

ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА

Біологічний факультет

Кафедра мікробіології, вірусології та біотехнології

Кваліфікаційна робота

на здобуття ступеня вищої освіти «магістр»

**«Характеристика мікробіоти кишечника немовлят при різних типах
вигодовування і засоби її корекції»**

**«Characteristics of the intestinal microbiota of infants with different types of feeding and
means of its correction»**

Виконала: студентка заочної форми
навчання
спеціальності 091 Біологія
ОП Мікробіологія і вірусологія
Боровська Євгенія Володимирівна

Науковий керівник:
кандидат сільськогосподарських наук,
доцент Теслюк Н. І. _____

Рецензент:
кандидат біологічних наук, доцент,
Підгорна С. Я.

Рекомендовано до захисту:
Протокол засідання кафедри
№ _____ від «___» _____ р.

Захищено на засіданні ЕК № 1
Протокол № _____ від «___» _____ р.
Оцінка _____ / _____ / _____
(за національною шкалою, шкалою ECTS, бал)

Завідувач кафедри

(підпис)

Філіпова Т.О.
(прізвище та ініціали)

Голова ЕК

(підпис)

Макаренко О. А.
(прізвище та ініціали)

Одеса 2023

АНОТАЦІЯ

При обстеженні 68 дітей віком до року у 76,5% виявлено зміни кількісного і якісного складу нормальної мікробіоти товстого кишечника. При дисбіотичних розладах виділялися умовно-патогенні мікроорганізми родів *Staphylococcus* і *Candida*, а також *Escherichia coli* зі зміненими ферментативними властивостями. Ці умовно-патогенні мікроорганізми значно частіше і в більших кількостях виділялися у немовлят, що перебували на штучному вигодовуванні.

Пробіотичні штами бактерій, що входять до складу препаратів Біфідумбактерин, БіоГая і Субалін, характеризувалися високою життєздатністю, антагоністичною активністю проти виділених умовно-патогенних мікроорганізмів і стійкістю до антибіотиків. Виділені штами умовно-патогенних мікроорганізмів в залежності від штаму і від використаного антибіотику, що дозволені у терапії дітей до року, були чутливими, помірночутливими і стійкими. Частка чутливих штамів виділених умовно-патогенних бактерій до бактеріофагів: «Інестіфаг бактеріофаг полівалентний» і «Піофаг бактеріофаг полівалентний» перевищила 79,0%.

Кваліфікаційну роботу викладено на 59 сторінках, вона містить 3 таблиці та 8 рисунків. Наведено посилання на 59 джерел літератури (28 кирилицею та 31 латиницею).

Ключові слова: дисбіоз кишечника, типи вигодовування, умовно-патогенні мікроорганізми, пробіотики, антибіотики, бактеріофаги

When examining 68 children up to one year old, changes in the quantitative and qualitative composition of the normal microbiota of the large intestine were detected in 76.5% cases. In dysbiotic disorders, opportunistic microorganisms of the genera *Staphylococcus* and *Candida*, as well as *Escherichia coli* with altered enzymatic properties, were isolated. These opportunistic microorganisms were isolated much more often and in larger quantities in babies who were on artificial feeding.

The probiotic strains of bacteria included in the preparations Bifidumbacterin, BioGaya and Subalin were characterized by high viability, antagonistic activity against isolated opportunistic microorganisms and resistance to antibiotics. The isolated strains of opportunistic microorganisms, depending on the strain and the antibiotic used, which are allowed in the therapy of children up to one year old, were sensitive, moderately sensitive and resistant. The proportion of sensitive strains of isolated opportunistic bacteria to bacteriophages: "Intestifag bacteriophage polyvalent" and "Piophage bacteriophage polyvalent" exceeded 79.0%.

Diploma thesis is expounded on 59 pages, it contains 3 tables and 8 figures. It provides links to 59 references (28 cyrillic and 31 latinic).

