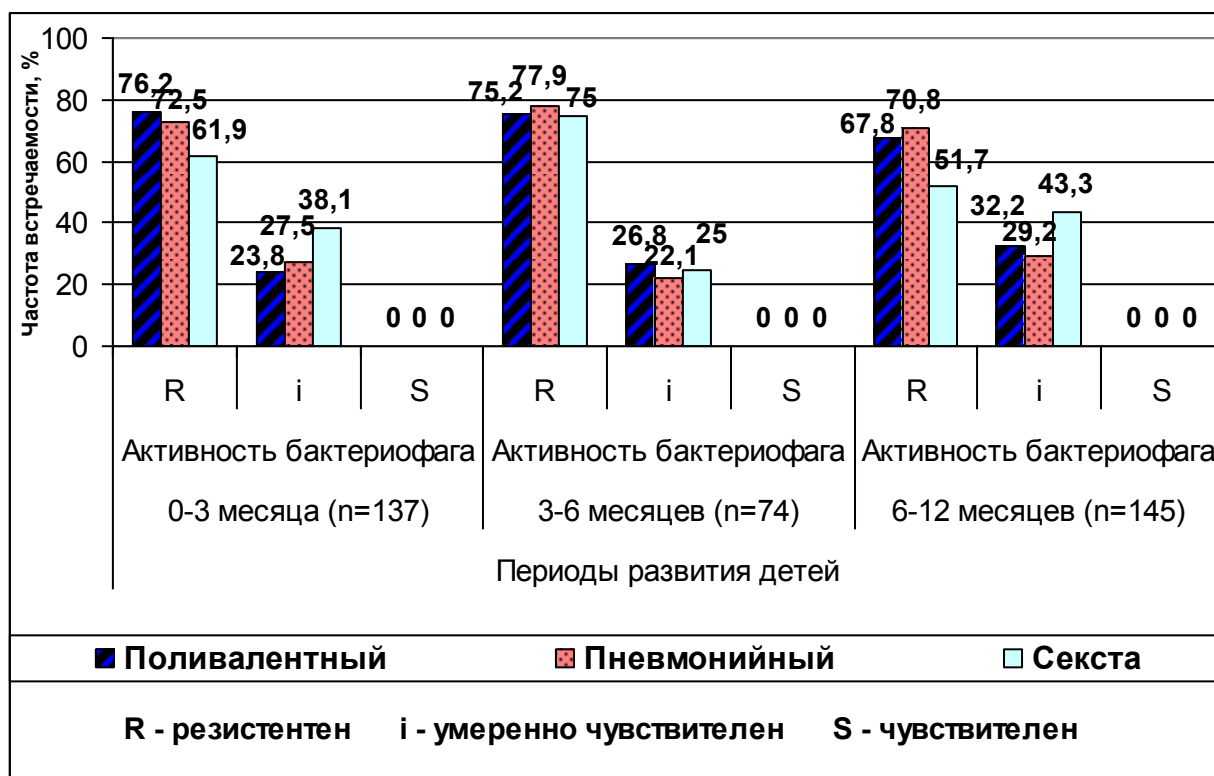


Рисунок 4 – Характеристика чувствительности штаммов *K. oxytoca*, изолированных из толстой кишки детей с функциональными нарушениями желудочно-кишечного тракта к различным бактериофагам

С увеличением возраста детей (от рождения до 3–6 месяцев) наблюдали увеличение частоты встречаемости штаммов *K. oxytoca* устойчивых к действию бактериофага секста – от 61,9 до 75,0%, а у детей в 6–12 месяцев происходит снижение частоты встречаемости устойчивых штаммов в полтора раза – 51,7%. При этом возрастает доля штаммов *K. oxytoca* с умеренной чувствительностью к секстафагу почти в два раза – до 38,1% случаев у детей до 3 месяцев и в 43,3% случаев у детей 6–12 месяцев. Установлено, что у детей первого года жизни ни в одном возрастном периоде не были зарегистрированы штаммы с высоким уровнем чувствительности (S) к специфическим бактериофагам – поливалентному и секста.

Установлено, что во все периоды первого года жизни у детей выделенные штаммы бактерий *K. oxytoca* характеризовались низким уровнем чувствительности к специфическим лечебным бактериофагам. Доля выявленных фагорезистентных штаммов *K. oxytoca* при действии бактериофага поливалентного практически не изменялась во всех возрастных периодах и составила 70%. Однако при действии бактериофага секста во втором периоде происходит увеличение доли фагоустойчивых штаммов *K. oxytoca* (до 75%) и ее снижение в третьем периоде ($p > 0,05$).

Полученные данные свидетельствуют о низком уровне чувствительности штаммов *K. oxytoca* к бактериофагам трех видов. При тестировании штаммов *K. pneumoniae* аналогичного периода (от рождения до трех месяцев) наблюдается снижение регистрации фагоустойчивых штаммов бактерий при активности бактериофага клебсиелл пневмоний (до 64,5%), и, соответственно, увеличение доли штаммов с умеренной чувствительностью (до 33,9%) к действию данного бактериофага. У детей с ФГИР в возрасте до трех месяцев также характерно появление чувствительных штаммов *K.*

pneumoniae к бактериофагу поливалентному (в 0,8% случаев) и бактериофагу клебсиелл пневмоний (в 1,6% случаев) ($p > 0,05$) (рис. 5).

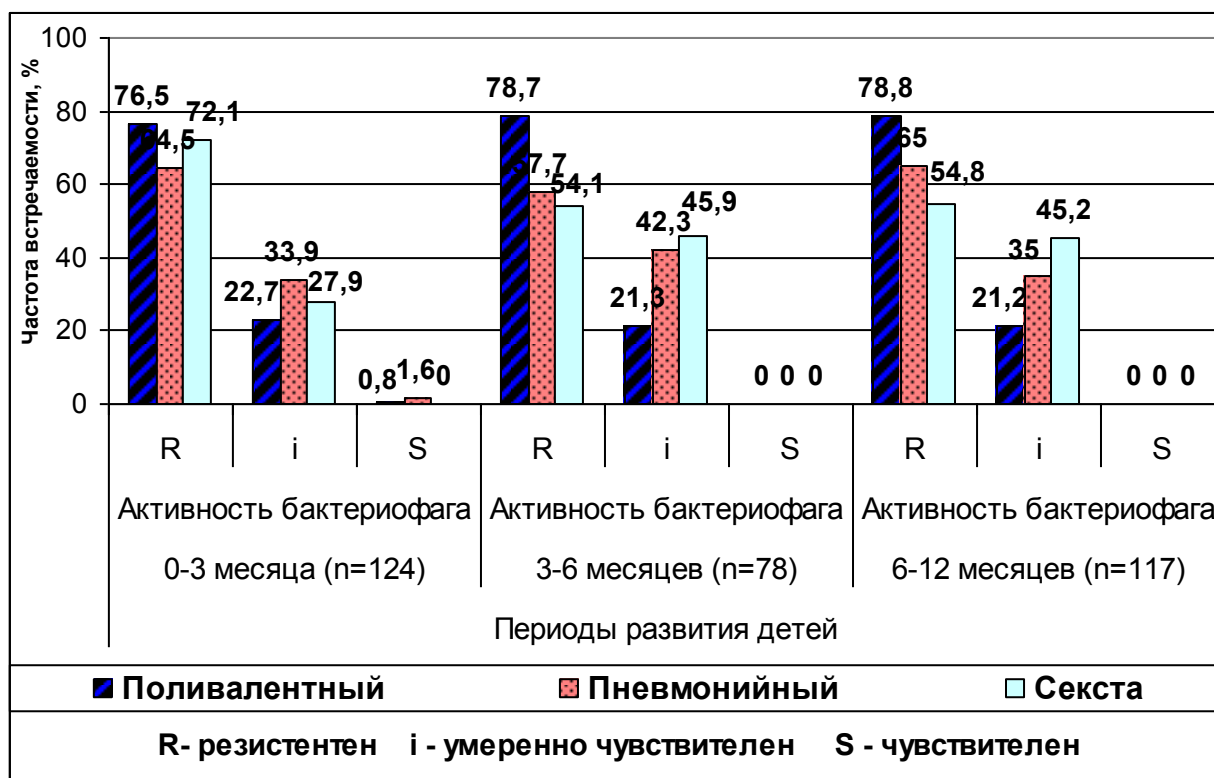


Рисунок 5 – Характеристика чувствительности штаммов *K. pneumoniae* к бактериофагам

Были детектированы 64,5% устойчивых штаммов к действию бактериофага клебсиелл пневмоний, выделенных у детей с ФГИР в возрасте до 3 месяцев, 57,7% штаммов – в возрасте 3–6 месяцев, и 65% штаммов – в возрасте 6–12 месяцев. Умеренный уровень чувствительности к данному бактериофагу имели 33,9% штаммов *K. pneumoniae*, выделенных у детей от рождения до 3 месяцев, 42,3% – 3–6 месяцев, и 35,0% штаммов – 6–12 месяцев. У детей с ФГИР от рождения до трех месяцев зарегистрированы штаммы бактерий с высоким уровнем чувствительности (S) к действию данного бактериофага – 1,6% штаммов ($p \leq 0,05$). Показано, что у детей 3–6 месяцев снижается частота выделения устойчивых штаммов *K. pneumoniae* (от 64,5 до 57,7%), и повышается частота встречаемости штаммов с умеренной чувствительностью к бактериофагу клебсиелл пневмоний (от 33,9 до 42,3%).

Однако в толстой кишке детей с ФГИР от 6 до 12 месяцев, наоборот, повышается доля фагоустойчивых штаммов бактерий (до 65,0%), и снижается доля штаммов с умеренной чувствительностью (до 35,0%).

В период 3–6 месяцев у детей с ФГИР при действии трех видов бактериофагов на штаммы *K. oxytoca*, выделенных из кишечника, показатели детекции фагорезистентных штаммов практически не изменяются (от 75 до 77% штаммов), равно как и показатели штаммов с умеренной чувствительностью (от 22 до 26% случаев). Однако, при сравнении с аналогичным периодом, но при действии бактериофагов на штаммы *K. pneumoniae* происходит увеличение частоты встречаемости штаммов с умеренной чувствительностью к бактериофагу клебсиелл пневмоний (до 42,3% штаммов) и секстафагу (до 45,9% штаммов).

Возраст 3–6 месяцев характеризовался для выделенных штаммов *K. oxytoca* и *K. pneumoniae* снижением частоты встречаемости устойчивых к бактериофагам штаммов бактерий и увеличением доли штаммов с умеренной чувствительностью (почти в половине случаев – до 45,2%) ($p > 0,05$).

Полученные нами данные показывают, что высокий уровень чувствительности наблюдался лишь в 2,4% случаев у штаммов *K. pneumoniae*, выделенных у детей с ФГИР в возрасте до трех месяцев. При дисбиозе во втором периоде происходит адаптация бактерий *K. oxytoca* ко всем трем видам бактериофагов, в третьем периоде преобладают штаммы уже с более высоким уровнем чувствительности к бактериофагам для обоих видов бактерий (до 45,2% штаммов к действию секстафага).

С увеличением возраста происходит снижение выделения фагорезистентных штаммов *K. pneumoniae* к действию секстафага – от 72,1% штаммов, выделенных у детей до трех месяцев, 54,1% штаммов – 3–6 месяцев, и 54,8% штаммов 6–12 месяцев. В периоде от рождения до трех месяцев выделяется 27,9% штаммов с умеренной чувствительностью к действию данного бактериофага, 45,9% штаммов – 3–6 месяцев, и 45,2% штаммов у детей 6–12 месяцев.

