

Разработка патогенетически обоснованных подходов к терапии детей раннего возраста, больных острыми респираторными инфекциями, требующих назначения антибактериальных препаратов

А.В. Горелов, ORCID: 0000-0001-9257-0171

Е.В. Мелехина✉, ORCID: 0000-0002-9238-9302, e-mail: e.melekhina@mail.ru

Э.С. Сидельникова, ORCID: 0000-0002-6854-1722

Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора; 111123, Россия, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А

Резюме

Цель исследования: оценить способность мультипробиотического препарата по нивелированию риска развития желудочно-кишечных расстройств и нарушений микробиоценоза на фоне антибактериальной терапии у детей от 1 до 3 лет с острой респираторной инфекцией, а также оценить его влияние на характер течения заболевания.

Задачи исследования: определение частоты развития и выраженности проявлений ОРИ, желудочно-кишечных расстройств, а также изменений в динамике кишечного микробиоценоза с использованием секвенирования гена 16S рРНК у детей от 1 года до 3 лет, больных острой респираторной инфекцией и получающих антибактериальную терапию, в зависимости от использования мультипробиотического препарата.

Материалы и методы: в исследовании приняли участие 148 детей в возрасте от 1 года до 7 лет, поступивших в стационар на 1–3-и сут. заболевания с симптомами, типичными для ОРИ; из них 54 ребенка в возрасте от 1 года до 3 лет, 65 детей в возрасте от 3 до 7 лет. 29 условно здоровых детей в возрасте от 1 года до 7 лет, проходивших диспансерное наблюдение у врача-педиатра в филиале №1 ГАУЗ МО МЗ МО «Химкинская областная больница», составили группу контроля.

В настоящей статье приводятся результаты в младшей возрастной группе – 54 ребенка обоего пола в возрасте от 1 года до 3 лет, поступивших в стационар на 1–3-и сут. заболевания ОРИ. В основную группу вошли 27 детей, получавших антибактериальную терапию и пробиотик Бак-Сет® Беби весь период антибактериального лечения и 14 дней после; в группу сравнения – 27 детей, получавших только антибактериальную терапию; группу контроля составили 10 условно здоровых детей того же возрастного диапазона. Оценка частоты и характера кала по бристольской шкале проводилась при поступлении в стационар, перед выпиской из стационара (через 7 ± 2 дня) и через 21 ± 2 дня от начала антибактериальной терапии.

Результаты. Частота стула через 7 ± 2 дня и через 21 ± 2 дня от начала терапии была достоверно выше в группе сравнения, чем в основной группе (у 81,5 и 26% против 7,4 и 7,4% соответственно). При оценке кала по бристольской шкале в группе сравнения показатель смещался в область умеренной диареи, тогда как в основной группе этого не наблюдалось. В обеих группах отмечено увеличение альфа-разнообразия в период после окончания антибактериальной терапии. В процессе исследования ни у одного пациента основной группы не было отмечено побочных реакций на фоне применения пробиотического препарата.

Выводы. Результаты позволяют предположить, что прием препарата Бак-Сет® Беби способствует поддержанию стабильности состава микробиома в ходе антибиотикотерапии и в период восстановления после нее. Применение препарата Бак-Сет® Беби на фоне антибактериальной терапии протективно влияет на длительность и выраженность некоторых симптомов ОРИ, а также частоту развития желудочно-кишечных расстройств, позволяет нивелировать негативное влияние на микробиом.

Ключевые слова: антибиотик-ассоциированная диарея, микробиом, мультипробиотики, острые респираторные вирусные инфекции, 16s-секвенирование

Для цитирования: Горелов А.В., Мелехина Е.В., Сидельникова Э.С. Разработка патогенетически обоснованных подходов к терапии детей раннего возраста, больных острыми респираторными инфекциями, требующих назначения антибактериальных препаратов. *Медицинский совет*. 2019;(17):208-216. doi: 10.21518/2079-701X-2019-17-208-216.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Development of pathogenetically justified approaches to therapy of young children with acute respiratory infections requiring antibacterial drugs

Alexandr V. Gorelov, ORCID: 0000-0001-9257-0171

Elena V. Melekhina✉, ORCID: 0000-0002-9238-9302, e-mail: e.melekhina@mail.ru

Elina S. Sidelnikova, ORCID: 0000-0002-6854-1722

Central Research Institute of Epidemiology, Russian Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being; 3A, Novogireevskaya Street, Moscow, 111123, Russia

Abstract

The purpose of the study: to evaluate the protective properties of a multi-strain probiotic in the development of gastrointestinal disorders with impaired microbiota during antibiotic therapy (ABT) for 1 to 3 years old children with acute respiratory infection (ARI).

Objectives of research: to evaluate the incidence of development and severity of gastrointestinal disorders, as well as changes in the dynamics of intestinal microbiota using 16S rRNA gene sequencing in 1 to 3 years old children with ARI and receiving ABT, depending on the addition of a multi-strain probiotic to the treatment regimen.

Materials and methods: the study involved 148 children from 1 to 7 years old both girls and boys (54 children were 1 to 3 y.o. and 65 were 3 to 7 y.o.), hospitalized within first 3 days of URTI symptoms (acute upper respiratory tract infection – URTI) and 29 healthy children from outpatient department as a healthy control.

Present article covers data and outcomes of younger age group – 54 children 1 to 3 years old, hospitalized within first 3 days of illness and 10 healthy children of the same age range. The main group included 27 children who received ABT + multi-strain probiotic Bac-Set® Baby for the entire period of ABT and extra 14 days after its discontinuation; the comparison group included 27 children who received only ABT. The frequency of bowel movements was assessed, feces were evaluated accordingly to Bristol scale upon admission to the hospital, before discharge from the hospital (in 7 ± 2 days), and in 21 ± 2 days from the beginning of ABT.

Results. The frequency of bowel movements after 7 ± 2 days and 21 ± 2 days from the start of therapy was significantly higher in the comparison group than in the main group (81.5% and 26% versus 7.4% and 7.4%, respectively). The stool rate accordingly to Bristol scale in the comparison group changed up to moderate diarrhea, which was not registered in the main group. In both groups, an increase in alpha-diversity of microbiota was observed within 2-week period after discontinuation of antibiotic therapy. During the study, adverse reactions of multi-strain probiotic were not found.

Conclusions. The results allow to suggest that the use of Bac-Set® Baby multistrain probiotic helps to maintain the stability of the microbiome during antibiotic therapy and in the recovery period after it. The use of Bac-Set® Baby with antibacterial therapy has a protective effect on gastrointestinal upsets incidence rate and reduces the negative impact on microbiome.

