

НАО Медицинский университет Астана

УДК: 614.34-053.4: 615.33: 616.24-002

МПК: А61К35/74

Акпанова Сания Кудайбиргеновна

**ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ У ДЕТЕЙ С
ПНЕВМОНИЕЙ НА ФОНЕ АНТИБИОТИКОТЕРАПИИ**

7М10102 «Медицина»

Диссертация на соискание академической
степени магистра медицинских наук

Научный руководитель:

д.м.н., профессор _____ Уразова С.Н.

Научный консультант:

к.м.н., доцент _____ Галимгожина Н. И.

Официальный оппонент:

к.м.н., доцент _____ Садибекова Л. Д.

Нур-Султан, 2021

СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ.....	4
ОПРЕДЕЛЕНИЯ.....	5
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ.....	6
СПИСОК ТАБЛИЦ И РИСУНКОВ.....	7
ВВЕДЕНИЕ.....	9
1. ОБЗОР КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ.....	13
1.1 Определение.....	13
1.2 Методы исследования кишечной микробиоты.....	13
1.3 Формирование кишечной микробиоты у детей.....	14
1.4 Развитие кишечной микробиоты у детей после лечения антибиотиками.....	14
1.5 Изменение кишечного микробиома в результате однократной или комбинированной антибиотикотерапии.....	15
1.6 Долгосрочное влияние лечения антибиотиками на кишечный микробиом.....	16
1.7 Защита кишечного микробиома от побочных эффектов после лечения антибиотиками.....	16
1.8 Иммунная система.....	17
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	19
2.1 Отбор участников.....	19
2.2 Обзор дизайна исследования.....	20
2.3 Сбор данных и обследования в рамках исследования.....	22
2.3.1 Сбор проб и анализ данных.....	22
2.3.2 Инструкция забора анализов.....	23
2.3.3 Извлечение ДНК, подготовка библиотек и секвенирование ДНК.....	24
2.3.4 Мультиплексный иммуноанализ.....	24
2.4 Методы статистической обработки.....	25
3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	26
3.1 Клинико-лабораторный анализ.....	26
3.2 Микробиомный анализ.....	27
3.3 Иммунологический анализ.....	51
3.3.1 Анализ иммуноглобулинов.....	51
3.3.2 Статистический анализ.....	53
3.3.3 Изменения цитокинового/хемокинового профиля.....	54
4. Восстановление микробиоценоза и мукозного слоя кишечника.....	59
4.1 Влияние прибиотика Mare's milk на состав кишечной микробиоты и местного иммунитета.....	59
4.2 Алгоритм применения кобыльего молока.....	62
4.3 Состав кобыльего молока.....	62
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	63
ВЫВОДЫ.....	64
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	65
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	66

ПРИЛОЖЕНИЯ.....	71
-----------------	----

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:

1. Хельсинкская декларация Всемирной Медицинской Ассоциации. Этические принципы проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта: принята на 18-й Генеральной Ассамблее ВМА, Хельсинки, Финляндия, июнь 1964 г. (последние изменения: октябрь 2013 г. на 64-ой Генеральной Ассамблее ВМА, Форталеза, Бразилия).

2. ГОСТ 7.32-2001 (Межгосударственный стандарт) Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления.

3. Инструкция по оформлению диссертации и автореферата» - приказ председателя ВАК МОН Республики Казахстан №377-Зж от 28.09.2004г.

4. ГОСО РК-7.09.108–2009 г. Утвержден приказом МЗ РК №261 от 17.06.2011г. Послевузовское образование. Магистратура

5. ГОСТ 7.1-84 Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическое описание документа. Общие требования и правила составления.

6. ГОСТ 7.9-95 (ИСО 214-76) Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Реферат и аннотация. Общие требования.

7. СУ-МУА-04. Стандарт университета. Термины и определения.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В настоящей диссертации применяются следующие термины с соответствующими определениями:

Метагеном — это генетический материал, получаемый напрямую из образцов среды.

Микробиом – это совокупность всех микробов, населяющих организм человека. Это понятие впервые было внедрено в 2001 г. для обозначения коллективных геномов микробных популяций человека, также под микробиомом подразумевают совокупность генов в организме.

Микробиота – это совокупность микробов, локализованных в определенных органах и системах (микробиота кишечника, кожи, слизистых оболочек).

Мультимплексный иммуноанализ - тип медико-биологических аналитических методов, позволяющих одновременно измерять наличие многочисленных сложных молекул в одном биологическом образце.

Пневмония – это заболевание легких преимущественно инфекционного происхождения с поражением концевых участков легких – альвеол и нарушением газообмена на их уровне.

Пробиотики – это живые функциональные и безвредные микроорганизмы, которые позитивно влияют на микрофлору в кишечнике, даже при наличии в ней патогенных бактерий или недостатка «полезных».

Пребиотики – это грубая клетчатка, среда, основа для жизни пробиотика.

Секвенирование – это группа методов определения нуклеотидной последовательности ДНК и РНК для описания её первичной структуры.

С-реактивный белок – это белок острой фазы, высокочувствительный и неспецифический маркер активного воспаления и повреждения тканей.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

АБТ – антибиотикотерапия

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

СРБ – С-реактивный белок

ФРЭС – фактор роста эндотелия сосудов

GCSF – гранулоцитарно-колониестимулирующий фактор

GMCSF – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор

ММ – Mare's milk

СПИСОК ТАБЛИЦ И РИСУНКОВ

Таблица 1	График визитов участников основной группы для сбора данных и мониторинга в течении исследования.....	21
Таблица 2	График визитов участников контрольной группы для сбора данных и мониторинга в течение исследования.....	22
Таблица 3	Клинико-лабораторные показатели.....	26
Таблица 4	Количественная оценка микроорганизмов уровня Филум (тип).....	30
Таблица 5	Количественная оценка микроорганизмов уровня Класс...	32
Таблица 6	Количественная оценка микроорганизмов уровня Порядок.....	33
Таблица 7	Количественная оценка микроорганизмов уровня Семейство.....	35
Таблица 8	Количественная оценка микроорганизмов уровня Род.....	38
Таблица 9	Количественная оценка микроорганизмов уровня Вид.....	43
Таблица 10	Анализ иммуноглобулинов в динамике.....	53
Таблица 11	Анализ показателей цитокинового/хемокинового профиля в динамике.....	55
Рисунок 1	Обзор дизайна исследования.....	20
Рисунок 2	Инструкция забора и хранения материала.....	24
Рисунок 3	Клинико-лабораторный анализ.....	26
Рисунок 4	Обзор изменений состава кишечника на уровне типов.....	27
Рисунок 5	Повышение и понижение концентрации Mollicutes и Coriobacteriales.....	29
Рисунок 6	Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне типов в группе ММ.....	31
Рисунок 7	Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне типов в группе АВ.....	31
Рисунок 8	Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне классов в группе ММ.....	32
Рисунок 9	Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне классов в группе АВ.....	33
Рисунок 10	Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне порядков в группе ММ.....	34
Рисунок 11	Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне порядков в группе АВ.....	34
Рисунок 12	Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне семейств в группе ММ.....	37
Рисунок 13	Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне семейств в группе АВ.....	37

Рисунок 14	Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне родов в группе ММ.....	42
Рисунок 15	Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне родов в группе АВ.....	42
Рисунок 16	Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне видов в группе ММ.....	51
Рисунок 17	Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне видов в группе АВ.....	51
Рисунок 18	Анализ уровня иммуноглобулинов в группе ММ.....	52
Рисунок 19	Анализ уровня иммуноглобулинов в группе АВ.....	52
Рисунок 20	Проверка на нормальность распределения критерия IG по Шапиро-Уилку.....	54
Рисунок 21	Уровни цито/хемокинов в образцах группы ММ на разных этапах исследования.....	57
Рисунок 22	Уровни цито/хемокинов в образцах группы АВ на разных этапах исследования.....	58
Рисунок 23	Динамика изменения численности на уровне типа (эффект размера дельты Клиффа).....	60
Рисунок 24	Алгоритм применения пребиотика Mare's milk.....	65

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность:

На сегодняшний день ученые всего мира уделяют пристальное внимание вопросам кишечной микробиоты, в особенности у детей раннего возраста. Несмотря на многочисленные исследования, многие вопросы, касающиеся микробиоты кишечника, остаются дискуссионными.

Микробиота человека представляет собой эволюционно сложившуюся экологическую систему разнообразных микроорганизмов, населяющих открытые полости организма и поддерживающих биохимическое, метаболическое, иммунологическое равновесие, необходимое для сохранения здоровья [1].

Активное внедрение молекулярно-генетических технологий в практику микробиологических исследований позволило получить новую информацию о составе и свойствах интестинальной микробиоты у людей разного возраста [2].

На состав кишечной микробиоты огромное влияние оказывают множество факторов, начиная от внутриутробного развития и заканчивая экологической обстановкой. Наибольшему стрессу, особенно в детском возрасте, кишечная микробиота подвергается при приеме антибиотиков. Безусловно, антибиотики на сегодняшний день — это бесценное средство для лечения многих инфекционных заболеваний. Но есть и другая сторона медали. Изменяя состав и функции микробиоты, они также могут оказывать длительное вредное воздействие. Появление устойчивых к множеству лекарств патогенных микроорганизмов вызывает беспокойство по поводу распространенного, а порой и неуместного, использования противомикробных препаратов [3].

Введение антимикробных агентов приводит к экологическому дисбалансу взаимоотношений между хозяином и микроорганизмами и вызывает быстрое и значительное сокращение разнообразия микробов [4].

Существуют убедительные доказательства того, что прием антибиотиков влияет на микробиоту кишечника (по крайней мере, на ее дистальную часть, ободочную кишку, которая доступна при сборе фекалий) [5].

Так, где же найти ту самую грань между приемом антибиотиков и гармоничным развитием кишечной микробиоты?! Как правильно скорректировать нарушения метаболизма, ассоциированные с воздействием антибиотиков на организм человека на разных этапах его жизни? Разумно ли использовать пробиотики, симбиотики, метабиотики для коррекции дисбиоза? Эти и другие вопросы остаются актуальными на сегодняшний день.

Следовательно, более глубокое понимание механизма формирования кишечной микробиоты у детей позволит разработать эффективные методы профилактики и коррекции микробиологических нарушений у ребенка и связанных с ними заболеваний в разные периоды жизни [6].

Цель исследования:

Восстановление микробиоценоза и мукозного слоя кишечника у пациентов после антибиотикотерапии класса цефалоспоринов и на фоне применения пребиотиков Mare's milk.

Задачи исследования:

1. Изучить структуру и динамику изменений в системе микробиоценоза кишечника под влиянием антибиотикотерапии
2. Выявить изменения в показателях местного иммунитета кишечника под влиянием антибиотикотерапии и после нее
3. Разработать алгоритм восстановления системы микробиоценоза и мукозного слоя кишечника после антибиотикотерапии

Научная новизна результатов исследования:

Изучен метагеном кишечника и местный иммунитет кишечной микробиоты у детей с диагнозом бронхопневмония в возрасте 4-5 лет в динамике на фоне приема антибиотиков класса цефалоспоринов, проживающих в городе Нур-Султан.

Практическая значимость:

В результате проведенного исследования разработан алгоритм восстановления системы микробиоценоза и мукозного слоя кишечника после антибиотикотерапии класса цефалоспоринов у детей с диагнозом бронхопневмония на фоне приема пребиотиков Mare's milk.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Антибиотики класса цефалоспоринов приводят к снижению α -разнообразия бактериального состава кишечной микробиоты на всех уровнях (тип, класс, порядок, семейство, род, вид) и к отсутствию возможности кишечного микробиоценоза к самовосстановлению на фоне антибиотикотерапии
2. Антибиотики класса цефалоспоринов снижают уровень провоспалительных и противовоспалительных цитокинов / хемокинов, MIP1 α , TNF α , GMCSF, GCSF, sCD40L, FGF2, TGF α , IL1 α , IP10
3. Восстановление микробиоценоза кишечника и показателей местного иммунитета кишечника происходит под влиянием пребиотиков Mare's milk

Объем и структура диссертации: диссертация изложена на 76 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 11 таблицами, 24 рисунками и дополнена 4 приложениями. Диссертационная работа состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы, включающего 63 литературных источника.

Публикации:

По материалам диссертации опубликованы следующие работы:

1. Акпанова С.К., Уразова С.Н, Дербисалина Г. А. «Оценка состояния кишечной микробиоты у детей с пневмонией на фоне антибиотикотерапии», «Валеология: здоровье, болезнь, выздоровление», №1, 2020, стр 12-16
2. Almagul Kushugulova, D.M.Sc Ulrike Löber, Saniya Akpanova, Kairat Rysbekov, Samat Kozhakhmetov, Zhanagul Khassenbekova, Morgan Essex, Ayaulym Nurgozhina, Madiyar Nurgaziyev, Dmitriy Babenko, Lajos Markó, Sofia K Forslund. «Dynamic changes in microbiome composition following Mare's milk intake for prevention of collateral antibiotic effect», PLOS ONE journal, May 2020
3. Акпанова С. К. «Влияние антибиотикотерапии на состояние кишечной микробиоты», Международный научно-практический журнал «Global science and innovations 2020: Central Asia» № 4(3). Июнь-июль 2020, стр 6-9
4. Акпанова С. К., Уразова С. Н., Аширматова И. Б., Альжанова К. Ж. «Нарушенный баланс кишечной микробиоты как один из факторов возникновения Covid-19»// Международный научно-практический журнал «Наука и образование в современном мире: вызовы XXI века», I том, октябрь 2020 г., стр 65-66
5. Nurgaziyev M, Atenov Y, Khassenbekova Z, Akpanova S, Rysbekov K, Kozhakhmetov S, Nurgozhina A, Sergazy S, Chulenbayeva L, Ospanova Z, Tuyakova A, Mukhambetganov N, Sattybayeva R, Urazova S, Galymgozhina N, Zhumadilova A, Gulyaev A, Kushugulova A. «Effect of mare's milk prebiotic supplementation on the gut microbiome and the immune system following antibiotic therapy», Biodiversitas Journal of Biological Diversity, Vol. 21 №11, November 2020 г., pp 5065-5071
6. Акпанова С.К., Уразова С.Н. «Влияние антибиотикотерапии на изменение кишечной микробиоты у детей с пневмонией»// Международный научно-практический журнал «XI Global science and innovations 2020: Central Asia», (№6)11, декабрь 2020, I том, стр 42-44
7. Акпанова С.К., Уразова С.Н., Галимгожина Н.И. «Recovery of the mucosa of the intestinal in children with pneumonia after antibiotherapy»// Development of science: trends, innovations problems and prospects / Abstracts of XVII International Scientific and Practical Conference, Amsterdam, Netherlands, April 01 – 02, 2021, стр 115-117
8. Акпанова С.К. «Восстановление микробиоценоза кишечника у детей с пневмонией после антибиотикотерапии»// «Журнал гепатогастроэнтерологических исследований», №02 (1), 18 мая 2021, стр 525-526
9. Акпанова С.К., Уразова С.Н. «Влияние пребиотиков на восстановление кишечной микробиоты после антибиотикотерапии»// Международный научно-практический журнал «VIII Global science and innovations 2020: Central Asia», апрель 2021, I том, стр 10-12
10. Almagul Kushugulova, D.M.Sc Ulrike Löber, Saniya Akpanova, Kairat Rysbekov, Samat Kozhakhmetov, Zhanagul Khassenbekova, Morgan Essex, Ayaulym Nurgozhina, Madiyar Nurgaziyev, Dmitriy Babenko, Lajos Markó, Sofia K Forslund

11. «Dynamic changes in microbiome composition following Mare's milk intake for prevention of collateral antibiotic effect», Frontiers journal, In cellular and infection microbiology, Volume 01, April 2021

Апробация материалов диссертации

Основные положения работы изложены:

- на международной научно-практической конференции «IX Global science and innovations 2020: Central Asia»

- на международной научно-практической конференции «XI Global science and innovations 2020: Central Asia»

- на XVII международной научно-практической конференции «Development of science: trends, innovations problems and prospects», Amsterdam, Netherlands

- на научно-практической конференции студентов-медиков и молодых ученых с международным участием «Современная медицина и фармацевтика: новые подходы и актуальные исследования» в Самаркандском Государственном медицинском институте

- на международной научно-практической конференции «VIII Global science and innovations 2020: Central Asia»

- на заседании кафедры семейной медицины №3 «Медицинский университет Астана»

1 ОБЗОР КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ

1.1 Определение

Микробиота кишечника — это разнообразная экосистема, содержащая тысячи видов микробов, метаболическая активность которых влияет на многие аспекты физиологии человека [7].

Микробиота — это термин, который используется для характеристики микробиоценоза отдельных органов и систем (кишечник, кожа, плацента, грудное молоко и т.д.), генетического материала и взаимоотношений внутри экологической ниши в определенный период времени на определенной географической территории [8].

Хотя изучение микробиоты человека стало возможным только за последние 20 лет благодаря развитию геномных исследований, биоинформатики, термин «микробиота» был использован еще в середине 40-х годов прошлого века при описании микробной контаминации бактериями полости рта, а «микробиомом» обозначили коллекцию микробных генов в конкретной экосистеме [9].

Понятие «микробиом» было впервые внедрено в 2001 г. для обозначения коллективных геномов микробных популяций человека, также под микробиомом подразумевают совокупность генов в организме. Микробиом человека состоит не только из бактерий, но также из археев и эукариот, таких как простейшие, грибов и нематод, вирусов, коллективно называемых *virome* [10].

1.2 Методы исследования кишечной микробиоты

С момента первых исследований бактерий кишечника, описанных более 300 лет назад в работах Антони ван Левенгука, а впоследствии Л. Пастера, Р. Коха, И.И. Мечникова, представления о роли микроорганизмов, составляющих внутреннюю среду организма человека, за последние годы во многом изменились. Прежде всего, прогресс в понимании микробного сообщества человека стал возможным благодаря исследованиям в области состава генома [11].

Новые технологии – методы секвенирования последнего поколения (Next-Generation Sequencing – NGS) – позволили в десятки и сотни раз ускорить процесс определения нуклеотидных последовательностей ДНК и РНК. С помощью NGS успешно изучают геном человека (Human Genome Project) и его микробиоту. В процессе международного исследовательского проекта «Геном человека» (The Human Genome Project), который позволил установить полную последовательность ДНК человека, была выполнена работа по оценке количества бактерий, населяющих наше тело. Стало очевидным, что микроорганизмов – множество, и большая их часть находится в кишечнике. В рамках проекта «Микробиом человека» (Human Microbiome Project) были картированы >10 тыс. микроорганизмов человека – бактерий, вирусов, грибов, простейших, обитающих в организме (особенно в ротовой полости); для многих из них определена генетическая последовательность [12].

На сегодняшний день микробиом желудочно-кишечного тракта - горячая тема в клинических исследованиях [13].

Микробиота стала предметом интенсивного изучения в области протеомики и метаболомики, близких направлений современной биомедицины, связанных с расшифровкой нарушений синтеза и структуры белков, липидов, активности ферментов. Это создает перспективы для индивидуального подбора лекарственной терапии и раннего прогнозирования развития заболеваний [14].

1.3 Формирование кишечной микробиоты у детей

Хорошо известно, что формирование микробиоты человека начинается еще в период внутриутробного развития. При этом генная последовательность микроорганизмов, обнаруженных у матери в тканях матки и плаценте, повторяется у новорожденного [15, 16].

Кишечная микробиота обладает способностью видоизменяться на протяжении всей жизни. Стоит отметить, что динамика развития и видовой состав микробиоты детей отличается от взрослой. Так, например, *Bifidobacterium spp.* более распространены в микробиоте кишечника у детей, чем у взрослых, и могут постепенно уменьшаться до зрелого возраста. Микробиота кишечника у детей может быть более податлива к факторам окружающей среды, чем у взрослых [17].

Микрофлора в раннем возрасте очень нестабильна и претерпевает динамические изменения в течение первых нескольких лет, приближаясь к более стабильной взрослой микробиоте, эволюционируя вместе с хозяином к возрасту [18].

Сообщество кишечных микробов динамично в течение первых 3 лет жизни, прежде чем стабилизируется до состояния взрослого [19].

Кишечная микробиота детей особенно подвержена различным изменениям под воздействием множества факторов, особенно при приеме антибиотиков.

Антибиотики могут изменять микробный состав, что приводит к различным эффектам в зависимости от класса антибиотика, дозировки и продолжительности [20].

1.4 Развитие кишечной микробиоты у детей после лечения антибиотиками

Кишечный микробиом детей претерпевает значительные изменения в течение первых двух лет жизни. Лечение антибиотиками считается одним из наиболее значимых факторов, которые серьезно влияют на развитие кишечного микробиома у детей. Fouhy, F и соавт. провели исследование с использованием высокопроизводительного секвенирования и количественной ПЦР для сравнения микробиома кишечника девяти детей, которые получали парентеральное лечение антибиотиками, а именно ампициллин и гентамицин. Назначенный курс антибиотиков был начат через два дня после рождения, а образцы кала были взяты через 4 и 8 недель после завершения лечения. Контрольную группу составили 9 здоровых детей. Результаты исследования показали значительные изменения в кишечном микробиоме детей, получающих антибиотики. Было отмечено, что в образцах, взятых через 4 недели после прекращения лечения, наблюдалось увеличение *Proteobacteria* ($p = 0,0049$) и

значительное снижение количества Actinobacteria ($p = 0,00001$), Bifidobacterium ($p = 0,0132$), а также рода Lactobacillus ($p = 0,0182$) по сравнению с контрольной группой. Уровни Proteobacteria оставались значительно выше у детей, получавших антибиотики ($p = 0,0049$) на 8-й неделе. Однако уровни Actinobacteria, Bifidobacterium и Lactobacillus в 8-й неделе восстановились и были такими же, как в контрольной группе. Это исследование показало, как совместное использование ампициллина и гентамицина в раннем возрасте может оказать существенное влияние на развитие кишечного микробиома у детей раннего возраста [21].

Другое исследование, проведенное группой ученых из Университета Kyushu University, показало, как использование антибиотиков влияет на развитие кишечного микробиома у детей. Состав кишечной микробиоты анализировали ежедневно в течение первых 5 дней и ежемесячно в течение первых 2 месяцев. Применение антибиотиков привело к уменьшению разнообразия рода Bifidobacterium и увеличению Proteobacteria. Кроме того, микробиом детей, которые не получали антибиотикотерапию, но чьи матери принимали антибиотики до родов, показал те же изменения, что и микробиом детей, получавших антибиотикотерапию [22].

Раннее лечение антибиотиками также распространено среди недоношенных детей. Это вызывает значительные изменения в их иммунной системе и кишечном микробиоме, которые были связаны с поздним сепсисом, патогенезом некротического энтероколита и другими неблагоприятными последствиями для здоровья [23]. Эндрю Дж. Гаспаррини и его коллеги выполнили метагеномные исследования, чтобы изучить кишечную микробиоту недоношенных детей, подвергшихся воздействию антибиотиков, вовремя и после госпитализации и сравнили результаты с результатами, полученными из образцов здоровых младенцев, не получавших антибиотики. Результаты исследования показали, что лечение антибиотиками в раннем возрасте может привести к снижению видового богатства и разнообразия, увеличению резистентности и постоянному носительству MDR Enterobacteriaceae [24].

1.5 Изменение кишечного микробиома в результате однократной или комбинированной антибиотикотерапии

Хорошо известен тот факт, что прием разных антибиотиков или их комбинаций имеет разный эффект и приводит к различным изменениям в микробиоме. Например, ванкомицин уменьшает микробное разнообразие и абсолютное количество грамположительных бактерий в кале, особенно рода Firmicutes, в то время как влияние амоксициллина на кишечный микробиом немного отличается. Комбинация антибиотиков, содержащих ампициллин, гентамицин, метронидазол, неомицин и ванкомицин, не только уменьшает общее количество бактерий, но и резко меняет таксономический состав микробиома [25]. Норвежские ученые продемонстрировали, что применение ампициллина и гентамицина в комбинации приводило к снижению уровня Lactobacillus, Bifidobacterium и Veillonella и увеличению Escherichia [26]. Другое сообщение

датской группы, где они изучали действие коктейля антибиотиков (комбинация ванкомицина, гентамицина и меропенема) на микробиом, показало значительное снижение уровней *Bifidobacterium*, *Enterococci* и *Coliform* [27]. Если мы сравним влияние различных антибиотиков на одну и ту же группу бактерий, мы увидим, что введение антибиотиков класса ципрофлоксацина значительно снижает уровень бактериоидов у пациентов, но при применении моксифлоксацина уровень бактериоидов остается на начальном уровне [28].