Активность бактериофага клебсиелл пневмоний, специфичного для штаммов *K. pneumoniae*, показала статистически значимые различия по сравнению с действием бактериофага поливалентного на штаммы *K. oxytoca* ($p \leq 0,05$). Показано, что при действии бактериофага клебсиелл пневмоний регистрируются штаммы бактерий рода *Klebsiella* с высоким уровнем чувствительности – в 1,6% случаев. Период 6–12 месяцев у детей с ФГИР характеризуется увеличением доли штаммов *K. pneumoniae* с умеренным уровнем чувствительности к бактериофагам клебсиелл пневмоний и секста – 42,3 и 45,9% штаммов соответственно.

Данные, полученные при расчете критерия χ^2 , представлены в таблице 19.

Таблица 19 – Показатели чувствительности и устойчивости штаммов *Klebsiella* spp. к бактериофагам (χ^2)

Признак, определяемый между выборками	Категория	Значение χ^2	Значение p
Изменение чувствительности штаммов к бактериофагам	<i>K. oxytoca</i> по устойчивости (R)	2,064	0,724
	<i>K. oxytoca</i> по промежуточной чувствительности (i)	1,303	0,861
	<i>K. pneumoniae</i> по устойчивости (R)	1,745	0,782
	<i>K. pneumoniae</i> по промежуточной чувствительности (i)	2,121	0,713
Изменение чувствительности штаммов к бактериофагам в различные временные периоды	<i>K. oxytoca</i> к <i>K. pneumoniae</i> по устойчивости (R) – от рождения до трех месяцев	1,190	0,552
	<i>K. oxytoca</i> к <i>K. pneumoniae</i> по устойчивости (R) – 3–6 месяцев	1,885	0,390
	<i>K. oxytoca</i> к <i>K. pneumoniae</i> по устойчивости (R) – 6–12 месяцев	0,855	0,652
	<i>K. oxytoca</i> к <i>K. pneumoniae</i> по промежуточной чувствительности (i) – от рождения до трех месяцев	2,245	0,335
	<i>K. oxytoca</i> к <i>K. pneumoniae</i> по промежуточной чувствительности (i) – 3–6 месяцев	3,452	0,178
	<i>K. oxytoca</i> к <i>K. pneumoniae</i> по промежуточной чувствительности (i) – 6–12 месяцев	5,149	0,076

Показано, что статистически значимых различий при сравнении чувствительности штаммов *Klebsiella* spp. к бактериофагам различных видов

и в различные временные периоды у детей первого года жизни с ФГИР не выявлено ($p > 0,05$).

Полученные данные о чувствительности к бактериофагам представителей микробиоты толстой кишки у детей с ФГИР свидетельствуют о высоком уровне фагоустойчивости бактерий рода *Klebsiella*, что может являться одной из причин неэффективного использования препаратов бактериофагов. Проанализировав действие бактериофагов на бактерии рода *Klebsiella*, установлено, что штаммы *K. pneumoniae* имеют большую степень чувствительность (в два раза) к действию бактериофагов клебсиелл пневмоний и секста во втором возрастном периоде развития (от трех до шести месяцев) у детей с ФГИР по сравнению со штаммами *K. oxytoca* аналогичного периода.

Таким образом, данные изменения свидетельствуют о перестройке функционирования микробиоты толстой кишки у детей с ФГИР. При этом отмечается высокий уровень резистентности бактерий *K. oxytoca*, что может поддерживать высокую степень агрессивности данного бактериального агента в кишечной микробиоте детей первого года жизни и манифестацию клинической картины.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Функциональные расстройства толстой кишки у детей первого года жизни в настоящее время широко распространены в России и за рубежом (Васечкина Л.И., Тюрина Т.К., 2012; Чередниченко Ю.В., 2015; Беляева И.А. и др., 2017; Morelli L., 2008; Moles L. et al., 2013; Backhed et al., 2015).

Самым многочисленным как по видовому разнообразию, так и в количественном отношении является ассоциативный симбиоз микробных сообществ толстой кишки. Популяции микроорганизмов, вступая в конкурентные или кооперативные взаимоотношения, при заселении различных органов и тканей формируют его специфический микросимбиоз (Бухарин О.В., Кремлева Е.А., Сгибнев А.В., 2012; Изикаев В.М., 2013; Mshvildadze M., Neu J., 2010).

Значительное увеличение микробной популяции лактобактерий напрямую связано с типом вскармливания ребенка и одновременно может свидетельствовать либо об особенностях сукцессии кишечного тракта у детей при грудном или смешанном вскармливании, либо о низкой антагонистической активности лактобактерий по отношению к другим симбионтам кишечника из числа условно-патогенных микроорганизмов (Копанев Ю.А., Соколов А.Л., 2008; Ожегов А.М. и др., 2013; Savino F. et al., 2005). Возможно, это и есть одна из ведущих причин патогенеза кишечного дисбиоза у детей первого года жизни. Другой, не менее важной, причиной является недостаток микробной плотности основной резидентной микрофлоры младенцев – бифидобактерий, который часто регистрируется у детей первого года жизни (Захарова Ю.В., 2010; Попкова С.М., 2012). Бифидобактерии обеспечивают функции поддержания микробиологического гомеостаза за счет эволюционно сложившихся симбиотических взаимодействий с организмом хозяина, а также контролируют включение в микробиоту условно-патогенных бактерий-ассоциантов за счет препятствия

их адгезии, антагонистического действия и угнетения персистентных свойств аллохтонной микрофлоры (Butel M.J. et al., 2007).

Бифидо- и лактобактерии, обладая синергической активностью, могут увеличивать иммуномодулирующий эффект на организм через IgA-реакцию к патогенной грамотрицательной микробиоте, воздействуя конкурентным исключением, затрудняющим прикрепление и рост патогенных бактерий, а также их транслокацию. Отсюда следует, что высокая концентрация и разнообразие резидентных микроорганизмов может быть важным определяющим фактором в снижении риска развития функциональных и воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта в первые месяцы жизни ребенка (Урсова Н.И., 2014; Blanton L.V. et al., 2016; Charbonneau M.R. et al., 2016).

Таким образом, результаты проведенного исследования позволят установить ключевую роль отдельных групп микроорганизмов в формировании патобиоценоза кишечника.

В связи с вышеизложенным, **целью** работы явилось установление роли нарушений состава микробиоты толстой кишки при формировании функциональных гастроинтестинальных расстройств у детей первого года жизни при различных видах вскармливания для патогенетического обоснования принципов их коррекции.

Для решения поставленной цели было обследовано 1159 детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами в различные периоды первого года жизни: от рождения до трех месяцев (447 детей), от трех до шести месяцев (241 ребенок), от шести до двенадцати месяцев (471 ребенок).

Выбор этих периодов первого года жизни у детей был обусловлен следующим. Период от рождения до трех месяцев первого года жизни у детей характеризуется невыраженными нарушениями состава микробиоты кишечника, поскольку её гомеостаз поддерживается и функционирует за счет материнского иммунитета (Алибек К., 2008; Николаева И.В., 2011).

Микробиоценоз кишечника детей в возрасте от рождения до 3-6 месяцев характеризуется выраженными нарушениями функционирования желудочно-кишечного тракта. Данный факт, несомненно, свидетельствует о тесной связи данного патологического состояния с микробиотой кишечника детей первого года жизни, и в частности толстой кишки (Лоранская И.Д., Болдырева М.Н., Лаврентьева О.А., 2011; Определение дисбиотических изменений желудочно-кишечного тракта по маркерам содержимого кишечника. Федеральные клинические рекомендации, 2016). Эти изменения, возможно, обусловлены явлением алкалоза, который способствует изменению ассоциативных связей в микробиоценозе кишечника с сукцессией индигенной микробиоты условно-патогенной, приводя к развитию функциональных расстройств кишечника, тем самым усугубляя порочный круг патогенеза этого патологического состояния (Янковский Д.С., Моисеенко Р.А., Дымент Г.С., 2010; Джораева С.К. и др., 2015).

Наиболее критическим для формирования дисбиотических нарушений является возраст от трех до шести месяцев (Квашнина Л.В., 2009), поскольку происходит снижение концентрации микроорганизмов индигенной микробиоты на преобладание на ее фоне условно-патогенных микроорганизмов, таких как *Klebsiella* и *S. aureus*. Следует отметить и тот факт, что, именно данный период является критическим не только со стороны формирования функциональных гастроинтестинальных расстройств у детей, но и ослаблением пассивного гуморального иммунитета в связи с катаболизмом материнских антител (Нетребенко О.К., 2005). Такие изменения связаны с началом формирования собственного иммунитета ребенка. При развитии данного процесса дефицит неспецифических защитных механизмов ассоциируется с высоким риском тканевых повреждений, обусловленным активацией воспалительного процесса толстой кишки детей первого полугодия жизни (Коршунова Е.Ю., 2003). Это, в свою очередь, может быть связано с изменением качественных и количественных характеристик условно-патогенной микробиоты, в частности активацией

таких бактерий как *Klebsiella* spp. Как известно, любой патологический процесс обусловлен измененной реактивностью организма под действием патогенных факторов (Шолохов Л.Ф., 2004).

Критерии включения – дети с функциональными гастроинтестинальными расстройствами (согласно МКБ-10, Римским критериям III (2006 г.), IV (2016 г.)), включающими абдоминальный синдром: расстройства дефекации (функциональная диарея и запоры), колики, срыгивания, дисхезия, синдром руминации и синдром циклической рвоты, продолжающихся в течение не менее двенадцати недель за последние двенадцать месяцев наблюдения. Критерии исключения – дети, имеющие органические заболевания желудочно-кишечного тракта, перенесшие инфекции различной локализации, принимавшие антибактериальные, пробиотические препараты и лечебные бактериофаги в предшествующие три месяца до обследования, дети, находящиеся на искусственном вскармливании.

Из всех обследованных (n=1159) 629 детей – 54,3% находились на грудном вскармливании, 530 детей – 45,7% – на смешанном. Из них в возрасте от рождения до трех месяцев на грудном вскармливании находилось 447 детей (38,6±1,43%), в возрасте от трех до шести месяцев – 130 детей (11,2±0,92%) и в возрасте от шести до 12 месяцев – 52 ребенка (4,5±0,6%), на смешанном в возрасте до трех месяцев – 111 детей (9,6±0,86%), от шести до 12 месяцев – 419 детей (36,1±1,41%).

В работе с исследуемыми лицами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциацией (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, в редакции Бразилия, октябрь 2013) и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ.

Микробиологический мониторинг включал в себя бактериологическое исследование биологического материала, выделенного у детей первого года жизни. Исследования микробиоты толстой кишки проводили по стандартной методике, оценку результатов – в соответствии с Отраслевым стандартом, 2003 (Отраслевой стандарт, 2003). Бактериальная флора микробиоты толстой кишки, выделенная как у мальчиков ($n=689$), так и у девочек ($n=490$), значимо не отличалась ($p>0,05$), что позволило объединить их в одну группу ($n=1159$).

Для исследования у детей первого года жизни с функциональными гастроинтестинальными расстройствами были выделены два вида бактерий семейства Enterobacteriaceae – *K. oxytoca* и *K. pneumoniae*.

Для реализации поставленной цели были проведены следующие исследования. На первом этапе исследования была дана оценка состояния микробиоты толстой кишки у детей в различные возрастные периоды первого года жизни при грудном и смешанном вскармливании. Для этого были выявлены изменения между различными вариантами *E. coli* с измененными свойствами и установлен характер взаимоотношений различных ассоциаций бактерий в микробиоценозе толстой кишки у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами. Появление измененной кишечной палочки и других бактерий условно-патогенной группы сопутствовали изменениям микробной популяции доминантных симбионтов. При этом обращает на себя внимание высокий уровень колонизации толстой кишки у детей, находящихся на грудном вскармливании, условно-патогенными видами микроорганизмов (и их ассоциациями) (Булатова Е.М., Богданова Н.М., 2007).