Keywords: multi-strain probiotics, antibiotic-associated diarrhea, microbiota, diarrhea prevention, 16S rRNA sequencing

For citation: Gorelov A.V., Melekhina E.V., Sidelnikova E.S., Development of pathogenetically justified approaches to therapy of young children suffering from acute respiratory infections requiring prescription of antibacterial drugs. *Meditsinskiy sovet – Medical Council*. 2019;(17):208-216. (In Russ.) doi: 10.21518/2079-701X-2019-17-208-216.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно современным представлениям, количество микроорганизмов, населяющих человеческое тело, в 10 раз превышает количество клеток организма. Вся совокупность микроорганизмов, населяющих организм человека, называется микробиомом человека. Микробиом человека содержит более 5 млн генов, что в десятки раз превышает сам геном человека [1]. Поэтому за ним закрепилось понятие отдельного скрытого метаболического органа, т. к. не только организм влияет на микробиом, но и микробиом влияет на весь организм в целом [2]. Современным методом анализа бактериальной флоры является секвенирование гена 16S рРНК. Данный метод позволяет анализировать не просто выделенные чистые культуры, а все микробное сообщество в целом [3]. Секвенирование 16S рРНК с 2008 г. считается золотым стандартом для идентификации микроорганизмов и активно применяется в клинической практике [4].

В настоящее время очевидно, что при назначении терапии различных патологических состояний важно учитывать ее влияние на микробиом. По данным ряда авторов, в среднем у 5–30% пациентов, получающих антибактериальную терапию (АБТ), развивается антибиотик-ассоциированная диарея (ААД) [5, 6]. ААД включает в себя учащение стула от трех эпизодов в день в течение 2 дней подряд во время лечения или в период от 2 до 6 нед. после начала АБТ при отсутствии других причин [7]. Патогенетически принято выделять несколько причин развития ААД: избыточный рост бактерий на фоне пода-

вления облигатной микрофлоры антибактериальными препаратами [8]; непосредственное воздействие антибактериальных препаратов на организм [9]; возникновение осмотической диареи в результате нарушения метаболизма желчных кислот и углеводов в кишечнике [9]. В настоящее время считается, что для профилактики развития ААД следует назначать пробиотики, причем предпочтение следует отдавать *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Saccharomyces boulardii* и комбинации *Lactobacillus casei* DN114 G01, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* [10, 11]. По данным ряда исследователей, предпочтительнее использовать многокомпонентные пробиотики, т. к. они обладают иммунобиологическим эффектом, активируют антиэндоксинное звено защиты, повышают неспецифическую резистентность организма, стимулируют функциональную деятельность желудочно-кишечного тракта [12].

Одним из мультипробиотических препаратов, применяемых при лечении ААД у детей, является Бак-Сет® Беби (производитель ADM Protexin Ltd., Великобритания). В состав Бак-Сет® Беби входит 7 видов живых пробиотических бактерий в высоких концентрациях: *L. casei*, *L. rhamnosus*, *S. thermophilus*, *L. acidophilus*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. longum*, что позволяет им достигать толстого кишечника без потери активности и жизнеспособности. Пробиотические штаммы Бак-Сет® являются кислотоустойчивыми (при pH = 2 в течение двух часов), что было подтверждено в ряде исследований [13]. Особая технология производства препарата Бак-Сет® – фильтрация вместо центрифугирования с последующей лиофилизаци-

ей – позволяет избежать разрушения оболочки бактерий, что повышает их выживаемость и устойчивость в кислой среде. Применение мультипробиотического препарата Бак-Сет® Беби в комплексной терапии ротавирусной инфекции у детей младшего возраста позволило существенно (в 1,5 раза) сократить длительность пребывания в стационаре [12].

У детей с инфекцией, вызванной *Helicobacter pylori*, изучали эффективность препарата Бак-Сет® Беби, добавленного к стандартной схеме. Скорость элиминации *H. pylori* была достоверно выше ($p = 0,04$) в группе терапии с дополнительным применением мультипробиотика (90% против 69%). У детей, получавших вместе со стандартной терапией Бак-Сет® Беби, отмечался более низкий уровень тошноты и рвоты ($p = 0,02$), а также диареи ($p = 0,039$) при отсутствии серьезных нежелательных явлений [14].

В связи с высокой актуальностью темы нами было проведено исследование, целью которого явилась оценка протективных свойств мультипробиотического препарата Бак-Сет® Беби в отношении развития желудочно-кишечных расстройств и нарушения микробиоценоза на фоне АБТ у детей от 1 года до 2 лет 11 мес. 30 дней, больных острой респираторной инфекцией.

В задачи исследования входило: определение частоты развития и выраженности желудочно-кишечных расстройств, а также изменений в динамике кишечного микробиоценоза (микробиоты) у детей от 1 года до 2 лет 11 мес. 30 дней, больных острой респираторной инфекцией и получающих АБТ, в зависимости от подключения к терапии мультипробиотического препарата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С целью решения поставленных задач в исследование были включены 54 ребенка обоего пола в возрасте от 1 года до 2 лет 11 мес. 30 дней, поступивших в детское инфекционное отделение ГАУЗ МО МЗ МО «Химкинская областная больница» на 1–3-и сут. заболевания с симптомами, типичными для ОРИ.

При первичном осмотре в отделении проводился сбор анамнеза, объективный осмотр с оценкой симптомов респираторной инфекции, назначалось лабораторное обследование (клинический анализ крови, общий анализ мочи, рентгенография органов грудной клетки, ультразвуковое исследование органов брюшной полости и забрюшинного пространства по показаниям) и стартовое лечение лечащим врачом согласно действующим клиническим рекомендациям Минздрава России.

После подписания родителем/усыновителем информированного согласия на участие в клиническом исследовании пациент включался в исследование и рандомизировался в одну из двух групп в зависимости от назначенной лечащим врачом ребенку антибактериальной и пробиотической терапии.

Таким образом, в основную группу вошли 27 детей, получавших АБТ и мультипробиотик Бак-Сет® Беби (АБТ назначалась курсом 5–10 дней, Бак-Сет® Беби назначалась с 1-го дня АБТ и в течение еще 14 дней после ее окон-

чания); в группу сравнения – 27 детей, получавших только АБТ без пробиотиков. Выполнялся анализ частоты дефекации, консистенции кала и его оценка по бристольской шкале в трех точках: первый день проведения АБТ; день окончания АБТ (7 ± 2 дня от начала терапии); 14 дней после окончания АБТ (21 ± 2 дня от начала терапии). При отсутствии самостоятельного стула применяли свечи с глицерином. При каждом из заборов образец кала был охарактеризован по бристольской шкале, а также ежедневно фиксировалось число актов дефекации с момента начала АБТ до момента выписки – в стационаре, а затем амбулаторно до 21 ± 2 дня от начала наблюдения.