1.6 Долгосрочное влияние лечения антибиотиками на кишечный микробиом

Антибиотики оказывают как кратковременное, так и долговременное воздействие на микробиом кишечника человека. Например, в исследовании, в котором изучалось влияние ципрофлоксацина и клиндамицина на кишечную микробиоту группы здоровых людей в течение 1 года, было установлено, что для нормализации кишечной микробиоты после приема антибиотиков потребовалось от 1 до 12 месяцев. Введение ципрофлоксацина и клиндамицина приводило к изменению микробного состава вплоть до 12-го месяца после введения [29]. Применение антибиотиков может привести к длительному изменению микробного сообщества или даже к постоянной гибели некоторых видов. Фальк Хильдебранд и его коллеги проанализировали данные микробиома после лечения антибиотиками группы цефалоспоринов. Результаты метагеномного анализа на уровне генов показали очевидную гибель девяти комменсальных бактерий и длительно сохраняющиеся изменения [30]. Это исследование демонстрирует тот факт, что воздействие антибиотиков на микробиоту кишечника человека сохраняется в течение продолжительного периода времени.

1.7 Защита кишечного микробиома от побочных эффектов после лечения антибиотиками

Использование антибиотиков имеет такие быстроразвивающиеся последствия, как диарея, инфекция *Clostridium difficile*, псевдомембранозный энтероколит и распространение устойчивых к антибиотикам форм бактерий, а также долгосрочные последствия, включая аллергию, ожирение и другие [28]. Gunzburg и его коллеги разработали терапию под названием «DAV132», которая предназначена для предотвращения дисбиоза, вызванного антибиотиками. Они провели рандомизированное контролируемое исследование, в котором 46 добровольцев получили 5-дневный курс перорального приема моксифлоксацина в двух параллельных группах, первая группа вводила DAV132 вместе с антибиотиком, вторая группа принимала только антибиотик. В этом исследовании качественный метагеномный анализ с использованием метода дробовика показал, что разнообразие и состав кишечного микробиома были в основном сохранены у субъектов, которым вводили DAV132 в сочетании с моксифлоксацином [28]. Авторы утверждают, что продукт эффективен для профилактики и защиты кишечного микробиома от

неблагоприятного воздействия антибиотиков.

Одним из методов защиты микробиома от повреждения, вызванного антибиотиками, является использование бета-лактамазных ферментов. Эти ферменты используются для уничтожения остаточных антибиотиков в желудочно-кишечном тракте, прежде чем они могут отрицательно влиять на микробиом кишечника [31]. Бета-лактамазные ферменты P3A (рабочее название SYN-004), разработанные группой ученых, показали положительные результаты на разных этапах (фазах) клинических испытаний. SYN-004 полностью разложил цефтриаксон до уровня ниже кишечника [32]. Это означает, что бета-лактамазные ферменты могут использоваться для защиты кишечного микробиома и предотвращения нежелательных побочных эффектов, включая инфекции *Clostridium difficile*.

Метагеномное изменение кишечного микробиома путем конъюгации *in situ* (MAGIC) — это совершенно новая система, которая была введена Carlotta Ronda и коллегами для генетической модификации кишечной микробиоты в их естественной среде обитания путем создания мобилома [33]. Мобилом это репертуар мобильных генетических элементов в микробиоме кишечника. Концепция этой системы основана на способности бактерий обмениваться ДНК и тем самым разнообразить таксоны в микробиоме кишечника с желаемыми генетическими функциями [33].

1.8 Иммунная система

Недавние исследования подтвердили важную роль кишечной микрофлоры в развитии иммунной защиты [34]. Иммунная система регулирует баланс кишечного биоценоза, то есть механизмы саморегуляции микробиоты контролируются местным кишечным иммунитетом. Нарушения кишечной микробиоты являются следствием иммунологической дисфункции и гуморального иммунитета. Глубокое понимание связи между микробиомом и хозяином приводит к пониманию возникновения различных заболеваний [35,36]. Иммунная система слизистого слоя формирует защитный барьер благодаря наличию собственного лимфоидного аппарата и иммунокомпетентных клеток [37–39]. Микробиом кишечника находится в взаимосвязанном балансе с самой большой иммунной системой в организме - лимфоидной тканью кишечника (GALT), который вызывает иммунную толерантность слизистой оболочки. На первой стадии защиты эпителиальные клетки секретируют антимикробные клетки (AMP) и лизоцим, затем вырабатываются иммуноглобулины, а на заключительной стадии защиты происходит развитие врожденных и адаптивных клеток, таких как лимфоидные клетки, дендритные клетки. В свою очередь, лимфоидная защита связана с продукцией цитокинов (IL-6, IL-17, IL-22, TNF) и Т-лимфоцитов [40].

Под влиянием патогенной и условно-патогенной флоры и их токсинов на иммунокомпетентные клетки в организме наблюдаются изменения иммунного статуса и клеточного иммунитета. Ряд авторов считают, что эти изменения являются защитными и вызывают снижение активности иммунокомпетентных

клеток и их медиаторов [41–43].

В организме с дисбактериозом кишечника развитие лимфоидных органов нарушается, что приводит к подавлению клеточного иммунитета. Наблюдается снижение продукции CD4 + и CD8 + подмножеств кишечных Т-клеток, а экспрессия Т-клеточного рецептора (TCR) снижается. Существует также дисбаланс клеток Th1 и Th2 по отношению к Т-хелперу 2, который способствует развитию поздних иммуно-опосредованных заболеваний, таких как болезни типа Th1 и типа Th2. Наряду с дисбиозом существует риск развития или обострения аутоиммунных заболеваний, прежде всего с локализацией иммунопатологического процесса в желудочно-кишечном тракте. Некоторые бактериальные популяции были связаны с развитием клетки Th17, мощного источника интерлейкина-17 (IL-17), который играет важную роль в поддержании целостности барьера слизистой оболочки и удалении патогенных микроорганизмов. Регуляторные Т-клетки (Treg-клетки) являются основным источником IL-10 и способны распознавать антигены, полученные из комменсала, что поддерживает толерантность к кишечной микробиоте [44-46]. Скорость дисбиоза экспериментальных клеток коррелирует с дефицитом продукции антител IgA и IgG. Как известно, IgA необходим для колонизации бактериального сообщества слизистой оболочки, в свою очередь, истощение В-клеток и недостаток IgA способствуют снижению колонизации и потере иммуномодулирующих видов сообщества [47-48]. Donaldson G. и соавторы считают, что IgA по отношению к микробному сообществу является амбивалентным, обладает устойчивостью и в здоровом организме стимулирует колонизацию полезной микробиоты, а при патологии вызывает реакции на патогены [49].

Таким образом, определенные антибиотики или комбинации антибиотиков оказывают аналогичное воздействие на микробную композицию, уменьшая или увеличивая уровни определенных групп бактерий; антибиотики изменяют состав микробиоты и повышают восприимчивость к инфекциям.

Многочисленные исследования, проведенные в последние два десятилетия, не оставляют сомнений в том, что микробиом вносит весьма весомый вклад в формирование и поддержание здоровья ребенка. Он участвует в жизненно важных физиологических процессах, берущих свое начало от момента зачатия, и направляет развитие детского организма. Огромный биологический потенциал микробиома и его уникальная роль в формировании и поддержании здоровья ребенка свидетельствует о необходимости усиления внимания ученых и практикующих врачей к вопросу оптимизации процесса становления микробной системы в пери и постнатальном периодах и сохранения его в здоровом состоянии в дальнейшем. Поскольку аномалии в структуре микробиома ассоциируют с широким спектром заболеваний, оптимизация его формирования и оздоровления в раннем возрасте является чрезвычайно важным фактором в улучшении здоровья детей и взрослых [50].

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данное исследование было одобрено локальным этическим комитетом НАО «Медицинский университет Астана» (приложение 1).

2.1 Отбор участников

В исследование было включен 21 ребенок в возрасте от 4 до 5 лет с диагнозом двусторонняя бронхопневмония, которые соответствовали критериям включения и исключения. Набор пациентов производился в ГКП на ПХВ «Городская детская больница №1» и «Городская детская больница №2», среди детей, находящихся под наблюдением в условиях профильного стационара (с дальнейшим наблюдением в амбулаторных условиях). Все участники соответствовали критериям включения и невключения.

Критерии включения пациента в исследование:

1. Пациенты обоего пола в возрасте 4-5 лет.
2. Подписанное родителем добровольное информированное согласие на участие в исследовании.
3. Установленный диагноз двусторонней бронхопневмонии и наличие показаний для назначения антибактериальной терапии.
4. Длительность проявления симптомов острого заболевания верхних дыхательных путей не более 72 часов.
5. Отсутствие назначений антибактериальных лекарственных средств на догоспитальном этапе.

Критерии невключения пациента в исследование:

1. Тяжелые формы острых инфекций.
2. Наличие в анамнезе приема пробиотиков и антибиотиков в течение трех месяцев до поступления в стационар.
3. Наличие в анамнезе хронических заболеваний ЖКТ, а также каких-либо операций на ЖКТ.
4. Наличие тяжелых сопутствующих заболеваний почек, печени, сердечно-сосудистой, дыхательной и других систем организма, онкологических, психических и декомпенсированных эндокринных заболеваний, туберкулеза, ВИЧ-инфекции.
5. Участие пациента в других клинических исследованиях в течение последних 3 месяцев.
6. Отсутствие готовности пациента к сотрудничеству с врачом-исследователем.

После определения соответствия участника критериям включения и невключения, с родителями и пациентами была проведена беседа с подробным описанием исследования, возможными рисками для ребенка, а также объяснением, что они вправе отказаться от участия в исследовании без каких-либо последствий для дальнейшего обследования и лечения. Перед началом каких-либо процедур или перед сбором и анализом данных было получено письменное информированное согласие (приложение 2). Далее ребенку присваивался индивидуальный четырехзначный код, где первые два числа

идентифицировали учреждение, в котором находится ребенок, а вторые два числа обозначали порядковый номер ребенка. Все данные были занесены в специальную форму (приложение 3).

2.2 Обзор дизайна исследования

Дети, прошедшие рекрутинг, были стратифицированы на две группы (рисунок 1):



Рисунок 1 – Обзор дизайна исследования

1 группа: основная, кодируется как MM. Они получали антибиотик цефалоспорины в первые 7 дней пребывания в стационаре и пребиотик Mare'a milk в течение всего периода исследования.

2 группа: контрольная, кодируется как AB. Они получали стандартное лечение антибиотиком цефалоспорином в первые 7 дней пребывания в стационаре.

Исследование длилось 60 дней, пациентов выписывали на 7 день, а затем наблюдали амбулаторно. На момент поступления и на 60-й день исследования все пациенты прошли комплексное медицинское обследование (Таблица 1/Таблица 2). Данное исследование включало в себя следующие методы:

1. Лабораторное обследование (ОАК: лейкоциты, эритроциты, гемоглобин, СОЭ, гематокрит, СРБ)
2. Анализ кала и мазок с перианальной области на исследование кишечного микробиома и показателей местного иммунитета
3. Статистический анализ в программах SPSS Statistic; Permanova, Betadisper
4. Экстракция и секвенирование ДНК
5. Мультиплексный иммуноанализ

Таблица 1 – График визитов участников основной группы для сбора данных и мониторинга в течение исследования

Наименование этапа	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Дни исследования	1	2	3	4	5	6	7	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Рекрутинг, подписание информированного согласия	+																	
Назначение антибиотикотерапии	+	+	+	+	+	+	+											
*Назначение функционального продукта Mare's milk	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Взятие мазка с прямой кишки	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Взятие образца стула	+																	+
Клинико-лабораторное обследование: 1) Общий анализ крови 2) С-реактивный белок 3) Копрограмма	+																	+

Таблица 2 – График визитов участников контрольной группы для сбора данных и мониторинга в течение исследования

Наименование этапа	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Дни исследования	1	2	3	4	5	6	7	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Рекрутинг, подписание информированного согласия	+																	
Назначение антибиотикотерапии	+	+	+	+	+	+	+											
Взятие мазка с прямой кишки	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Взятие образца стула	+																	+
Клинико-лабораторное обследование: 1) Общий анализ крови 2) С-реактивный белок 3) Копрограмма	+																	+

Все полученные данные были внесены в Индивидуальные Регистрационные Карты (приложение 4).

2.3 Сбор данных и обследования в рамках исследования

2.3.1 Сбор проб и анализ данных

Образцы фекалий были собраны пациентами с помощью тампонов или пробирок. Фекалии были помещены в унитаз и сразу отобраны, затем хранились в замороженном виде при температуре около -20°C в пакетах с хладагентом. Отбор проб проводился двумя методами, потому что у многих детей был запор после антибиотикотерапии. Мы использовали специальные пакеты с хладагентом, что позволило нам их транспортировать без нарушения температурного режима. Образцы были впоследствии переданы в лабораторию и хранились при -80°C до обработки. Образцы от пациентов были получены до лечения антибиотиками и от 1 до 60 дней исследования, с ежедневным сбором до 6-го дня и последующим сбором каждые пять дней до 60 дня. Из фекальных образцов было извлечено 152 ДНК с использованием фекалий / почвы Zymo Research Quick-DNA™.

Материал для исследования микробиома и иммунологии - мазок из заднего прохода и образцы стула. Забор образцов кала проводился в соответствующие

контейнеры. Забор производился врачом исследователем в соответствии с предоставленной инструкцией. Образцы хранились до транспортировки в лабораторию при температуре -20°C .

2.3.2 Инструкция забора анализов

Инструкция забора мазка из прямой кишки – 2 пробирки

Осторожно вводили тампон на 4 см вглубь анального сфинктера и аккуратно вращали его в течение 10-20 секунд для получения материала с анальных складок

Переносили материал в соответствующую пробирку с соблюдением общих рекомендаций.

Для взятия биоматериала использовали только одноразовый инструмент и одноразовый пластиковый контейнер (пробирка). После забора материала пробирки плотно закрывались, маркировались и доставлялись в лабораторию вместе с направлениями. Номера на пробирках соответствовали номерам на направлениях; при невозможности доставки биоматериала в лабораторию в день забора, его хранили в морозильной камере в течение 2-х недель. Размораживание и повторное замораживание не допускалось! Транспортировались образцы при температуре не выше $+4^{\circ}\text{C}$ в термоконтейнере с охлаждающими элементами или термосе со льдом.

Инструкция забора стула

1. В набор входили необходимые конверты и пробирки
2. Унитаз необходимо было покрыть белым пакетом с надписью «класс А»; по центру положить белую фильтровальную бумагу размером $9*12,5$ гладкой стороной вверх; дефекацию производили на фильтровальную бумагу
3. Открыть пробирки и специальной ложкой внесли кал в каждую пробирку
4. Пробирки плотно закрывали крышкой, упаковывали в фольговые мягкие конверты, удалили клейкую ленту и запечатали конверты
5. Конверт из фольги упаковали в полиэтиленовый пакет, удалили клейкую ленту и запечатали. Запечатанный пакет хранили в морозильнике при $t = -20^{\circ}\text{C}$ до посещения врача.

Использованный пакет «класс А» и фильтровальную бумагу утилизировали в мусор

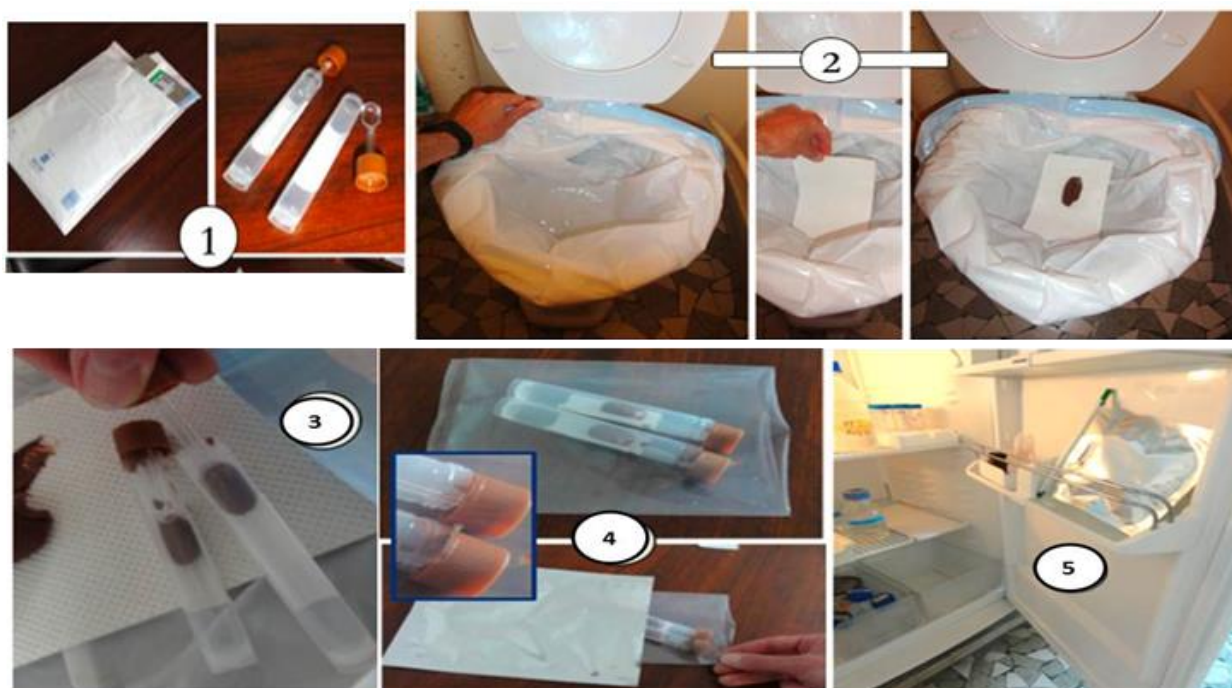


Рисунок 2 – Инструкция забора и хранения материала

2.3.3 Извлечение ДНК, подготовка библиотек и секвенирование ДНК

ДНК экстрагировали с помощью QIAamp DNA Stool Mini.Kit (Qiagen, Германия) и количественно определяли с помощью dsDNA HS Набор Qubit Assay Kit (Thermo Fisher, США). Это было измерено с помощью спектрофотометра Nanodrop 2000/2000 s и флуорометра Qubit® 2.0 (Invitrogen, США), затем хранилось при температуре -30 С. Библиотеки были приготовлены с использованием Nextflex 16s V1-V3 Amplicon-seq Комплект (Perkin Elmer, США), подходящий для платформ Illumina. Очищенные ампликоны объединяли и секвенировали на платформе Illumina MiSeq. Всего было проведено 812 проб стула. Уровни были измерены с помощью Био-Plex ® массива 3D системы (Bio-Rad Laboratories, Калифорния, США).

2.3.4 Мультиплексный иммуноанализ

Для оценки иммунологических параметров 3-4 мг замороженных фекалий образцов разводили в 200 мкл фосфатного буфера, центрифугировали, и анализировали. Проанализировал множественные цитокины и хемокины, мы использовали MILLIPLEX MAP Human Cytokine / Chemokine

Панель с магнитными шариками и для изотипирования иммуноглобулинов на панели с магнитными шариками Milliplex® (HGAMMAG-301K-06, EMD Millipore Corp., Billerica, MA). Образцы были проанализированы на биосистемах подвесных массивов 142 Plex 3D.

Исследования иммунологического статуса были проведены в соответствии с протоколами для MAGPIX® Multiplexing Instrument from Luminex Corporation по следующим показателям: MIP1 α , TNF α , GMCSF, GCSF, sCD40L, FGF2, TGF α , IL1 α , IP10.

2.4 Методы статистической обработки

Статистический анализ проводился в программе IBM SPSS Statistics 20, при соблюдении условий:

Оценка распределения данных (тест на нормальность) проводилась на основе критерия Шапиро-Уилка и критерия Вилкоксона. За уровень статистической значимости различий показателей, принималась величина $p > 0,05$.

Для сравнения индекса Шеннона использовался критерий Манна-Уитни. Линейные регрессионные модели вариации альфа-разнообразия во время выборки сравнивались с помощью метода ANOVA. Влияние индивидуальных параметров, таких как пол и возраст пациента, на относительное биологическое разнообразие определялось с помощью статистических тестов ANOSIM и PERMANOVA. Тест BETADISPER использовался для проверки случайной дисперсии и проверки статистики бета-разнообразия. Корреляцией Пирсона были рассчитаны коэффициенты для связи между биомаркерами иммунного ответа и численности микробов.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Клинико-лабораторный анализ

Во время выписки из клиники у всех пациентов был положительный клинический ответ на лечение антибиотиками, что проявлялось в снижении симптомов интоксикации, улучшении аппетита, нормализации сна и температуры тела. На начало исследования существенных различий по большинству показателей между двумя группами не было, различия для СОЭ, СРБ составляет $p > 0,05$. Исключение составляют лейкоциты, в группе ММ, этот показатель значительно выше, чем в группе АБ. (Таблица №3).

Таблица 3 – Клинико-лабораторные показатели

Наименование индикаторов	АВ		ММ	
	1-й день	60 день	1-й	60 день
	n=10	n=10	n=11	n=11
Возраст	4.4	4.4	3.5	3.5
Лейкоциты, $\cdot 10^9/L$	10.4±1.21	8.0±0.9	19,1±1.24	8.9±3.9
СРБ, mm/h	9.33±3.48	8.3±6.8	20.6±3.33	8.0±6.2
СОЭ, mg/L	7.28±4.73	1.8±1.9	30.74±24.74	1.45±0.35

К 60-му дню исследования все показатели крови в обеих группах были восстановлены до нормы и не имели статистически значимых различий в обеих группах (Рисунок 3).

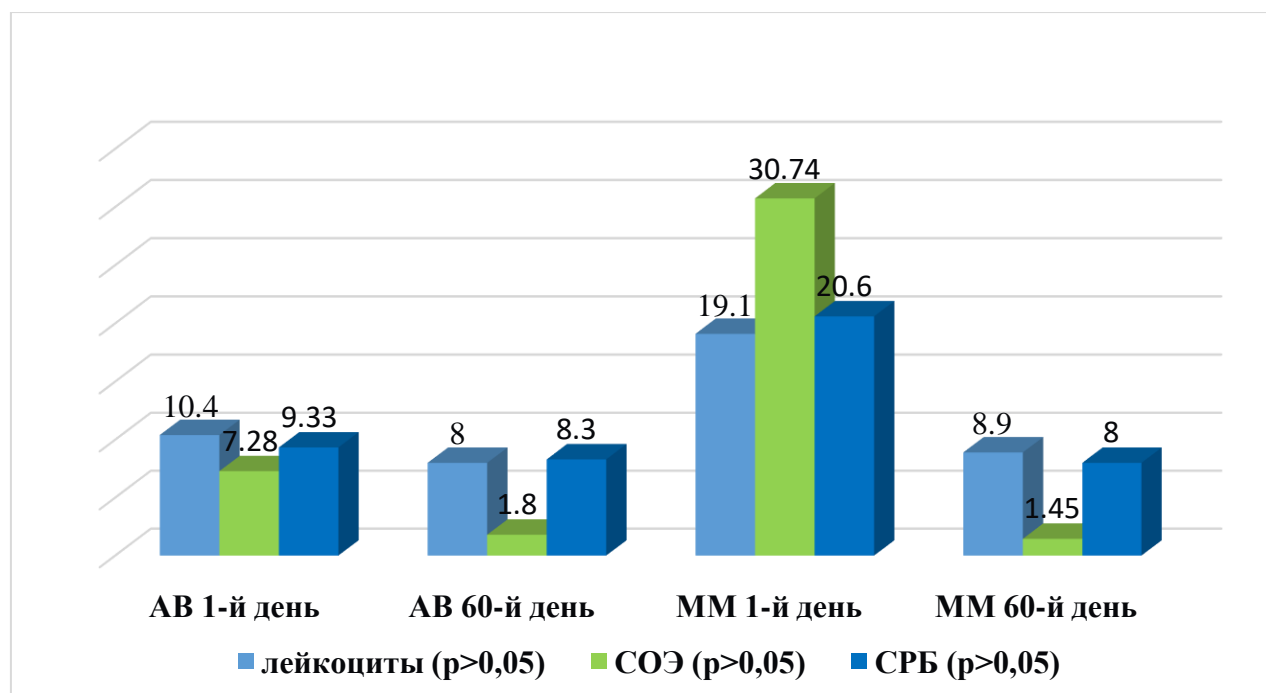


Рисунок 3 – Клинико-лабораторный анализ

3.2 Микробиомный анализ

Всего мы исследовали 378 образцов стула, взятых из группы ММ (пациенты, получавшие кобылье молоко) и группы АВ (пациенты, получавшие стандартное лечение антибиотиками) группы. Как и ожидалось, лечение цефалоспорином вызвало глубокое бактериальное истощение кишечника и значительное изменение концентрации бактерий в составе микробиома (Рисунок 4).