На основании проведенных исследований разработана концептуальная схема (рис. 6).

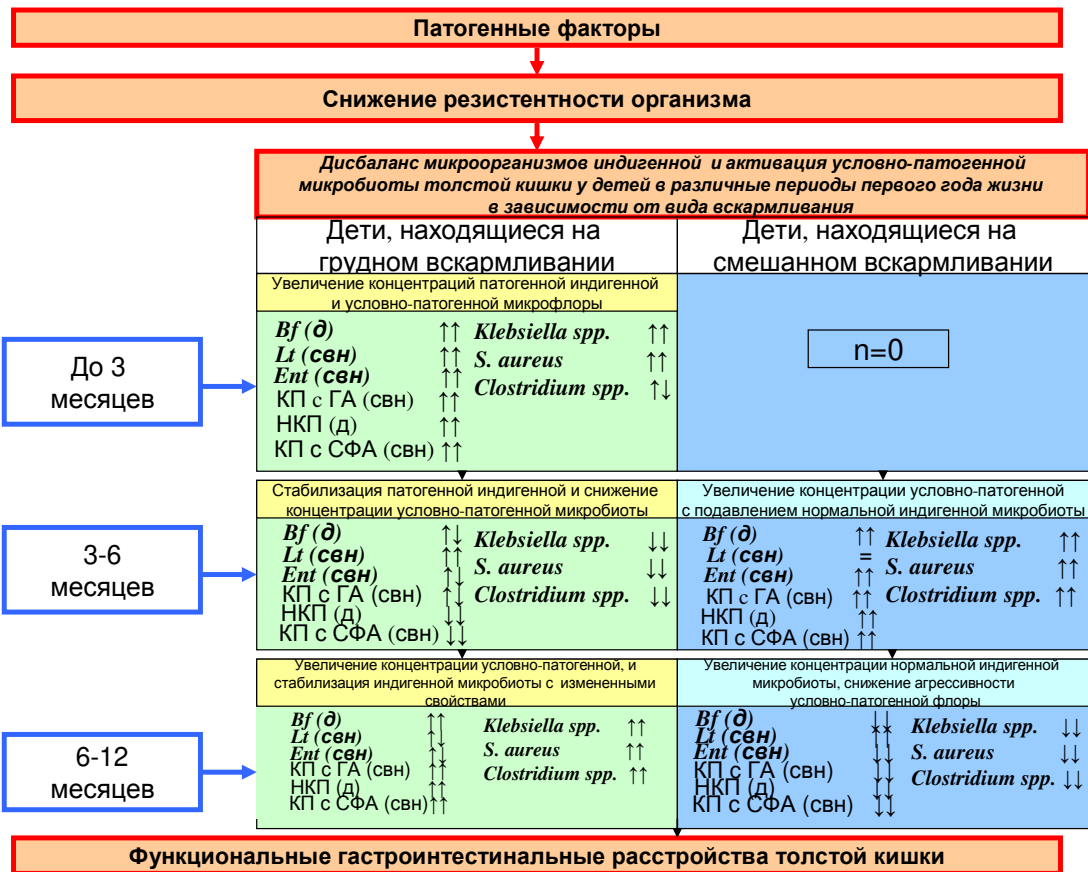


Рисунок 6 – Концептуальная схема изменения качественного состава микробиоты толстой кишки (индигенная) у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами в различные периоды первого года жизни в зависимости от вида вскармливания

Установлено, что происходит изменение межвидовых связей среди *E. coli* с измененными свойствами. Наибольшую способность к совместному существованию имели следующие варианты микроорганизмов – *E. coli* при дефиците (в концентрации менее 10^7 КОЕ/г) и *E. coli* со слабой ферментативной активностью, что позволило сделать вывод об их симбиотических взаимоотношениях по отношению друг к другу. *E. coli* с гемолитическими свойствами проявляла антагонистическую активность во взаимосвязи с *E. coli* (НКП), особенно в первом и втором периодах первого года жизни детей. При смешанном вскармливании также регистрировали изменения взаимоотношений между разными биохимическими вариантами *E. coli*, что выражалось появлением симбиотических взаимоотношений между

E. coli (дефицит) + *E. coli* со слабой ферментативной активностью (более 10%) и *E. coli* с гемолитической активностью + *E. coli* (дефицит). Формирование новых свойств у *E. coli* (гемолитическая активность, слабая ферментативная активность, дефицитные состояния *E. coli*) свидетельствует об изменении функционального состояния кишечника у детей первого года жизни, связанного с формированием иммунитета ребенка, перехода к смешанному питанию и ряда других факторов, приводящих к формированию функциональных гастроинтестинальных расстройств (Байко С.В., 2007). Показано, что именно колонизация индигенной микрофлорой у детей на грудном вскармливании препятствует возникновению расстройств толстой кишки. Компоненты грудного молока являются средством коммуникации между иммунной системой матери и ребенка (Булатова Е.М., Богданова Н.М., 2007; М.К. McGuire, М.А. McGuire, 2015).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об изменениях межвидовых взаимоотношений микробиоты толстой кишки ассоциированных с нарушениями функционирования кишечника.

Следующим этапом исследования было определение значимости условно-патогенных бактерий-ассоциантов в формировании измененной микробиоты толстой кишки, и установление характера взаимоотношений различных ассоциаций бактерий условно-патогенной группы у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами в различные периоды первого года жизни.

До настоящего времени дискутируется вопрос о роли отдельных видов условно-патогенных микроорганизмов в формировании нормальной микробиоты человека, участии их в этиологии и патогенезе ряда заболеваний. Заселение кишечного биотопа детей первого года жизни условно-патогенными микроорганизмами происходит на фоне подавления нормальных симбионтов, которые обеспечивают колонизационную резистентность. С учетом особенностей и незрелости защитных систем организма ребенка раннего возраста микробные симбионты культивируются

в благоприятных для сукцессии условиях. Клиническое значение высевов условно-патогенных микроорганизмов в высоких титрах у детей первого года жизни, находящихся на грудном вскармливании свидетельствует либо о нарушении кишечной микроэкологии, либо о видовом разнообразии микробиоты, приводя к выработке адекватного иммунного ответа и формированию устойчивости организма ребенка к окружающим его факторам среды (Булатова Е.М., Богданова Н.М., 2007; Liu Z. et al., 2015).

Как известно, такие условно-патогенные бактерии, обитающие в кишечнике человека, как *Klebsiella* spp., *S. aureus*, *Clostridium* spp. обладают набором факторов патогенности. В геноме бактерий находятся локусы, отвечающие за токсинообразование. При выделении токсинов в эпителиоциты толстой кишки макроорганизма ребенка образуется целый ряд симптомов, характеризующих функциональные гастроинтестинальные расстройства – колики, диарея, пигментированная слизь в испражнениях, газообразование. По данным J. Rhoads – у большинства младенцев с коликами регистрируют *K. pneumoniae*, и высокий уровень кальпротектина, что свидетельствует о воспалительном процессе в толстой кишке (Хавкин А.И., Комарова О.Н., 2011; Rhoads J.M. et al., 2009). Клинически бродильные и гнилостные эффекты жизнедеятельности протеолитической толстокишечной микробиоты (*E. coli*, *Clostridium* spp., *Proteus* spp., *Enterobacter* spp. и др.) проявляются метеоризмом, воздушными отрыжками, громким урчанием в животе и спастической болью толстой кишки (Урсова Н.И., 2011). Таким образом, изменение состава кишечной микробиоты может оказывать влияние на патогенез младенческих коликов (Хавкин А.И., Комарова О.Н., 2011; Турти Т.В. и др., 2014).

Энтеробактерии рода *Klebsiella* в последние годы вновь привлекли внимание ученых (Янковский Д.С., Моисеенко Р.А., Дымент Г.С., 2010; Приворотский В.Ф., Луппова Н.Е., 2012). В указанном выше аспекте особое внимание было уделено роду *Klebsiella*, как представителю семейства энтеробактерий с выраженными инвазивными свойствами и активным

капсулообразованием (Aher T., Roy A., Kumar P., 2012; Ishihara U. et al., 2012). Данное утверждение легло в основу следующего этапа нашего исследования.

В настоящее время установлено, что нарастание вирулентности клебсиелл зависит от выраженности техногенного загрязнения окружающей среды, и особенно от содержания никеля. Следует отметить, что территория Иркутской области считается неблагоприятной по насыщению почвы, водоисточников, живых организмов ионами никеля (Мусихина Е.А., Головнева Т.И., 2008; Сосницкая Т.Н., 2014).

Проведенные нами исследования показали, что у детей первого года жизни с функциональными гастроинтестинальными расстройствами более чем в 60,0% выявляется дисбаланс микроорганизмов кишечной микробиоты, связанный с увеличением микробной плотности бактерий рода *Klebsiella* на уровне показателей более 10^4 КОЕ/г (в соответствии с Отраслевым стандартом, 2003 г.). Вследствие чего были рассмотрены ассоциации клебсиелл с другими оппортунистическими симбионтами кишечника детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами. Установлено, что с увеличением возраста детей у условно-патогенных бактерий растет персистентный потенциал, что направлено на сохранение доминирующих позиций в кишечнике (Захарова Ю.В., 2010, 2012).

Показано, что микробиота кишечника детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами характеризовалась преобладанием агрессивной микробиоты и снижением нормальной индигенной.

Таким образом, данное патологическое состояние свидетельствует об изменении взаимоотношений бактериальных агентов (от антагонизма в первый, до симбиоза во второй и третий периоды), что сопутствует нарушению взаимоотношений нормальной и условно-патогенной микробиоты и способствует формированию патологической микробиоты, развитию осложнений, проявляющихся функциональными расстройствами толстой кишки у детей первого года жизни. Бактериальная колонизация

кишечника с ограниченным числом бактериальных разновидностей способна оказывать токсическое действие на организм ребенка. Токсические эффекты в случае нарушения физиологического состава микробиоты могут реализовываться за счет образования токсических газов. С этими газами в ряде случаев связано возникновение кишечных колик (Булатова Е.М., Богданова Н.М., 2007; Урсова Н.И., 2011).

Резюмируя вышеизложенное, можно сделать вывод о том, что в период 3–6 месяцев происходит изменение взаимоотношений микроорганизмов как индигенной, так и условно-патогенной микробиоты независимо от вида вскармливания, что отражается на нормальной микрофлоре (угнетение, дефицитные состояния основной бифидо- и сверхнормативные показатели лактобактерий). Индигенные штаммы микроорганизмов типа *E coli* могут преобразовываться в болезнетворные за счет наличия в них генетических факторов токсичности: адгезинов, энтеротоксинов, инвазинов, цитотоксинов, поддерживая развитие патогенного процесса при активации путей трансдукции сигналов в эпителиальных клетках и приводя к нарушению их цитоскелета. Данные вариации приводят к снижению гуморального иммунитета у детей, что в свою очередь обуславливает формирование воспалительных процессов в толстой кишке детей первого года жизни и адаптивного иммунного ответа, что впоследствии приводит к развитию функциональных расстройств кишечника (Булатова Е.М., Богданова Н.М., 2007; Mueller M.T. et al., 2015).

Заключительным этапом исследований было патогенетическое обоснование принципов коррекции нарушений состава микробиоты толстой кишки с использованием бактериофагов, обладающих выраженной специфичностью к штаммам бактерий рода *Klebsiella*.

Полученные нами данные о чувствительности к бактериофагам представителей микробиоты толстой кишки у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами свидетельствуют о фагоустойчивости бактерий рода *Klebsiella*.