Сравниваемые группы были статистически сопоставимы по полу, характеру вскармливания, заболеванию (ОРИ), назначенному антибиотическому препарату, частоте стула, его оценке по бристольской шкале, возрасту и факту использования глицериновой свечи, а также микробиотным характеристикам на момент включения в исследование. Для оценки динамики состояния пациентов на фоне проводимой терапии мы использовали данные ежедневных физикальных осмотров в отделении и мультипараметрических таблиц, заполняемых родителями. Выраженность синдрома интоксикации фиксировали на основании длительности лихорадки, снижения аппетита и раздражительности пациента, выраженных в баллах от 1 до 3.

Статистический анализ проводился путем попарного сравнения всех 3 временных точек. Образцы кала, собранные на момент начала терапии, ее окончания и 21 ± 2 дня от ее начала, были заморожены и исследованы методом секвенирования гена 16S rPHK. Ретроспективно в каждой группе проводили сравнение изменений микробного сообщества по изменению альфа- и бета-разнообразия в результате терапии, оценивали изменение относительной представленности бактериальных таксонов, изменение метаболических путей и модулей микробиоты.

Альфа-разнообразие оценивали с помощью индекса Шеннона. Для сравнения образцов, взятых в одной временной точке, применялся критерий Манна – Уитни. Для сравнения образцов одной группы, взятых в разные временные точки, использовался критерий Вилкоксона. Для сравнения изменений альфа-разнообразия между двумя группами пациентов применялся метод анализа ковариаций ANCOVA.

Бета-разнообразие определяли с помощью метрики UniFrac. Расстояние рассчитано на прореженных до 5000 видов образцах. Результаты визуализировались с помощью метода PCoA. Различия между группами в одной и той же временной точке и различия между разными временными точками для одной и той же группы оценивали с помощью пакета adonis в среде R. Для того чтобы выяснить, у какой группы сильнее поменялся состав микробиоты в ходе лечения, для каждого участника определялась степень различия между микробиомом в первой и конечной точке. С помощью критерия Манна – Уитни сравнивались полученные значения между экспериментальной группой и группой сравнения.

Анализ относительной представленности каждой задетектированной бактериальной таксономической

единицы и функционального состава (относительной представленности групп генов и путей) проводился с помощью пакета ALDEx2 согласно исследованиям Fernandes et al., проведенным в 2014 г. в среде R. Для каждого исходного образца методом Монте-Карло были случайно сгенерированы 128 образцов из Дирихле-мультиномиального распределения с добавлением $\frac{1}{2}$ псевдоотсчета (*англ.* pseudocount). К этим образцам применялось clr-преобразование (*англ.* centered log-ratio). Для сравнения образцов, взятых в одной временной точке, применялся критерий Уэлча. Для образцов из разных временных групп – парный критерий Стьюдента. Для сравнения изменений между экспериментальной группой и группой сравнения – ANCOVA. Полученные р-значения были усреднены для каждой итерации генерирования. Для контроля за общим уровнем значимости была применена поправка Бенджамини – Хохберга на множественное сравнение – отдельно на каждом таксономическом уровне. В анализе участвовали только те таксоны, которые были представлены более чем в 15% образцов.

Для сопоставления возраста и оценки по бристольской шкале использовался критерий Вилкоксона; для всех остальных немикробиотных факторов – критерий Фишера. Порог значимости был установлен на уровне 0,05. Поправка на множественное сравнение была сделана по методу Бенджамини – Хохберга.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При обследовании у пациентов были выявлены следующие клинические формы заболевания: у 39 детей (72%) диагностирована внебольничная пневмония, у 5 (9%) – острый тонзиллит, у 9 (17%) – острый синусит, у 1 (2%) – острый отит. Течение заболевания во всех наблюдениях имело среднюю степень тяжести. Большинство пациентов – 44 детей (81,5%) – получали препарат цефотаксим, 9 пациентов (16,7%) – цефтриаксон, у 1 ребенка в ходе терапии была проведена смена антибактериального препарата с цефотаксима на цефтриаксон. Длительность АБТ составила от 5 до 10 дней.

Динамика оцениваемых клинических показателей различалась в основной группе и группе сравнения. Температура снизилась в течение первых суток проводимой терапии у 37% детей основной группы и только у 19% детей в группе сравнения. Общая продолжительность лихорадки в обеих группах не превышала 4 дней.

До начала терапии у 80% детей сравниваемых групп был снижен аппетит. Нормализацию аппетита в течение первых суток мы наблюдали у 44% детей основной группы и у 33% пациентов группы сравнения. К моменту выписки из стационара снижение аппетита сохранялось в 22% наблюдений в основной группе и в 44% – в группе сравнения.

До начала терапии повышенную раздражительность отметили 72% матерей обследованных детей. К 3-м сут. наблюдения улучшение самочувствия мы зафиксировали у $\frac{1}{3}$ детей сравниваемых групп. К моменту выписки

из стационара (7 ± 2 дня) выраженная раздражительность сохранялась в 11% наблюдений в основной группе и в 59% – в группе сравнения. В большинстве случаев беспокойство детей группы сравнения мы связывали с желудочно-кишечным дискомфортом (вздутие и боли в животе).

Таким образом, подключение мультипробиотика Бак-Сет® Беби с первых дней к проводимой АБТ значительно уменьшало выраженность синдрома интоксикации и желудочно-кишечного дискомфорта по сравнению с детьми, получавшими монотерапию антибиотиками.

Сравниваемые группы были сопоставимы по основным анализируемым характеристикам до начала терапии (*табл. 1*). Группы были статистически сопоставимы по частоте стула, его оценке по бристольской шкале, возрасту и факту использования глицериновой свечи, а также микробиотным характеристикам до начала терапии (результаты анализа альфа и бета-разнообразия представлены в *таблице 2*).

В ходе клинической оценки характера кала ни у одного пациента основной группы и группы сравнения не было зафиксировано появления крови в стуле.