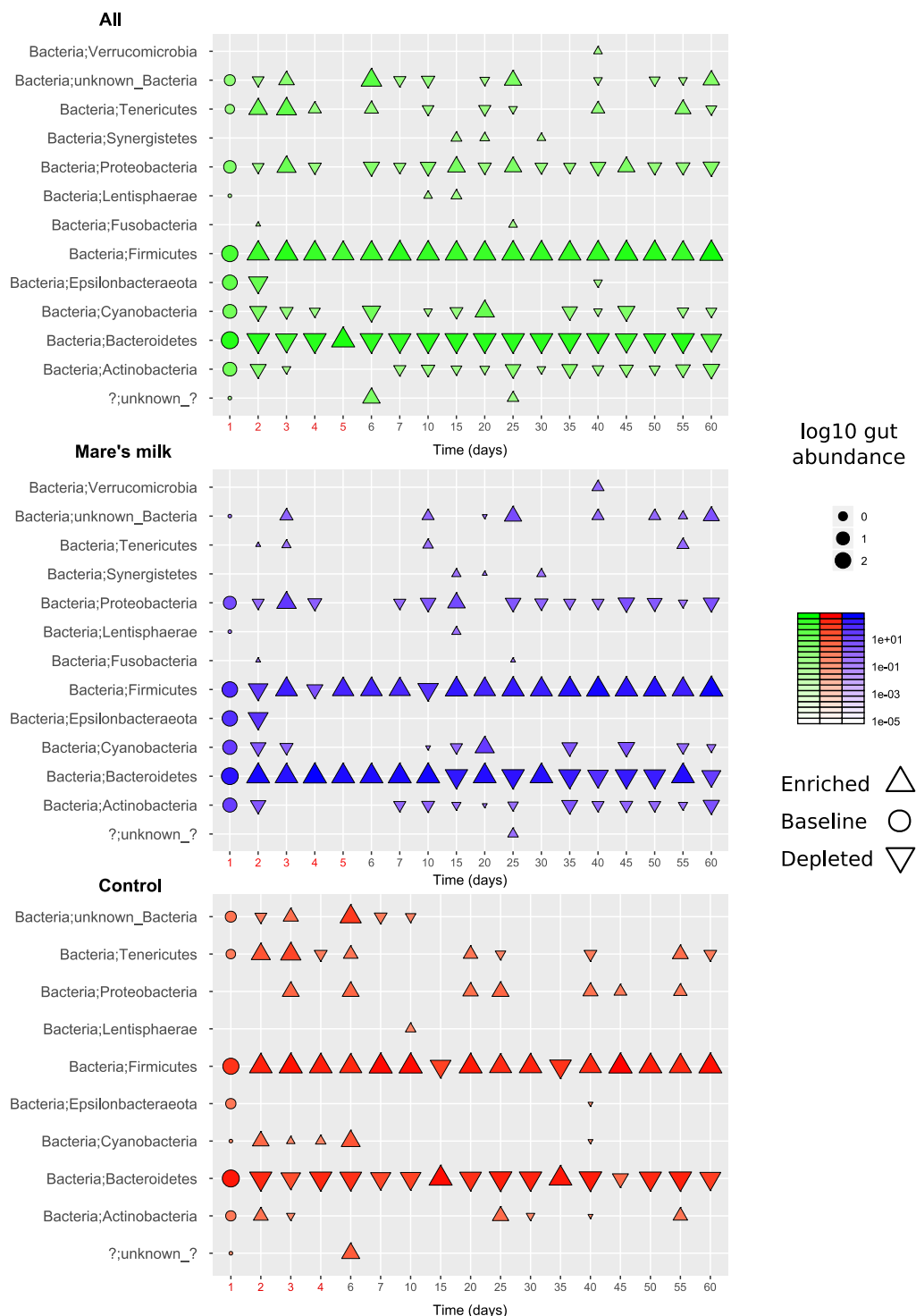
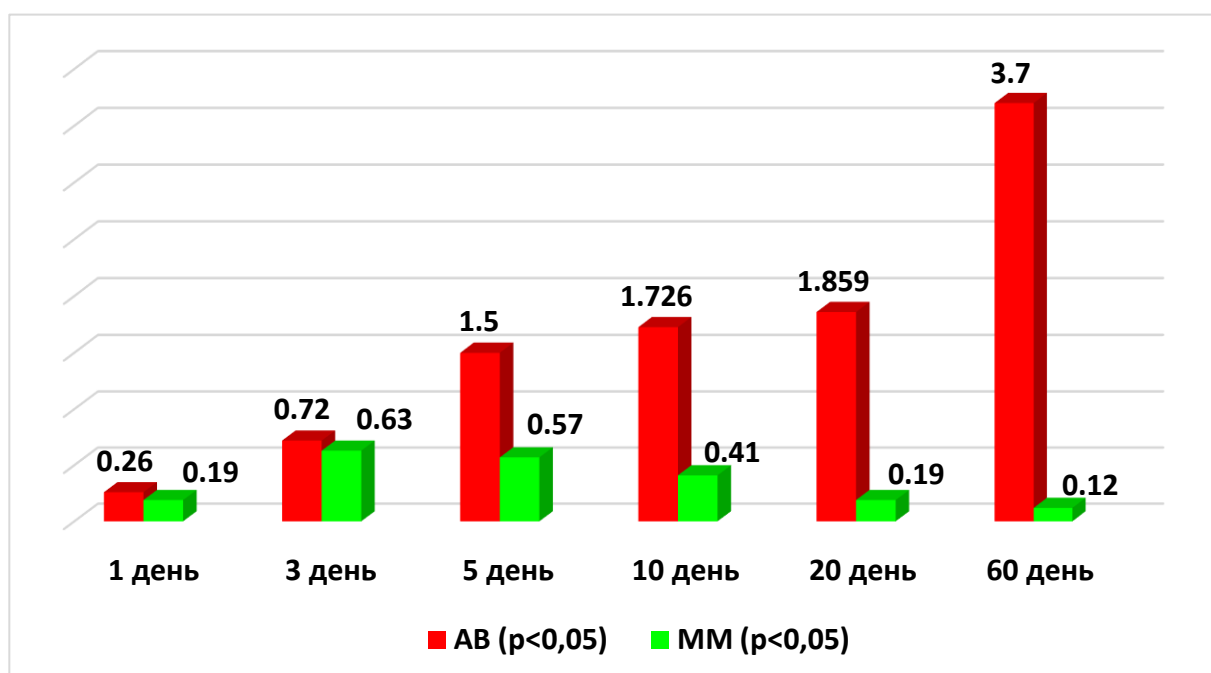


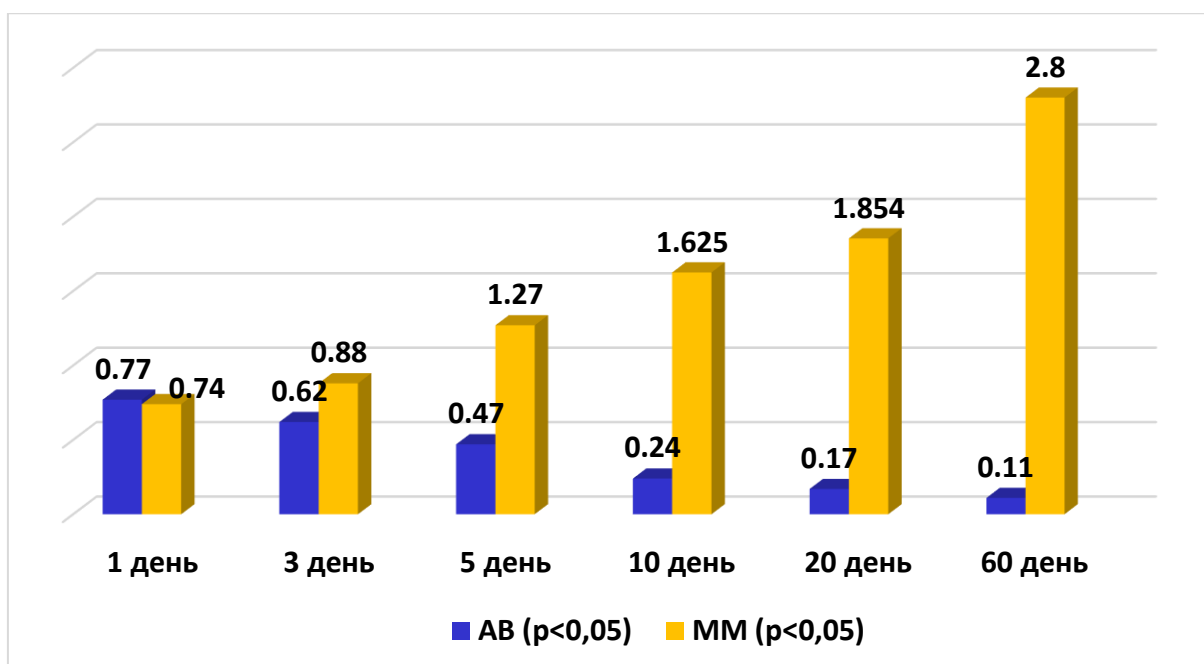
Рисунок 4 – Обзор изменений состава кишечника на уровне типов.

Диаграмма показывает численность в кишечнике различных типов бактерий, в среднем по когорте, клиническим образцам и контрольным образцам. Размер и интенсивность маркера показывают среднее содержание кишечника с направлением по сравнению с базовой линией (круглые маркеры).

Анализ таксономического состава кишечника на уровне класса выявил существенные (скорректированные по уровню ложноположительных результатов Бенджамини-Хохберга p -значение $Q < 0,1$) различия в пост антибиотических траекториях образцов ММ и АВ при смешанном воздействии сравнении моделей с учетом индивидуальной изменчивости, момента времени и состояния образца кала/мазка. Лечение кобыльим молоком предотвращает рост Mollicutes, одновременно предотвращая потерю Coriobacteriales (рис. 5 А/Б).



А. Mollicutes.



Б. Coriobacteriales

Рисунок 5 А/Б – Повышение и понижение концентрации Mollicutes и Coriobacteriales.

А. На рисунке показано концентрация порядка Mollicutes в группах АВ и ММ. Б. На рисунке показано содержание представителей порядка Coriobacteriales в группах АВ и ММ.

В группе ММ мы наблюдаем значительное увеличение численности Coriobacteriales которые принадлежат филуму Actinobacteria и состоят из двух семейств, Coriobacteriaceae и Atorobiaceae. Coriobacteriales относятся к условно-патогенной флоре и обычно обитают в полости рта, желудочно-кишечном тракте и половых путях. В кишечнике представителями отряда кориобактерий является семейство Coriobacteriaceae, которое выполняет важные функции, такие как преобразование солей желчных кислот и стероидов, а также активация пищевых полифенолов [51].

В ходе исследования мы выявили заметное изменение состава бактерий кишечной микробиоты на всех уровнях, включая тип, класс, порядок, семейство, род и вид (Таблица 4, 5, 6, 7, 8, 9).

Мы наблюдали, что роды Finegoldia, Fusobacterium, Faeklamia, Gordonibacter, Jonquetella, Mobiluncus, Peptoniphilus, Peptostreptococcus и Porphyromonas были полностью сокращены в группе АВ на 2-й день лечения цефалоспорином и полностью не восстановились до последнего дня исследования. Представители родов Acidaminococcus, Anaerococcus, Anaerostipes, Blautia, Butyricimonas, Coprobacter, Gemmiger, Odoribacter, Parabacteroides уменьшились через 3 дня после начала антибактериальной терапии, но восстановились к 10-му дню исследования. Роды Sutterella, Akkermancia, Alistipes, Bacteroides, Eggertella, Flavonifractor, Fusicatenibacter, Intestinimonas, Oscillibacter, Phascolarctobacterium, Ruminococcus и Barnesiella

слегка колебались. Их численность значительно сократилась в первые дни антибактериальной терапии. Однако они быстро восстановились после прекращения лечения цефалоспорином. Лечение антибиотиками широкого спектра действия резко снизило популяции *Dialister* и *Megasphaera*.

Помимо уменьшения численности нескольких родов наблюдалось увеличение *Christensenella*, *Rothia*, *Abiotrophia*, *Acinetobacter*, *Anaerotruncus*, *Holdemania*, и *Turicibacter*. Некоторые из них являются условно-патогенными микроорганизмами. Так известно, что род *Rothia* вызывает тяжелые респираторные заболевания, такие как пневмония и острый бронхит, и представители этого рода чаще всего поражают людей с ослабленным иммунитетом.

Композиционный бактериальный микробиомный анализ показал, что антибиотикотерапия положительно коррелирует с филумом Firmicutes ($|\delta| = 0,49$; FDR $<0,30$), в основном из-за порядка Clostridiales ($|\delta| = 0,43$; $p <0,05$; FDR $<0,39$) и отрицательно коррелирует с Bacteroidetes ($|\delta| = -0,39$; FDR $<0,41$). Обилие *Erysipelotrichia* уменьшается после воздействия антибиотиков ($|\delta| = -0,48$; $p <0,02$; FDR $<0,43$) и все тенденция сохраняется до конца периода исследования ($|\delta| = -0,37$; FDR $<0,33$). Обилие *Deltaproteobacteria* увеличивается на фоне антибактериальной терапии по сравнению с исходным уровнем ($|\delta| = 0,35$; FDR $<0,36$) и продолжает увеличиваться до конца периода исследования; размер эффекта при сравнении исходных на 50-60 дни составил $|\delta| = 0,54$ (FDR $<0,35$). На уровне рода численность *Hungatella* ($|\delta| = 0,28$; $p <0,02$; FDR $<0,44$) и *Lachnoclostridium* ($|\delta| = -0,36$; $p <0,03$; FDR $<0,91$) имеют тенденцию к снижению. Мы наблюдаем тенденцию к отрицательной корреляции между использованием антибиотиков и распространенностью неклассифицированных *Bacteroides* ($|\delta| = -0,38$; FDR $<0,67$), родов семейства *Gastranaerophilales* ($|\delta| = 0,28$; $p <0,051$; FDR $<0,67$) и положительной корреляцией для *Escherichia-Shigella* ($|\delta| = -0,27$; $p <0,04$; FDR $<0,67$).

В течение всего периода исследования в группе АВ содержание *Lachnospiraceae* UCG-004, *Phascolarctobacterium*, *Ruminococcaceae* UCG-004, *Ruminococcaceae* UCG-005 и *Fusicatenibacter* выше, чем на исходном уровне для родов.

Общие результаты указывает на потерю бактериального разнообразия в группе АВ (рис 7, 9, 11, 13, 15, 17) и тенденцию к увеличению разнообразия микробиоты кишечника у пациентов, получавших кобылье молоко (рис 6, 8, 10, 12, 14, 16).

Таблица 4 – Количественная оценка микроорганизмов уровня Филум (тип)

Таксон	АВ (1-й день)	АВ (60-й день)	ММ (1-й день)	ММ (60-й день)
Actinobacteria	0,1467179208	0,1530612245	0,1918939172	0,0129870130
Bacteroidetes	0,3877551020	0,1660679862	0,3274573815	0,4025974026
Cyanobacteria	0,2102457536	0,0204081633	0,1613791751	0,1168831169
Epsilonbacteraeota	0,3257392017	0,2142857143	0,1474083689	0,2857142857
Firmicutes	0,0603039291	0,4897959184	0,1292222155	0,5844155844
Lentisphaerae	0,1243097456	0,1428571429	0,1588371040	0,1428571429

Продолжение таблицы 4

Proteobacteria	0,2583002936	0,1122448980	0,3198027083	0,1168831169
Tenericutes	0,2433602906	0,2346938776	0,6168669253	0,1948051948
Vertebrata	0,2656408339	0,0612244898	0,1588371040	0,1428571429

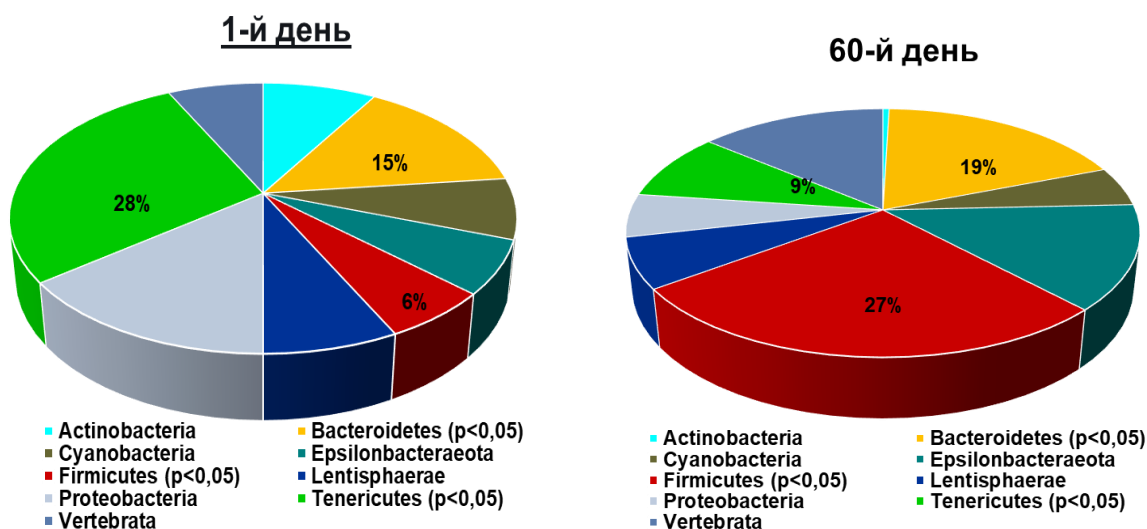


Рисунок 6 – Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне типов в группе ММ

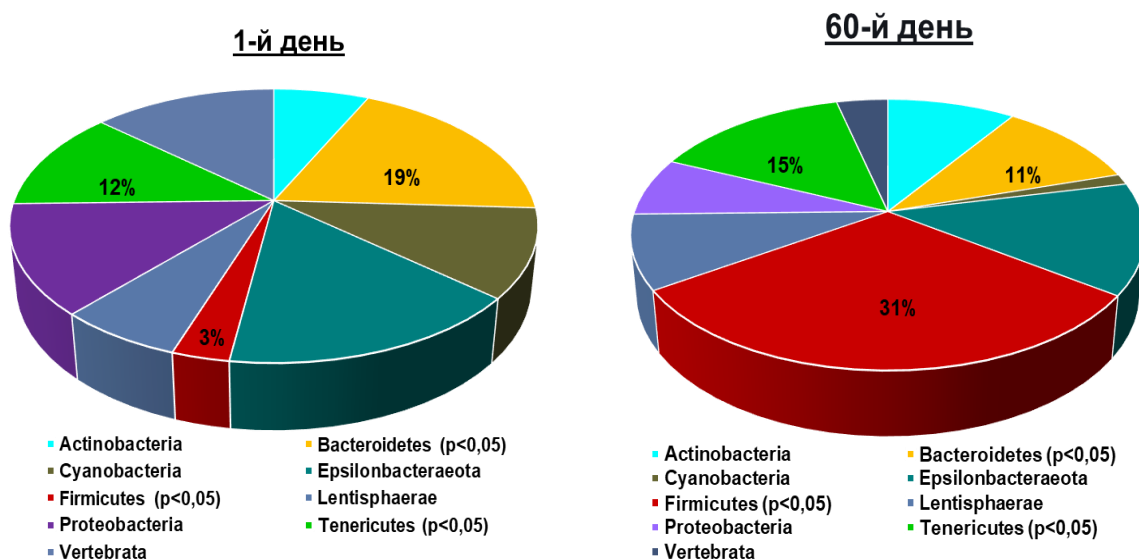


Рисунок 7 – Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне типов в группе АВ

Таблица 5 – Количественная оценка микроорганизмов уровня Класс

Таксон	АВ (1-й день)	АВ (60-й день)	ММ (1-й день)	ММ (60-й день)
Actinobacteria;Actinobacteria	0,091	0,132	0,104	0,163
Actinobacteria;Coriobacteriia	0,260	0,310	0,502	0,010
Bacteroidetes;Bacteroidia	0,377	0,331	0,327	1,4
Суанобacteria;Melainabacteria	0,065	0,162	0,207	0,102
Epsilonbacteraeota;Campylobacteria	0,221	0,147	0,272	0,214
Firmicutes;Bacilli	0,351	0,303	0,161	0,265
Firmicutes;Clostridia	0,558	0,169	0,041	0,357
Firmicutes;Erysipelotrichia	0,377	0,224	0,022	0,480
Firmicutes;Negativicutes	0,065	0,492	0,996	0,041
Proteobacteria;Alphaproteobacteria	0,065	0,165	0,141	0,041
Proteobacteria;Deltaproteobacteria	0,545	0,150	0,282	0,357
Proteobacteria;Gammaproteobacteria	0,091	0,784	0,202	0,163
Tenericutes;Mollicutes	0,104	0,787	0,264	0,020
Vertebrata;Mammalia	0,143	0,159	0,269	0,061

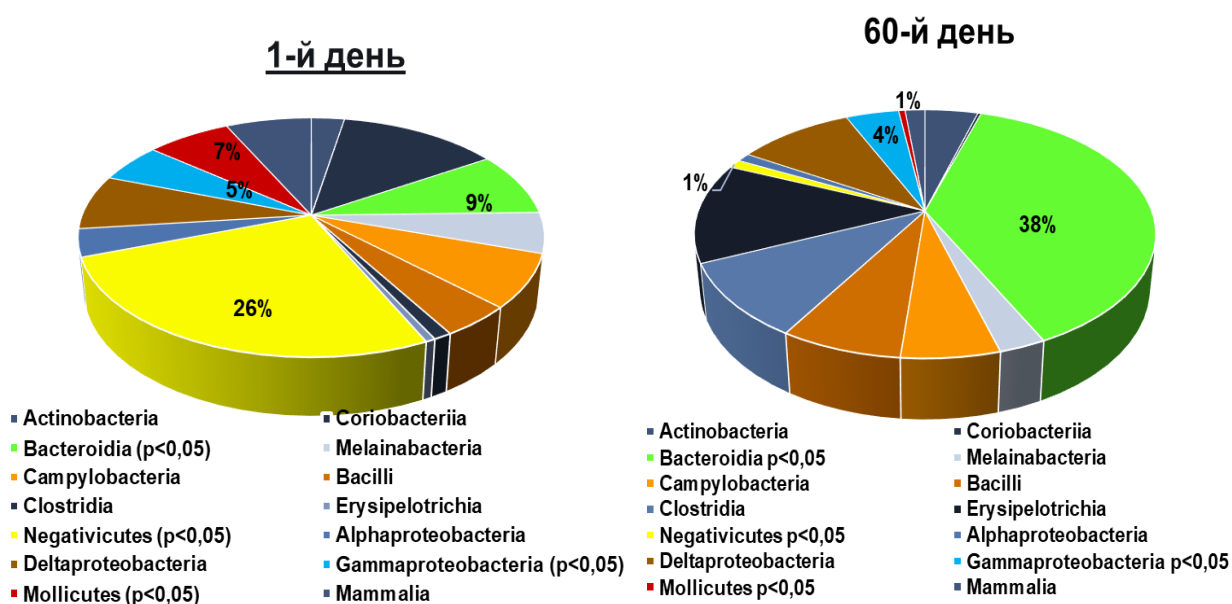


Рисунок 8 – Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне классов в группе ММ

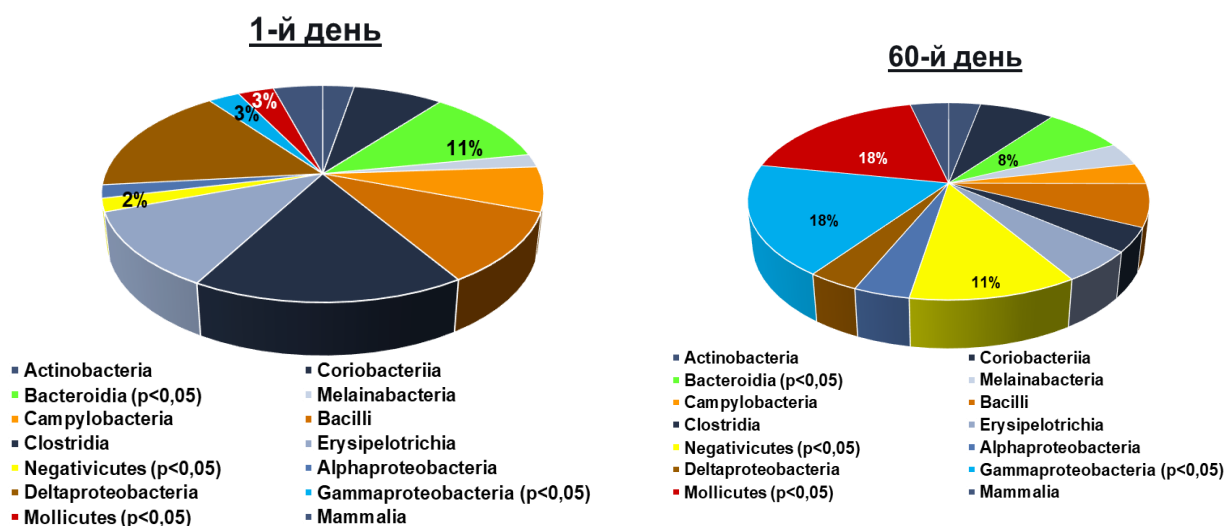


Рисунок 9 – Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне классов в группе АВ