Key words: *intestinal dysbiosis, types of feeding, opportunistic microorganisms, probiotics, antibiotics, bacteriophages*

ЗМІСТ

ВСТУП	4
1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	7
1.1. Формування мікробіоценозу кишечника у дітей, які перебувають на природному та штучному вигодовуванні	7
1.2. Причини, прояви та наслідки дисбіозу кишечника.....	12
1.3. Принципи корекції кишкового дисбіозу.....	18
2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	25
2.1. Мікробіологічне дослідження на дисбактеріоз	25
2.2. Визначення кількості життєздатних клітин бактерій у складі пробіотичних препаратів	29
2.3. Визначення антагоністичної активності пробіотичних штамів бактерій щодо умовно-патогенних мікроорганізмів	30
2.4. Чутливість мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів...	30
2.5. Визначення чутливості бактерій до препаратів бактеріофагів	32
3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	34
3.1. Частота виявлення дисбіозу кишечника у немовлят	34
3.2. Життєздатність штамів бактерій пробіотичних препаратів	39
3.3. Антагонізм пробіотичних штамів бактерій проти умовно-патогенних мікроорганізмів, виділених у дітей з дисбіозом кишечника	41
3.4. Чутливість до антибіотиків штамів пробіотичних і умовно-патогенних мікроорганізмів	43
3.5. Чутливість виділених штамів умовно-патогенних бактерій до бактеріофагів	48
УЗАГАЛЬНЕННЯ	50
ВИСНОВКИ	53
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ	54

ВСТУП

Мікробіота кишечника є важливим фактором, що сприяє нормальному розвитку та функціонуванню організму дитини. Порушення якісного та кількісного складу мікробіоти кишечника можуть призвести до розвитку дисбіозу [Carding et al., 2015; Belizário et al., 2018].

Аналіз публікацій останніх років показує, що на сучасному етапі проблема мікроекологічних порушень у дітей, пов'язаних з колонізацією кишечника умовно-патогенними мікроорганізмами, як і раніше, є актуальною [Бережний та ін., 2016; Макаренко та ін., 2016; Hou et al., 2022].

В умовах сьогодення широке поширення дисбіозів є одним і факторів, що визначають збільшення частоти і важкості гострих і хронічних захворювань різних органів і систем (шлунково-кишкового тракту, дихальної, імунної, нервової та ін.). Особливо небезпечною є проблема дисбіозу в дітей віком першого року життя, оскільки дисбіоз негативно впливає на розвиток і функціонування організму дитини, сприяє затяжному, рецидивуючому перебігу захворювань, розвитку інфекційних, алергічних ускладнень [Evans et al., 2013, Nagpal et al., 2018].

Проблема мікроекологічних порушень у дітей першого року життя актуальна, оскільки патологічний мікробіоценоз може стати джерелом факторів, що викликають або підтримують розвиток ентероколітів [Ротар та ін., 2017; Videlock et al., 2012], факторів загальнотоксичної дії [Патратій та ін., 2016], основою для розвитку інфекцій, що виходять за межі шлунково-кишкового тракту [Tremaroli et al., 2012], різних аутоімунних та алергічних захворювань [Бережний та ін., 2019; Lee et al., 2018]. У деяких дітей на тлі зниження імунітету може активізуватися власна умовно-патогенна мікробіота організму, що може призвести до формування локального інфекційного процесу, який може перейти в генералізовану форму з виникненням додаткових вогнищ ендо- та екзогенної інфекції та суперінфекції різної локалізації [Weiss et al., 2017].

Становлення та розвиток шлунково-кишкової екосистеми починається з моменту народження і змінюється з віком. У перші години і дні кишечник немовляти заселяється мікрококами, стафілококами, ентерококами, клостридіями. Потім з'являються кишкова паличка, лакто- та біфідобактерії. Пізніше біфідобактерії стають домінуючою біотою, в кишечнику присутні бактероїди, стрептококи, спірили, еубактерії [Тоґо et al., 2014].

Формування мікробіоценозу кишечника немовлят залежить від багатьох факторів, зокрема у становленні повноцінного мікробіоценозу унікальна роль належить грудному молоку. При ранньому переведенні дитини на вигодовування сумішам процес становлення мікробіоценозу кишечника порушується. Відомо, що мікробіота кишечника штучно вигодовуваних дітей характеризується підвищеним вмістом бактероїдів, ентеробактерій, а також представників умовно-патогенної біоти при одночасному зниженні кількості біфідобактерій [Бережний та ін., 2016; Backhed et al., 2015].