До начала АБТ ни у одного из наблюдаемых детей кратность стула не превышала 3 раз в сутки (дети 1 года жизни). Перед выпиской из стационара учащение стула

● **Таблица 1.** Характеристика пациентов основной группы и группы сравнения

● **Table 1.** Characteristics of patients in the main and comparison groups

Параметры		Основная группа		Группа сравнения	
		п	%	п	%
Всего пациентов		27	100	27	100
Пол	М	10	37	13	48
	Ж	17	63	14	52
Основной диагноз (уровень поражения)	Внебольничная пневмония	16	59,3	23	85,2
	Острый тонзиллит	4	14,8	1	3,7
	Острый синусит	6	22,2	3	11,1
	Острый отит	1	3,7	0	0
Цефтриаксон		5	18,5	4	14,8
Цефотаксим		21	77,8	23	85,2
Цефтриаксон + Цефотаксим		1	3,7	0	0
Родоразрешение самопроизвольное		24	88,9	22	81,5
Роды путем кесарева сечения		3	11,1	5	18,5
Грудное вскармливание		24	88,9	22	81,5
Искусственное вскармливание		2	7,4	2	7,4
Смешанное вскармливание		1	3,7	3	11,1

● **Таблица 2.** Результаты анализа альфа- и бета-разнообразия между основной группой и группой сравнения на момент поступления

● **Table 2.** Results of analysis of alpha and beta diversity between the main group and the comparison group at the time of entry

Параметр	Метод сравнения	p-value	
		На момент поступления и 7 ± 2 дня от начала терапии	На момент поступления и 21 ± 2 дня от начала терапии
Бета-разнообразие (UniFrac)	PERMANOVA (пакет adonis в R)	0,608	0,842
Альфа-разнообразие	тест Манна – Уитни	0,4546	0,8422

(максимально до 5 р/сут) было зафиксировано у 2 пациентов (7,4%) основной группы и у 22 детей (81,5%) в группе сравнения. Через 21 ± 2 дня от начала терапии у большинства наблюдаемых пациентов произошла нормализация частоты стула. Только у 7 детей (26%), не получавших терапию пробиотиками, и у 2 детей (7,4%) основной группы сохранялось учащение стула по сравнению с моментом поступления до 3 р/сут максимально.

За время наблюдения был зафиксирован характер кала от 1-го до 7-го вида. Для удобства оценки мы определяли кал с 1-го по 3-й вид как склонность к запорам, 4-й и 5-й вид считали физиологическим вариантом, с 6-го по 7-й вид – тенденция к диарее. Полученные данные представлены графически на *рисунке 1*.

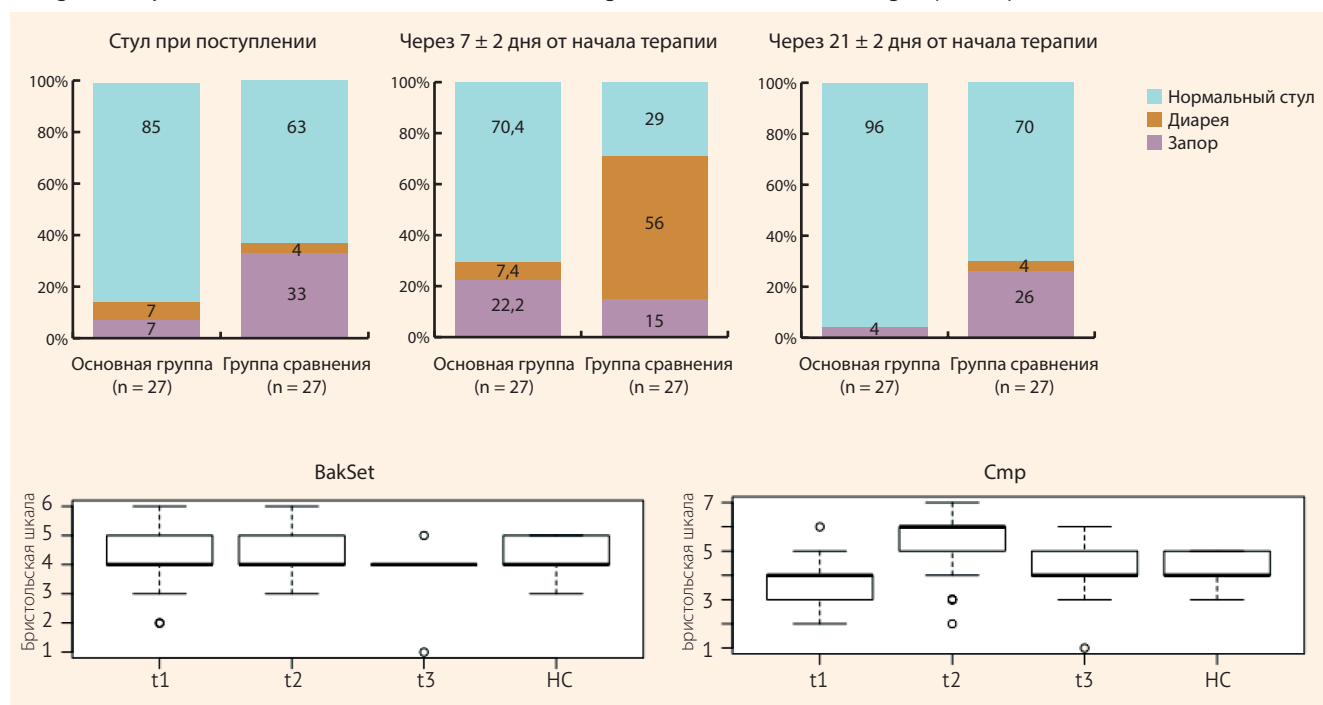
В основной группе не было обнаружено статистически значимых изменений оценки кала по бристольской шкале ($p > 0,05$, парный тест Вилкоксона). В группе сравнения наблюдалось значимое увеличение баллов по бристольской шкале через 7 ± 2 дня от начала терапии ($p = 0,0080$, парный тест Вилкоксона) и спад к первоначальному значению к 21 ± 2 дня от начала терапии ($p = 0,0112$ для сравнения точек до начала терапии и на $p = 0,2174$ для сравнения точек до начала терапии и на 21 ± 2 дня).

Межгрупповое сравнение изменений консистенции кала показало, что повышение балла по бристольской шкале до умеренной диареи в группе сравнения от момента включения в исследование к моменту окончания АБТ значимо выше, чем в основной группе (среднее изменение баллов $-0,1363$ в основной группе и $1,39$ в группе сравнения, тест Манна – Уитни, $p = 0,0023$). Снижение балла к 21 ± 2 дня от начала заболевания также значимо больше в основной группе, чем в группе сравнения ($p = 0,0429$). Внутри- и межгрупповое сравнение первой и третьей точек позволило установить, что восстановление консистенции стула по сравнению с исходным в основной группе происходило более полно, чем в контрольной. Так на 21 день (± 2 дня) в группе, получавшей Бак-Сет, у 96% детей стул был нормальной консистенции, и лишь у 4% со склонностью к запору, при том, что при поступлении в той же группе нормальный стул отмечали 85% участников, и по 7% – запор и диарею. В группе сравнения в точке 1 запор отмечался у 33% детей, а в 3-й точке – все еще у 26%.