Таблица 6 – Количественная оценка микроорганизмов уровня Порядок

Таксон	АВ (1-й день)	АВ (60-й день)	ММ (1-й день)	ММ (60-й день)
Actinobacteria;Actinobacteria;Actinomycetales	0,21	0,16	0,15	0,21
Actinobacteria;Actinobacteria;Corynebacteriales	0,29	0,07	0,12	0,22
Actinobacteria;Actinobacteria;Micrococcales	0,08	0,28	0,73	0,05
Actinobacteria;Actinobacteria;Propionibacteriales	0,14	0,12	0,16	0,14
Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales	0,37	0,20	0,33	0,39
Цyanobacteria;Melainabacteria;Gastranaerophilales	0,06	0,16	0,15	0,27
Epsilonbacteraeota;Campylobacteria;Campylobacterales	0,21	0,31	0,15	0,29
Firmicutes;Bacilli;Bacillales	0,06	0,81	0,73	0,05
Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales	0,15	0,14	0,36	0,03
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales	0,43	0,05	0,17	0,58
Firmicutes;Clostridia;Clostridia	0,07	0,46	0,33	0,18
Firmicutes;Erysipelotrichia;Erysipelotrichales	0,30	0,21	0,40	0,27
Firmicutes;Negativicutes;Selenomonadales	0,18	0,19	0,47	0,08
Proteobacteria;Alphaproteobacteria;Rhodospirillales	0,06	0,96	0,16	0,14
Proteobacteria;Deltaproteobacteria;Desulfovibrionales	0,17	0,30	0,55	0,05
Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Enterobacteriales	0,14	0,37	0,22	0,36
Tenericutes;Mollicutes;Mollicutes_	0,16	0,25	0,65	0,17
Vertebrata;Mammalia;Mammalia	0,06	0,26	0,16	0,14

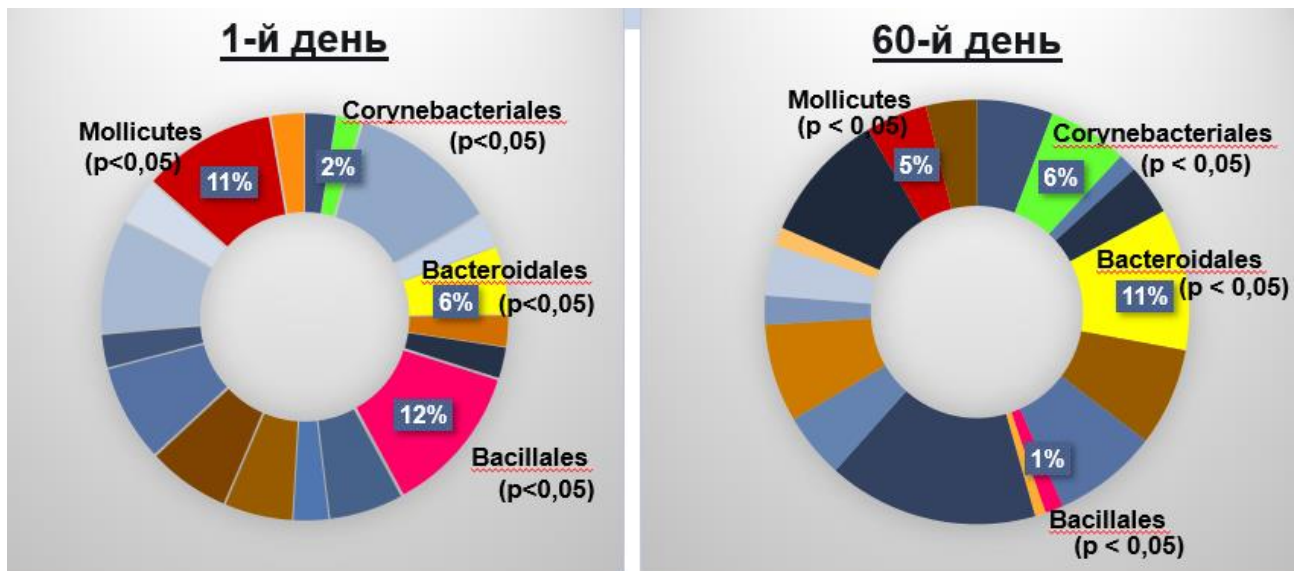


Рисунок 10 – Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне порядков в группе ММ

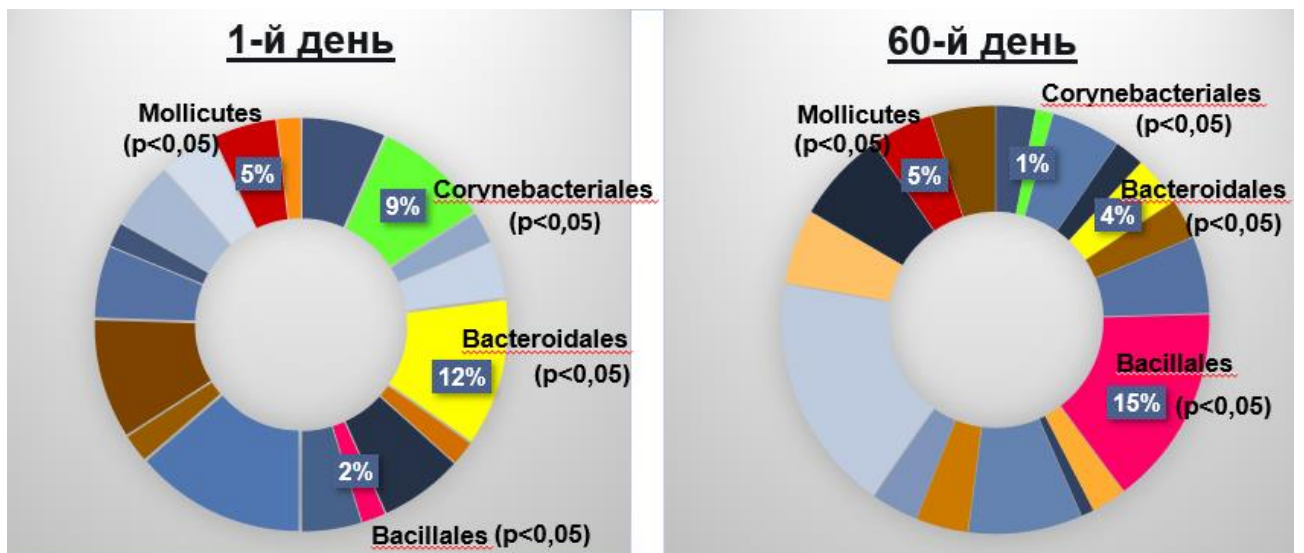


Рисунок 11 – Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне порядков в группе АВ

Таблица 7 – Количественная оценка микроорганизмов уровня Семейство

Таксон	АВ (1-й день ь)	АВ (60- й день ь)	ММ (1-й день)	М М (60- й день ь)
Actinobacteria;Actinobacteria;Actinomycetales;Actinomycetaceae	0,2 14	0,1 71	0,16 3	0,1 95
Actinobacteria;Actinobacteria;Corynebacteriales;Corynebacteriaceae	0,2 35	0,0 51	0,09 5	0,1 56
Actinobacteria;Actinobacteria;Micrococcales;Micrococcaceae	0,0 82	0,2 09	0,15 9	0,1 43
Actinobacteria;Coriobacteriia;Coriobacteriales;Coriobacteriaceae	0,1 43	0,3 84	0,31 8	0,1 82
Actinobacteria;Coriobacteriia;Coriobacteriales;Eggerthellaceae	0,0 00	0,9 94	0,71 6	0,0 39
Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae	0,1 22	0,2 82	0,18 2	0,4 58
Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Barnesiellaceae	0,1 53	0,2 87	0,42 0	0,4 55
Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Marinifilaceae	0,2 35	0,1 68	0,08 0	0,1 82
Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Muribaculaceae	0,0 61	0,5 64	0,00 0	0,0 52
Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Porphyromonadaceae	0,1 94	0,9 91	0,09 8	0,2 21
Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae	0,0 92	0,3 55	0,48 8	0,0 13
Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Rikenellaceae	0,3 88	0,1 76	0,10 0	0,4 42
Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Tannerellaceae	0,0 10	0,9 68	0,53 7	0,0 13
Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;unknown_Bacteroidales	0,1 63	0,8 56	0,77 5	0,2 21
Cyanobacteria;Melainabacteria;Gastranaerophilales;Candidatus_Melaina bacteria_bacterium_MEL.A1	0,1 22	0,4 43	0,04 1	0,2 86
Cyanobacteria;Melainabacteria;Gastranaerophilales;unknown_Gastranae rophilales	0,2 86	0,3 01	0,00 00	0,0 00
Epsilonbacteraeota;Campylobacteria;Campylobacteriales;Campylobacter aceae	0,2 14	0,2 89	0,15 2	0,2 86
Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Aerococcaceae	0,0 71	0,4 50	0,00 00	0,0 00
Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Carnobacteriaceae	0,0 61	1,0 00	0,83 7	0,0 39
Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Enterococcaceae	0,0 00	0,2 51	0,17 6	0,0 65

Продолжение таблицы 7

Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Lactobacillaceae	0,12 2	0,26 4	0,664	0,03 9
Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Leuconostocaceae	0,07 1	0,45 0	0,406	0,09 1
Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Streptococcaceae	0,29 6	0,51 6	0,303	0,26 0
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae	0,14 3	0,56 3	0,070	0,42 9
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Eubacteriaceae	0,14 3	0,12 9	0,670	0,03 9
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Family_XI	0,19 4	0,54 7	0,066	0,15 6
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Family_XIII	0,14 3	0,28 0	0,669	0,02 6
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae	0,14 3	0,62 0	0,069	0,61 0
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Peptostreptococcaceae	0,21 4	0,12 5	0,108	0,02 6
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae	0,14 3	0,25 6	0,435	0,16 9
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;unknown_Clostridiales	0,25 5	0,26 6	0,927	0,13 0
Firmicutes;Clostridia;unknown_Clostridia;unknown_Clostridia	0,07 1	0,45 7	0,378	0,09 1
Firmicutes;Erysipelotrichia;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae	0,02 0	0,53 1	0,718	0,00 0
Firmicutes;Erysipelotrichia;Erysipelotrichales;unknown_Erysipelotrichales	0,08 2	0,16 5	0,217	0,06 5
Firmicutes;Negativicutes;Selenomonadales;Acidaminococcaceae	0,18 4	0,92 9	0,396	0,40 3
Firmicutes;Negativicutes;Selenomonadales;Veillonellaceae	0,05 1	0,63 7	0,562	0,09 1
Proteobacteria;Deltaproteobacteria;Desulfovibrionales;Desulfovibrionaceae	0,26 5	0,28 9	0,377	0,14 3
Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Enterobacteriales;Enterobacteriaceae	0,07 1	0,39 6	0,141	0,27 3
Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pseudomonadales;Moraxellaceae	0,07 1	0,30 2	0,000	0,00 0
Tenericutes;Mollicutes;Mollicutes_RF39;unknown_Mollicutes_RF39	0,22 4	0,24 0	0,473	0,19 5
Vertebrata;Mammalia;unknown_Mammalia;unknown_Mammalia	0,06 1	0,22 4	0,159	0,14 3

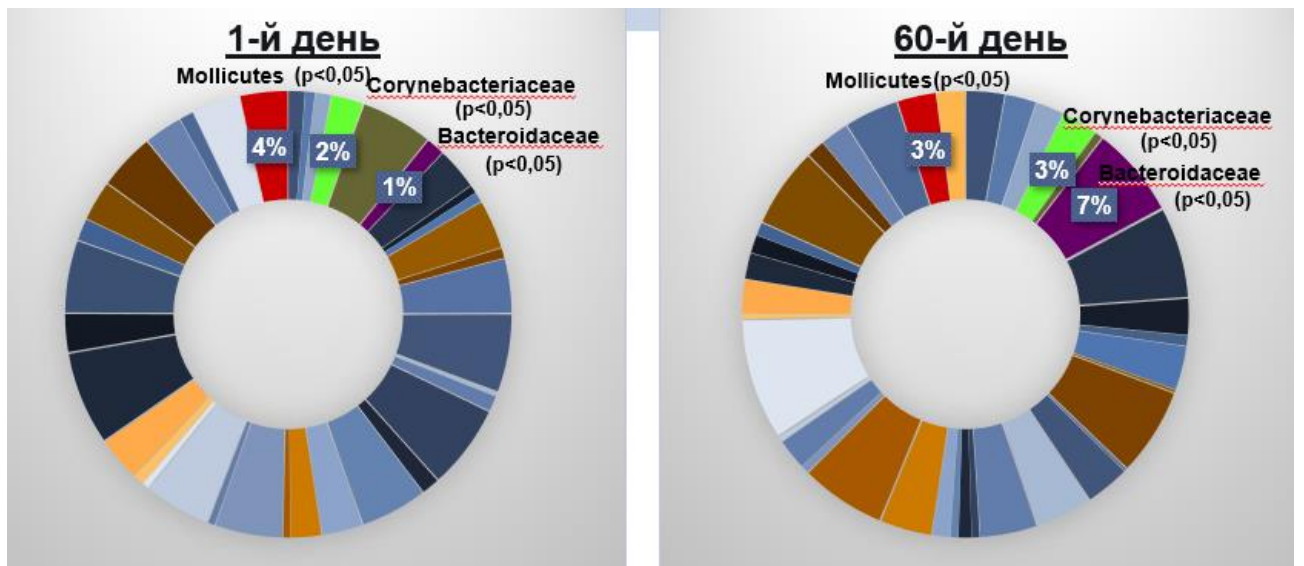


Рисунок 12 – Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне семейств в группе MM

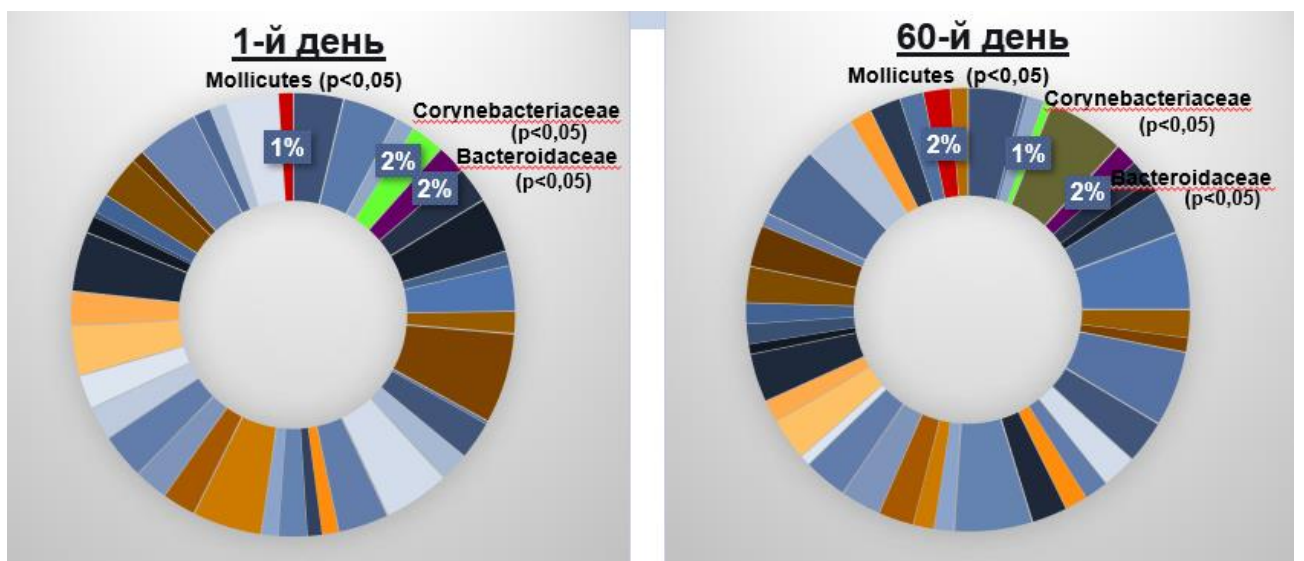


Рисунок 13 – Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне семейств в группе AB

Таблица 8 – Количественная оценка микроорганизмов уровня Род

Таксон	АВ (1-й ден ь)	АВ (60- й ден ь)	М М (1-й ден ь)	М М (60- й ден ь)
Epsilonbacteraeota;Campylobacteria;Campylobacterales;Campylobacteraceae;Campylobacter	0,27 6	0,21 4	0,14 7	0,28 6
Firmicutes;Bacilli;Bacillales;Family_XI;Gemella	0,00	0,00 0	0,38 2	0,09 1
Firmicutes;Bacilli;Bacillales;Staphylococcaceae;Staphylococcus	0,12 4	0,14 3	0,15 9	0,14 3
Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Aerococcaceae;Abiotrophia	0,56 9	0,07 1	0,15 9	0,14 3
Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Carnobacteriaceae;Granulicatella	0,37 2	0,08 2	0,61 6	0,01 3
Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Enterococcaceae;Enterococcus	0,23 3	0,06 1	0,15 9	0,14 3
Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Lactobacillaceae;Lactobacillus	0,56 9	0,07 1	0,06 5	0,4
Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Streptococcaceae;Streptococcus	0,23 1	0,33 7	0,27 2	0,26 0
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae;unknown_Christensenellaceae	0,45 7	0,07 1	0	0,00 0
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Defluviitaleaceae;Defluviitaleaceae_UCG-011	0,00	0,00 0	0,38 2	0,09 1
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Family_XI;Ezakiella	0,94 1	0,19 4	0,92 6	0,07 8
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Family_XI;Finegoldia	0,08 8	0,28 6	0,13 3	0,28 6
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Family_XI;Peptoniphilus	0,37 2	0,08 2	0,15 9	0,14 3
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Family_XIII;Family_XIII_UCG-001	0,00	0,00 0	0,38 2	0,09 1

Продолжение таблицы 8

Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Family_XIII;S5-A14a	0,82 1	0,07 1	0 0	0,00 0
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Agathobacter	0,83 0	0,06 1	0,49 8	0,14 3
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Anaerostipes	0,29 7	0,08 2	0,16 3	0,14 3
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Blautia	0,72 4	0,03 1	0,57 5	0,19 5
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Dorea	0,45 8	0,07 1	0 0	0,00 0
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Eisenbergiella	0,29 7	0,14 3	0,32 9	0,18 2
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Fusicatenibacter	0,20 4	0,24 5	0,06 4	0,66 2
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;GCA-900066575	0,45 7	0,07 1	0 0	0,00 0
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Hungatella	0,01 8	0,28 6	0,01 6	0,28 6
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Lachnoclostridium	0,78 3	0,03 1	0,03 2	0,36 4
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Lachnospira	0,36 9	0,02 0	0,38 6	0,36 4
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Lachnospiraceae_UCG-001	0,45 7	0,07 1	0,14 4	0,27 3
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Lachnospiraceae_UCG-004	0,45 8	0,07 1	0,20 2	0,18 2
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Lachnospiraceae_UCG-010	0,00	0,00 0	0 0	0,00 0
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Marvinbryantia	0,00	0,00 0	0 0	0,00 0
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Roseburia	0,21 4	0,09 2	0,25 0	0,72 7
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Sellimonas	0,45 7	0,07 1	0,32 9	0,18 2
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;unknown_Lachnospiraceae	0,33 9	0,28 6	0,09 2	0,68 8
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Peptostreptococcaceae;Clostridioides	0,24 3	0,16 3	0,49 4	0,05 2
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Peptostreptococcaceae;Peptostreptococcus	0,59 8	0,07 1	0,18 4	0,14 3
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Peptostreptococcaceae;Romboutsia	0,31 0	0,08 2	0,15 8	0,31 2
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Anaerofilum	0,83 2	0,08 2	0,59 7	0,05 2
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Anaerotruncus	0,00	0,00 0	0 0	0,00 0
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Angelakisella	0,34 4	0,14 3	0 0	0,00 0
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Butyricoccus	0,86 5	0,02 0	0,24 2	0,24 7

Продолжение таблицы 8

Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Candidatus_Solea ferrea	0,74 3	0,01 0	0,18 4	0,14 3
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;DTU089	0,47 3	0,21 4	0,40 6	0,09 1
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Faecalibacterium	0,68 0	0,07 1	0,43 3	0,14 3
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Fournierella	0,12 9	0,14 3	0,52 7	0,03 9
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Harryflintia	0,00	0,00 0	0	0,00 0
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Hydrogenoanaerobacterium	0,00	0,00 0	0	0,00 0
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Negativibacillus	0,45 7	0,07 1	0	0,00 0
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Oscillibacter	0,70 0	0,30 6	0,56 2	0,03 9
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Phocea	0,59 7	0,07 1	0,74 5	0,05 2
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminiclostridium	0,45 7	0,07 1	0	0,00 0
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcaceae_UCG-002	0,77 9	0,25 5	0,33 7	0,03 9
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcaceae_UCG-004	0,44 3	0,13 3	0,45 4	0,06 5
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcaceae_UCG-005	0,18 4	0,33 7	0,24 7	0,05 2
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcaceae_UCG-010	0,42 1	0,15 3	0,77 1	0,15 6
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcaceae_UCG-011	0,00	0,00 0	0	0,00 0
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcaceae_UCG-013	0,92 4	0,02 0	0,51 9	0,13 0
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcaceae_UCG-014	0,54 0	0,39 8	0,09 1	0,49 4
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;UBA1819	0,30 9	0,17 3	0,48 9	0,00 0
Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;unknown_Ruminococcaceae	0,25 3	0,22 4	0,70 3	0,16 9
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;unknown_Clostridiales;unknown_Clostridiales	0,16 9	0,37 8	0,88 2	0,26 0
Firmicutes;Clostridia;unknown_Clostridia;unknown_Clostridia;unknown_Clostridia	0,57 8	0,07 1	0,16 3	0,14 3
Firmicutes;Erysipelotrichi;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae;[Eubacterium]	0,00	0,00 0	0,36 7	0,09 1
Firmicutes;Erysipelotrichia;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae;Coprobacillus	0,45 8	0,07 1	0,37 8	0,09 1
Firmicutes;Erysipelotrichia;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae;Dielma	0,00	0,00 0	0,00 0	0,00 0
Firmicutes;Erysipelotrichia;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae;Erysipelatoclostridium	0,49 3	0,02 0	0,81 9	0,03 9