Таким образом, развитие резистентности к определенной расе фага, в основном, отражает потерю микробом специфического рецептора в результате мутации, и эта потеря часто оказывает отрицательное действие на саму бактерию, не защищая ее от многих других фагов, использующих иные рецепторы. Бактерии не имеют общих механизмов устойчивости к антибиотикам и фагам, следовательно, в тяжёлых случаях могут применяться комбинации «антибиотик + бактериофаг», что особенно эффективно для разрушения микробных биопленок (Захаренко С.М., 2013; Ascencio M.A. et al., 2014). По нашим данным изменения свидетельствуют о перестройке функционирования микробиоты толстой кишки у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами с преобладанием более высокого уровня чувствительности бактерий *K. oxytoca*. Показано, что применение бактериофага препятствовало формированию биопленки *K. pneumoniae*. Вновь появляющиеся резистентные бактерии лишаются капсулы и становятся менее вирулентными (Hennequin C. et al., 2012; Pan Y.J. et al., 2013, 2015).

На основании проведенных исследований разработана концептуальная схема патогенетических механизмов формирования нарушенной микробиоты толстой кишки, ассоциированной с функциональными гастроинтестинальными расстройствами и обоснованию принципов коррекции и лечения дисбиоза кишечника с использованием специфических бактериофагов (рис. 7, 8).



Рисунок 7 – Концептуальная схема изменения микробиоты толстой кишки у детей первого года жизни с функциональными гастроинтестинальными расстройствами



Рисунок 8 – Концептуальная схема формирования саногенетических механизмов нормализации микробиоты толстой кишки у детей первого года жизни, приводящих к восстановлению функционирования кишечника

Таким образом, под влиянием патогенных факторов на кишечную микробиоту у детей первого года жизни при адаптивной перестройке происходит восстановление нормальной индигенной микрофлоры, в результате чего отмечается подавление условно-патогенной, приводя к нормализации физиологических процессов толстой кишки.

При дизадаптивной перестройке происходит срыв компенсаторно-приспособительных механизмов адаптации микроорганизмов толстой кишки к окружающей среде, что выражается в снижении общей резистентности организма. В результате происходит не только увеличение микробной плотности условно-патогенной, но и патологической индигенной микробиоты, которая обладая новыми свойствами, спектром факторов патогенности, способствует увеличению их агрессивности.

Следует отметить, что при увеличении агрессивности происходит подавление нормальной индигенной микробиоты, образование у ее представителей новых, нетипичных свойств, приводящих к изменению функционального состояния кишечника, выражающихся кишечной диспепсией. Вследствие трансформации микробиоты кишечника у детей первого года жизни, происходит формирование порочного круга патогенеза функциональных гастроинтестинальных расстройств.

Для ликвидации этого порочного круга необходимо проведение мероприятий, направленных на коррекцию данного патологического состояния. Одним из ведущих звеньев в патогенезе функциональных гастроинтестинальных расстройств является наличие в микробиоте толстой кишки условно-патогенных микроорганизмов – клебсиелл, клостридий, золотистого стафилококка. При выявлении чувствительности культур бактерий условно-патогенной группы к специфическим бактериофагам рекомендуется их применение, а в случае неэффективности – использование продуктов, содержащих микрокультуры бактерий.

Выявленные особенности формирования адаптивных и дизадаптивных состояний микробиоты толстой кишки у детей первого года жизни при

различных видах вскармливания, могут служить объективными критериями оценки функциональных гастроинтестинальных расстройств. Данные критерии обосновывают возможность направленной коррекции указанных сдвигов в микробиоте толстой кишки, способствуя восстановлению ее нормального функционирования, приводя к устранению данных расстройств.

Таким образом, сложное динамическое взаимодействие различных микроорганизмов, представленных индигенной и условно-патогенной микробиотой толстой кишки у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами создают функциональные условия, способствующих к преобладанию саногенетических механизмов над патогенетическими.

ВЫВОДЫ

1. В патогенезе развития функциональных гастроинтестинальных расстройств у детей при грудном вскармливании: в период от рождения до 3 месяцев ключевую роль играют высокое содержание дефицитных показателей бифидобактерий (80,1%), *E. coli* с нормальной ферментативной активностью (40,0%) и сверхнормативных показателей лактобактерий – 92,4%, появление штаммов *E. coli* с измененными свойствами; в период от 3 до 6 месяцев – снижение дефицитных и сверхнормативных показателей (бифидо- и лактобактерий, *E. coli* с измененными свойствами); в период от 6 до 12 месяцев – снижение сверхнормативных показателей лактобактерий в 2 раза (65,4%) и увеличение доли *E. coli* с различным спектром свойств – гемолитической активностью (до 38,5%), слабой ферментативной активностью (до 23,1%).

2. Для микробиоты толстой кишки у детей 3–6 месяцев, находящихся на смешанном вскармливании, характерно увеличение микробной плотности дефицитных показателей *E. coli* и *E. coli* со слабыми ферментативными свойствами в 2 раза по сравнению с детьми, находящимися на грудном вскармливании. Особенностью индигенной микробиоты толстой кишки у детей 6–12 месяцев, находящихся на смешанном вскармливании по сравнению с грудным вскармливанием, является увеличение частоты встречаемости сверхнормативных показателей лактобактерий на фоне снижения *E. coli* с гемолитическими свойствами более чем в 3 раза, слабыми ферментативными свойствами в 2 раза и снижение дефицитных показателей *E. coli* более чем в 3 раза.

3. Патогенетически значимыми изменениями в микробиоте толстой кишки у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами в период 3–6 месяцев является увеличение ассоциаций *E. coli* (дефицит) + *E. coli* со слабой ферментативной активностью (при смешанном до 55,8%, а при грудном вскармливании до 20%). В период 6–12 месяцев ассоциации *E. coli*

с гемолитической активностью и полноценной *E. coli* выявляются в 3 раза чаще, а *E. coli* с гемолитической активностью + *E. coli* (дефицит) в 10 раз чаще при грудном вскармливании по сравнению со смешанным.

4. Характерной особенностью в патогенезе функциональных гастроинтестинальных расстройств у детей, находящихся на грудном вскармливании, с увеличением возраста является модификация микробиоты толстой кишки, заключающаяся в увеличении микробной плотности доминирующих видов – *Klebsiella* spp. и *Clostridium* spp. и снижении *S. aureus*, а у детей на смешанном вскармливании – снижение таковых до показателей статистически незначимых между данными группами.

5. Одним из ключевых звеньев патогенеза функциональных гастроинтестинальных расстройств во всех возрастных периодах у детей, находящихся как на грудном, так и на смешанном вскармливании, является присутствие ассоциаций микроорганизмов-симбионтов толстой кишки – *E. coli* (дефицит) + *E. coli* со слабой ферментативной активностью, способствуя увеличению концентрации микроорганизмов-симбионтов условно-патогенной микробиоты.

6. Патогенетически важными взаимоотношениями условно-патогенных микроорганизмов-ассоциантов (*Klebsiella* spp. + *Clostridium* spp., *Klebsiella* spp. + *S. aureus*) у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами, находящихся на грудном вскармливании в период 3–6 месяцев по сравнению с таковыми у детей, находящихся на смешанном, являются более выраженные симбиотические связи (Коэффициент Жаккара 0,39 и 0,9 соответственно), а в период 6–12 месяцев – менее выраженные (Коэффициент Жаккара 0,96 и 0,5 соответственно).

7. У детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами штаммы *K. pneumoniae* имеют большую чувствительность к действию бактериофагов клебсиелл пневмоний и секста от трех до шести месяцев по сравнению со штаммами *K. oxytoca* аналогичного периода в

42,3% и 45,9% случаев, соответственно, обеспечивая саногенетическую направленность перестройки микробиоты толстой кишки.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ФР – функциональные расстройства

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

КЦЖК – короткоцепочечные жирные кислоты

КОЕ/г – колоний образующие единицы на 1 грамм фекалий

СФА – слабая ферментативная активность

GALT – лимфоидная ткань слизистой оболочки кишечника

TLR – Toll-подобные рецепторы

КНС – коагулазонегативные стафилококки

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

УПМ – условно-патогенные микроорганизмы

АБТ – антибактериальная терапия

АБП – антибактериальные препараты

НКП – нормальная (полноценная) *E. coli*

КП с ГА – *E. coli* с гемолитической активностью

КП с СФА – *E. coli* со сниженной/слабой ферментативной активностью

ГА – гемолитическая активность

ФГИР – функциональные гастроинтестинальные расстройства

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агаева, М.И. Прогнозирование функционального состояния новорожденных на этапе перинатальной диагностики / М.И. Агаева, З.А. Агаева // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – №6. – С. 9.
2. Азарова, Е.В. Клинико-anamнестическая характеристика новорожденных с различным течением ранней неонатальной адаптации / Е.В. Азарова, Т.В. Бирюкова, В.А. Грищенко, А.А. Вялкова // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2007. – № 2. – С. 14-17.
3. Акопян, А.Н. Диагностика и лечение функциональных нарушений моторики органов пищеварения у детей (электромиографические и метаболические аспекты: автореф. дис. ... канд. мед. наук / А.Н. Акопян– Москва, 2014. – 24 с.
4. Амерханова, А.М. Научно-производственная разработка новых препаратов-синбиотиков и клинико-лабораторная оценка их эффективности: автореф. дис. ... докт. мед. наук / А.М. Амерханова – Москва, 2011 – 49 с.
5. Анализ видового разнообразия сообществ симбиотических микроорганизмов микробиоты толстой кишки человека / И.В. Белова, А.Г. Точилина, И.В. Соловьева [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2015. - № 1-1. – С. 1-11.
6. Анастасевич, Л.А. Кишечные колики у детей раннего возраста: причины, диагностика, лечение / Л.А. Анастасевич // РМЖ. – 2008. – Т. 16. – № 3. – С. 154.
7. Ардатская, М.Д. Синдром избыточного бактериального роста и нарушение процессов пищеварения и всасывания: патогенетическая нутриционная терапия / М.Д. Ардатская // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2009. – № 6. – С. 84-96.

8. Ахваткина, Н.Б. Особенности иммунитета детского возраста / Н.Б. Ахваткина, А.А. Махалова // Вестник КазНМУ. –2012. – №3 – С. 117-120.
9. Ахмадеева, Э.Н. Особенности микробного пейзажа новорожденных в зависимости от способа родоразрешения / Э.Н. Ахмадеева, В.Р. Амирова, О.А.Брюханова // Российский Вестник перинатологии и педиатрии. – 2006. – № 5. – С. 19-22.
10. Байко, С.В. Гемолитико-уремический синдром: эпидемиология, классификация, клиника, диагностика, лечение (Обзор литературы. Часть 1) / С.В. Байко // Нефрология и диализ. – 2007. – Т. 9, № 4. – С. 370-377.
11. Барбоса, Т.М. Использование антибиотиков и резистентность: что скрывается в тени? / Т.М. Барбоса, С.Б. Леви // Клиническая антибиотикотерапия. – 2001. – №3. – С. 30-32.
12. Бегиашвили Л.В. Клиническая оценка нарушений метаболической активности микрофлоры кишечника при ОКИ у детей и методы коррекции: автореф. дисс. канд. мед. наук / Л.В. Бегиашвили – Москва, 2010. – 24 с.
13. Безлер, Ж.А. Функциональные заболевания желудочно-кишечного тракта у детей раннего возраста / Ж.А. Безлер, Е.А. Баранаева // Учебно-методическое пособие. – Минск, 2013 г. – 42 с.
14. Бельмер, С.В. Функциональные расстройства органов пищеварения у детей (в свете Римских критериев IV) / С.В. Бельмер, А.И. Хавкин, Д.В. Печкуров. – М.: «Ремдер», 2016. – 120 с.
15. Беляева, И.А. Функциональные нарушения желудочно-кишечного тракта у грудных детей, родившихся недоношенными / И.А. Беляева // Актуальные проблемы педиатрии. – X Конгресс педиатров России, 2006. – С. 56.
16. Богданова, Н.М. Нарушения пищеварения у детей раннего возраста: возможности коррекции продуктами функционального питания / Н.М.