Таким образом, наглядно продемонстрировано, что подключение к АБТ ОРИ мультипробиотика Бак-Сет® Беби приводит к сохранению нормальной частоты и

● **Рисунок 1.** Динамика характера стула при оценке по бристольской шкале в сравниваемых группах

● **Figure 1.** Dynamics of the stool characteristics according to the Bristol scale in the groups compared



консистенции стула у детей от 1 года до 3 лет достоверно чаще, чем в группе сравнения. Выявленные тенденции в обеих группах были сходны как на протяжении курса АБТ, так и сразу после ее окончания (7 ± 2 дня) и через 21 ± 2 дня от начала наблюдения за пациентами. Важно отметить, что побочных реакций на фоне применения мультипробиотического препарата в процессе исследования не было отмечено ни у одного пациента основной группы.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что прием препарата Бак-Сет® Беби способствует поддержанию стабильности консистенции кала в ходе антибиотикотерапии и в период восстановления после нее.

ИЗМЕНЕНИЕ АЛЬФА-РАЗНООБРАЗИЯ В ХОДЕ ТЕРАПИИ

Альфа-разнообразие характеризует богатство видами отдельных микробных сообществ согласно типам разнообразия Whittaker, предложенным в 1972 г. Основными показателями альфа-разнообразия являются видовое богатство (species richness) – общее число видов в сообществе – и видовая насыщенность (species density) – среднее число видов на единицу площади, как отражено в работах Hurlbert 1971 г. Одновременный учет видового богатства и видовой насыщенности позволяет получать сопоставимые оценки видового разнообразия при анализе различных микробных сообществ.

При сравнении альфа-разнообразия как в основной группе, так и в группе сравнения наблюдалось значимое

увеличение альфа-разнообразия в период после окончания АБТ (7 ± 2 дня к 21 ± 2 дня) (парный тест Вилкоксона, $p = 0,0213$ в основной группе, $p = 0,0230$ в группе сравнения). При этом степень увеличения не различалась между двумя группами (ANCOVA, $p = 0,7587$). Альфа-разнообразие в конце наблюдения (21 ± 2 дня от начала терапии) не отличалось от его значения до начала терапии ($p = 0,7241$ в основной группе, $p = 0,5822$ в группе сравнения) (табл. 3).

Таким образом, как в группе сравнения, так и в основной группе наблюдалось повышение богатства микробиоты (альфа-разнообразия) в течение периода после окончания антибиотикотерапии с достижением его значений до начала терапии.

ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА МИКРОБИОТЫ В ЦЕЛОМ

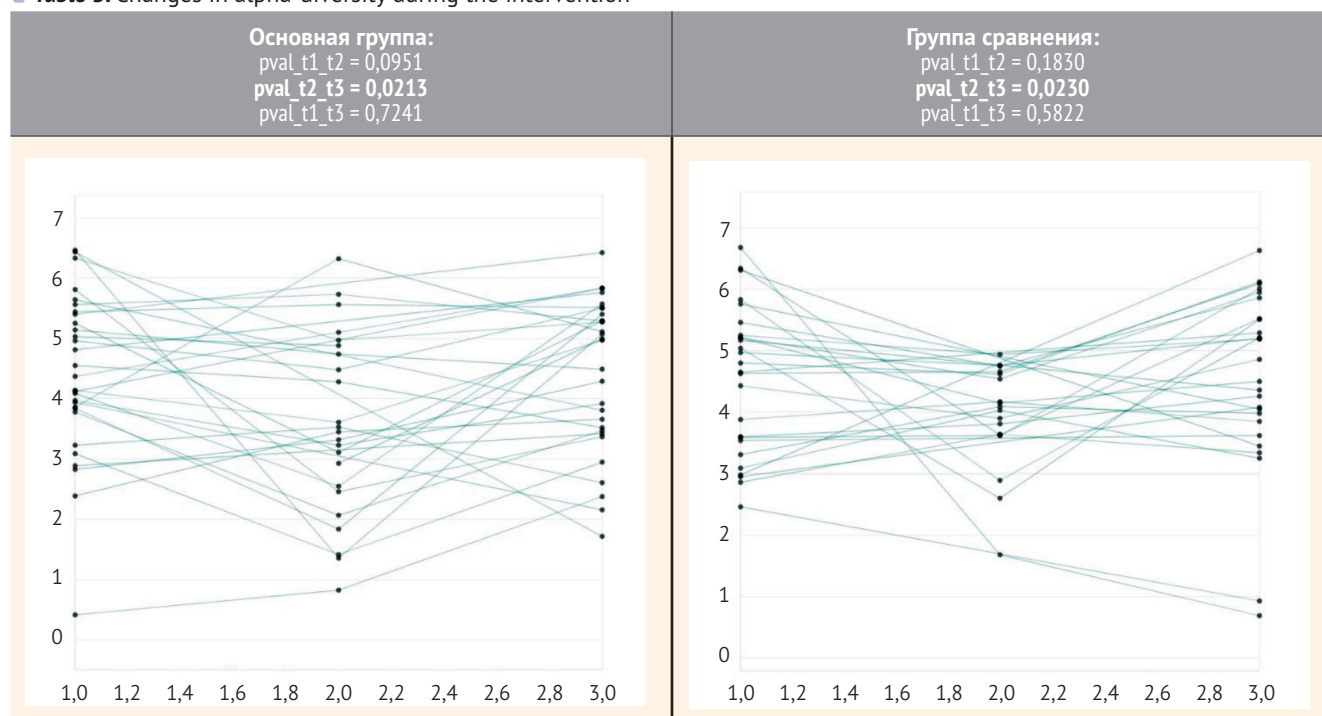
Бета-разнообразие – количественная мера попарного различия между структурой сообществ, расстояние между ними. Как и альфа-разнообразие, оно также воплощено в виде множества алгоритмов, как качественных, так и количественных.

Бета-разнообразие было вычислено в каждой группе между образцами при поступлении до начала терапии и при выписке (через 7 ± 2 дня от начала терапии); при поступлении до начала терапии и через 21 ± 2 дня от начала терапии (через 14 ± 2 дня после окончания АБТ). При сравнении исследуемых групп с помощью теста Манна – Уитни значимых различий обнаружено не было.

Визуализация изменения состава микробиоты приведена на рисунке 2.