Продолжение таблицы 8

Firmicutes;Erysipelotrichia;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae;Erysipelotrichaceae_UCG-003	0,82 2	0,00 0	0,74 7	0,0 52
Firmicutes;Erysipelotrichia;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae;Firmicutes_bacterium_CAG:345	0,07 9	0,21 4	0,10 4	0,2 86
Firmicutes;Erysipelotrichia;Erysipelotrichales;unknown_Erysipelotrichales;unknown_Erysipelotrichales	0,13 8	0,17 3	0,12 0	0,2 21
Firmicutes;Negativicutes;Selenomonadales;Acidaminococcaceae;Phascolarctobacterium	0,93 6	0,20 4	0,82 5	0,2 86
Firmicutes;Negativicutes;Selenomonadales;Veillonellaceae;Veillonella	0,51 1	0,07 1	0,52 5	0,1 04
Firmicutes;Negativicutes;Selenomonadales;Veillonellaceae;unknown_Veillonellaceae	0,45 0	0,07 1	0,00 0	0,0 00
Firmicutes;unknown_Firmicutes;unknown_Firmicutes;unknown_Firmicutes;unknown_Firmicutes	0,00	0,00 0	0,00 0	0,0 00
Lentisphaerae;Lentisphaeria;Victivallales;Victivallaceae;Victivallis	0,00	0,00 0	0,00 0	0,0 00
Proteobacteria;Alphaproteobacteria;Rhodospirillales;unknown_Rhodospirillales;unknown_Rhodospirillales	0,45 7	0,07 1	0,36 7	0,0 91
Proteobacteria;Deltaproteobacteria;Desulfovibrionales;Desulfovibrionaceae;Desulfovibrio	0,33 3	0,35 7	0,11 3	0,54 5
;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Enterobacteriales;Enterobacteriaceae;Escherichia-Shigella	0,00	0,00 0	0,11 4	0,27 3
Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pasteurellales;Pasteurellaceae;Haemophilus	0,00	0,00 0	0,12 4	0,36 4
Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pseudomonadales;Moraxellaceae;Acinetobacter	0,30 2	0,07 1	0,00 0	0,00 0
;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Xanthomonadales;Xanthomonadaceae;Pseudoxanthomonas	0,15 1	0,08 2	0,15 9	0,14 3
Synergistetes;Synergistia;Synergistales;Synergistaceae;Pyramidobacter	0,00	0,00 0	0,00	0,00 0
Tenericutes;Mollicutes;Mollicutes_RF39;unknown_Mollicutes_RF39;unknown_Mollicutes_RF39	0,26 8	0,06 1	0,59 2	0,09 1
Verrucomicrobia;Verrucomicrobiae;Verrucomicrobiales;Akkermansiae;Akkermansia	0,00	0,00 0	0,00	0,00 0
;unknown_Bacteria;unknown_Bacteria;unknown_Bacteria;unknown_Bacteria;unknown_Bacteria	0,85 4	0,02 0	0,37 3	0,14 3
Vertebrata;Mammalia;unknown_Mammalia;unknown_Mammalia;unknown_Mammalia	0,25 1	0,06 1	0,15 9	0,14 3

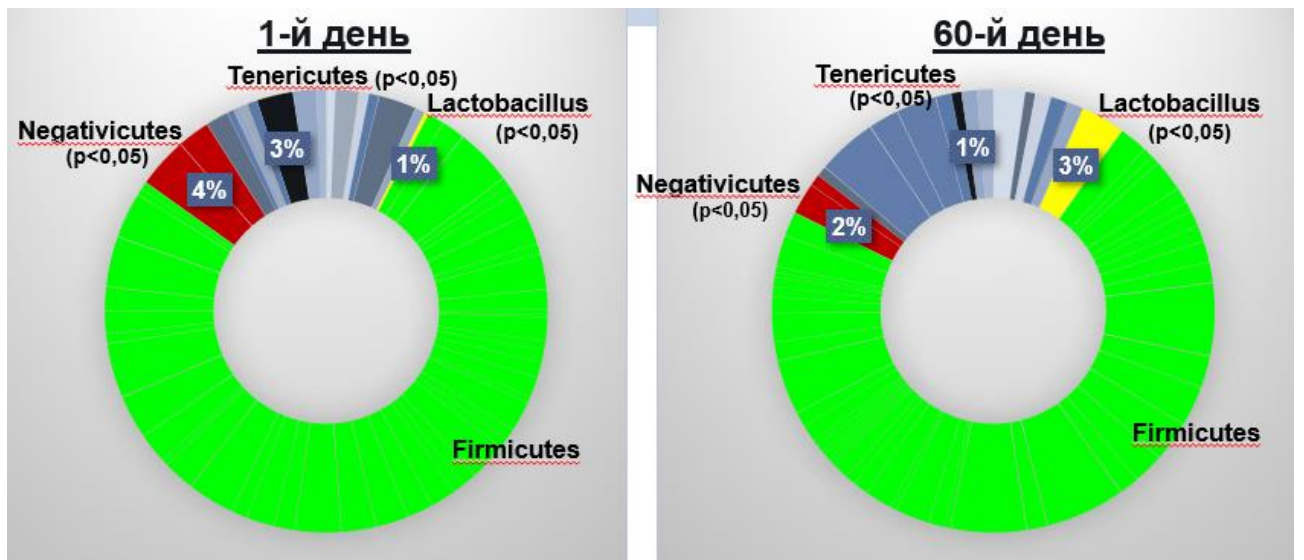


Рисунок 14 – Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне родов в группе ММ

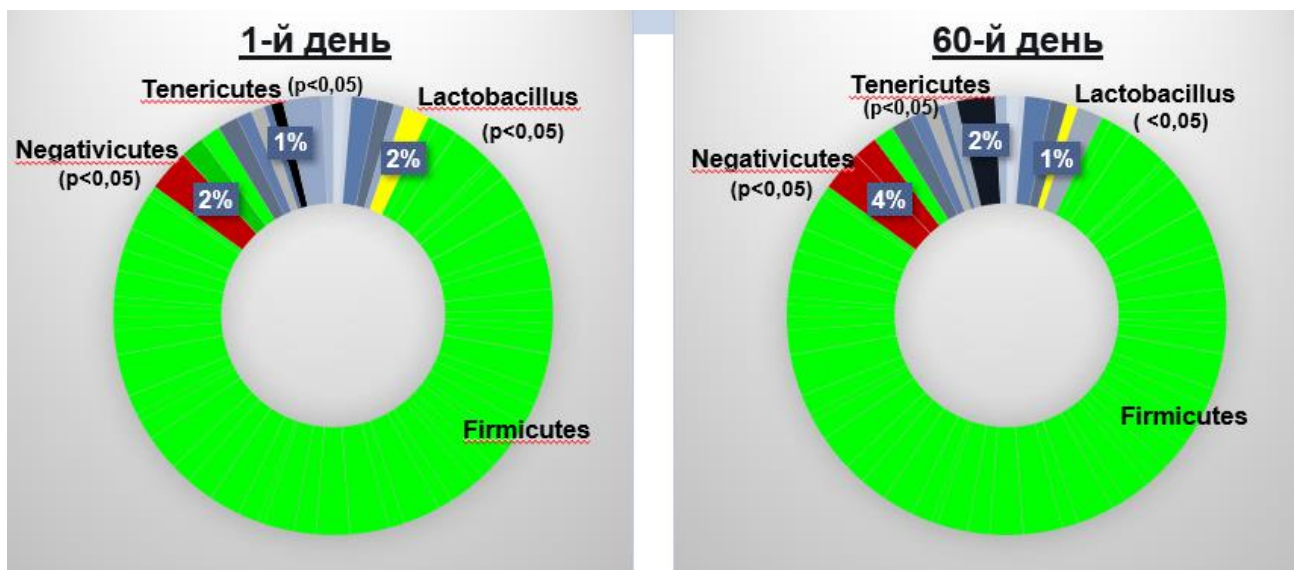


Рисунок 15 – Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне родов в группе АВ

Таблица 9 – Количественная оценка микроорганизмов уровня Вид

Таксон	А В (1- й де нь)	А В (60 -й де нь)	М М (1- й де нь)	М М (60 -й де нь)
Bacteria;Actinobacteria;Actinobacteria;Actinomycetales;Actinomycetaceae;Actinomyces;Actinomyces_Actinomyces_turicensis_ACS-279-V-Col4	0,8 21	0,0 71	0,3 82	0,0 91
Bacteria;Actinobacteria;Actinobacteria;Actinomycetales;Actinomycetaceae;Actinomyces;Actinomyces_sp.	0,8 21	0,0 71	0	0,0 00
Bacteria;Actinobacteria;Actinobacteria;Actinomycetales;Actinomycetaceae;Mobiluncus;Mobiluncus_sp.	0,1 60	0,2 14	0,1 45	0,2 86
Bacteria;Actinobacteria;Actinobacteria;Corynebacteriales;Corynebacteriaceae;Lawsonella;Lawsonella_sp.	0,1 24	0,1 43	0,6 93	0,0 39
Bacteria;Actinobacteria;Actinobacteria;Micrococcales;Micrococcaceae;Rothia;Rothia_Rothia_aeria	0	0,0 00	0,2 34	0,1 82
Bacteria;Actinobacteria;Coriobacteriia;Coriobacteriales;Coriobacteriaceae;Collinsella;Collinsella_sp.	0,8 36	0,1 94	0,4 76	0,0 13
Bacteria;Actinobacteria;Coriobacteriia;Coriobacteriales;Eggerthellaceae;Gordonibacter;Gordonibacter_sp.	1,0 00	0,0 61	0,1 63	0,1 43
Bacteria;Actinobacteria;Coriobacteriia;Coriobacteriales;Eggerthellaceae;unknown_Eggerthellaceae;unknown_Eggerthellaceae	0,3 96	0,0 71	0,2 41	0,1 82
Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides;Bacteroides_Bacteroides_dorei	0,2 11	0,3 78	0,7 20	0,2 21
Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides;Bacteroides_Bacteroides_uniformis	0,1 92	0,1 22	0,4 51	0,2 34
Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides;Bacteroides_gut_metagenome	0,1 71	0,0 82	0,4 64	0,0 39
Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides;Bacteroides_sp.	0,2 31	0,1 84	0,0 05	0,3 38
Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides;Bacteroides_uncultured_organism	0,5 60	0,4 08	0,7 88	0,1 95

Продолжение таблицы 9

Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae; unknown_Bacteroidaceae;unknown_Bacteroidaceae	0	0,0 00	0	0,0 00
Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Barnesiellaceae;Barnesiella;Barnesiella_sp.	0,4 05	0,0 20	0,4 91	0,2 08
Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Barnesiellaceae;Coproacter;Coproacter_sp.	0,0 90	0,2 24	0,0 59	0,4 29
Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Marinifilaceae;Butyricimonas;Butyricimonas_sp.	0,5 47	0,0 61	0,0 56	0,2 86
Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Marinifilaceae;Butyricimonas;Butyricimonas_uncultured_organism	0,1 23	0,2 14	0	0,0 00
Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Marinifilaceae;Odoribacter;Odoribacter_sp.	0,1 92	0,0 41	0,1 00	0,1 04
Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Muribaculaceae; unknown_Muribaculaceae;unknown_Muribaculaceae	0,2 40	0,0 10	0,7 46	0,0 52
Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Porphyromonadaceae; Porphyromonas;Porphyromonas_Porphyromonas_bennonis	0,7 55	0,0 61	0,1 84	0,1 43
Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Porphyromonadaceae; Porphyromonas;Porphyromonas_sp.	0,7 43	0,0 61	0,1 91	0,0 65
Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Alloprevotella;Alloprevotella_sp.	0,3 02	0,0 71	0	0,0 00
Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella;Prevotella_Prevotella_buccalis	0,3 49	0,0 92	0,1 12	0,2 86
Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella;Prevotella_sp.	0,1 36	0,1 63	0,1 72	0,2 86
Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Rikenellaceae;Alistipes;Alistipes_sp.	0,6 68	0,3 06	0,1 98	0,3 12
Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Tannerellaceae; Parabacteroides;Parabacteroides_gut_metagenome	1,0 00	0,0 10	0,7 85	0,1 04
Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Tannerellaceae; Parabacteroides;Parabacteroides_sp.	0,9 76	0,0 61	0,4 99	0,0 39
Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;unknown_Bacteroidales; unknown_Bacteroidales;unknown_Bacteroidales	0,6 81	0,2 55	0,1 68	0,1 04

Продолжение таблицы 9

Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Cytophagales;Microscillaceae; unknown_Microscillaceae;unknown_Microscillaceae	0,1 29	0,1 43	0,1 63	0,1 43
Bacteria;Cyanobacteria;Melainabacteria;Gastranaerophilales;Candidatus_ Melainabacteria_bacterium_MEL.A1; unknown_Candidatus_Melainabacteria_bacterium_MEL.A1;unknown_ Candidatus_Melainabacteria_bacterium_MEL.A1	0,4 05	0,0 92	0,1 63	0,1 43
Bacteria;Cyanobacteria;Melainabacteria;Gastranaerophilales; unknown_Gastranaerophilales;unknown_Gastranaerophilales; unknown_Gastranaerophilales	0,3 30	0,0 51	0,0 51	0,2 86
Bacteria;Epsilonbacteraeota;Campylobacteria;Campylobacteriales; Campylobacteraceae;Campylobacter;Campylobacter_sp.	0,2 98	0,2 14	0,1 52	0,2 86
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Bacillales;Family_XI;Gemella;Gemella_sp.	0	0,0 00	0,3 79	0,1 82
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Aerococcaceae;Abiotrophia; Abiotrophia_sp.	0,3 38	0,1 43	0	0,0 00
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Carnobacteriaceae; Granulicatella;Granulicatella_sp.	0,1 24	0,1 43	0,8 78	0,0 26
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Enterococcaceae; Enterococcus;Enterococcus_sp.	0,2 40	0,0 00	0,1 59	0,1 43
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Lactobacillaceae; Lactobacillus;Lactobacillus_Lactobacillus_helveticus_R0052	0	0,0 00	0,4 77	0,0 91
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Lactobacillaceae; Lactobacillus;Lactobacillus_sp.	0	0,0 00	0,2 56	0,1 82
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Leuconostocaceae; Leuconostoc;Leuconostoc_uncultured_Leuconostoc_sp.	0,4 50	0,0 71	0	0,0 00
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Streptococcaceae; Lactococcus;Lactococcus_sp.	0	0,0 00	0	0,0 00
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Streptococcaceae; Streptococcus;Streptococcus_Streptococcus_parasanguinis_CC87K	0,5 22	0,0 20	0,7 90	0,1 04
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Streptococcaceae; Streptococcus;Streptococcus_Streptococcus_sobrinus	0,2 97	0,0 82	0,4 13	0,0 65
Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Streptococcaceae; Streptococcus;Streptococcus_sp.	0,5 28	0,2 45	0,2 41	0,1 30
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae; Catabacter;Catabacter_Christensenella_timonensis	0,4 58	0,0 71	0	0,0 00
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae; Christensenella;Christensenella_Christensenella_minuta	0	0,0 00	0,3 78	0,0 91
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae; unknown_Christensenellaceae;unknown_Christensenellaceae	0,6 64	0,0 71	0,1 63	0,1 43
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Defluviitaleaceae; Defluviitaleaceae_UCG-011;Defluviitaleaceae_UCG-011_sp.	0,1 29	0,1 43	0,5 42	0,0 39
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Eubacteriaceae; Eubacterium;Eubacterium_Eubacterium_limosum_KIST612	0,4 57	0,0 71	0,3 82	0,0 91

Продолжение таблицы 9

Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Family_XI;Finegoldia; Finegoldia_sp.	0,23 4	0,08 2	0,32 2	0,06 5
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Family_XI;Peptoniphilus; Peptoniphilus_sp.	0,28 8	0,21 4	0,14 9	0,20 8
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Family_XIII; Family_XIII_UCG-001;Family_XIII_UCG-001_sp.	0	0,00 0	0	0,00 0
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae; Agathobacter;Agathobacter_Eubacterium_ramulus	0,54 1	0,01 0	0,42 6	0,24 7
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Blautia ; Blautia_Clostridia_bacterium_UC5.1-1D4	0,41 9	0,14 3	0	0,00 0
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Blautia ; Blautia_metagenome	0,45 8	0,07 1	0,21 6	0,45 5
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Blautia ; Blautia_sp.	0,10 8	0,08 2	0,68 5	0,31 2
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Dorea; Dorea_sp.	0,12 9	0,14 3	0,16 3	0,14 3
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae; Eisenbergiella;Eisenbergiella_sp.	0,45 7	0,07 1	0,37 8	0,09 1
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae; Fusicatenibacter;Fusicatenibacter_sp.	0,42 8	0,03 1	0,15 2	0,54 5
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae; Fusicatenibacter;Fusicatenibacter_uncultured_Firmicutes_bacterium	0,08 1	0,45 9	0,05 7	0,53 2
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae; Howardella;Howardella_sp.	0,82 1	0,07 1	0,36 7	0,09 1
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae; Hungatella;Hungatella_Hungatella_hathewayi	0,58 3	0,07 1	0,16 3	0,14 3
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae; Lachnoclostridium;Lachnoclostridium_human_gut_metagenome	0,61 2	0,07 1	0,72 9	0,05 2
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae; Lachnoclostridium;Lachnoclostridium_sp.	0,53 0	0,10 2	0,05 1	0,44 2
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae; Lachnospira;Lachnospira_sp.	0,38 3	0,09 2	0,32 6	0,54 5

Продолжение таблицы 9

Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae; Lachnospiraceae_UCG-001;Lachnospiraceae_UCG-001_metagenome	0,30 2	0,07 1	0,21 9	0,18 2
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae; Lachnospiraceae_UCG-001;Lachnospiraceae_UCG-001_sp.	0	0,00 0	0,46 6	0,09 1
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae; Lachnospiraceae_UCG-004;Lachnospiraceae_UCG-004_sp.	0,59 8	0,07 1	0,05 4	0,36 4
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae; Lachnospiraceae_UCG-010;Lachnospiraceae_UCG-010_sp.	0	0,00 0	0	0,00 0
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae; Roseburia;Roseburia_Roseburia_faecis	0	0,00 0	0	0,00 0
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae; Roseburia;Roseburia_sp.	0,24 3	0,21 4	0,24 0	0,63 6
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae; Roseburia;Roseburia_uncultured_organism	0	0,00 0	0	0,00 0
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae; Sellimonas;Sellimonas_uncultured_Firmicutes_bacterium	0,45 8	0,14 3	0,38 2	0,09 1
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae; Tyzzerella;Tyzzerella_sp.	0	0,00 0	0	0,00 0
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae; unknown_Lachnospiraceae;unknown_Lachnospiraceae	0,25 8	0,35 7	0,06 1	0,68 8
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Peptostreptococcaceae; Clostridioides;Clostridioides_sp.	0,80 0	0,00 0	0,42 8	0,09 1
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Peptostreptococcaceae; Romboutsia;Romboutsia_sp.	0,06 4	0,23 5	0,50 2	0,06 5
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Peptostreptococcaceae; unknown_Peptostreptococcaceae;unknown_Peptostreptococcaceae	0,45 8	0,14 3	0	0,00 0
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Anaerofilum;Anaerofilum_metagenome	0,44 6	0,14 3	0,40 6	0,09 1
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Angelakisella;Angelakisella_Angelakisella_massiliensis	0,33 1	0,14 3	0	0,00 0
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Butyricoccus;Butyricoccus_sp.	0,77 8	0,12 2	0,30 1	0,20 8

Продолжение таблицы 9

Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Candidatus_Soleaferrea;Candidatus_Soleaferrea_Bittarella_massiliensis	0,30 7	0,28 6	0	0,00 0
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Candidatus_Soleaferrea;Candidatus_Soleaferrea_uncultured_organism	0	0,00 0	0,38 2	0,09 1
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; DTU089;DTU089_sp.	0,45 6	0,21 4	0,40 6	0,09 1
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Faecalibacterium;Faecalibacterium_sp.	0,62 2	0,07 1	0,34 0	0,15 6
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Faecalibacterium;Faecalibacterium_uncultured_organism	0,26 6	0,14 3	0	0,00 0
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Fournierella;Fournierella_bacterium_ic1340	0,39 6	0,07 1	0,22 3	0,18 2
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Negativibacillus;Negativibacillus_sp.	0,45 7	0,07 1	0	0,00 0
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Oscillibacter;Oscillibacter_uncultured_organism	0,60 0	0,36 7	0,59 2	0,03 9
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Papillibacter;Papillibacter_sp.	0,98 2	0,00 0	0,16 3	0,14 3
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Phocea;Phocea_Phocea_massiliensis	0,21 6	0,14 3	0,46 6	0,09 1
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Ruminiclostridium;Ruminiclostridium_sp.	0	0,00 0	0	0,00 0
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Ruminococcaceae_UCG-002;Ruminococcaceae_UCG-002_gut_metagenome	0,45 6	0,13 3	0,36 5	0,23 4
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Ruminococcaceae_UCG-002;Ruminococcaceae_UCG-002_sp.	0,26 3	0,02 0	0,20 9	0,22 1
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Ruminococcaceae_UCG-002;Ruminococcaceae_UCG-002_uncultured_rumen_bacterium	0,28 4	0,12 2	0,95 5	0,03 9
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Ruminococcaceae_UCG-004;Ruminococcaceae_UCG-004_sp.	0,26 3	0,14 3	0,20 7	0,45 5
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Ruminococcaceae_UCG-005;Ruminococcaceae_UCG-005_sp.	0,92 3	0,01 0	0,16 2	0,46 8

Продолжение таблицы 9

Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Ruminococcaceae_UCG-010;Ruminococcaceae_UCG- 010_gut_metagenome	0, 12 9	0, 14 3	0, 16 3	0, 14 3
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Ruminococcaceae_UCG-010;Ruminococcaceae_UCG-010_sp.	0, 45 7	0, 07 1	0, 40 6	0, 09 1
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Ruminococcaceae_UCG-010;Ruminococcaceae_UCG- 010_uncultured_Ruminococcaceae_bacterium	0, 07 3	0, 01 0	0, 50 9	0, 18 2
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Ruminococcaceae_UCG-011;Ruminococcaceae_UCG-011_sp.	0, 26 5	0, 14 3	0, 0 0	0, 00 0
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Ruminococcaceae_UCG-013;Ruminococcaceae_UCG- 013_gut_metagenome	0, 29 7	0, 08 2	0, 78 1	0, 01 3
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Ruminococcaceae_UCG-013;Ruminococcaceae_UCG-013_sp.	0, 78 7	0, 05 1	0, 50 1	0, 14 3
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; Ruminococcaceae_UCG-014;Ruminococcaceae_UCG-014_sp.	0, 54 1	0, 22 4	0, 37 4	0, 23 4
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; UBA1819;UBA1819_sp.	0, 36 7	0, 21 4	0, 35 2	0, 00 0
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae; unknown_Ruminococcaceae;unknown_Ruminococcaceae	0, 44 7	0, 05 1	0, 82 0	0, 29 9
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;unknown_Clostridiales; unknown_Clostridiales;unknown_Clostridiales	0, 16 8	0, 33 7	0, 84 1	0, 36 4
Bacteria;Firmicutes;Clostridia;unknown_Clostridia;unknown_Clostridia; unknown_Clostridia;unknown_Clostridia	0, 12 9	0, 14 3	0, 74 5	0, 05 2
Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichi;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae; [Eubacterium];[Eubacterium]_dolichum	0	0	0, 36 7	0, 09 1
Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichia;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae; Coprobacillus;Coprobacillus_sp.	0, 45 8	0, 07 1	0, 37 8	0, 09 1
Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichia;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae; Erysipelatoclostridium;Erysipelatoclostridium_sp.	0, 30 0	0, 02 0	0, 62 4	0, 05 2
Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichia;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae; Erysipelotrichaceae_UCG-003;Erysipelotrichaceae_UCG-003_sp.	0, 12 9	0, 14 3	0, 16 3	0, 14 3
Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichia;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae; Firmicutes_bacterium_CAG:345;Firmicutes_bacterium_CAG:345_sp.	0, 35 0	0, 08 2	0, 10 4	0, 28 6

Продолжение таблицы 9

Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichia;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae; unknown_Erysipelotrichaceae;unknown_Erysipelotrichaceae	0,39 6	0,07 1	0,37 8	0,09 1
Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichia;Erysipelotrichales; unknown_Erysipelotrichales;unknown_Erysipelotrichales; unknown_Erysipelotrichales	0,16 0	0,15 3	0,23 8	0,19 5
Bacteria;Firmicutes;Negativicutes;Selenomonadales;Acidaminococcaceae; Phascolarctobacterium;Phascolarctobacterium_gut_metagenome	0,62 5	0,20 4	0,27 0	0,44 2
Bacteria;Firmicutes;Negativicutes;Selenomonadales;Acidaminococcaceae; Phascolarctobacterium;Phascolarctobacterium_sp.	0	0	0	0,00 0
Bacteria;Firmicutes;Negativicutes;Selenomonadales;Veillonellaceae ; Veillonella;Veillonella_Veillonella_dispar	0,63 6	0,22 4	0,55 5	0,27 3
Bacteria;Firmicutes;Negativicutes;Selenomonadales;Veillonellaceae ; unknown_Veillonellaceae;unknown_Veillonellaceae	0	0,00 0	0	0,00 0
Bacteria;Fusobacteria;Fusobacteriia;Fusobacteriales;Fusobacteriaceae; Fusobacterium;Fusobacterium_sp.	0,59 8	0,07 1	0,18 4	0,14 3
Bacteria;Lentisphaerae;Lentisphaeria;Victivallales;Victivallaceae; Victivallis;Victivallis_sp.	0,12 9	0,14 3	0,72 9	0,05 2
Bacteria;Proteobacteria;Alphaproteobacteria;Rhodospirillales; unknown_Rhodospirillales;unknown_Rhodospirillales; unknown_Rhodospirillales	0,28 6	0,14 3	0,36 7	0,09 1
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Enterobacteriales; Enterobacteriaceae;Escherichia-Shigella;Escherichia-Shigella_sp.	0,43 5	0,14 3	0,04 5	0,27 3
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pasteurellales; Pasteurellaceae;Haemophilus;Haemophilus_sp.	0	0,00 0	0,47 7	0,09 1
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pasteurellales; Pasteurellaceae;Haemophilus;Haemophilus_uncultured_organism	0	0,00 0	0,18 8	0,18 2
Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Xanthomonadales; Xanthomonadaceae;Pseudoxanthomonas;Pseudoxanthomonas_sp.	0	0	0,15 9	0,14 3
Bacteria;Synergistetes;Synergistia;Synergistales;Synergistaceae; Pyramidobacter;Pyramidobacter_Pyramidobacter_piscolens	0	0,00 0	0,40 6	0,09 1
Bacteria;Tenericutes;Mollicutes;Mollicutes_RF39; unknown_Mollicutes_RF39;unknown_Mollicutes_RF39; unknown_Mollicutes_RF39	0,26 0	0,12 2	0,38 7	0,03 9
Bacteria;unknown_Bacteria;unknown_Bacteria;unknown_Bacteria; unknown_Bacteria;unknown_Bacteria;unknown_Bacteria	0,75 2	0,05 1	0,58 5	0,03 9
Eukaryota;Vertebrata;Mammalia;unknown_Mammalia; unknown_Mammalia;unknown_Mammalia;unknown_Mammalia	0,24 7	0,06 1	0,15 9	0,14 3