Сучасні підходи до корекції та підтримання нормального складу кишкової мікробіоти немовлят є дуже актуальними і полягають у виявленні основного захворювання, що лежить в основі порушень кишкової мікробіоти, та проведенні етіологічної та патогенетичної корекції з метою нормалізації процесів травлення, всмоктування та моторики травного тракту. З врахування надмірного захоплення антибіотикотерапією і збільшенням на цьому тлі кількості антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів альтернативою при корекції дисбіотичних станів, окрім пробіотиків, можуть бути бактеріофаги [Харченко та ін., 2008; Деркач та ін., 2022; Bertelsen et al., 2016].

Метою роботи було вивчити мікробіоту та визначити частоту виникнення дисбіозів кишечника у немовлят віком до року при різних типах вигодовування з дослідженням активності пробіотиків, антибіотиків і бактеріофагів щодо виділених мікроорганізмів.

В завдання дослідження входило:

1. Виявити частоту дисбіотичних порушень кишечника у немовлят віком до року при різних типах вигодовування.

2. Визначити кількісні показники і частоту виділення умовно-патогенних мікроорганізмів у немовлят при дисбіозі кишечника

3. Дослідити пробіотичні властивості штамів бактерій *Bifidobacterium bifidum* № 1, *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 і *Bacillus subtilis* УКМВ-5020, що входять до складу відповідних препаратів Біфідумбактерин, БіоГая і Субалін.

4. Визначити чутливість до антибіотиків виділених у немовлят штамів умовно-патогенних мікроорганізмів.

5. Визначити чутливість виділених штамів умовно-патогенних бактерій до препаратів бактеріофагів.

Об'єкт дослідження – порушення складу мікробіоти кишечника при дисбіозі.

Предмет дослідження – дисбіотичні порушення у немовлят при різних типах вигодовування.

1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Формування мікробіоценозу кишечника у дітей, які перебувають на природному та штучному вигодовуванні

Травний тракт людини є відкритою системою, за допомогою якої здійснюється контакт макроорганізму із зовнішнім середовищем та присутніми в ній мікробами. Основне значення у формуванні колонізаційної резистентності організму господаря по відношенню до патогенних мікроорганізмів належить нормальній мікробіоті кишечника [Харченко та ін., 2008]. Стан мікробіоценозу кишечника дуже впливає на життєдіяльність зростаючого дитячого організму, особливо в період транзиторної імунологічної та ферментативної незрілості у дітей раннього віку. Відомо, що представники нормальної кишкової мікробіоти відрізняються високою афінністю до рецепторів ентероцитів, що визначає їх адгезивні властивості та, відповідно, сприяє зменшенню негативного впливу на кишкову стінку патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів. Водночас нормальна аутобіота, створюючи антигенне «подразнення» на рівні слизової оболонки кишечника, потенціює запуск механізмів загального та локального імунітету [Marchesi et al., 2016; Belizário et al., 2018; Hrnčir, 2022].

У процесі життєдіяльності нормальної кишкової біоти нею продукуються органічні кислоти (молочна, оцтова, мурашина, пропіонова, масляна), які сприяють підкисленню хімусу, перешкоджаючи розмноженню патогенних та умовно-патогенних бактерій у кишечнику [Рудіченко та ін., 2014].

Крім цього, різні антибіотикоподібні речовини (бактеріоцини), що синтезуються кишковою аутобіотою безпосередньо бактерицидно або бактеріостатично діють на хвороботворні мікроорганізми. Перешкоджаючи проліферації патогенних, гнильних та газоутворюючих бактерій, нормальна аутобіота кишечника тим самим знижує синтез аміаку, амінів, фенолу, двоокису сірки, крезолу та інших токсичних продуктів життєдіяльності мікроорганізмів [Buttó et al., 2016].