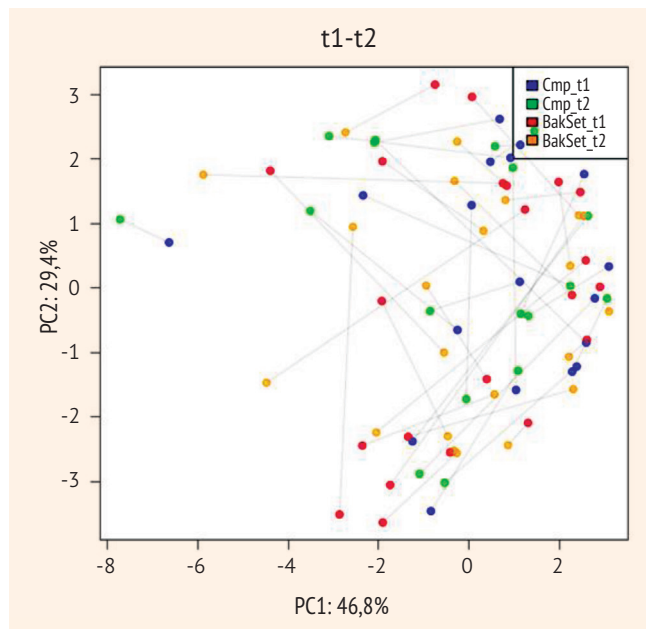
● **Таблица 3.** Изменение альфа-разнообразия в ходе интервенции

● **Table 3.** Changes in alpha-diversity during the intervention



● **Рисунок 2.** Визуализация динамики состава микробиоты между тремя временными точками по методу главных координат (PCoA) по метрике UniFrac

● **Figure 2.** Visualization of microbiota composition dynamics between 3 time points using the UniFrac method of main coordinates (PCoA)



Несмотря на то что при анализе бета-разнообразия ни в одной из сравниваемых групп ни в ходе антибиотикотерапии, ни в ходе всего курса, включая период восстановления, не наблюдалось значимых изменений общего состава микробиоты, для каждой из групп были найдены таксономические единицы, доля которых значимо изменилась между любыми двумя временными точками.

После предварительной обработки был проведен количественный таксономический анализ путем определения, к какой известной бактерии принадлежит каждый рид 16S рННК или его региона. При оценке мы опирались на базовое понятие операционной таксономической единицы (ОТЕ, *англ.* operational taxonomic unit, OTU) – определение бактериального вида на основании одной лишь последовательности 16S рННК.

Для каждой таксономической единицы, которая помещалась хотя бы в одной группе, было проверено, отличаются ли эти изменения статистически между группами при помощи ANCOVA-анализа.

От начала проводимой терапии к моменту выписки из стационара (7 ± 2 дня) в основной группе значимых изменений не наблюдалось. В группе сравнения наблюдался рост представленности рода *Enterococcus* и снижение представленности родов *Coprococcus*, *Collinsella*, а также двух видов рода *Bifidobacterium* (неклассифицированного и *B. adolescentis*). Однако эти изменения не отличались статистически от изменений в основной группе (ANCOVA, $p > 0,05$).

Отдельно была проанализирована относительная представленность родов *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* в стуле участников. Поправка на множественное сравнение

при этом не проводилась, т.к. эти бактерии заранее были выбраны как целевые для исследования.

Представленность *Bifidobacterium* значимо снизилась от точки 1 к точке 2 в группе сравнения, причем эти изменения были статистически достоверны ($p = 0,0079$, парный тест Стьюдента с помощью пакета R ALDEx2). В основной группе некоторое снижение представленности бифидобактерий также наблюдалось, но ниже порога значимости ($p = 0,0811$).

Примечательно, что изменение микробиоты дисбиотического характера (рост доли оппортунистических энтерококков, снижение доли бифидобактерий и ряда комменсальных клостридий) в группе сравнения положительно коррелировало с клиническими проявлениями: изменением консистенции кала до уровня умеренной диареи; в основной группе не было детектировано значимых изменений по какому-либо таксону ни для одной пары временных точек и также не было зарегистрировано разжижения стула. Полученные данные позволяют предположить, что применение мультипробиотического комплекса Бак-Сет® Беби на фоне АБТ протективно влияет на длительность и выраженность некоторых симптомов ОРИ, а также частоту развития желудочно-кишечных расстройств, позволяет нивелировать негативное влияние на микробиом.

От момента выписки из стационара (7 ± 2 дня) к 21 ± 2 дня от начала терапии в основной группе наблюдалось увеличение представленности отдела Actinobacteria (в основном за счет класса Coriobacteriia), судя по распределению p -values. В группе сравнения значимо снизилась представленность рода *Enterococcus* и выросла представленность родов *Coprococcus*, *Dorea*, *Clostridium*, *SMB53* (из семейства Clostridiaceae) и неклассифицированного рода семейства Clostridiaceae. Сравнение изменений в основной группе и в группе сравнения не показало значимых отличий между ними.

В исследовании в ходе антибиотикотерапии в группе сравнения наблюдалось изменение микробиоты дисбиотического характера (рост доли оппортунистических энтерококков, снижение доли бифидобактерий, ряда комменсальных клостридий). В период после антибиотикотерапии происходило восстановление (снижение доли энтерококков к первоначальному уровню; рост доли комменсальных клостридий). В группе, получавшей Бак-Сет® Беби, не было зафиксировано значимых изменений по какому-либо таксону ни для одной пары временных точек.

Результаты позволяют предположить, что прием препарата Бак-Сет® Беби способствует поддержанию стабильности состава микробиома в ходе антибиотикотерапии и в период восстановления после нее.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проблема ближайших и отсроченных нежелательных эффектов от приема антибиотиков является одной из наиболее обсуждаемых в мировой литературе [15–17]. В настоящий момент доказано, что ААД является не един-

ственным побочным эффектом АБТ, связанным с нарушением микробиоценоза. Изменение микробиома, связанное с приемом антибиотиков, особенно в раннем возрасте, приводит к таким отдаленным последствиям, как избыточный вес, синдром раздраженного кишечника, аллергические заболевания [18].

Микробная колонизация кишечника человека начинается еще внутриутробно, и именно в первые годы жизни происходит формирование стабильного кишечного микробиома, который сохраняется в течение жизни и определяется целым рядом факторов: материнской микрофлорой, характером вскармливания, приемом лекарственных препаратов, таких, например, как антибиотики и ингибиторы протонной помпы [18–20].

Учитывая вышесказанное, изучение механизмов изменений микробиома кишечника при АБТ и новых возможностей его коррекции приобретает особое значение.

Проведенное нами исследование показало, что подключение препарата Бак-Сет® Беби на фоне АБТ уменьшает частоту развития некоторых проявлений ОРИ, желудочно-кишечных расстройств, позволяет устранять негативное влияние на микробиом. Данный факт установлен клинически и подтвержден с помощью инновационного метода секвенирования гена 16S рПНК образцов кала. Выявленные позитивные факты, а также отсутствие побочных реакций и хорошая переносимость препарата Бак-Сет® Беби позволяют рассматривать его как препарат первого выбора в педиатрической практике, особенно у детей раннего возраста, получающих АБТ, для профилактики нарушений желудочно-кишечного тракта и микробиома.