- Богданова // Лечащий врач. – 2013. – № 6. – Электронный журнал: <http://www.lvrach.ru/2013/06/15435>
17. Бондаренко, В.М. Роль дисфункции кишечного барьера в поддержании хронического воспалительного процесса различной локализации / В.М. Бондаренко, Е.В. Рябиченко // Журнал Микробиологии. – 2010. – № 1. – С. 92-100.
 18. Бондаренко, В.М. Дисбактериоз кишечника как клинико-лабораторный синдром: современное состояние проблемы / В.М. Бондаренко, Т.В. Мацулевич. – М.: ГЭОТАР-медиа, 2007. – 304 с.
 19. Бондаренко, В.М. Механизмы транслокации бактериальной аутофлоры в развитии эндогенной инфекции / В.М. Бондаренко // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН (электронный журнал). – 2013. – №3. – С. 1-21.
 20. Бондаренко, В.М. Новые горизонты бактериофаготерапии / В.М. Бондаренко // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН (электронный журнал). – 2013. - № 4. – С. 1-12.
 21. Булатова, Е.М. Кишечная микрофлора – один из факторов формирования здорового человека / Е.М. Булатова, Н.М. Богданова // Медицинский совет. – 2013. – № 1. – С. 30-33.
 22. Булатова, Е.М. Становление кишечной микрофлоры в постнатальном периоде и ее значение в формировании адаптивного иммунологической толерантности / Е.М. Булатова, Н.М. Богданова // Вопросы современной педиатрии. – 2007. – Т. 6, № 3. – С. 53-61.
 23. Бурганова, Р.Ф. Изменение патогенности *Klebsiella pneumoniae* при дисбиозе кишечника, вызванного бластоцистной инвазией: автореф. дис... канд. биол. наук / Р.Ф. Бурганова – Челябинск, 2011. – 21 с.
 24. Бурганова, Р.Ф. Детекция генов *Klebsiella pneumoniae*, кодирующих факторы патогенности, при дисбиотических нарушениях на фоне бластоцистной инвазии / Р.Ф. Бурганова, Н.И. Потатуркина-Нестерова,

- И.С. Немова // *Фундаментальные исследования*. – 2011. – № 9. – С.21-24.
25. Бухарин, О.В. Взаимодействие *Bifidobacterium bifidum* с представителями нормальной микрофлоры в микросимбиозе кишечника человека / О.В. Бухарин, Н.Б. Перунова, Е.В. Иванова // *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН (электронный журнал)*. – 2012. – № 3. – С. 1-9.
26. Бухарин, О.В. Межбактериальные взаимодействия / О.В. Бухарин, Б.Я. Усвяцов, Л.М. Хуснутдинова // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2003. – № 4. – С. 3-8.
27. Бухарин, О.В. Инфекция – модельная система ассоциативного симбиоза / О.В. Бухарин // *Журнал Микробиологии*. – 2009. – № 1. – С. 83-86.
28. Бухарин, О.В. Роль ассоциативных микросимбионтов в функционировании ассоциативного симбиоза / О.В. Бухарин, Е.А. Кремлева, А.В. Сгибнев // *Журнал Микробиологии*. – 2012. – № 6. – С. 89-95.
29. Васечкина, Л.И. Функциональные нарушения органов пищеварения у детей – алгоритмы диагностики и подходы к лечению / Л.И. Васечкина, Т.К. Тюрина // *Альманах клинической медицины*. – 2012. – №27. – С.3-8.
30. Вахитов, Т.Я. Концепция суперорганизма в биологии и медицине / Т.Я. Вахитов, С.И. Ситкин // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. – 2014. – № 7 (107). – С. 72-85.
31. Веселов, А.В. Эмпирическая терапия инвазивного кандидоза в отделениях реанимации и интенсивной терапии: современное состояние проблемы / А.В. Веселов // *Клиническая микробиология. Антимикробная терапия*. – 2011. – № 13 (1). – С. 4-18.
32. Видовой спектр бифидобактерий на фоне общей характеристики микрoэкологического пейзажа кишечника у детей с функциональными

- нарушениями органов пищеварения / У.М. Немченко, С.М. Попкова, Е.Б. Ракова [и др.] // Боллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2014. – Т. 34, № 4. – С. 59-66.
33. Возрастные аспекты микрофлоры пищеварительного канала и иммунной системы кишечника / К. Алибек, Т. Гречаная, Л. Гречаный [и др.] // Физиологический журнал. – 2008. – Т. 54, № 3. – С. 105-126.
34. Вскармливание детей грудного возраста: инф. письмо / А.М. Ожегов, Н.И. Пенкина. – Ижевск, 2010. – 31 с.
35. Вскармливание детей раннего возраста: инф. письмо / А.М. Ожегов, Н.И. Пенкина. – Ижевск, 2013. – 50 с.
36. Вскармливание детей грудного возраста: учебное пособие / А.М. Ожегов, Н.И. Пенкина, М.К. Ермакова, М.Н. Канксова. – Ижевск, 2013. – 19 с.
37. Габидуллин, З.Г. Характеристика свойств, определяющих персистенцию моно- и ассоциированных культур условно-патогенных энтеробактерий / З.Г. Габидуллин, А.А. Ахтариева // Журнал Микробиологии. – 2006. – №4. – С. 62-64.
38. Гайдышев, И.П. Анализ и обработка данных. Специальный справочник / И.П. Гайдышев – СПб.: Питер, 2001. — 750 с.: ил.
39. Германенко, И.Г. Дисбактериозы кишечника у детей / И.Г. Германенко // Международные обзоры: клиническая практика и здоровье. – 2014. – № 2. – с. 67-72.
40. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / Пер. с англ. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
41. Гриневич, В.Б. Принципы коррекции дисбиозов кишечника / В.Б. Гриневич, С.М. Захаренко, Г.А. Осипов // Лечащий врач. – 2008. – № 6. – С. 10 -14.
42. Гриценко, Л.З. Особенности микробного пейзажа пациенток с кандидозной инфекцией / Л.З. Гриценко, Н.А. Резниченко // Репродуктивное здоровье женщины. – 2006. – № 3. – С. 161.

43. Диетологические возможности профилактики атопии у детей в период введения прикорма / Т.В. Турти, Л.С. Намазова-Баранова, Т.Э. Боровик [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2012. – Т. 11, № 4. – С.38-45.
44. Дисрегуляция иммунного ответа на индигенную микрофлору у детей и подростков с воспалительными заболеваниями кишечника / М.Г. Ипатова, П.В. Шумилов, Ю.Г. Мухина [и др.] // Педиатрия. – 2010. – Т. 89, № 2. – С. 45-49.
45. Донских, Е.Е. Молекулярный и микробиологический мониторинг становления микрофлоры кишечника новорожденных: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е.Е. Донских– Москва, 2010. – 29 с.
46. Дубровская, М.И. Современное состояние проблемы функциональных расстройств пищеварительного тракта у детей раннего возраста / М.И. Дубровская // Вопросы современной педиатрии. – 2013. – Т.12, № 4. – С. 26-31.
47. Дьяченко, П.А. Антибиотики. Конец эпохи? / П.А Дьяченко // Вісник СумДУ. Серія «Медицина». – 2012. – № 2. – С. 5-19.
48. Егорова, С.А. Этиологическая значимость условно патогенных энтеробактерий при острых кишечных заболеваниях и дисбиотических состояниях кишечника / С.А. Егорова, М.А. Макарова, Л.А. Кафтырева // Инфекция и иммунитет. – 2011. – Т. 1, №2. – С. 181-184.
49. Завгородняя, Е.Ф. Характеристика кишечных микробиоценозов у детей с дисбиотическими нарушениями / Е.Ф. Завгородняя, Л.А. Сташкевич, Е.А. Битус // Дальневосточный Журнал Инфекционной Патологии. – 2010. – №17. – С.148-152.
50. Захаренко, С.М. Бактериофаги: современные аспекты применения, перспективы на будущее / С.М. Захаренко // Медицинский совет. – 2013. – №10. – С. 72-74.

51. Захарова, Е.А. Микроэкологическая характеристика кишечного микробиоценоза часто болеющих детей / Е.А. Захарова, И.С. Азизов // Журн. микробиол. – 2012. – № 2. – С. 63-68.
52. Захарова, И.Н. Тактика педиатра при младенческих кишечных коликах / И.Н. Захарова, Н.Г. Сугян, Е.Н. Андрухина, Ю.А. Дмитриева // РМЖ. – 2010. – № 1. – С. 11.
53. Захарова, Ю.В. Биологические свойства бифидобактерий в ассоциативном симбиозе толстой кишки / Ю.В. Захарова // Журн. Медицина в Кузбассе. – 2010. – №1. – С.14-16.
54. Захарова, Ю.В. Микробиоценоз и биологические свойства микрофлоры кишечника у ВИЧ–инфицированных детей / Ю.В. Захарова // Immunopathology, Allergology, Infectology. – 2012. – N 3. – С. 48-55.
55. Зюбр, Т.П. Препараты нормофлоры / Т.П. Зюбр, И.А. Мурашкина, И.Б. Васильев // Учебно-методическое пособие. – Иркутск, 2008 г. – 59 с.
56. Иванова, Е.И. Выявление генов патогенности, кодирующих способность к токсинообразованию, у штаммов *Escherichia coli*, выделенных из кишечного биотопа детей / Е.И. Иванова, С.М. Попкова, Ю.П. Джиоев, Е.Б. Ракова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2013. – № 2(90), Ч. 2. – С. 111-114.
57. Иванова, Е.И. Формирование патогенного потенциала у аутоштаммов *Escherichia coli* в ассоциативном симбиозе толстой кишки у детей с функциональными нарушениями желудочно-кишечного тракта: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Е.И. Иванова – Иркутск, 2014. – 23 с.
58. Изикаев, В.М. Некоторые биологические свойства монокультур и сокультивируемых вариаций бактерий рода *Enterobacter* и *Staphylococcus aureus* и особенности их действия на перитониальные макрофаги мышей: автореф. дисс. канд. мед. наук / В.М. Изикаев – Челябинск, 2013. – 24 с.

59. Ильенко, Л.И. К вопросу о лечении функциональных нарушений желудочно-кишечного тракта у детей грудного возраста и первых лет жизни / Л.И. Ильенко, И.Н. Холодова, Т.Н. Сырьева, А.А. Рубцова // Педиатрия. – 2010. – № 89 (5). – С. 118-122.
60. Ильина, Н.А. *E.coli* как условно-патогенные бактерии кишечника человека / Н.А. Ильина, Е.А. Карпеева, И.Т. Гусева // Современные наукоемкие технологии.– 2008. – № 9. – С. 60-62.
61. Использование симбиотических препаратов в лечении атопического дерматита у детей раннего возраста: методические рекомендации / Э.В. Дудникова, Н.Н. Кобзева, Е.С. Приходская. – Ростов н/Д.: Изд-во РостГМУ, 2013. – 41 с.
62. Исследование антибиотико- и фагочувствительности нозокомиальных штаммов микробов, выделенных от пациентов трансплантологической клиники / Н.И. Габриэлян, Е.М. Горская, Т.С. Спирина [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2011. – Т. 8, №3. – С. 26-32.
63. Казначеева, Л.Ф. Диетическая коррекция при функциональных нарушениях желудочно-кишечного тракта у детей первого полугодия жизни / Л.Ф. Казначеева, Н.С. Ишкова, К.С. Казначеев // Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2012. – Т. 10, № 3. – С. 135-140.
64. Кафтырева, Л.А. Резистентность энтеробактерий к антимикробным препаратам выбора при лечении острых кишечных инфекций / Л.А. Кафтырева, С.А. Егорова, Е.А. Кожухова // Казанский медицинский журнал. – №5. – Т. 9. – 2009. – С. 699-704.
65. Квашнина, Л.В. Критические периоды развития и пограничные состояния здоровья у детей / Л.В. Квашнина // Электронный ресурс: http://revimed.do.am/publ/kriticheskie_periody_razvitija_i_pogranichnye_sostojanija_zdorovja_u_detej/1-1-0-150.