Нормальна кишкова аутобіота бере активну участь у процесах перетравлення та всмоктування харчових речовин. Нерозщеплені повністю в тонкій кишці білки, жири, вуглеводи під впливом нормальної мікробіоти товстої кишки зазнають ферментативного гідролізу. Продукти, що утворюються при цьому, всмоктуються кишковою стінкою і є повноцінним пластичним і енергетичним матеріалом для метаболічних процесів організму [Evans et al., 2013; Thursby et al., 2017; Gagliardi et al., 2018].

У новонароджених та дітей грудного віку нормальна аутобіота кишечника полегшує гідроліз казеїну, синтезуючи фосфопротеїнофосфатазу, а також сприяє утилізації молочного цукру, розщеплюючи його галактозидазою. Кінцеві продукти розпаду білків і амінокислот, що утворюються при цьому, – індол, скатол, фенол – активізують кишкову перистальтику і стимулюють нормальне просування по кишечнику калових мас [Бережний та ін., 2016; Vuccigrossi et al., 2013].

Нормальна кишкова аутобіота бере участь у жировому та пігментному обміні. Під дією мікробіоти товстої кишки прямий білірубін (диглюкуронід білірубину) трансформується в уробіліноген. При кількісних або якісних змінах мікробного пейзажу кишечника виділений з жовчю прямий білірубін зазнає ферментативного впливу глюкуронідази кишкової стінки з утворенням некон'югованого токсичного (непрямого) білірубину. Останній, всмоктуючись в кишечнику, надходить у кровотік і може збільшувати інтоксикацію при жовтяниці, особливо у новонароджених при ще функціонуючому венозному (аранцієвому) протоці. Природна аутобіота кишечника бере активну участь в обміні холіну, жовчних і жирних кислот з утворенням дезоксихолевої кислоти, копростерину та інших продуктів метаболізму. Продукти бактеріальної ферментації, що при цьому утворюються, сприяють нормалізації калоутворення та евакуації кишкового вмісту. Відзначено сприятливий вплив кишкової мікробіоти на процеси всмоктування та обміну речовин, утилізацію кальцію, заліза, вітаміну D [DeGruttola et al., 2016; Vancamelbeke et al., 2017].

Становлення та розвиток шлунково-кишкової екосистеми починається з народження і змінюється з віком.

Виділяють 3 фази заселення травного тракту у новонародженого:

- 1-а - асептична, тривалістю 10-20 год;
- 2-я - заселення мікроорганізмами, тривалістю 2 – 4 доби;
- 3-я – стабілізація мікробіоти з подальшим переважанням біфідобактерій [Патратій та ін., 2016].

Спочатку у кишечнику новонародженого виявляються представники родів *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Clostridium*, пізніше – *Escherichia coli*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* з поступовим домінуванням біфідобактерій [Tojo et al., 2014; Backhed et al., 2015].

На формування мікробіоценозу новонароджених впливає багато факторів, серед яких особливості перебігу вагітності і родового процесу. Зокрема при кесаревім розтині порушується природний процес колонізації кишечника немовляти мікробіотою родових шляхів матері, і у складі мікробіоти можуть з'явитися умовно-патогенні представники та госпітальні штами мікроорганізмів [Фролова та ін., 2019]. Надалі формування мікробіоти кишечника визначається характером вигодовування, станом здоров'я дитини, умовами довкілля [Martin et al., 2016].

Важлива роль грудного молока у формуванні повноцінного мікробіоценозу шлунково-кишкового тракту (ШКТ). Молочний цукор жіночого молока, представлений у вигляді лактози, прискорює просування хімусу по травному тракту, завдяки чому значна частина лактози встигає дійти до товстої кишки, не зазнаючи гідролізу галактозидазою ентероцитів. Завдяки цьому створюються оптимальні умови для життєдіяльності нормальної мікробіоти, оскільки лактоза є чудовим живильним середовищем для біфідо-і лактобактерій, а також кишкової палички. При гідролізі лактози нормальною кишковою біотою утворюються молочна, оцтова та мурашина кислоти, які, у свою чергу, пригнічують розвиток патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів. Пребіотичні властивості грудного молока реалізуються

також завдяки наявності у його складі олігосахаридів (так званий біфідус-фактор), які також здатні стимулювати ріст нормальної мікробіоти кишечника [Nuriel-Ohayon et al., 2016; Zhang et al., 2019].