Поступила / Received 02.09.2019
Отрецензирована / Review 25.09.2019
Принята в печать / Accepted 30.09.2019

Список литературы

- Захарова И.Н., Бережная И.В., Сугян Н.Г. Антибиотик-ассоциированные диареи у детей: что нового? *Медицинский совет*. 2017;(19):126–131. doi:org/10.21518/2079-701X-2017-19-126-133.
- Guinane C.M., Cotter P.D. Role of the gut microbiota in health and chronic gastrointestinal disease: understanding a hidden metabolic organ. *Therapeutic advances in gastroenterology*. 2013;6(4):295–308. doi: 10.1177/1756283X13482996.
- Marteau P, Doré J. (eds). *Gut Microbiota a full-fledged organ*. John Libbey Eurotext. 2017:113–124.
- Пестова Н.Е., Баранцевич Е.П., Рыбкова Н.С., Козлова Н.С., Баранцевич Н.Е. Изучение эффективности применения метода секвенирования ДНК по фрагменту гена 16s рПНК для идентификации микроорганизмов. *Профилактическая и клиническая медицина*. 2011;(4):54–55. Режим доступа: https://elibrary.ru/download/elibrary_21400839_61388223.pdf.
- Bartlett J.G. Antibiotic-associated diarrhea. *New England journal of medicine*. 2002;346(5):334–339. doi: 10.1056/NEJMc011603.
- Barakat M., El-Kady Z., Mostafa M., Ibrahim N., Ghazaly H. Antibiotic-associated Bloody Diarrhea in Infants: Clinical, Endoscopic and Histopathologic Profiles. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2011;52(1):60–64. doi: 10.1097/MPG.0b013e3181da215b.
- Goldenberg J.Z., Yap C., Lytvyn L., Lo C.K.F., Beardsley J., Mertz D., Johnston B.C. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. *Cochrane Database Syst Rev*. John Wiley & Sons. 2015;(12):6. doi: 10.1002/14651858.CD006095.pub4.
- Hempel S., Newberry S.J., Maher A.R., Zhen Wang, Jeremy N.V. Miles, Roberta Shanman, Johnsen B., Shekelle P.G. Probiotics for the Prevention and Treatment of Antibiotic-Associated Diarrhea. A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA*. 2012;307(18). doi:10.1001/jama.2012.3507.
- Hogenauer C., Hammer H.F., Krejs G.J., Reisinger E.C. Mechanisms and management of antibiotic-associated diarrhea. *Clin Infect Dis*. 1998;(27):702–710. doi: 10.1086/514958.
- Szajewska H., Canani R.B., Guarino A., Hojsak I., Indrio F., Kolacek S., Orel R., Shamir R., Vandenplas Y., Johannes B. van Goudoever, Weizman Z. Probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2016;62(3):495–506. Available at: http://www.espgan.org/fileadmin/user_upload/guidelines_pdf/Hep_Nutr/Probiotics_for_the_Prevention_of_31_1.pdf.
- Floch M.H., Walker W.A., Sanders M.E., Nieuwdorp M., Kim A.S., Brenner D.A., Qamar A.A., Miloh T.A., Guarino A., Guslandi M., Dieleman L.A., Ringel Y., Quigley E.M., Brandt L.J. Recommendations for Probiotic Use-2015 Update: Proceedings and Consensus Opinion. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2015;(49):69–73. doi: 10.1097/MCG.0000000000000420.
- Мартынова Г.П., Соловьева И.А., Меньщикова М.Л., Ерохина Е.С., Белкина А.Б., Безруких Н.А. Пробиотическая коррекция в комплексном лечении ротавирусной инфекции у детей первых лет жизни. *Практическая медицина*. 2016;(08):143–147. Режим доступа: <http://pmarchive.ru/probioticheskaya-korrekcija-v-kompleksnom-lechenii-rotavirusnoj-infekcii-u-detej-pervyx-let-zhizni/>.
- Минушкин О.Н. Новые представления о функциональных расстройствах кишечника и место современных пробиотиков в их лечении. *Медицинский совет*. 2018;(21):12–15. doi: 10.21518/2079-701X-2018-21-126-131.
- Ahmad K., Fatemeh F., Mehri N., Maryam S. Probiotics for the treatment of pediatric helicobacter pylori infection: a randomized double blind clinical trial. *Iran J Pediatr*. 2013;23(1):79–84. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3574996/>.
- Захарова И.Н., Сугян Н.Г., Бережная И.В. Нежелательные эффекты антибактериальной терапии в педиатрической практике. Роль пре- и пробиотиков в профилактике антибиотико-ассоциированной диареи. *Медицинский совет*. 2018;(2):194–199. doi: 10.21518/2079-701X-2018-2-194-199.
- Каннер Е.В., Горелов А.В., Крутихина С.Б. Антибиотикоассоциированная диарея у детей: современный взгляд на проблему. *Медицинский совет*. 2017;(1):226–230. doi: 10.21518/2079-701X-2017-1-226-230.
- Goldenberg J.Z., Yap C., Lytvyn L., Lo C.K.F., Beardsley J., Mertz D., Johnston B.C. Probiotics for the prevention of Clostridium difficile-associated diarrhea in adults and children. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;(12):CD006095. doi: 10.1002/14651858.CD006095.pub4.
- Ванденплас И. Применение антибиотиков у новорожденных: влияние на желудочно-кишечную микрофлору и отдаленные результаты. *Медицинский совет*. 2018;(17):163–167. doi: 10.21518/2079-701X-2018-17-163-167.
- Collado M.C., Cernada M., Bauerl C., Vento M., Perez-Martinez G. Microbial ecology and host-microbiota interactions during early life stages. *Gut Microbes*. 2012;(3):352–365. doi: 10.4161/gmic.21215.
- Slykerman R.F., Thompson J., Waldie K.E., Murphy R., Wall C., Mitchell E.A. Antibiotics in the first year of life and subsequent neurocognitive outcomes. *Acta Paediatr*. 2017;(106):87. doi: 10.1111/apa.13613.

References

- Zakharova I.N., Berezhnaya I.V., Sugyan N.G. Antibiotic associated diarrehas in children: what's new? *Meditsinskiy sovet = Medical Council*. 2017;(19):126–131. (In Russ.) doi: org/10.21518/2079-701X-2017-19-126-133.
- Guinane C.M., Cotter P.D. Role of the gut microbiota in health and chronic gastrointes-

tinal disease: understanding a hidden metabolic organ. *Therapeutic advances in gastroenterology*. 2013;6(4):295–308. doi: 10.1177/1756283X13482996.