66. Кешишян, Е.С. Особенности формирования микрофлоры кишечника у детей первого года жизни. Новый пробиотик Линекс Детский: показания к применению / Е.С. Кешишян, Е.К. Бердникова // Практика педиатра. – 2013. – С. 51-54.
67. Кешишян, Е.С. Функциональные нарушения желудочно-кишечного тракта у детей раннего возраста / Е.С. Кешишян, Е.К. Бердникова, А.И. Хавкин // Практика педиатра. – 2012. – № 4: Электронный ресурс: <http://www.adventus.info/doc/g846713.php>.
68. Комарова, Е.В. Микроэкологические и функциональные нарушения кишечника при хроническом запоре у детей. Методы коррекции / Е.В. Комарова // Педиатрическая фармакология. – 2010. – Т. 7, № 6. – С. 74-76.
69. Комплексное лечение бактериальной инфекции у новорожденных / Г.М. Дементьева [и др.] // Рос. вестник перинатологии и педиатрии. – 2007. – №1. – С. 9-16.
70. Копанев, Ю.А. Дисбактериоз у детей / Ю.А. Копанев, А.Л. Соколов. – М.: ОАО «Изд-во «Медицина», 2008. – 128 с.
71. Корниенко, Е.А. Роль кишечной микрофлоры и пробиотиков в развитии иммунитета у грудных детей / Е.А. Корниенко, О.К. Нетребенко, С.Е. Украинцев // Педиатрия. – 2009. – Т. 87. – №1. – С. 77-83.
72. Корниенко, Н.А. Значение нарушений кишечного микробиоценоза и лактазной недостаточности при функциональных расстройствах желудочно-кишечного тракта у детей раннего возраста / Н.А. Корниенко, С.С. Кубалова, М.А. Дмитриенко, И.Э.Джагацпанян // Вопросы детской диетологии. – 2013. – № 4. – С. 26-30.
73. Коршунова, Е.Ю. Физиологические особенности иммунной системы детского возраста / Е.Ю. Коршунова // Учебно-методическое пособие для студентов педиатрических и лечебных факультетов, педиатров, терапевтов, врачей других специальностей. – Иркутск, 2003 г. – 23 с.

74. Костюкевич, О.И. Применение бактериофагов в клинической практике: эпоха Возрождения / О.И. Костюкевич // РМЖ. – 2015. – № 21. – С. 1258-1262.
75. Кунилова, Е.С. Значимость факторов патогенности условно-патогенных микроорганизмов при оценке их этиологической роли в развитии заболевания / Е.С. Кунилова, Л.А. Краева, Г.Я. Ценева, Г.Н. Хамдулаева // Инфекция и иммунитет. – 2012. – Т. 2, № 4. – С.699-704.
76. Кушнир, И.Э. Микробиота кишечника и здоровье человека. Современные подходы к коррекции дисбиоза кишечника / И.Э. Кушнир // Здоров'я України. – 2015. – № 1. – С. 41-42.
77. Куяров, А.А. Роль нормальной микрофлоры и лизоцима в выборе пробиотических штаммов для профилактики аллергических заболеваний у студенческой молодежи Севера: автореф. дис. ... канд. биол. наук / А.А. Куяров – Москва, 2015. – 23 с.
78. Кюттер, Э. Фаговая терапия: бактериофаги как антибиотики / Перевод с англ. – СПб.: НИИ детских инфекций, 2001. – 41 с.
79. Леванова, Л.А. Микроэкология кишечника жителей Западной Сибири, коррекция дисбиотических состояний: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Л.А. Леванова – Москва, 2003. – 28 с.
80. Лоранская, И.Д. Состояние микробиоценоза желудочно-кишечного тракта в норме и при синдроме раздраженного кишечника / И.Д. Лоранская, М.Н. Болдырева, О.А. Лаврентьева / Кремлевская медицина. Клинический вестник. – 2011. – № 3. – С. 136-139.
81. Мазанкова, Л.Н. Современная патогенетическая терапия острых кишечных инфекций у детей / Л.Н. Мазанкова, С.Г. Горбунов, Л.А. Павлова, Л.В. Багиашвилли // Детские инфекции. – 2012. – Т. 11, № 2. – С. 43-47.
82. Медицинская микробиология / Гл. ред. В.И. Покровский, О.К. Поздеев – М.: ГОЭТАР МЕДИЦИНА, 1998. – 1200с.: ил.

83. Меерсон, Ф.З. Метод адаптации к периодической гипобарической гипоксии в терапии и профилактике: методические рекомендации / Ф.З. Меерсон, В.П. Твердохлиб, В.М. Боев, В.К. Филиппов – Москва, 1989. – 10 с.
84. Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем: МКБ-10. В 3-х томах. – М.: Медицина, 2003.
85. Методики клинических лабораторных исследований: Справочное пособие. Том 3. Клиническая микробиология. Бактериологические исследования. Микологические исследования. Паразитологические исследования. Инфекционная иммунодиагностика. Молекулярные исследования в диагностике инфекционных заболеваний / Под редакцией В.В. Меньшикова. – М.: Лабора, 2009. – С. 71-141.
86. Микробиом человека и современные методы его оздоровления (обзор литературы) / Д.С. Янковский, В.П. Широбоков, А.П. Волосовец [и др.] // Журнал НАМН Украины. – 2013. – Т. 19, № 4. – С. 411-420.
87. Микробная экологическая система человека и использование отечественных мультипробиотиков для профилактики и устранения ее нарушений у детей // Е. М. Лукьянова, Ю. Г. Антипкин, Д. С. Янковский [и др.] // Современная педиатрия. – 2009. - № 4 (26). – С. 117-128.
88. Микроэкологический пейзаж различных биотопов у детей Иркутской области / С.М. Попкова, Е.Б. Ракова, Е.Л. Кичигина [и др.] // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 5 (87). – Ч. 1. – С. 288-292.
89. Мусихина, Е.А. Мониторинг почв территории Иркутской области / Е.А. Мусихина, Т.И. Головнева // Успехи современного естествознания. – 2008. - № 7. – С. 58-60.
90. Национальная программа оптимизации вскармливания детей первого года жизни в Российской Федерации / Утверждена на XVI Съезде педиатров России (февраль 2009 г.). – Москва, 2009.

91. Нетребенко, О.К. Развитие и укрепление иммунитета в первый, решающий год жизни // раздел – «Эволюция кишечной микрофлоры». Информация только для медицинских работников.– 2005.
92. Николаева, И.В. Микрoэкологические нарушения у матери и ребенка: диагностика, прогностическое значение: автореф. дис.... докт. мед. наук / И.В. Николаева – Казань, 2011. –39 с.
93. Николаева, И.В. Пробиотики у новорожденных и детей грудного возраста / И.В. Николаева, Л.А. Купчихина // Вестник современной клинической медицины. – 2013. – Т.6, №3. – С. 48-52.
94. Николаева, И.В. Референтные значения состава кишечной микрофлоры у детей раннего возраста / И.В. Николаева, В.А. Анохин, С.В. Халиуллина // Практическая медицина. – 2012. – №7(62). – С.114-117.
95. Нилова, Л.Ю. Характеристика условно-патогенных микроорганизмов, выделенных при диагностике дисбактериоза толстого кишечника: автореф. дис. ... канд. мед. наук. / Л.Ю. Нилова – Санкт-Петербург, 2009. – 22 с.
96. Онтогенез и дизонтогенез микробиоты кишечника у детей раннего возраста: триггерный механизм нарушений детского здоровья / И.А. Беляева, Е.П. Бомбардирова, М.Д. Митиш [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2017. - № 16 (1). – С. 29-38.
97. Определитель бактерий Берджи. Том 1 // Под редакцией Дж. Хоулт. – М.: Мир, 1997. – 432 с.:ил.
98. Определитель бактерий Берджи. Том 2 / Колл. авторов // Под редакцией Дж. Хоулт. – М.: Мир, 1997. – 368 с.:ил.
99. Определение дисбиотических изменений желудочно-кишечного тракта по маркёрам содержимого кишечника. Федеральные клинические рекомендации. – Нижний Новгород: Изд-во «Ремедиум Приволжье», 2016. – 40 с.

100. Опыт молекулярно-генетической диагностики острых кишечных инфекций / Б.Р. Кулуев, Д.Я. Хайдарова, Д.Н. Дубровская [и др.] // Медицинский Вестник Башкортостана. – 2012. – Т. 7, №1. – С. 59-63.
101. Осадчук, М.А. Дисбактериоз кишечника. Часть 2. / М.А. Осадчук, М.М. Осадчук // 2010. – Электронный ресурс: <https://medi.ru/info/994/>
102. Осадчук М.А. Запор в поликлинической практике / М.А. Осадчук, Д.В. Балашов, М.М. Осадчук // Поликлиника. – 2015. – № 1. – С. 90-94.
103. Особенности формирования микрофлоры у детей раннего возраста и пути ее коррекции с помощью пробиотиков / Л.И. Кафарская, М.Л. Шуникова, Б.А. Ефимов [и др.] // В практику педиатра. – 2011. – С. 94-98.
104. Отраслевой Стандарт «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» / ОСТ 91500.11.0004-2003. Приказ МЗ РФ № 231 от 09.06.2003. – 70 с.
105. Поздеев, О.К. Медицинская микробиология: учебное пособие / Под ред. В.И. Покровского. – 4-е изд., стереот. – М: ГОЭТАР- медиа, 2010. – 768 с.: ил.
106. Препараты бактериофагов: краткий обзор современного состояния и перспектив развития / И.В. Красильников, К.А. Лыско, Е.В. Отрашевская [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – Т. 26, №2 (2). – С. 33-37.
107. Приворотский, В.Ф. Младенческие кишечные колики: проблема и пути решения / В.Ф. Приворотский, Н.Е. Луппова // Педиатрия. – 2012. – Т. 91, №4. – С. 98-105.
108. Рабочий протокол диагностики и лечения функциональных заболеваний органов пищеварения у детей // ГастроNews. – 2010. – С.3-15.
109. Ракова, Е.Б. Современная структура кишечного микробиоценоза у детского населения Иркутской области: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Е.Б. Ракова – Иркутск, 2010. – 23 с.

110. Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противозидемической практике / Б.И. Асланов, Л.П. Зуева, Л.А. Кафтырева // Федеральные клинические (методические рекомендации). – Москва, 2014 г. – 39 с.
111. Розенберг, Г.С. Поль Жаккар и сходство экологических объектов / Г.С. Розенберг // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. – 2012. – Т. 21, № 1. – С. 190-202.
112. Рубцова, А.А. Дифференцированный подход к диагностике, лечению и профилактике функциональных нарушений желудочно-кишечного тракта у детей раннего возраста: автореф. дис. ... канд. мед. наук / А.А. Рубцова – Москва, 2011. – 22 с.
113. Рыбальченко, О.В. Образование биопленок симбионтными представителями микробиоты кишечника как форма существования бактерий / О.В. Рыбальченко, В.М. Бондаренко // Вестник СПбГУ. – 2013. – Серия 11. - № 1. – С. 179-186.
114. Савилов, Е.Д. Эпидемиологический анализ: Методы статистической обработки материала / Е.Д. Савилов, В.А. Астафьев, С.Н. Жданова, Е.А. Заруднев. – Новосибирск: Наука-Центр, 2011. – 156 с.
115. Самсыгина, Г.А. Эпидемиология инфекционно-воспалительных заболеваний и роль грибов рода *Candida* у новорожденных детей / Г.А. Самсыгина, Г.Н. Буслаева. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2008. – 112 с.
116. Сахарова, Е.С. Применение пробиотика Биогая - помощь в становлении правильного баланса микрофлоры кишечника у детей. Подход к решению проблемы младенческих колик / Е.С. Сахарова, Е.С. Кешишян // Практика педиатра. – 2015. – С. 49-53.
117. Смирнова, Г.И. Микробиота кишечника и использование пробиотиков при атопическом дерматите у детей / Г.И. Смирнова, Г.Р. Манкуте // Российский педиатрический журнал. – 2015. – Т. 6, № 18. – С. 46-53.