Ці сполуки є вуглеводами, що включають від 3 до 10 залишків моносахаридів, які не піддаються розщепленню ферментами травного тракту, не всмоктуються в тонкій кишці та у незміненому вигляді досягають просвіту товстої кишки, де ферментуються представниками інтестинальної мікробіоти. Після лактози олігосахариди становлять найбільшу вуглеводну фракцію жіночого молока. Їх вміст сягає 1 г/100 мл. Довгий час вважалося, що олігосахариди грудного молока не несуть будь-якої біологічної функції. В даний час чітко встановлено, що олігосахариди відіграють роль пребіотиків, вибірково стимулюючи ріст певних штамів кишкової мікробіоти [Рудіченко та ін., 2014; Ротар та ін., 2017], імуномодулююче діють на організм немовляти [Belizário et al., 2018]. Крім того, за рахунок подібності хімічної структури окремих представників олігосахаридів з рецепторами клітинної стінки вони мають здатність зв'язувати патогенні мікроорганізми та їх токсини в кишечнику, попереджаючи таким чином розвиток у дітей діареї [Ротар та ін., 2017]. Слід зазначити, що біфідогенні властивості грудного молока не можна пояснити лише наявністю в ньому олігосахаридів. Грудне молоко слід розглядати, мабуть, як синбіотик, оскільки воно має характеристики як пробіотика, так і пребіотика. Встановлено, що грудне молоко, принаймні у ранні терміни лактації, є джерелом біфідобактерій для дитини, причому це не біота шкіри грудної залози, а бактерії, що містяться в грудному молоці [Evans et al., 2013]. Встановлено, що вміст біфідобактерій у жіночому молоці становить у середньому $1,4 \times 10^3$ бактерій на 1 мл, при цьому існує достовірна кореляція між кількістю біфідобактерій у молоці матері та калі немовлят. Основними виділеними штамми біфідобактерій були *Bifidobacterium longum* (77%), *B. animalis* (58%), *B. bifidum* (26%), *B. catenulatum* (15%), *B. adolescents* (7%), *B. breve* (7%) [Tojo et al., 2014; Zhang et al., 2019].

Слід зазначити, що грудне молоко характеризується високим вмістом секреторного імуноглобуліну класу А (IgA), який компенсує транзиторний фізіологічний дефіцит системи секреторних імуноглобулінів новонародженої дитини та захищає слизову оболонку ШКТ від збудників кишкових інфекцій [Бережний та ін., 2016; Скляр та ін., 2018]. Такі «захисні» компоненти, як лізоцим, лактоферин, пропердини, пероксидаза, материнські макрофаги та лімфоцити, що надходять з молоком матері в травну систему дитини, виконують протективну роль і опосередковано сприяють формуванню нормального мікробіоценозу ШКТ дитини [Скляр та ін., 2018; Фролова та ін., 2019; Di Vincenzo et al., 2023].

Загалом, кишкова мікробіота дитини першого року життя, що знаходиться на природному вигодовуванні, характеризується високим вмістом біфідобактерій і лактобактерій ($10^7 - 10^8$ мікробних клітин у 1 г кишкового вмісту), коливаннями загальної кількості кишкової палички ($10^7 - 10^8$ мікробних клітин), широкими коливаннями процентного вмісту аеробів, повноцінних кишкових паличок (50% – 85%), лактозонегативних, гемолітичних кишкових паличок (4 – 25%), ентерококів ($10^7 - 10^9$). У незначної частини практично здорових дітей старше 3-х місяців (5 – 15%) у вмісті кишечника виявляються мікроби роду *Proteus* ($<10^3$), інші умовно-патогенні ентеробактерії ($<10^7$), сапрофітні і епідермальні стафілококи ($10^4 - 10^6$), дріжджоподібні гриби (10^4) [Незгода та ін., 2011; Скляр та ін., 2018; Vokulich et al., 2016].