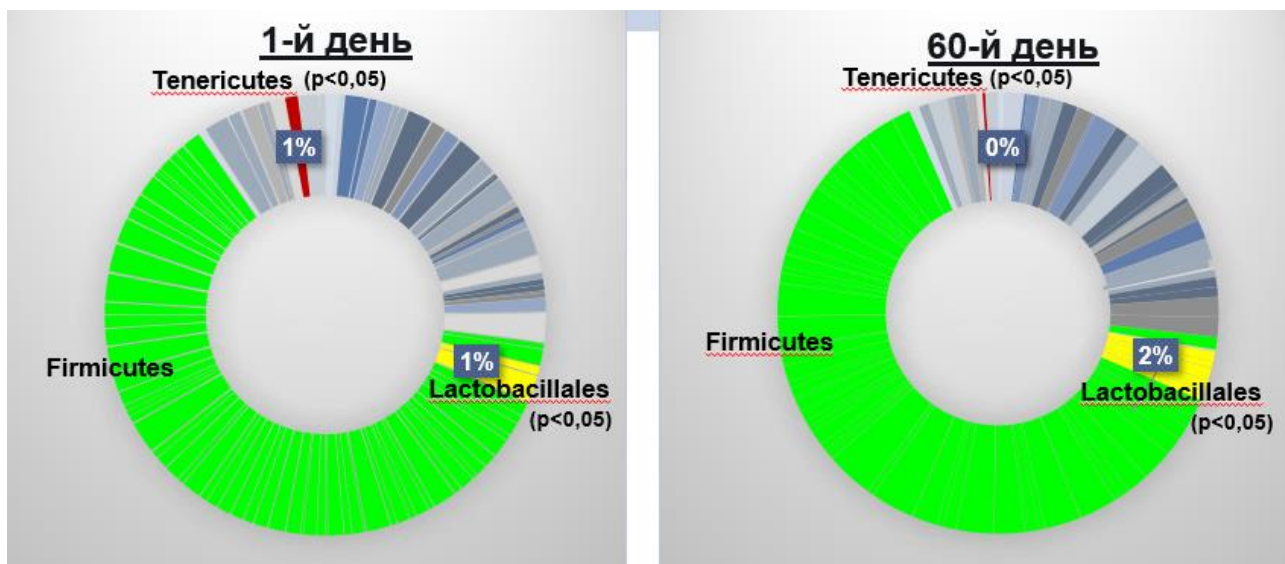


Рисунок 16 – Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне видов в группе ММ

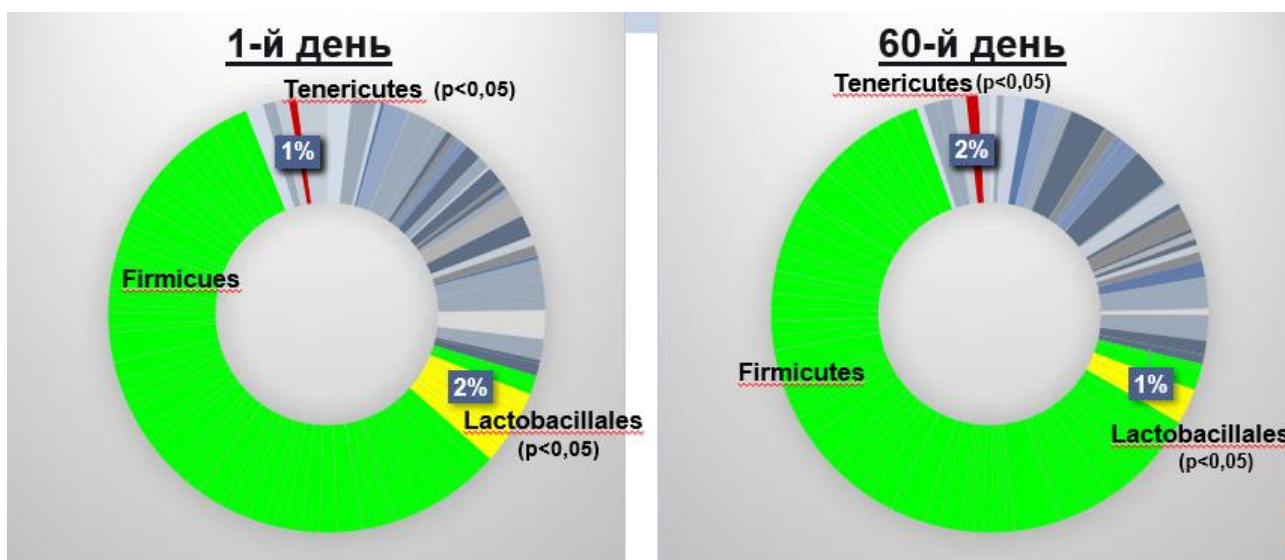


Рисунок 17 – Обзор изменений состава кишечного микробиома на уровне видов в группе АВ

3.3 Иммунологический анализ

3.3.1 Анализ иммуноглобулинов

В основной группе уровень иммуноглобулина G3 снижается в течение всего периода исследования, где $p > 0,05$ (рис 18).

В течение всего периода, наблюдаемого после антибактериальной терапии, отмечается значительное снижение уровня иммуноглобулинов; на 3-й день в группе АБ уровни иммуноглобулина А ($FDR > 0,05$), иммуноглобулина G3 ($FDR < 0,05$) и иммуноглобулина М ($FDR < 0,05$) были значительно снижены. Тенденция сохраняется в течение всего периода наблюдения (рис 19).

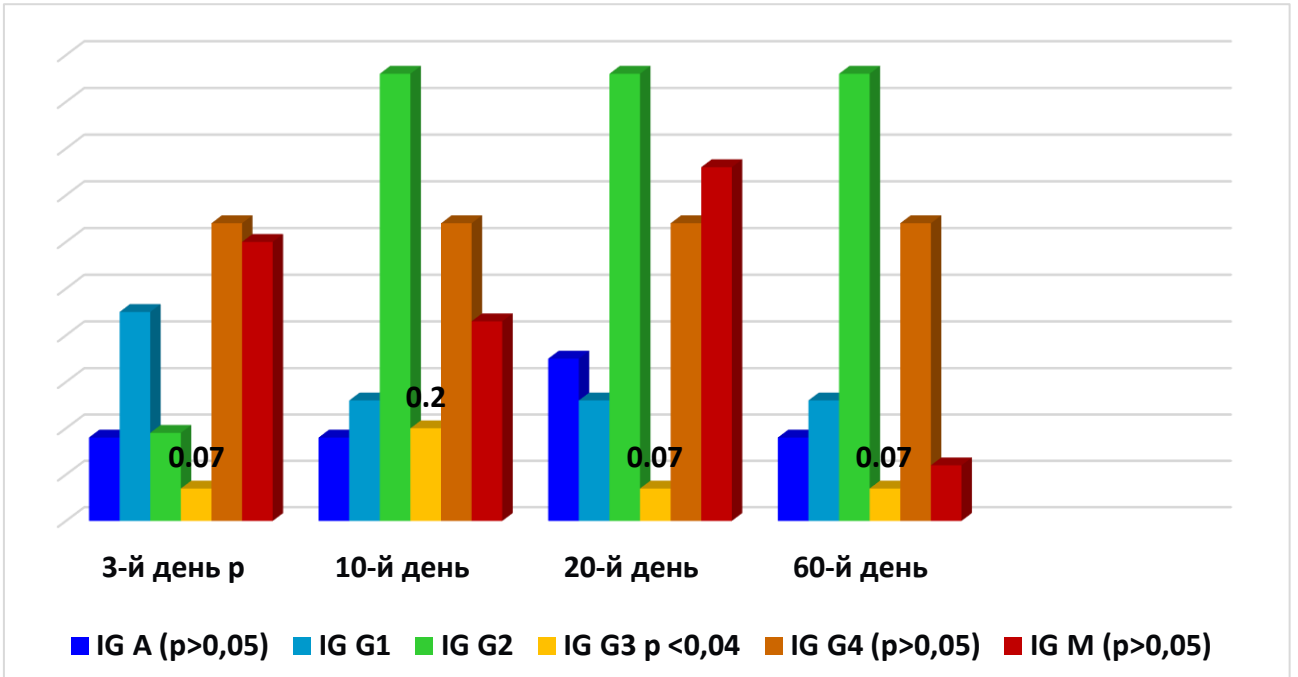


Рисунок 18 – Анализ уровня иммуноглобулинов в группе MM

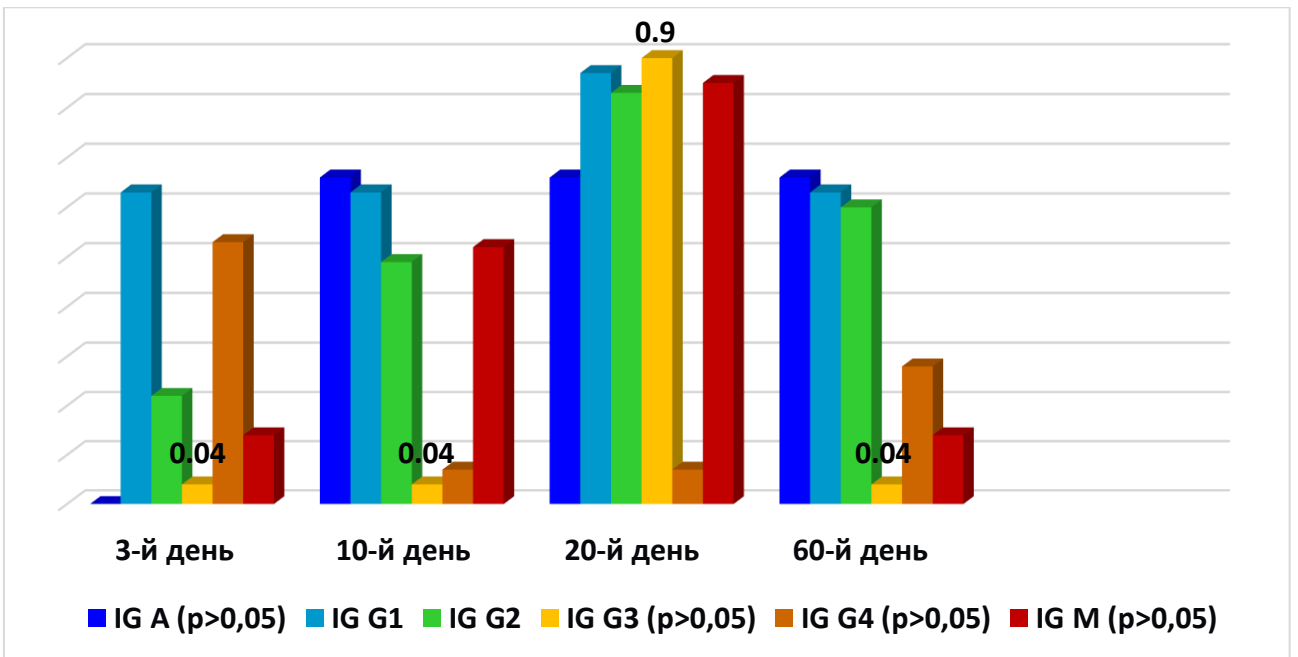


Рисунок 19 – Анализ уровня иммуноглобулинов в группе AB

3.3.2 Статистический анализ

Показатели иммуноглобулинов в динамике изложены в таблице 10

Таблица 10 – Анализ иммуноглобулинов в динамике

Ig, ng/ml	AB							
	3 день	p-value	10 день	p-value	20 день	p-value	60 день	p-value
IgA	945.8±191.9	0.66	1112.8±656.9	0.66	475.5±286.5	0.66	401.5±176.	0.66
IgG1	117.2±10.4	0.63	118.5±15.9	0.63	109.2±18.8	0.87	115±6	0.63
IgG2	472.5±5	0.22	466±15.2	0.49	501.5±49.5	0.83	476±11	0.60
IgG3	123±4.9	0.04	116±7.9	0.04	180.5±73.5	0.90	116±1	0.04
Ig G4	582.5±24.4	0.53	641.2±8.8	0.07	823.5±42.5	0.07	641.5±22.5	0.28
IgM	85±10.2	0.14	113.5±20.5	0.52	132.5±51.5	0.85	80±12	0.14
MM								
IgA	4910±1592	0.18	3831.2±2450.2	0.18	8623.7±7230	0.35	3050.7±279	0.18
IgG1	103±2	0.45	79.3±11.1	0.26	85.3±10.9	0.26	89±8	0.26
IgG2	499.5±0.5	0.19	479.8±11.5	0.96	487.3±14.1	0.96	487±12.5	0.96
IgG3	130.5±4.5	0.07	141±23.4	0.20	130.7±5.8	0.07	119.3±11.9	0.07
Ig G4	647.5±49.5	0.64	571±16.8	0.64	583.7±32.8	0.64	631±36.8	0.64
IgM	122±4	0.60	106.3±5.4	0.43	168.3±65	0.76	95.3±7.3	0.12

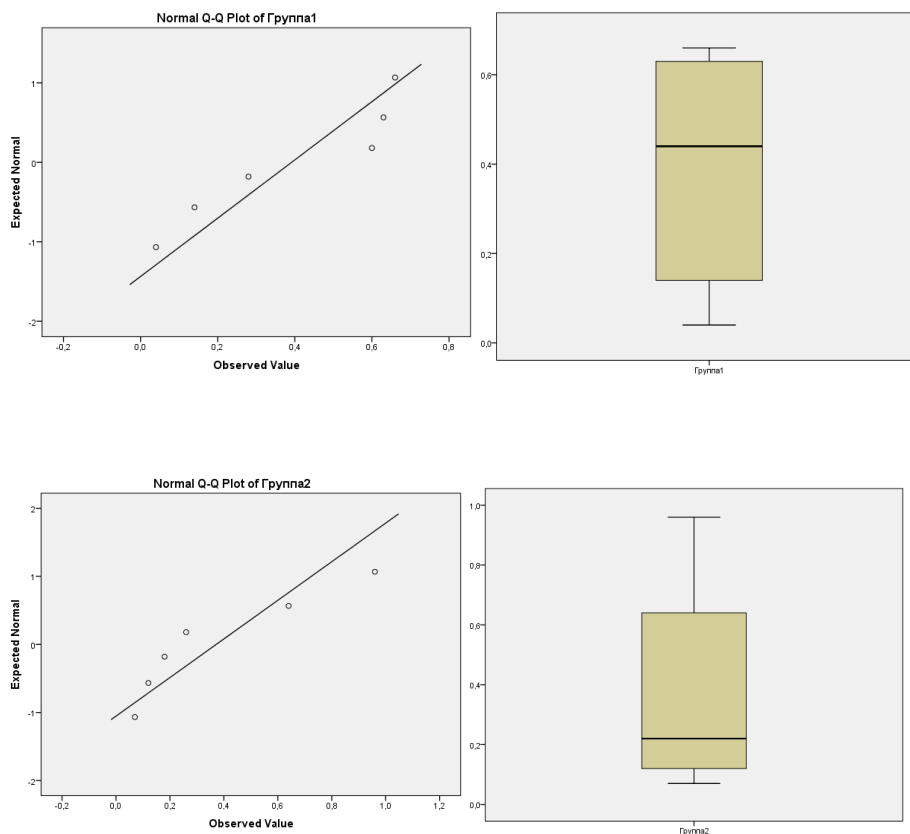


Рисунок 20 – Проверка на нормальность распределения критерия IG по Шапиро-Уилку

На основании статистических расчетов, можно сделать вывод об отсутствии достоверных различий в концентрации иммуноглобулинов в крови в контрольной и основной группах.

3.3.3 Изменения цитокинового/хемокинового профиля

Было исследовано 18 показателей цитокинового/хемокинового профиля. Для определения тенденции в местном иммунитете кишечника, мы рассчитали величину дельта-эффекта Клиффа для цитокинов/хемокинов, сравнивая базовый уровень с 3, 10, 20 и 60-м днями исследования (Таблица 11). На 10-й день исследования был снижен уровень фактора стимулирования гранулоцитов (G-CSF) ($|\delta| = -1,0$; $p < 0,05$; $FDR < 0,34$).

Таблица 11 – Анализ показателей цитокинового/хемокинового профиля в динамике

pg/mL	До АБТ	3 день	p-value	10 день	p-value	20 день	p-value	60 день	p-value
АВ									
Eotaxin	2.9±0.0	2.9±0	0.82	3.5±0.3	0.99	3±0.2	0.82	2.9±0	0.82
GCSF	1.3±0.2	0.6±0.1	0.08	5.5±3.9	0.41	0.8±0.1	0.10	0.8±0.4	0.41
GMC SF	4.4±1.3	2.5±1.4	0.47	3.8±0.4	0.66	1.7±0.1	0.10	0.8±0.8	0.10
sCD40 L	2.6±0.2	2.4±0.2	0.57	3.2±1.2	0.63	2.2±0.3	0.57	1.7±0.2	0.09
IL1RA	28.8±14.6	1±0.1	0.08	2±0.7	0.08	0.8±0.3	0.08	1.1±0.2	0.08
IL8	2.7±0.0	2.7±0	0.38	1.9±0.5	0.38	1.8±0.8	0.57	3.3±0.6	0.57
MIP1α	3.7±0.2	3.1±0	0.009	4.5±0.3	0.067	3.6±0.4	0.75	3±0	0.007
MIP1β	23.8±3.6	23.5±2.9	0.94	36.9±1.03	0.71	18.3±6.3	0.71	19.1±4.9	0.71
TNFα	3.3±0.3	2.4±0.1	0.01	5.2±0.8	0.13	2.7±0.3	0.20	1.8±0.4	0.13
TNFβ	1.4±0.0	1.5±0	0.71	1.9±0.2	0.69	1.5±0.2	0.71	1.5±0	0.71
FGF2	3.6±1.1	1.1±0.2	0.16	2.3±0.6	0.34	1.3±0.5	0.16	1.5±0.7	0.16
TGFα	2.83±0.0	2.8±0	0.20	2.9±0.1	0.18	2.8±0	0.001	2.8±0	0.001
PDGF AA	1.9±0.0	1.9±0	0.65	3.4±0.6	0.19	2±0.2	0.65	1.9±0	0.19
IL3	3.2±0.5	2.7±0.1	0.67	3.8±0.9	0.67	4.6±2.4	0.67	6.8±4.1	0.67
IP10	27.5±1.9	22.2±1.5	0.17	42.8±8.2	0.31	34±17.1	0.76	19.2±1.06	0.76
VEGF	3.4±1.4	1±0.1	0.19	24.5±2.31	0.57	2.2±1.7	0.63	0.7±0.4	0.19
IL1α	413±53.7	319.3±37.4	0.22	518±186.6	0.62	159.8±42.8	0.03	195.9±42.1	0.03
IL13	2.4±0.0	2.3±0.1	0.97	4.6±1.2	0.63	2.7±0.5	0.97	2.3±0	0.97
ММ									
Eotaxin	2.9±0.0	3.2±0.2	0.82	2.9±0.1	0.99	4.1±1.3	0.82	2.9±0.1	0.82
GCSF	1.3±0.2	3.5±2.4	0.51	0.7±0	0.10	85.9±80.6	0.51	5.2±4.4	0.51
GMCSF	4.4±1.3	8.1±0.6	0.08	1.6±0.7	0.15	11.1±7.7	0.62	6.1±2.9	0.62
sCD40 L	2.6±0.2	3.1±0	0.05	2.1±0.2	0.16	30.3±27.7	0.42	178.1±176	0.42
IL1RA	28.8±14.6	1.8±0.5	0.16	1.7±0.4	0.16	27.4±26.5	0.96	76.7±75.1	0.78

Продолжение таблицы 11

IL8	2.7±0.0	2.8±0	0.54	2.6±0	0.0 04	3±0.3	0.54	3.5±0. 8	0.54
MIP1α	3.7±0.2	3.1±0	0.00 7	3.1±0	0.0 07	3.3±0.2	0.21	9.3±6. 2	0.46
MIP1β	23.8±3.6	41.8±14. 1	0.46	13.9±6. 5	0.4 6	37.3±10. 4	0.46	141.2 ±130.	0.46
TNFα	3.3±0.3	2.8±0.4	0.55	2.4±0.2	0.0 6	5.5±3.2	0.55	31.2± 28.9	0.55
TNFβ	1.4±0.0	1.5±0	0.48	1.9±0.2	0.4 8	1.5±0.2	0.48	1.5±0	0.48
FGF2	3.6±1.1	1.6±0	0.21	1.4±0.3	0.2 1	96.1±94, 8	0.57	5.5±4. 3	0.69
TGFα	2.83±0.0	3±0.1	0.57	2.8±0	0.5 7	3.2±0.4	0.57	2.8±0. 1	0.60
PDGF AA	1.9±0.0	2±0	0.01	1.9±0	0.6 1	2.1±0.2	0.61	2±0.1	0.61
IL3	3.2±0.5	5.6±1.3	0.52	1.9±0	0.1 0	6.5±4.3	0.52	22.3± 20	0.52
IP10	27.5±1.9	39.7±5.7	0.45	22.4±2. 1	0.4 5	47.3±16	0.45	24.3± 6	0.65
VEGF	3.4±1.4	5.3±4	0.73	0.5±0.1	0.0 9	0.8±0.1	0.09	0.6±0. 2	0.09
IL1α	413±53.7	461.9±1 09.	0.73	686.1± 305.	0.6 2	812.3±33 0.	0.62	721.7 ±280.	0.62
IL13	2.4±0.0	3.4±0.5	0.52	2.2±0.1	0.1 0	6.8±4.5	0.52	2.3±0. 2	0.52

В группе, получающей кобылье молоко, мы наблюдаем значительное изменение IL3, IL8, TNF α , G-CSF на 10-й день исследования, что указывает на активный воспалительный процесс в организме. Однако в последующие дни никаких существенных изменений не наблюдалось (рис 21).

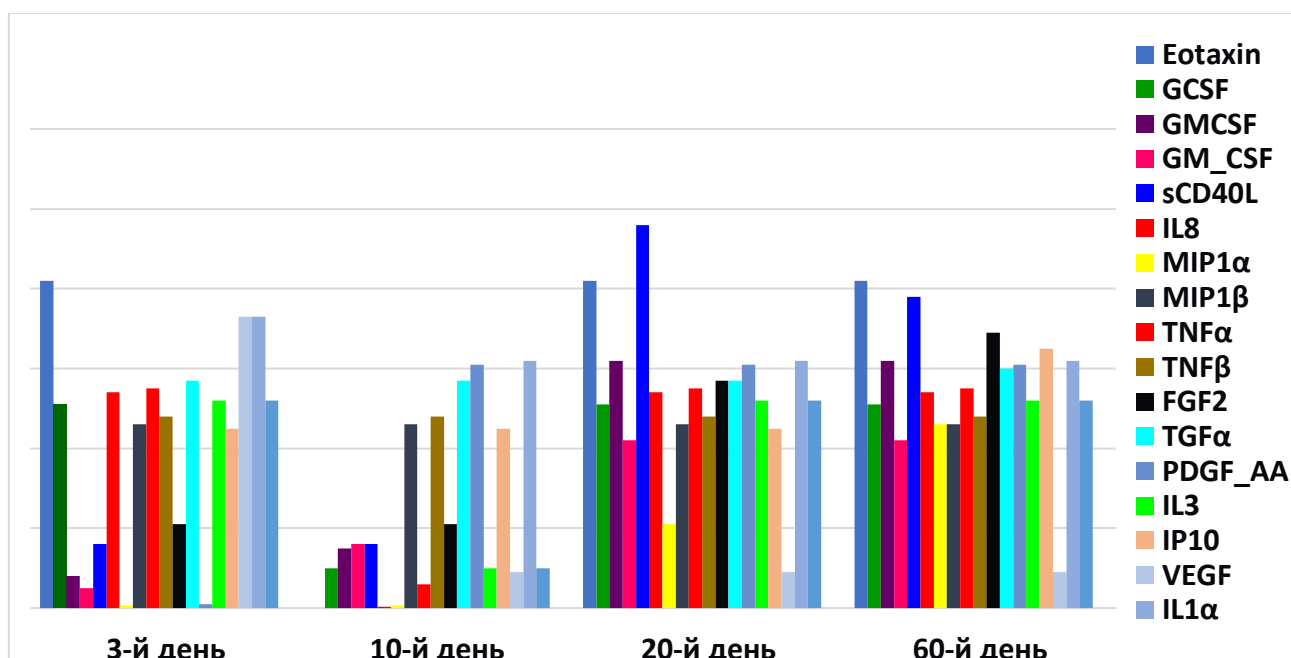


Рисунок 21 – Уровни цито/хемокинов в образцах группы ММ на разных этапах исследования.