118. Сосницкая, Т.Н. Экологическое состояние почв г. Свирска Иркутской области: особенности накопления и детоксикации тяжелых металлов: автореф. ... канд. биол. наук / Т.Н. Сосницкая – Иркутск, 2014. – 23 с.
119. Состав и функции микробиоценозов различных биотопов макроорганизма и клиническая значимости их нарушений / С.К. Джораева, В.В. Гончаренко, Е.В. Щеголева [и др.] // Дерматология и венерология. – 2015. – № 2 (68). – С. 5-19.
120. Стефании, Д.В. Иммунология и иммунопатология детского возраста / Д.В. Стефани, Ю.Е. Вельтищев. – М., 1996. – 384 с.
121. Стецюк, О.У. Безопасность и переносимость антибиотиков в амбулаторной практике / О.У. Стецюк, И.В. Андреева, А.В. Колосов, Р.С. Козлов // Клиническая микробиология. Антимикробная химиотерапия – 2011. – Т. 13, № 1. – С. 67-84.
122. Стоян, М.В. Функциональные заболевания желудочно-кишечного тракта у детей раннего возраста / М.В. Стоян // Учебно-методическое пособие. – Ставрополь, 2016 г. – 17 с.
123. Сугян, Н.Г. Клиническое значение короткоцепочечных жирных кислот при функциональных нарушениях желудочно-кишечного тракта у детей раннего возраста: автореф. ... канд. мед. наук / Н.Г. Сугян – Москва, 2010. – 25 с.
124. Ткач, С.М. Кишечная микробиота и функциональные заболевания кишечника / С. М. Ткач, К. С. Пучков, А. К. Сизенко, Ю. Г. Кузенко // Общая гастроэнтерология. – 2014. – № 1 (75). – С. 118-129.
125. Турти, Т.В. Современные возможности сохранения грудного вскармливания у детей с кишечными коликами / Т.В. Турти, Л.С. Намазова-Баранова, И.А. Беляева [и др.] // Педиатрическая фармакология. – 2014. – Т. 11, № 1. – С. 55-58.
126. Урсова, Н.И. Младенческие кишечные колики. Современные данные / Н.И. Урсова // Вопросы современной педиатрии. – 2011. – Т.10, № 2. – С. 125-131.

127. Урсова, Н.И. Младенческие кишечные колики: причины, механизмы развития, возможности коррекции / Н.И. Урсова // Трудный пациент. – 2014. – Т. 12, № 5. – С. 12-18.
128. Урсова, Н.И. Формирование кишечного микробиоценоза: состояние проблемы / Н.И. Урсова // Вопросы современной педиатрии. – 2011. – Т.10, №4. – С. 62-69.
129. Учайкин, В.Ф. Неотложные состояния в педиатрии / В.Ф. Учайкин, В.П. Молочный. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 256 с.
130. Фагирование в комплексном подходе к элиминации мультирезистентных штаммов *K. pneumoniae* из отделения реанимации новорожденных / А.В. Власова, Н.Ю. Горячева, Е.Л. Христофорова [и др.] // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2013. – № 1 (68). – С. 36-41.
131. Функциональные нарушения желудочно-кишечного тракта у детей раннего возраста. Рациональная коррекция / С.В. Малолетняя, Н.Е. Зайцева, А.В. Пьянкова [и др.] // Современная педиатрия. – 2009. – № 4 (26). – С. 147-150.
132. Функциональное состояние основных систем жизнедеятельности организма новорожденных / И.А. Беляева, Г.В. Яцык, И.В. Дворяковский [и др.] // Российский педиатрический журнал. – 2007. – №3. – С. 49-55.
133. Хавкин, А.И. Кишечные колики у детей раннего возраста / А.И. Хавкин // Участковый педиатр. – 2012. – № 1. – Электронный ресурс: <https://medi.ru/info/10968/>
134. Хавкин, А.И. Принципы диетотерапии кишечных колик у детей раннего возраста / А.И. Хавкин, О.Н. Комарова // Вопросы современной педиатрии. – 2011. – Т. 10, № 4. – С. 133-139.
135. Холодова, И.В. Тактика лечения функциональных нарушений желудочно-кишечного тракта у детей раннего возраста / И.Н.

- Холодова, Л.И. Ильенко, А.А. Рубцова // Медицинский совет. – 2015. – № 1. – С. 46-48.
136. Цитокиновый профиль кишечника при экспериментальной клебсиеллезной инфекции и на фоне ее терапии различными иммуномодулирующими препаратами / А.О. Бусленко, А.В. Алешукина, Н.Ю. Пшеничная [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2015. - № 5. Электронный ресурс: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=22357>
137. Чердниченко, Ю.В. Микробиота кишечника ребенка и здоровье / Ю.В. Чердниченко // Медицинский совет. – 2015. - № 6. – С. 47-50.
138. Шендеров, Б.А. Кишечная микробиота человека и нейродегенеративные заболевания / Б.А. Шендеров, В.Л. Голубев, А.Б. Данилов, А.В. Прищепа // Неврология (спецвыпуск). – 2016. – № 1. – С. 7-13.
139. Шолохов, Л. Ф. Закономерности и механизмы развития адаптивных и дизадаптивных реакций эндокринной системы (экспериментально-клиническое исследование) : автореф. дисс. ... д-ра мед. наук / Л.Ф. Шолохов– Иркутск, 2004. – 46 с.
140. Щеглов, В.А. Состояние иммунитета при хроническом гастрите у детей / В.А. Щеглов // Успехи современного естествознания. – 2015. – № 3. – С. 93-97.
141. Щербак, В.А. Функциональные нарушения желудочно-кишечного тракта у детей / В.А. Щербак, Н.М. Щербак // ЭНИ Забайкальский медицинский вестник. – 2014. – 2014. – № 1. – С. 123-131.
142. Щербенков, И.М. Бактериофаги. Что мы знаем о них? Современные возможности фаготерапии в практике врача-педиатра / И.М. Щербенков // Медицинский Совет. – 2013. – №2. – С. 56-62.
143. Янковский, Д.С. Место дисбиоза в патологии человека / Д.С. Янковский, Р.А. Моисеенко, Г.С. Дымент // Журнал Педиатрия. – 2010. – № 1 (29). – С. 154-167.

144. A metagenomic approach to characterization of the vaginal microbiome signature in pregnancy / K. Aagaard, K. Riehle, J. Ma [et al.] // PLoS One. – 2012. – Vol. 7(6). – P. e36466.
145. Aher, T. Molecular detection of virulence genes associated with pathogenicity of *Klebsiella* spp. isolated from the respiratory tract of apparently healthy as well as sick goats / T. Aher, A. Roy, P. Kumar // Israel Journal of Veterinary Medicine. – 2012. – Vol. 67 (4). – P. 249-252.
146. Allerberger, F. Optimisation of antibiotic use in hospitals – antimicrobial stewardship and the EU Project ABS international / F. Allerberger, A. Lechner // Chemotherapy. – 2008. – Vol. 54 (4). – P. 260-267.
147. Altered fecal microflora and increased fecal calprotectin in infants with colic / J.M. Rhoads, N.Y. Fatheree, J. Norori [et al.] // J. pediatr. – 2009. – Vol. 15 (6). – P. 823-828.
148. Associations between gut microbial colonization in early life and respiratory outcomes in cystic fibrosis / A.G. Hoen, J. Lia, L.A. Moulton [et al.] // J. Pediatr. – 2015. Vol. 167(1). – P. 138–47.e1-3.
149. Backhed, F. Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life / F. Backhed, J. Roswall, J. Dahlgren, Jun Wang // Cell Host & Microbe. – 2015. – Vol. 17– P. 690-703.
150. Bacterial counts of intestinal Lactobacillus species in infants with colic / F.Savino, E. Bailo, R. Oggero [et al.] // Pediatr. Allergy Immunol. – 2005. – Vol. 16. – P. 72-75.
151. Bacterial diversity in meconium of preterm neonates and evolution of their fecal microbiota during the first month of life / L. Moles, M. Gomez, H. Heilig [et al.] // PLoS One. – 2013. – № 28. – Vol. 8 (6). – P. e66986.
152. Beaugerie, L. *Klebsiella oxytoca* as an agent of antibiotic-associated hemorrhagic colitis / L. Beaugerie [et al.] // Clin. Gastroent. Hepat. – 2003. – Vol. 1 (5). – P. 370-376.
153. Behrman R.E. Textbook of pediatrics / R.E. Behrman, V.C. Vandak. – M.: Мед., 2007. – 504 с.

154. Bernaola, A.G. Probiotics for treating persistent diarrhoea in children / A.G. Bernaola, C.A. Bada Mancilla, P.N.Y. Carreazo, G.R.A. Rojas // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2010. – Vol. 10 (11). – P. 74-81.
155. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate / S. Fukuda, H. Toh, K. Hase [et al.] // *Nature.* – 2011. – Vol. 469. – P.543-549.
156. Blanton, L.V. Childhood undernutrition, the gut microbiota, and microbiota-directed therapeutics / L.V. Blanton, M.J. Barratt, M.R. Charbonneau [et al.] // *Science.* – 2016. – Vol. 352 (aad9359-2). – P. 1533-1533.
157. Blaschek W., Ebel S., Hackenthal E., Holzgrabe U., Keller K., Reichling J., Schulz V., Hrsg. Hagers Handbuch der Drogen und Arzneistoffe – Simethicon. HagerROM 2006 [Monographie auf CD-ROM]. Berlin: Springer-Verlag. 2006.
158. Breastfeeding and maternal and infant health outcomes in developed countries / S. Ip, M. Chung, G. Raman [et al.] // *Evid. Rep. Technol. Assess (Full Rep).* – 2007. – Vol. 153. – P.1-186.
159. Cabreiro, F. Worms need microbes too: microbiota, health and aging in *Caenorhabditis elegans* and *Gems* / F. Cabreiro, D. Gems // *EMBO Mol. Med.* – 2013. – Vol. 5. – P. 1300-1310.
160. Cacho, N. Manipulation of the Intestinal Microbiome in Newborn Infants / N. Cacho, J. Neu // *American Society for Nutrition. Adv. Nutr.* – 2014. – Vol. 5. – P. 114-118.
161. Cenit, M.C. Intestinal Microbiota and Celiac Disease: Cause, Consequence or Co-Evolution? / M.C. Cenit, M. Olivares, P. Codoñer-Franch, Y. Sanz // *Nutrients.* – 2015. – Vol. 7. – P. 6900-6923.
162. Characterization of a DNA-1-producing *Klebsiella pneumoniae* strain involved in an outbreak and role of the AmpR regulator in virulence / C. Hennequin, F. Robin, N. Cabrolier [et al.] // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* – 2012. – Vol. 56 (1). – P. 288-294.