При ранньому переведенні дитини на вигодовування сумішами процес становлення мікробіоценозу кишечника порушується [Backhed et al., 2015; Martin et al., 2016]. Відомо, що мікробіота кишечника дітей на штучному вигодовуванні характеризується підвищеним вмістом бактероїдів, ентеробактерій, а також представників умовно-патогенної біоти при одночасному зниженні кількості біфідобактерій. Частота виділення умовно-патогенних бактерій, грибів, клостридій коливається в широких межах [Nuriel-Ohayon et al., 2016].

1.2. Причини, прояви та наслідки дисбіозу кишечника

Травний тракт є однією з найбільш складних екосистем, що включає в себе кілька різних за біологічними характеристиками місць мешкання мікроорганізмів (біотопів). Склад нормальної мікробіоти кожного біотопу (порожнина рота, стравохід, шлунок, дванадцятипала, тонка та товста кишки) різний і специфічний. Крім того, мікробіота ШКТ знаходиться в постійній динамічній рівновазі з різноманітними факторами зовнішнього середовища, власного організму та природної резистентності. Ця рівновага обумовлена дуже тонко збалансованою взаємодією між клітинами травної системи, мікробною біотою та імунною системою [Мішина та ін., 2021; Fan et al., 2021].

У дітей ці взаємодії мають лабільний характер і залежать від: анатомо-фізіологічних особливостей ШКТ; віку, характеру харчування та способу життя дитини [Скляр та ін., 2018]. Якісна та/або кількісна зміна складу мікробіоти травного тракту у дітей у різні періоди дитинства мають свої особливості. У зв'язку з цим мікроекологічні порушення кишечника у дітей досить часто супроводжують фізіологічні процеси, зумовлені становленням імунної, ендокринної, нервової та інших систем дитячого організму і не вимагають медикаментозної корекції [Belizário et al., 2018]. Однак тривалі порушення мікроекології кишечника, які відбуваються під дією різних факторів, можуть супроводжуватися збільшенням факультативної мікробної біоти, призводити до порушень гомеостазу, і в ряді випадків клінічно маніфестують у вигляді різних симптомів [Backhed et al., 2015].

Якщо ці фактори, які безпосередньо чи опосередковано впливають на фіксацію, виживання та функціонування нормобіоти кишечника, перевищують механізми захисту організму, вони провокують розвиток дисбіозу кишечника [Evans et al., 2013; Schipra et al., 2014].

Найбільш виражений негативний вплив на нормальну мікробіоту кишечника має лікарська терапія, особливо нераціональна. Найбільше впливають на мікроекологічний баланс антибактеріальні засоби, цитостатики, гормони. Мікробіологічні порушення виникають при призначенні

обволікаючих, адсорбуючих, проносних, відхаркувальних, жовчогінних препаратів. Ці лікарські засоби при призначенні внутрішньо змінюють моторику ШКТ, порушують утворення слизу, сприяють розвитку дисбалансу у нормальній мікробіоті [Андрикевич, 2007; Marchesi et al., 2016].

У новонароджених та немовлят порушення кишкового мікробіоценозу може бути обумовлене такими факторами, як обтяжений перебіг вагітності, пологів, порушення вигодовування дитини, при наявності в анамнезі алергійних реакцій, що одержують антибактеріальну терапію. Ці діти складають групу ризику для розвитку дисбіозу кишечника [Фролова та ін., 2019].

До порушення мікробіоти кишечника призводить і нераціональне харчування: дефіцит харчових волокон; споживання їжі, що містить антибактеріальні компоненти, консерванти, барвники та інші ксенобіотики; незбалансоване за складом нутрієнтів та мінорних компонентів харчування; різка зміна раціону чи режиму харчування [DeGruttola et al., 2016; Fan et al., 2021].

Таким чином, нормальна мікробіота є мішенню негативного впливу різних за своєю природою факторів, під впливом яких виникає порушення мікробного пейзажу кишечника. Всі ці фактори є причиною постійного збільшення поширеності мікроекологічного дисбалансу травного тракту.