Анализ абсолютных количеств провоспалительных и воспалительных цитокинов/хемокинов уже на 3-й день антибиотикотерапии показал изменения уровня воспалительного белка макрофагов альфа (MIP1 α) (FDR <0,01), фактора некроза опухоли альфа (TNF α) (FDR <0,02), G-CSF (FDR <0,09), IL1PA (FDR <0,09). После антибиотикотерапии TNF α значительно снижается к 20-му дню исследования (FDR <0,003) и остается низким по сравнению с данными до начала антибактериальной терапии до 60-го дня исследования (FDR <0,001). К концу исследования мы наблюдаем снижение уровня sCD40L (FDR <0,03) (рис 22)

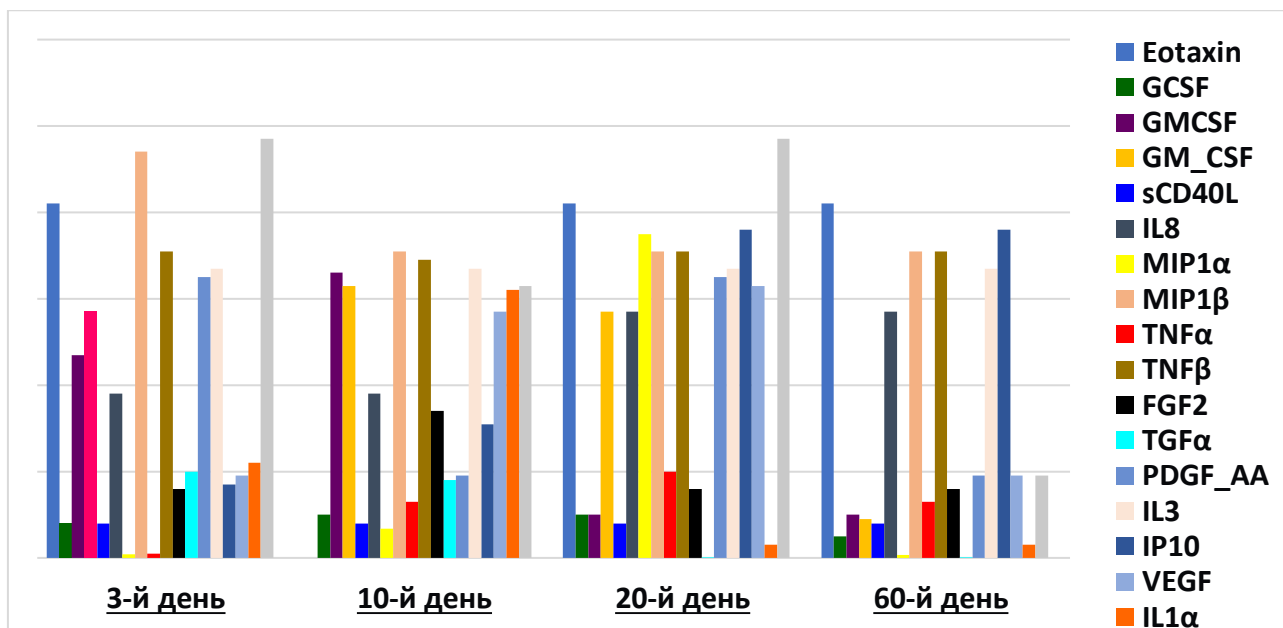


Рисунок 22 – Уровни цито/хемокинов в образцах группы АВ на разных этапах исследования.

Таким образом, антибактериальная терапия привела к значительному снижению уровня противовоспалительных цитокинов/хемокинов. TGF α у здоровых людей усиливает распространение энтероцитов и вызывает адаптацию кишечника. Наше исследование показало, что уровни TGF α были значительно снижены ($p > 0,05$) после антибактериальной терапии в группе АВ. Противоспалительные цитокины/хемокины были снижены значительно на 3-й день антибактериальной терапии. MIP1 α ($p < 0,05$), TNF α ($p < 0,05$). Тенденция к снижению для GCSF наблюдалась с 3-го по 60-й день (3-й день: $p = 0,02052$; 20-й день: $p < 0,05$). Уровень GMCSF также снизился значительно с 20-го дня до конца исследования (20-й день: $p < 0,05$; 60-й день: $p < 0,05$). Отмечалось снижение уровня sCD40L ($p < 0,05$).

Также наблюдалось снижение противовоспалительного уровня цитокинов / хемокинов после антибактериальной терапии. На третий день, FGF2 ($p < 0,05$) и IP10 ($p < 0,05$) были значительно снижены. TGF α ($p < 0,05$) и IL1 α ($p < 0,05$) были значительно изменены на 20-й день и эта тенденция сохранялась до последнего дня, где TGF α ($p < 0,05$), IL1 α ($p < 0,05$) и VEGF ($p < 0,05$).

Локальные изменения цитокинов в иммунной системе кишечника свидетельствует о сохранении воспалительных процессов в кишечнике и дисбиотических нарушений в микробиоте. В начале антибактериальной терапии соотношение цитокинов IL1 α и IL1 β находилось на уровне 1:14,3, однако на 60-е сутки это соотношение увеличилось до 1:178 в группе АВ и снизилось до 1:9,4 в группе ММ. Полученные результаты свидетельствуют о положительном влиянии кобыльего молока на иммунитет детей, получавших антибактериальную терапию. Баланс между IL1 β и IL1 α в группе АВ не восстанавливался после антибактериальной терапии даже на 60-е сутки. Баланс

значительно смещен в пользу провоспалительного цитокина.

4. Восстановление микробиоценоза и мукозного слоя кишечника

4.1 Влияние прибиотика Mare's milk на состав кишечной микробиоты и местного иммунитета

Будучи местными жителями кишечника, условно-патогенная флора обычно не вызывает осложнений у здорового хозяина. Однако, иммуносупрессия может позволить этим бактериям размножиться с относительным преимуществом в кишечном тракте и вызывать диссеминированные инфекции. В ответ на антибиотикотерапию мы наблюдаем очевидные изменения иммунологических показателей. Тем не менее, следует учитывать, что во время первых измерений иммунного статуса у всех пациентов был воспалительный процесс, что отражалось в показателях крови в первый день исследования.

Микробиом кишечника человека сосуществует с хозяином и определяется его диетой и иммунным статусом, а также местной конкуренцией бактериальных клеток за экологическую нишу и доступ к питательным веществам. Воспаленный микробиом обладает пониженной способностью выполнять свои жизненно важные функции, такие как пищеварительная и синтетическая деятельность, а также обеспечивать устойчивость к колонизации и регулировать иммунную систему организма. Было показано, что лечение антибиотиками оказывает значительное влияние на общий таксономический состав кишечной микробиоты. В рамках настоящей работы, мы изучили потенциальные защитные свойства кобыльего молока для профилактики неблагоприятного воздействия антибиотикотерапии на кишечный микробиом.

Мы наблюдаем нарушение микробиоты после кратковременного введения цефалоспоринов. Влияние антибиотика на кишечную микробиоту было быстрым, с потерей разнообразия и изменением состава колоний, замеченным только через два дня после введения цефалоспоринов [52]. В то время как колонии начали возвращаться к своему первоначальному состоянию к 10-му дню исследования, это возвращение не было полностью достигнуто, в соответствии с другими недавними работами. В этом исследовании кишечная микробиота до лечения антибиотиками состояла в основном из бактерий, относящихся к филуму Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria и Epsilonbacteraeota. После приема антибиотиков в образцах фекалий из группы АБ наблюдалось обогащение Firmicutes и Tenericutes (рис. 23).

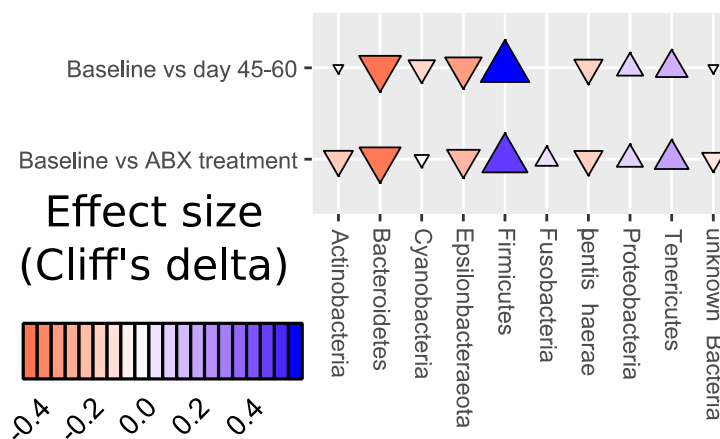


Рисунок 23 – Динамика изменения численности на уровне типа (эффект размера дельты Клиффа)

Дальнейшая таксономическая характеристика выявила профилактику роста *Mollicutes* в группе ММ. Порядок *Mollicutes* содержит более сорока известных патогенов у людей и животных. Поскольку представители *Mollicutes* не имеют клеточных стенок, основные классы противомикробных агентов, таких как бета-лактамы, гликопептиды и фосфомицин, не влияют на них [53], это может объяснить относительно высокий рост этих организмов в наших исследованиях, так как они будут обладать относительным преимуществом. Кроме того, тестируемые здесь бета-лактамы, такие как цефалоспорины, являются иммуносупрессивными, и в результате может быть вызван воспалительный процесс представителями класса *Mollicutes* [54, 55]. Некоторые *Mollicutes* вызывают заболевания человека и животных, характеризующиеся лимфоидными инфильтратами, иммуносупрессией, продукцией аутоантител. [56]. Мы предполагаем, что эффект ингибирования, который мы здесь видим на *Mollicutes* под действием кобыльего молока, может быть вызван тем, что лизоцим и лактоферрин действуют как антимикробные молекулы, а также стимулирует рост комменсальной флоры, включая бактерии *Coriobacteriales*. Изучение потенциала диетических вмешательств для снижения побочных эффектов антибиотиков на микробиом является растущей областью исследований. Наше предварительное исследование является одним из первых исследований микробиома, оценивающих влияние кобыльего молока. Ранее сообщалось [57, 58], что кобылье молоко оказывает благотворное влияние на здоровье человека, и мы предположили, что его богатое содержание биологически активных веществ полезно для обитателей микробиомов.

Наши предварительные результаты показывают, что добавление кобыльего молока связано с улучшением состояния микробиома после приема антибиотиков по сравнению с его отсутствием.

Тем не менее, существенное различие в динамике групп ММ и АВ было заметно как в многомерном, так и в одномерном анализе состава микробиомов, включая обогащение бактериями *Coriobacteriales*. Представители этого ряда обычно чувствительны к воздействию антибиотиков, и, очевидно, в кобыльем

молоке содержатся вещества, способные поддерживать их рост.

Антибиотики, прямо или косвенно воздействуя на микрофлору кишечника, влияют на местный кишечный иммунитет. Цитокины в подавляющем большинстве случаев близкодействующие медиаторы локальных взаимодействий клеток в физиологических и патологических процессах в тканях [59].

Известны аутокринный эффект, где цитокин действует на собственно клетку, продуцирующую цитокин; паракринный эффект, где цитокин действует на клетку, расположенную рядом с продуцентом; и эндокринный эффект, это дистанционное или системное действие, когда цитокин по крови достигает клетки мишени [60]. Эндокринный эффект характерен только для IL1, TNF α , IL6, MCSF при тяжелом системном заболевании, например, септический шок [61, 62].

Значения полученного цитокинового профиля в фекалиях носят локальный характер и отражают состояние слизистой кишечника и лимфоидной ткани, ассоциированной с ЖКТ [63]. В группе АВ мы наблюдаем подавление продукции гемопозитических цитокинов GCSF, GMCSF, IL3, к 10 дню исследования. Под действием кобыльего молока мы наблюдаем увеличение продукции гемопозитических цитокинов GCSF, GMCSF, IL3 на 20 день исследования, предполагается это способствует пролиферации и дифференциации клеток, и как следствие восстановлению организма после перенесенного заболевания и повышению реактивности иммунной системы. Аналогичны изменения в показателях синтеза FGF2- фактора роста фибробластов, необходимого для пролиферации и дифференциации широкого спектра клеток и тканей. Цифры на 60 день показывают нормализацию синтеза цитокинов в исследуемых образцах, продуцируемых лимфоидной системой кишечника. Это проявляется саморегулируемым каскадом цитокинов, иными словами, в ответ на продукцию активационных цитокинов клетка начинает продуцировать цитокины ингибиторного действия. В ответ на активацию гемопозитических цитокинов наблюдается увеличение продукции ингибиторов гемопоза (TNF α , MIP1 α). В то время как в группе АВ показатели остаются сниженными до 60 дня исследования.

IL1 и TNF α являются цитокинами первичного (доиммунного) воспаления и действуют локально, они необходимы в механизме иммунного ответа для представления антигена Т-лимфоцитам, способствуют миграции их в региональные лимфоузлы и создают условия для лимфоцитарного иммунного ответа [63].

Эти цитокины играют важную роль в обеспечении защитной функции первичного звена иммунной системы. К ним относятся также IL6 и хемокин IL8. Увеличение продукции IL1 α балансируется продукцией эндогенного противовоспалительного агента IL1ra, который является его антагонистом и ограничивает повреждающее действие воспалительных процессов на клетки и ткани организма.

Таким образом, наше исследование продемонстрировало, что кобылье молоко хорошо переносится детьми и положительно влияет на композиционный

состав кишечной микробиоты и показатели локального иммунного статуса.

4.2 Алгоритм применения кобыльего молока

Рекомендуется применять взрослым и детям с первого дня антибиотикотерапии.

Применение

В качестве профилактического, оздоровительного и общеукрепляющего средства рекомендуется принимать не менее 2-х раз в день за 20 минут до еды. Одна разовая порция составляет 20 грамм (3 большие столовые ложки с горкой) + 200 мл чистой теплой воды (не более 37 градусов Цельсия). Для возникновения положительного эффекта рекомендуется принимать ежедневно в течение 4-6 недель. Возможен небольшой слабительный эффект, эти симптомы могут исчезнуть через несколько дней.

4.3 Состав кобыльего молока

Продукт представляет собой лиофилизированный порошок, изготовленный из свежего кобыльего молока сублимационным методом.

Продукт производится на заводе по переработке кобыльего молока ТОО «Евразия инвест Лтд». Экспертиза продукции была проведена в Казахской академии питания и SGS-CSTC Standards Technical Services Co., Ltd. (Шанхай).

Сублимированное кобылье молоко содержит следующие микроэлементы: все заменимые и незаменимые аминокислоты (гликопротеин 5009,124-2016), насыщенные (3,54 г/100 г) и ненасыщенные жирные кислоты (5,24 г/100 г), ω -3 жирная кислота (2,17 г/100 г) и ω -6 жирная кислота (1,03 г/100 г), короткоцепочечные жирные кислоты (0,02-2,13 г/100 г), витамин В12 (0,77 мкг/100 г), ретинол (41 мкг/100 г), α -токоферол (0,31 мг/100 г), витамин Е (0,31 мг/100 г), пантотеновая кислота (3,09 \times 10³ мкг/100 г), витамин В6 (в виде пиридоксина) (0,155 мг/100 г), фолиевая кислота (10,1 мкг/100 г), витамин С (97 мг/100 г), цинк (Zn) (18,4 мг/кг), кальций (Ca) (6,66 \times 10³ мг/кг), железо (Fe) (2,3 мг/кг), аспарагиновая кислота (1,46%), треонин (0,7%), серин (0,97%), глутаминовая кислота (3,65%). Также известно, что в кобыльем молоке содержатся компоненты, важные для микробиома кишечника, такие как лизоцим, лактоферрин и лактадхерин.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, понимание важности микробиома кишечника растет с каждым днем и становится все более актуальным определять профилактические или терапевтические решения, нацеленные на него.

В кишечнике находится большое количество микроорганизмов, которые в основном распространяются в толстой кишке. У каждого человека своя уникальная микрофлора кишечника, которая определяется генотипом хозяина, начальной колонизацией посредством вертикальной передачи при рождении и диетическими привычками.

Bacteroidetes и Firmicutes - две основные бактерии в экосистеме кишечника человека, составляющие более 90 процентов всех микроорганизмов. Развитие и созревание кишечной микробиоты — это высоко динамичные процессы, на которые влияют различные факторы. И большее значение имеет влияние антибиотикотерапии. Антибиотики, которые обычно используются для предотвращения или лечения инфекций, которые не обязательно вызваны конкретным патогеном, могут эффективно истощить кишечную микробиоту.

Нарушение кишечной микробиоты может привести к долгосрочным последствиям для здоровья, включая снижение выработки витаминов, снижение всасывания питательных веществ и повышение риска диабета, астмы, ожирения и инфекций.

Регулирование микробиоты с помощью пробиотиков или полезных микробов нового поколения представляет собой уникальную перспективу для разработки пищевых или фармацевтических инструментов для поддержания здоровья. Пробиотики влияют на экосистему кишечника, регулируя иммунитет слизистой оболочки кишечника, взаимодействуя с комменсальной микрофлорой или потенциально опасными патогенами. Эти механизмы могут способствовать ингибированию и устранению потенциальных патогенов, улучшению кишечного микроокружения, укреплению кишечного барьера, ослаблению воспаления и усилению антиген-специфического иммунного ответа.

Наше исследование показало, что антибиотики значительно истощают бактериальное разнообразие кишечного микробиома.

Данное пилотное исследование демонстрирует, что употребление кобыльего молока на фоне антибиотикотерапии, способствует последовательно восстановлению резистентности организма путем иммуностимулирующего действия на клетки иммунной системы и регулируют цитокиновый баланс в лимфоидной системе ЖКТ.

ВЫВОДЫ

1. Композиционный бактериальный микробиомный анализ показал, что антибиотикотерапия положительно взаимодействует с филумом Firmicutes ($p < 0,05$), в основном из-за порядка Clostridiales и отрицательно взаимодействует с Bacteroidetes ($p < 0,05$). Основываясь на полученных результатах, были выявлены существенные изменения в отдельных членах микробного сообщества в основной и контрольной группах, на уровне тип, класс, порядок, семейство, род и вид, где в основной группе отмечалось статистически значимое увеличение бактерий типа Bacteroidetes (19%), что говорит о восстановлении кишечной микробиоты после антибиотикотерапии и достоверное уменьшение данного типа бактерий в контрольной группе (11%), что свидетельствует об истощении бактериального разнообразия

2. Антибактериальная терапия привела к значительному снижению уровня противовоспалительных цитокинов/хемокинов. уровни TGF α были значительно снижены ($p < 0,05$) после антибактериальной терапии в группе АВ. Провоспалительные цитокины/хемокины были снижены значительно на 3-й день антибактериальной терапии. MIP1 α ($p < 0,05$), TNF α ($p < 0,05$). Тенденция к снижению для GCSF наблюдалась с 3-го по 60-й день (3-й день: $p = 0,02052$; 20-й день: $p < 0,05$). Уровень GMCSF также снизился значительно с 20-го дня до конца исследования (20-й день: $p < 0,05$; 60-й день: $p > 0,05$). Отмечалось снижение уровня sCD40L ($p < 0,05$). Также наблюдалось снижение противовоспалительного уровня цитокинов / хемокинов после антибактериальной терапии. На третий день, FGF2 ($p < 0,05$) и IP10 ($p < 0,05$) были значительно снижены. TGF α ($p < 0,05$) и IL1 α ($p > 0,05$) были значительно изменены на 20-й день и эта тенденция сохранялась до последнего дня, где TGF α ($p < 0,05$), IL1 α ($p < 0,05$) и VEGF ($p < 0,05$). Полученные результаты свидетельствуют о положительном влиянии кобыльего молока на иммунитет детей, получавших антибактериальную терапию. Баланс между IL1 α и IL1 β в группе АВ не восстанавливался после антибактериальной терапии даже на 60-е сутки

3. Был разработан алгоритм восстановления микробиоценоза и мукозного слоя кишечника после антибиотикотерапии, который показал хорошую переносимость детьми пребиотика Mare's milk и положительное влияние на восстановление кишечного микробиома. Результаты данного исследования помогут в разработке методик и лечебных мероприятий для предотвращения побочного действия антибиотиков и обеспечение некоторых рекомендаций и предложения для будущих исследований

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

В результате проведенного исследования разработан алгоритм восстановления системы микробиоценоза и мукозного слоя кишечника после антибиотикотерапии класса цефалоспоринов у детей с диагнозом бронхопневмония на фоне приема пребиотиков Mare's milk.

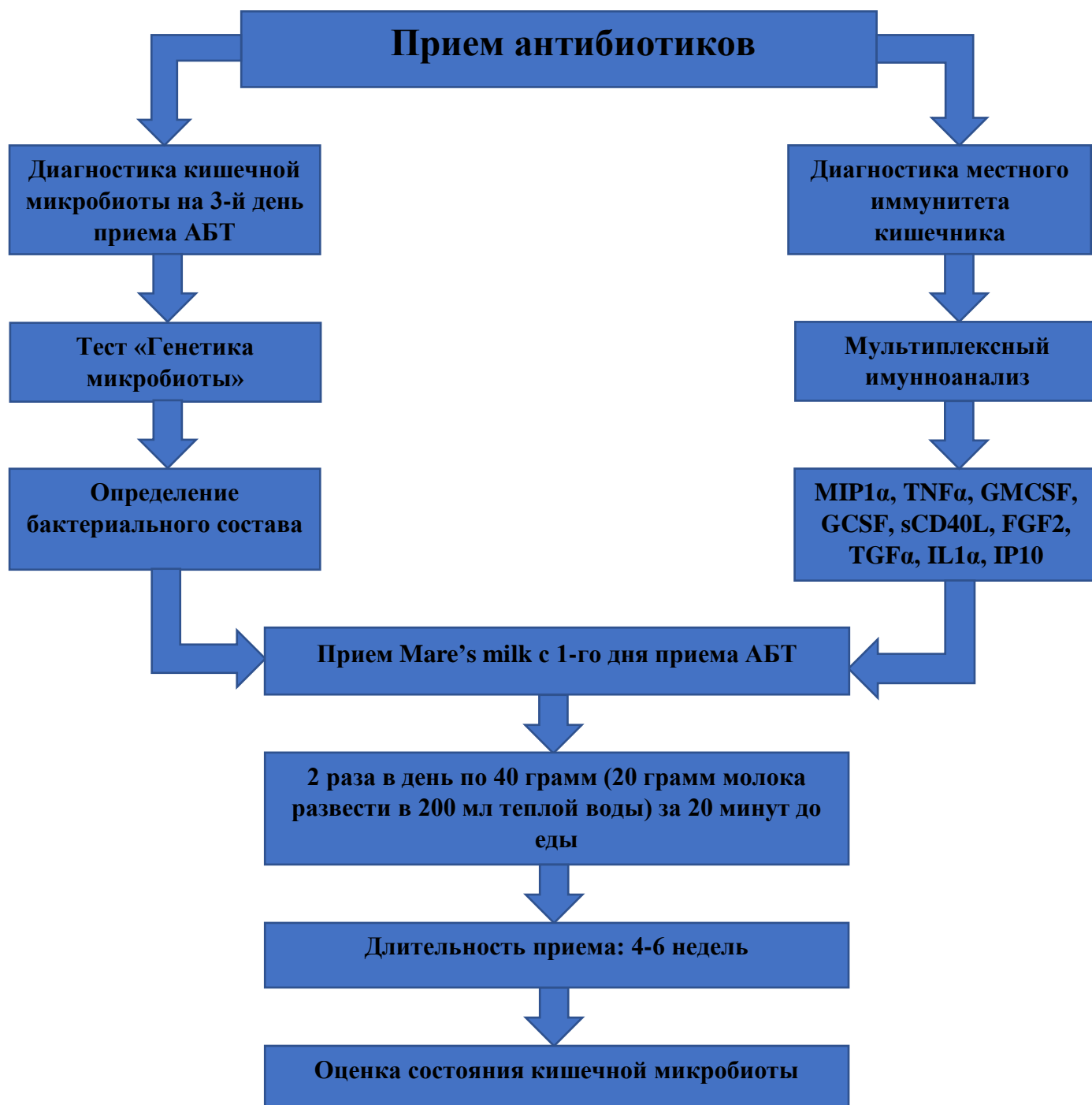


Рисунок 24 – Алгоритм применения пребиотика Mare's milk.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. V.M. Bondarenko, T.V. Maculevich, Dysbacteriosis of the intestine as a clinical and laboratory syndrome: the current state of the problem. Moscow: GEOTAR-Media 2007; P 300.