163. Clemente, J.C.C. The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view / J.C.C. Clemente, L.K.K. Ursell, L.W.W. Parfrey, R. Knight // *Cell*. – 2012. – Vol. 148. – P. 1258-1270.
164. Commensal Clostridia: leading players in the maintenance of gut homeostasis / L.R. Lopetuso, F. Scaldaferri, V. Petito [et al.] // *Gut Pathogens*. – 2013, Vol. 5. – P. 23.
165. Conditions of bifidobacterial colonization in preterm infants: a prospective analysis / M.J. Butel, A. Suau, F. Campeotto [et al.] // *J. Ped. Gastroenterol. Nutr.* – 2007. – Vol. 44 (5). – P. 577-82.
166. Crohn's disease adherent-invasive *Escherichia coli* colonize and induce strong gut inflammation in transgenic mice expressing human / F.A. Carvalho, N. Barnich, A. Sivignon [et al.] // *CEACAM. J Exp Med.* – 2009. – Vol. 206. – P.2179-2189.
167. Cultivation-independent assessment of the bacterial diversity of breast milk among healthy women / R. Martin, H.G. Heilig, E.G. Zoetendal, [et al.] // *Res. Microbiol.* – 2007. – Vol. 158. – P. 31–37.
168. Dyachenko, A. G. Bacterial resistance to antibiotics and its evolution [Text] / A. G. Dyachenko // *Clinical Immunology. Allergy. Infectology.* – 2012. – Vol. 4 (53). – P. 5-11.
169. Edwards, C.A. Intestinal flora during the first months of life: new perspectives / C.A. Edwards, A.M. Parret // *Br. J. Nutr.* – 2002. – V. 88.–№ 11. – P. 11-18.
170. Fanaro, S. Intestinal microflora in early infancy: composition and development / S. Fanaro, R. Chierici, P. Guerrini, V. Vigi // *Acta Paediatr Suppl.* – 2003. – Vol. 91(441). – P.48-55.
171. Effects of Cesarean delivery and formula supplementation on the intestinal microbiome of six-week old infants / C.J. Madan, A.G. Hoen, S.N. Lundgren [et al.] // *JAMA Pediatr.* – 2016. – Vol. 170 (3). – P. 212-219.

172. High-dose vancomycin therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections / L.K. Hidayat, D.I. Hsu, R. Quist [et al.] // A. Arch. Intern. Med. – 2008. – Vol. 166 (19). – P. 2138-2144.
173. Hill, D.A. Intestinal bacteria and the regulation of immune cell homeostasis / D.A. Hill, D: Artis // Annu Rev Immunol. – 2010. – Vol. 28. – P. 623-667.
174. Host–Bacterial Symbiosis in Health and Disease / J. Chow, S. M. Lee, Y. Shen [et al.] // Adv Immunol. – 2010. – Vol. 107. – P. 243-274.
175. Houghteling, P.D. Why is initial bacterial colonization of the intestine important to the infant’s and child’s health? / P.D. Houghteling, W.A. Walker // J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. – 2015. – Vol. 60(3). – P. 294-307.
176. Human developmental biology viewed from a microbial perspective / M.R. Charbonneau, L.V. Blanton, D.B. DiGiuliu [et al.] // Nature. – Vol. 535 (7610). – P. 48-55.
177. Human Breast Milk and Infant Formulas Differentially Modify the Intestinal Microbiota in Human Infants and Host Physiology in Rats / Z. Liu, N.C. Roy, Y. Guo [et al.] // The journal of nutrition. – 2015. – P. 191-199.
178. Human Milk Oligosaccharides in Premature Infants: Absorption, Excretion and Influence on the Intestinal Microbiota / M.A. Underwood, S. Gaerlan, M. Lorna [et al.] // Pediatr Res. – 2015. – Vol. 78 (6). – P. 670-677.
179. Indrio, F. The intestinal microbiome of infants and the use of probiotics / F. Indrio, J. Neu // Curr. Opin. Pediatr. – 2011. – Vol. 23(2). – P. 145-150.
180. Ishihara, Y. Capsular types, virulence factors and DNA types of *Klebsiella oxytoca* strains isolated from blood and bile / Y. Ishihara, T. Yagi, M. Mochizuki, M. Ohta // The Journal of the Japanese Association for Infectious Diseases. – 2012. – Vol. 86(2). – P. 121-126.
181. Iyengar, S.R. Immune factors in breast milk and the development of atopic disease / S.R. Iyengar, W.A. Walker // J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. – 2012. – Vol. 55. – P. 641-647.

182. Johnston, B.C. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea / B.C. Johnston, J.Z. Goldenberg, P.O. Vandvik // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2011. – Vol. 9 (11). – P. 74-81.
183. Jost, T. New insights in gut microbiota establishment in healthy breast fed neonates / T. Jost, C. Lacroix, C.P. Braegger, C. Chassard // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7. – P.:e44595.
184. Kaibni, M.H. Community-acquired methicillin-resistance *Staphylococcus aureus* in Palestine / M.H. Kaibni, M.A. Farraj, K. Adwan, T.A. Essawi // *J. Med. Microbiol.* – 2009. – Vol. 58. – P. 644-647.
185. Kutateladze, M. Bacteriophages as potential new therapeutics to replace or supplement antibiotics / M. Kutateladze, R. Adamia // *Trends Biotechnol.* – 2010. – Vol. 28 (12). – P. 591-595.
186. Lee, Y.K. Has the microbiota played a critical role in the evolution of the adaptive immune system? / Y.K. Lee, S.K. Mazmanian // *Science.* – 2010. – Vol. 330. – P. 1768-1773.
187. Leung, A.K. Infantile colik: a review / A.K. Leung, J.F. Lemau // *J. R. Soc. Health.* – 2004. – Vol. – 124 (4). – P. 162.
188. Madan, J.C. Normal neonatal microbiome variation in relation to environmental factors, infection and allergy / J.C. Madan, S.F. Farzan, P.L. Hibberd, M.R. Karagas // *Curr. Opin. Pediatr.* – 2012. – Vol. 24(6). – P. 753-759.
189. McGuire, M.K. Human milk: mother nature's prototypical probiotic food? / M.K. McGuire, M.A. McGuire // *Adv Nutr.* – 2015. – Vol. 6. – P. 112-123.
190. Meconium Microbiome Analysis Identifies Bacteria Correlated with Preterm irth / A.N. Ardisson, D.M. de la Cruz, A. Davis-Richardson [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9 (3). – P. e90784.
191. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in human milk / F.R. Novak, J.A. Almeida, M.B. Warnken [et al.] // *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* – 2005. – Vol. 95. – P. 29-33.

192. Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: a molecular and culture-based investigation / D.B. DiGiulio, R. Romero, H.P. Amogan [et al.] // PLoS ONE. – 2008. – Vol. 3(8). – P.33056.
193. Morelli, L. Postnatal Development of Intestinal Microflora as Influenced by Infant Nutrition / L. Morelli // The Journal of Nutrition. – 2008. – Vol. 138. – P. 1791S-1795S.
194. Morelli, L. Taxonomic Lactobacillus composition of feces from human newborns during the first few days / L. Morelli, C. Cesena, C. de Haen, L. Gozzini // Microb. Ecol. – 1998. – Vol. 35. – P. 205-212.
195. Morison, J.E. Fetal and Neonatal Pathology / J.E. Morison. - 3rd Ed. of London, Butter-worths. – 2007. – P. 1056-1060.
196. Mshvildadze, M. The Infant Intestinal Microbiome: Friend or Foe? / M. Mshvildadze, J. Neu // Early Hum Dev. – 2010. – Vol. 86 (Suppl 1). – P. 67-71.
197. Mshvildadze, M. Intestinal microbiota development in the premature neonate: establishment of a lasting commensal relationship? / M. Mshvildadze, J. Neu, V. Mai // Nutr. Rev. – 2008. – Vol. 66 (11). – P. 658-663.
198. Necrotizing enterocolitis: new insights into pathogenesis and mechanisms / D.F. Niño, C.P. Sodhi, D.J. Hackam [et al.] // Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. – 2016. – Vol. 13 (10). – P. 590-600.
199. Nosocomial infection in neonatal intensive care unit incidence and risk factor / E. Nagata, A.S.J. Brito, T. Matsuo [et al.] // Am. O. Infection control. – 2006. – Vol. 30 (1). – P. 26-31.
200. Pan, Y.J. Capsular Types of *Klebsiella pneumoniae* Revisited by wzc Sequencing / Y.-J. Pan, Tzu-Lung Lin, Yen-Hua Chen [et al.] // PLOS ONE. – 2013. – Vol. 8 (13). – P. 1-13.

201. Pan, Y.J. Genetic analysis of capsular polysaccharide synthesis gene clusters in 79 capsular types of *Klebsiella* spp. / Y.J. Pan, T.L. Lin, C.T. Chen [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – Vol. 46. – P. 2231-2240.
202. Patel, K. Trends and determinants of gastric bacterial colonization of preterm neonates in a NICU setting / K. Patel, K. Konduru, A.K. Patra [et al.] // *PLoS ONE.* – 2015. – Vol. 10 (7). – P. e0114664.
203. Patel, M.P. Intestinal Microbiota and Its Relationship with Necrotizing Enterocolitis / M.P. Patel, M.P. Denning // *Pediatr. Res.* – 2015. – Vol. 78 (3). – P. 232-238.
204. Paul, S.P. Clinical update: coeliac disease in children / S.P Paul, J. Johnson, H.R. Speed // *Community Pract.* – 2013. – Vol. 86 (1). – P. 35-37.
205. Riviera-Perez, J.I. From evolutionary advantage to disease agents: forensic re-evaluation of host-microbe interactions and pathogenicity / J.I. Rivera-Pérez, A.A. González, G.A. Toranzos // *Microbiol Spectr.* – 2017. – Vol. 5(1). – P. 1-26.
206. Role of probiotics in the prevention of the enteric colonization by *Candida* in preterm newborns: incidence of late-onset sepsis and neurological outcome / M.G. Romo, D.M. Romeo, L. Trovato [et al.] // *J. Perinatol.* – 2011. – Vol. 31 (1). – P.63-69.
207. Sha, S. The biodiversity and composition of the dominant fecal microbiota in patients with inflammatory bowel disease / S. Sha, B. Xu, X. Wang [et al.] // *Diagn Microbiol Infect Dis.* – 2013. – Vol. 75. – P. 245-251.
208. Sherman, M.P. New concepts of microbial translocation in the neonatal intestine: Mechanisms and prevention / M.P. Sherman // *Clin. Perinatol.* – 2010. – Vol. 37. – P. 565-579.
209. Stroll, B.J. The global Impact of Neonatal Infection / B.J. Stroll // *Clinic in Perinatology.* – 2011. – Vol. 21(1). – P. 1-21.
210. Tendencia de sensibilidad de los patógenos bacterianos más frecuentemente aislados en el Hospital General La Mancha Centro durante el periodo 2010–2012 / M.A. Ascencio, M. Huertas, R. Carranza [et al.] // *Rev. española*

- Quimioter publicación Of la Soc Española Quimioter. – 2014. – Vol. 27 (4). – P. 261-268.
211. The application of ecological theory toward an understanding of the human microbiome / E.K. Costello, K. Stagaman, L. Dethlefsen [et al.] // Science. – 2012. – Vol. 336. – P. 1255-1262.
212. The infant microbiome development: mom matters / N.T. Mueller, E. Bakacs, J. Combellick [et al.] // Trends Mol Med. – 2015. – Vol. 21. – P. 109-117.
213. The intestinal microenvironment and functional gastrointestinal disorders / G. Barbara, Cr. Feintle-Bisset, U.C. Ghoshal [et al.] // Gastroenterology. – 2016. – Vol. 150. – P. 1305-1318.
214. Trends in care practices, morbidity, and mortality of extremely preterm neonates / B.J. Stoll [et al.] // JAMA. – 2015. – Vol. 314. – P. 1039-1051.
215. Wagner, P.L. Bacteriophage control of bacterial virulence / P.L. Wagner, M.K. Waldor // Infect. Immun. – 2002. – Vol. 70 (8). – P. 3985-3993.