3. Marteau P, Doré J. (eds.). *Gut Microbiota a full-fledged organ*. John Libbey Eurotext. 2017;113-124.
4. Pestova N.E., Barantsevich E.P., Ribkova N.S., Kozlova N.S., Barantsevich N.E. Study of effectiveness of sequencing of fragmentation of 16s rRNA gene in identification of microorganisms. *Profilakticheskaya i klinicheskaya meditsina = Preventive and clinical medicine*. 2011;(4):54-55. (In Russ.) Available at: https://elibrary.ru/download/elibrary_21400839_61388223.pdf.
5. Bartlett J.G. Antibiotic-associated diarrhea. *New England journal of medicine*. 2002;346(5):334-339. doi: 10.1056/NEJMcp011603.
6. Barakat M., El-Kady Z., Mostafa M., Ibrahim N., Ghazaly H. Antibiotic-associated Bloody Diarrhea in Infants: Clinical, Endoscopic and Histopathologic Profiles. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2011;52(1):60-64. doi: 10.1097/MPG.0b013e3181da215b.
7. Goldenberg J.Z., Yap C., Lytvyn L., Lo C.K.F., Beardsley J., Mertz D., Johnston B.C. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. *Cochrane Database Syst Rev*. John Wiley & Sons. 2015;(12):6. doi: 10.1002/14651858.CD006095.pub4.
8. Hempel S., Newberry S.J., Maher A.R., Zhen Wang, Jeremy N.V. Miles, Roberta Shanman, Johnsen B., Shekelle P.G. Probiotics for the Prevention and Treatment of Antibiotic-Associated Diarrhea. A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA*. 2012;307(18). doi:10.1001/jama.2012.3507.
9. Hogenauer C., Hammer H.F., Krejs G.J., Reisinger E.C. Mechanisms and management of antibiotic-associated diarrhea. *Clin Infect Dis*. 1998;(27):702-710. doi: 10.1086/514958.
10. Szajewska H., Canani R.B., Guarino A., Hojsak I., Indrio F., Kolacek S., Orel R., Shamir R., Vandenplas Y., Johannes B. van Goudoever, Weizman Z. Probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2016;62(3):495-506. Available at: http://www.espghan.org/fileadmin/user_upload/guidelines_pdf/Hep_Nutr/Probiotics_for_the_Prevention_of_31_1_.pdf.
11. Floch M.H., Walker W.A., Sanders M.E., Nieuwdorp M., Kim A.S., Brenner D.A., Qamar A.A., Miloh T.A., Guarino A., Guslandi M., Dieleman L.A., Ringel Y., Quigley E.M., Brandt L.J. Recommendations for Probiotic Use-2015 Update: Proceedings and Consensus Opinion. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2015;(49):69-73. doi: 10.1097/MCG.0000000000000420.
12. Martynova G.P., Solovyova I.A., Menshikova M.L., Erohina E.S., Belkina A.B., Bezrukih N.A. Probiotic correction in complex treatment of rotavirus infection in children in the first years. *Prakticheskaya meditsina = Practical medicine*. 2016;08(16):143-147. (In Russ.) Available at: <http://pmarchive.ru/probioticheskaya-korrekcija-v-kompleksnom-lechenii-rotavirusnoj-infekcii-u-detej-pervyx-let-zhizni/>.
13. Minushkin O.N. New ideas about functional intestinal disorders and the place of modern probiotics in their treatment. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*. 2018;(21):126-131. (In Russ.) doi: 10.21518/2079-701X-2018-21-126-131.
14. Ahmad K., Fatemeh F., Mehri N., Maryam S. Probiotics for the treatment of pediatric helicobacter pylori infection: a randomized double blind clinical trial. *Iran J Pediatr*. 2013;23(1):79-84. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3574996/>.
15. Zakharova I.N., Sugyan N.G., Berezhnaya I.V. Adverse events associated with antibiotic therapy in pediatric practice. the role of pre- and probiotics in the prevention of antibiotic-associated diarrhea. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*. 2018;(2):194-199. (In Russ.) doi: 10.21518/2079-701X-2018-2-194-199.
16. Kanner E.V., Gorelov A.V., Krutikhina S.B. Antibiotic-associated diarrhea in children: a current view of the problem. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*. 2017;(1):226-230. (In Russ.) doi: 10.21518/2079-701X-2017-1-226-230.
17. Goldenberg J.Z., Yap C., Lytvyn L., Lo C.K.F., Beardsley J., Mertz D., Johnston B.C. Probiotics for the prevention of Clostridium difficile-associated diarrhea in adults and children. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;(12):CD006095. doi: 10.1002/14651858.CD006095.pub4.
18. Vandenplas Y. The use of antibiotics in newborns: effects on gastrointestinal microbiome and long-term results. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*. 2018;(17):163-167. (In Russ.) doi: 10.21518/2079-701X-2018-17-163-167.
19. Collado M.C., Cernada M., Bauerl C., Vento M., Perez-Martinez G. Microbial ecology and host-microbiota interactions during early life stages. *Gut Microbes*. 2012;(3):352-365. doi: 10.4161/gmic.21215.
20. Slykerman R.F., Thompson J., Waldie K.E., Murphy R., Wall C., Mitchell E.A. Antibiotics in the first year of life and subsequent neurocognitive outcomes. *Acta Paediatr*. 2017;(106):87. doi: 10.1111/apa.13613.

Информация об авторах:

Горелов Александр Васильевич, чл.-корр. РАН, д.м.н., профессор; заместитель директора по научной работе, Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; консультант, Научно-консультативный клинко-диагностический центр; 111123, Россия, Москва, ул. Новогиреевская, д. 34

Мелехина Елена Валериевна, к.м.н., доцент по специальности «педиатрия», старший научный сотрудник клинического отдела инфекционной патологии, Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; консультант, Научно-консультативный клинко-диагностический центр; 111123, Россия, Москва, ул. Новогиреевская, д. 34; e-mail: e.melekhina@mail.ru

Сидельникова Элина Сергеевна, аспирант, Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; консультант, Научно-консультативный клинко-диагностический центр; 111123, Россия, Москва, ул. Новогиреевская, д. 34

Information about the authors:

Alexandr V. Gorelov, Corresponding Member of the RAS, Dr. of Sci. (Med), Professor; Deputy Director of Research, Federal Budgetary Institution of Science «Central Research Institute of Epidemiology» of the Russian Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being; Consultant, Scientific Advisory Clinical Diagnostic Center; 34, Novogireevskaya St., Moscow, 111123, Russia

Elena V. Melekhina, PhD (Med), Associate Professor in Pediatrics, Senior Researcher of the Clinical Department of Infectious Pathology, Federal Budgetary Institution of Science «Central Research Institute of Epidemiology» of the Russian Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being; Consultant, Scientific Advisory Clinical Diagnostic Center; 34, Novogireevskaya St., Moscow, 111123, Russia; e-mail: e.melekhina@mail.ru

Elina S. Sidelnikova, postgraduate student, Federal Budgetary Institution of Science «Central Research Institute of Epidemiology» of the Russian Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being; Consultant, Scientific Advisory Clinical Diagnostic Center; 34, Novogireevskaya St., Moscow, 111123, Russia