2. Ю. Чередниченко «Микробиота кишечника ребенка и здоровье. Есть ли связь?», Медицинский совет №6 2015, С 2.

3. Antibiotic-induced changes in the intestinal microbiota and disease Simone Becattini, Ying Taur, Eric G Pamer Trends in molecular medicine 22 (6), 2016, 458-478

4. Miriam R Fernandes, Aline Ignacio, Viviane AA Rodrigues, Franciso C Groppo, Ary L Cardoso, Mario J Avila-Campos, Viviane Nakano, Alterations of intestinal microbiome by antibiotic therapy in hospitalized children Microbial Drug Resistance 23 (1), 2017, 56-62.

5. E Ruppé, C Burdet, N Grall, V De Lastours, F-X Lescure, A. Andremont, L. Armand-Lefèvre, Impact of antibiotics on the intestinal microbiota needs to be re-defined to optimize antibiotic usage Clinical Microbiology and Infection 24 (1), 2018, P 3-5.

6. И.В. Николаева, А.Д. Царегородцев, Г.С. Шайхиева «Формирование кишечной микробиоты ребенка и факторы, влияющие на этот процесс», Российский вестник перинатологии и педиатрии, 2018, 63:(3), С 16.

7. Sophie Thiemann, Nathiana Smit, Till Strowig, Curr Top Microbiol Immunol, Antibiotics and the Intestinal Microbiome: Individual Responses, Resilience of the Ecosystem, and the Susceptibility to Infections, 2016; 398: P 123-146, PMID: 27738912, DOI: 10.1007/ 82_2016_504.

8. Hooper LV, Gordon JI. Commensal host-bacterial relationships in the gut. Science. 2001, P 1115-1118.

9. Socransky SSmm, Gibbons RJ, Dale AC. The microbiota of the gingival crevice area of man. I. Total microscopic and viable counts of specific microorganisms. J Arch Oral Biol. 1953; 8: P 275-280.

10. Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI. The human microbiome project. Nature. 2007; 449: P 804-810. <https://doi.org/10.1038/nature06244>.

11. Попова Е.Н., Гордеев И.Г. Современные представления о микробиоте человека, Микробиота, 2019. С 7.

12. Л.А. Харитонова, К.И. Григорьев, С.Н. Борзакова, Н.И. Ермилова, О.В. Папышева, Микробиота человека: достижения науки и медицинская практика, Профессия теория и практика. Медицинская сестра №4, 2018, С 40-41, <https://doi.org/10.29296/25879979-2018-04-07>.

13. Celine Perceval, MD Prof Hania Szajewska, MD Flavia Indrio, MD Prof Zvi Weizman, MD Prof Yvan Vandenplas, MD PlumX Prophylactic use of probiotics for gastrointestinal disorders in children, Metrics Published: July 03, 2019 DOI: [https://doi.org/10.1016/S2352-4642\(19\)30182-8](https://doi.org/10.1016/S2352-4642(19)30182-8).

14. Gevers D, Knight R, Petrosino JF, et al. The Human Microbiome Project: a community resource for the healthy human microbiome. *PLoS Biol.* 2012;10(8): e1001377. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001377>.
15. Maccaferri S, Biagi E, Brigidi P. Metagenomics: key to human gut microbiota. *Dig Dis.* 2011;29(6): P 525-530.
16. Wilmes P, Heintz-Buschart A, Bond PL. A decade of metaproteomics: Where we stand and what the future holds. *Proteomics.* 2015;15(20): P 3409-3417.
17. Muriel Derrien, Anne-Sophie Alvarez, Willem M, The gut microbiota in the first decade of life in microbiology, de Vos Trends, 2019.
18. Shreyas V Kumbhare 1, Dharti V V Patangia, Ravindra H Patil, Yogesh S Shouche, Nitinkumar P Patil, *J Biosci.* Factors influencing the gut microbiome in children: from infancy to childhood, 2019 Jun;44(2):49. PMID: 31180062.
19. Moran Yassour, Tommi Vatanen, Heli Siljander, Anu-Maaria Hämäläinen, Taina Härkönen, Samppa J Ryhänen, Eric A Franzosa, Hera Vlamakis, Curtis Huttenhower, Dirk Gevers, Eric S Lander , Mikael Knip, DIABIMMUNE Study Group; Ramnik J Xavier, Natural history of the infant gut microbiome and impact of antibiotic treatment on bacterial strain diversity and stability. *Sci Transl Med.* 2016 Jun 15;8(343):343ra81. PMID: 27306663 PMCID: PMC5032909 DOI: 10.1126/scitranslmed. aad0917.
20. Chunlong Mu & Weiyun Zhu Applied Antibiotic effects on gut microbiota, metabolism, and beyond, *Microbiology and Biotechnology* volume 103, 07 November 2019, PP 9277–9285.
21. Fouhy, F.; Guinane, C.M.; Hussey, S.; Wall, R.; Ryan, C.A.; Dempsey, E.M.; Murphy, B.; Ross, R.P.; Fitzgerald, G.F.; Stanton, C.; et al. High-throughput sequencing reveals the incomplete, short-term recovery of infant gut microbiota following parenteral antibiotic treatment with ampicillin and gentamicin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012, P 5811–5820.
22. Tanaka, S.; Kobayashi, T.; Songjinda, P.; Tateyama, A.; Tsubouchi, M.; Kiyohara, C.; Shirakawa, T.; Sonomoto, K.; Nakayama, J. Influence of antibiotic exposure in the early postnatal period on the development of intestinal microbiota. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2009, P 80–87.
23. Gasparrini, A.J.; Crofts, T.S.; Gibson, M.K.; Tarr, P.I.; Warner, B.B.; Dantas, G. Antibiotic perturbation of the preterm infant gut microbiome and resistome. *Gut Microbes* 2016, P 443–449.
24. Gasparrini, A.J.; Wang, B.; Sun, X.; Kennedy, E.A.; Ndao, I.M.; Tarr, P.I.; Warner, B.B. HHS Public Access. 2020, P 2285–2297.
25. Zhang, S.; Chen, D.C.; Chen, L.M. Facing a new challenge: The adverse effects of antibiotics on gut microbiota and host immunity. *Chin. Med. J. (Engl).* 2019, P 1135–1138.
26. Pedersen, T.; Klingenberg, C.; Hjerde, E.; Willassen, N.P.; Nakstad, B.; Støen, R.; Esaiassen, E.; Cavanagh, J.P.; Andresen, J.H.; Rettedal, S.I. Effects of Probiotic Supplementation on the Gut Microbiota and Antibiotic Resistome Development in Preterm Infants. *Front. Pediatr.* 2018, P 6.

27. Mikkelsen, K.H.; Frost, M.; Bahl, M.I.; Licht, T.R.; Jensen, U.S.; Rosenberg, J.; Pedersen, O.; Hansen, T.; Rehfeld, J.F.; Holst, J.J.; et al. Effect of antibiotics on gut microbiota, gut hormones and glucose metabolism. *PLoS One* 2015, 10, P 1–14.
28. De Gunzburg, J.; Ghozlane, A.; Ducher, A.; Le Chatelier, E.; Duval, X.; Ruppé, E.; Armand-Lefevre, L.; Sablier-Gallis, F.; Burdet, C.; Alavoine, L.; et al. Protection of the human gut microbiome from antibiotics. *J. Infect. Dis.* 2018, 217, P 628–636.
29. Rashid, M.U.; Zaura, E.; Buijs, M.J.; Keijser, B.J.F.; Crielaard, W.; Nord, C.E.; Weintraub, A. Determining the long-term effect of antibiotic administration on the human normal intestinal microbiota using culture and pyrosequencing methods. *Clin. Infect. Dis.* 2015, 60, P 77–84.
30. Rashid, M.U.; Zaura, E.; Buijs, M.J.; Keijser, B.J.F.; Crielaard, W.; Nord, C.E.; Weintraub, A. Determining the long-term effect of antibiotic administration on the human normal intestinal microbiota using culture and pyrosequencing methods. *Clin. Infect. Dis.* 2015, 60, P 77–S84.
31. Kaleko, M.; Bristol, J.A.; Hubert, S.; Parsey, T.; Widmer, G.; Tzipori, S.; Subramanian, P.; Hasan, N.; Koski, P.; Kokai-Kun, J.; et al. Development of SYN-004, an oral beta-lactamase treatment to protect the gut microbiome from antibiotic-mediated damage and prevent *Clostridium difficile* infection. *Anaerobe* 2016, 41, P 58–67.
32. Syn-, T.O.; Kokai-kun, J.F.; Roberts, T.; Coughlin, O.; Sicard, E.; Rufiange, M.; Fedorak, R.; Carter, C.; Adams, M.H.; Longstreth, J.; et al. crossm *Clinical Studies.* 2017, 61, P 14–16.
33. Ronda, C.; Chen, S.P.; Cabral, V.; Yaung, S.J.; Wang, H.H. Metagenomic engineering of the mammalian gut microbiome in situ. *Nat. Methods* 2019, 16, P 167–170.
34. Е. Головина, Микробиом кишечника: мир внутри нас, «БИО/МОЛ/ТЕКСТ»-2016, 03.10.2016.
35. Taylor, S.L.; Wesselingh, S.; Rogers, G.B. Host-microbiome interactions in acute and chronic respiratory infections. *Cell. Microbiol.* 2016, 18, P 652–662.
36. Grigg, J.; Sonnenberg, G. Host-Microbiota Interactions Shape Local and Systemic Inflammatory Diseases. *J. Immunol.* 2017, 198, P 564–571.
37. Schoultz, I.; Keita, Å. Cellular and Molecular Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease—Focusing on Intestinal Barrier Function. *Cells* 2019, 8, P 193.
38. Satokari, R. Contentious host-microbiota relationship in inflammatory bowel disease-can foes become friends again? *Scand. J. Gastroenterol.* 2014, 50, P 34–42.
39. Viggiano, D.; Ianiro, G.; Vanella, G.; Bibbò, S.; Bruno, G.; Simeone, G.; Mele, G. Gut barrier in health and disease: focus on childhood. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2015, 19, P 1077–85.
40. Burcelin, R. Gut microbiota and immune crosstalk in metabolic disease. *Mol. Metab.* 2016, 5, P 771–781.

41. McDermott, A.J.; Klein, B.S. Helper T-cell responses and pulmonary fungal infections. *Immunology* 2018, P 155–163.
42. Edelblum, K.L.; Sharon, G.; Singh, G.; Odenwald, M.A.; Sailer, A.; Cao, S.; Ravens, S.; Thomsen, I.; El Bissati, K.; McLeod, R.; et al. The Microbiome Activates CD4 T-cell-mediated Immunity to Compensate for Increased Intestinal Permeability. *Cell. Mol. Gastroenterol. Hepatol.* 2017, P 285–297.
43. Smolinska, S.; O'Mahony, L. Microbiome–Host Immune System Interactions. *Seminars in Liver Disease* 2016, 36, P 317–326.
44. Francino, M.P. Antibiotics and the human gut microbiome: Dysbioses and accumulation of resistances. *Front. Microbiol.* 2016, 6, P 1–11.
45. Kim, S.; Covington, A.; Pamer, E.G. The intestinal microbiota: Antibiotics, colonization resistance, and enteric pathogens. *Immunol. Rev.* 2017, 279, 90–105.
46. Pamer, E.G. Resurrecting the intestinal microbiota to combat antibiotic-resistant pathogens. *Science* (80-). 2016, P 535–538.
47. Zeng, M.Y.; Cisalpino, D.; Varadarajan, S.; Hellman, J.; Warren, H.S.; Cascalho, M.; Inohara, N.; Núñez, G. Gut Microbiota-Induced Immunoglobulin G Controls Systemic Infection by Symbiotic Bacteria and Pathogens. *Immunity* 2016, P 44, 647–658.
48. Cahenzli, J.; Köller, Y.; Wyss, M.; Geuking, M.B.; McCoy, K.D. Intestinal Microbial Diversity during Early-Life Colonization Shapes Long-Term IgE Levels. *Cell Host Microbe* 2013, P 14, 559–570.
49. Donaldson, G.P.; Ladinsky, M.S.; Yu, K.B.; Sanders, J.G.; Yoo, B.B.; Chou, W.-C.; Conner, M.E.; Earl, A.M.; Knight, R.; Bjorkman, P.J.; et al. Gut microbiota utilize immunoglobulin A for mucosal colonization. *Science* 2018, P 360, 795–800.
50. Д.С. Янковский, В.П. Ширококов, Г.С. Дымент, Роль микробиома в формировании здоровья ребенка, *Modern pediatrics. Ukraine* 5(101)/2019 С 111.
51. János Csapó, Zsuzsanna Csapó-Kiss, József Stefler, Truman G. Martin, Sándor Némethy. Influence of Mastitis on D-Amino Acid Content of Milk, *Journal of Dairy Science*//Volume 78, Issue 11, 1995, P 2375-2381.
52. Therese Uniacke-Lowe, Thom Huppertz, Patrick F. Fox. Equine milk proteins: Chemistry, structure and nutritional significance//*International Dairy Journal*, Volume 20, Issue 9, 2010, P 609-629.
53. Therese Uniacke-Lowe, Thom Huppertz, Patrick F. Fox. Equine milk proteins: Chemistry, structure and nutritional significance//*International Dairy Journal*, Volume 20, Issue 9, 2010, P 609-629.
54. Haddad, Y., Vallerand, D., Brault, A. & Haddad, P.S., 2011. Antioxidant and hepatoprotective effects of silibinin in a rat model of nonalcoholic steatohepatitis. *Evidence-based complementary and alternative medicine*. Oxford University Press, Oxford, P 115.
55. Therese Uniacke-Lowe, Thom Huppertz, Patrick F. Fox. Equine milk proteins: Chemistry, structure and nutritional significance//*International Dairy*

Journal, Volume 20, Issue 9, 2010, P 609-629, ISSN 0958-6946, doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.02.007.

56. Nagpal, R., Behare, P., Rana, R., Kumar, A., Kumar, M., Arora, S., Morotta, F., Jain, S., & Yadav, H. (2011). Bioactive peptides derived from milk proteins and their health beneficial potentials: an update. *Food & Function*, 2(1), P 18-27. <http://dx.doi.org/10.1039/c0fo00016g>. PMID:21773582.

57. Valiev AG. Features of secondary immune response and status of nonspecific resistance of the rat, fed rations with mare's milk, rich in essential fatty acids// *Vopr Pitan.* 2001;70(5): P 10.

58. Pahud JJ, Mach JP. Equine secretory IgA and secretory component. *Int Arch Allergy* 1972; 42: P 175–186.

59. Corina Foekel, Rainer Schubert, Martin Kaatz, Ivonne Schmidt, Andrea Bauer, Uta-Christina Hipler, Heinz Vogelsang, Katja Rabe & Gerhard Jahreis. Dietetic effects of oral intervention with mare's milk on the Severity Scoring of Atopic Dermatitis, on faecal microbiota and on immunological parameters in patients with atopic dermatitis// *International Journal of Food Sciences and Nutrition* Vol. 60, Iss. sup7, 2009.

60. Anilda Guri, Michele Paligot, Sebastien Crèvecoeur, Benoit Piedboeuf, Jonathan Claes, Georges Daube, Milena Corredig, M. W. Griffiths, Veronique Delcenserie; In vitro screening of mare's milk antimicrobial effect and antiproliferative activity, *FEMS Microbiology Letters*, Volume 363, Issue 2, 1 January 2016, fnv234, <https://doi.org/10.1093/femsle/fnv234>.

61. Xu H Lee HY Ahn J Growth and virulence properties of biofilm-forming *Salmonella enterica* serovar typhimurium under different acidic conditions *Appl Environ Microb* 2010 76 7910 7; Cousin FJ, Jouan-Lanhouet S, Dimanche-Boitrel MT, et al. Milk fermented by *Propionibacterium freudenreichii* induces apoptosis of HGT-1 human gastric cancer cells. *PLoS One* 2012;7: e31892.

62. Wulijideligen & Asahina, Takayuki & Hara, Kazushi & Arakawa, Kensuke & Nakano, Hiroyuki & Miyamoto, Taku. (2012). Production of bacteriocin by *Leuconostoc mesenteroides* 406 isolated from Mongolian fermented mare's milk, *Airag. Animal science journal /Nihon chikusan Gakkaiho*. P 83. 704-11.

63. Hancock J.T, Salisbury V, Ovejero-Boglione M.C, Cherry R, Hoare C, Eisenthal R, Harrison R. Antimicrobial Properties of Milk: Dependence on Presence of Xanthine Oxidase and Nitrite. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002;46(10): P 3308–3310.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1



«АСТАНА МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТИ» КеАК
Локальды Биотикалык комитет

Решение ЛЭК НАО МУА

Выписка из Протокола заседания № 3

Дата (Д/М/Г) 16.01.2020 г

Название протокола: Оценка состояния кишечной микробиоты у детей с пневмонией на фоне антибиотикотерапии						
Основной исследователь:		Акпанова С.К. Научный руководитель: д.м.н. проф. Уразова С.Н.				
Институт:						
Рассмотренные элементы		√ Приложены	Не приложены			
Повторное рассмотрение да нет √		Дата предыдущего рассмотрения:				
Решение:		√ Разрешено (Р) Разрешено с рекомендациями (Рек) Повторная заявка (ПЗ) Не разрешено (НР)				
№.	Голосование членов ЛЭК		решение			
			Р	Рек	ПЗ	НР
1	Тажибаева Дамира Сабировна		√			
2	Хамчиев Курейш Мавлович		√			
3	Бекбергенова Жанагуль Боранбаевна		√			
4	Канбаба Махамбет Бекболатулы		√			
5	Аканов Амангали Балтабекович		√			
6	Базарова Анна Викентьевна		√			
7	Дербисалина Гульмира Ажмадиновна		√			
8	Латыпова Наталья Александровна		√			
9	Жусупова Гульнара Даригеровна		√			

Примечание: Р - Разрешено; Рек - Разрешено с рекомендациями; ПЗ - Повторная заявка; НР - Не разрешено

Обеуждение:

Были рассмотрены документы исследования на предмет этической совместимости, представленные на рассмотрение ЛЭК.

Принятое решение:

Одобрить и рекомендовать к исполнению мероприятий по выполнению исследования с последующим мониторингом исполнения с учетом этических норм при тестировании объектов исследования. Назначить следующее слушание через 12 месяцев по предварительным результатам исследования с учетом рекомендаций ЛЭК.

Подпись:

Председатель ЛЭК НАО МУА
Д.м.н., проф. Тажибаева Д.С.

Секретарь ЛЭК НАО МУА
MD, MSh Бекбергенова Ж.Б.

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Информированное согласие на участие в исследовании
Родитель или законный
представитель _____

(Ф. И. О.)

Организация-спонсор: National Laboratory Astana, Nazarbayev University

Исследовательский центр: ГКП на ПХВ «Городская Детская Больница №2»

Врач исследователь: Акпанова С. К.

Название исследования: «Разработка методологии восстановления мукозного слоя кишечника после антибиотикотерапии»

Дата последней экспертизы, проведённой ЛЭК: 22.09.2017, Протокол №20

Информация для участника исследования

Мы приглашаем Вас к участию в научном исследовании, проводимому в: National Laboratory Astana, Nazarbayev University.

Целью настоящей работы является охарактеризовать изменения происходящие в кишечнике на фоне антибиотикотерапии и после завершения курса антибиотиков до 60 дня. В рамках исследования вам будет предложено сдать мазок из прямой кишки, анализ кала и общий анализ крови.

Исследование финансируется за счет грантового проекта Комитета науки МОН РК

Мы хотим, чтобы Вы знали, что:

- Участие в этом исследовании является добровольным.
- Вы можете отказаться от участия в исследовании или выйти из него в любое время. В любом случае вам не будет отказано в том, на что Вы имеете право, не будучи участником исследования.
- У некоторых людей могут быть личные, религиозные или другие взгляды, которые затрудняют участие в исследовании. Если у Вас есть такие взгляды, пожалуйста, обсудите их со своим врачом или другими специалистами до того, как согласиться на участие.

Прежде чем Вы дадите согласие на участие в исследовании, не спеша, обсудите всё с любым сотрудником данной клиники или со своими друзьями, родственниками, лечащим врачом или другими специалистами.

Подписанное согласие на исследование означает, что вы согласны, чтобы ваш ребенок

1) сдал мазок из прямой кишки на исследование в течение первых семи суток пребывания в стационаре и 1 раз в неделю в течение 9-и недель (2-х месяцев/60 дней) после выписки.

2) сдал анализ кала в первый и последний день исследования (на 60-й день исследования)

3) сдал общий анализ крови в первый и последний день исследования (на 60-й день исследования)

Все расходы по проведению анализов и предоставлению вам лечебно-диетического продукта будут осуществлены за счет гранта

Информация о Вашем участии в исследовании является конфиденциальной. Мы гарантируем, что Ваше имя не будет указано при публикации результатов исследования. Информация, полученная в результате этого исследования (материалы исследования), считается конфиденциальной и будет храниться в надлежащих условиях, предусмотренных законом. Однако, эти материалы исследования и Ваша личная медицинская документация могут быть доступны для проверок официальными инстанциями (Министерство здравоохранения), людьми, которые уполномочены контролировать исследование или этической комиссией организации (комиссия, которая наблюдает за всеми исследованиями на людях в рамках действующих законов или инструкций).

Участие в данном исследовании является добровольным. Вы можете отказаться от участия в исследовании или прекратить участие в любое время. В любом случае Вам не будет отказано в том, на что Вы (Ваш ребёнок) имеете право, не будучи участником исследования.

Вы можете прекратить участие в исследовании в любое время без каких-либо отрицательных последствий для Вас или Вашего ребенка. Отказ от участия не отразится никоим образом на отношениях к Вам или Вашему ребенку Вашего врача и медицинских работников и Вам не будет отказано в медицинских услугах, на которые Вы или Ваш ребенок имеете право.

(В соответствующих случаях опишите потенциальные последствия решения участника выйти из исследования и процедуру раннего завершения участия испытуемого. Опишите обстоятельства, при которых участие испытуемого в исследовании может быть завершено исследователем без согласия испытуемого)

Если у Вас возникают проблемы или вопросы, касающиеся данного исследования, Ваших прав как участника исследования или вреда от исследования, обратитесь к

Вы можете также обратиться к вашему врачу:

Акпанова Сания Кудайбиргеновна, тел.: 87754993902.

Разрешение родителей или законного представителя участника исследования

ПРИЛОЖЕНИЕ 4

ФИО: _____ Идентификационный номер: _____

Дата рождения: _____ Национальность: _____

Какой по номеру биоматериал: первичный повторный

Анамнез ребенка:

Когда выставлен диагноз:

Есть ли у других родственников данное заболевание:

Житель города или села:

Когда последний раз получал антибактериальные препараты:

Какие препараты:

Какие хронические заболевания имеются:

Показатели лабораторных исследований:

ОАК		ОАМ		Б/х сыворотки крови	
Гемоглобин		Белок		СРБ	
Эритроциты		Относительная плотность		Общий белок	
Лейкоциты		Рн		Капрологическое исследование кала	
Тромбоциты		Лейкоциты		консистенция	
П/Я		Эпителии		Реакция на скрытую кровь	
С/Я		Эритроциты		Нейтральные жиры	
Эозинофилы		Фекальный кальпротектин		Жирные кислоты	
Лимфоциты				лейкоциты	
СОЭ				эритроциты	
				грибы	

Показатели фекальной и пристеночной микробиоты

Показатели местного иммунного статуса кишечника