Термін „дисбактеріоз" вперше був запропонований у 1916 році А. Мзіе, маючи на увазі кількісні зміни у складі мікробіоти кишечника, перш за все пов'язані із зміною кількості *Escherichia. coli*, а також появою штамів цього виду зі зміненими біологічними властивостями [Патратій та ін., 2016].

Дисбактеріоз – якісні та/або кількісні зміни нормальної бактеріальної мікробіоти кишечника та транслокація її представників у невластиві біотопи. Дисбіоз – загальне поняття, що стосується змін як бактеріальної біоти, так й інших мешканців організму людини (грибів, вірусів та ін.).

Зважаючи на досягнення сучасної науки, про дисбіоз можна сказати, що це порушення мікробіоценозу людського організму, що виражається в зміні

конкурентного відношення мікроорганізмів, популяційних змін чисельності та складу мікробних видів, зміни їх метаболічної активності [Патратій та ін., 2016; Belizário et al., 2018].

Дисбіоз кишечника не є самостійним захворюванням, це вторинний синдром, який розвивається внаслідок порушення:

- загального та місцевого імунологічного захисту;
- ферментативної активності травної системи;
- кишкової моторики;
- цілісності слизової оболонки ШКТ [Carding et al., 2015; Di Vincenzo et al., 2023].

У всіх випадках розвитку дисбіозу, насамперед, необхідно встановити основну причину захворювання. Але слід пам'ятати, що дисбіотичні зміни кишечника стають самостійним чинником агресії. Їх розвиток призводить до збою в функціонуванні всього організму – відбувається ослаблення захисних сил, підвищується сприйнятливість до інфекційних захворювань та ризик виникнення алергічних реакцій (діатез, харчова алергія), порушуються процеси травлення та засвоєння всіх харчових продуктів [Lee et al., 2018; Hrnčir, 2022]. Дисбіоз кишечника обумовлює погіршення клінічного перебігу захворювань – прогресивно наростає вираженість клінічних симптомів, подовжуються терміни їхнього існування, погіршуються показники результатів лікування та якість життя пацієнтів, перебіг хвороби часто стає рецидивуючим. Крім того, дисбіоз сприяє виникненню та поширенню антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів, може бути причиною зміни біотрансформації та зниження ефективності нутрієнтів і лікарських засобів, що ускладнює лікування хворих [Vidlock et al., 2012].

Найбільш частими мікробіологічними ознаками дисбіозу кишечника є:

- зміна співвідношень між аеробною та анаеробною мікробіотою;
- зниження вмісту біфідобактерій, лактобактерій та бактероїдів;
- зміна співвідношень мікроорганізмів у групах облігатних та факультативних представників нормальної мікробіоти;

- збільшення загальної кількості кишкової палички зі зміненими біологічними властивостями (зі зниженою ферментативною активністю, лактозонегативних, нерухомими, безіндольних та ін.); поява гемолізуючих ешерихій та стафілококів, відсутніх у нормі;

- експансія мікробіоти за межі звичної зони проживання, що виражається в синдромі надмірної колонізації тонкої кишки [Evans et al., 2013; Schipra et al., 2014].

Спочатку, як правило, відзначається зменшення загальної кількості кишкових паличок (10^7 КУО/г фекалій) у поєднанні зі зниженням ($< 70\%$) вмісту повноцінних її форм і появою неповноцінних ешерихій (лактозонегативних, слабо ферментуючих чи гемолітичних штамів) при одночасному зниженні вмісту ентерококів (менш 25%) і виділенні штамів умовно-патогенних бактерій (понад 10^2 КУО/г) при нормальному вмісті молочнокислих бактерій і біфідобактерій. Зазначені зрушення кишкової мікробіоти варто розглядати як незначні порушення біоценозу кишечнику [Marchesi et al., 2016].

Помірні порушення біоценозу кишечника характеризуються подальшими змінами кількості і якості аеробної біоти: знижується процентний вміст повноцінних кишкових паличок ($< 50\%$), з'являються асоціації умовно-патогенних бактерій (протей + клебсієла, протей + стафілокок, клебсієла + протей + стафілокок, клебсієла + синьогнійна паличка й ін.), зменшується до 10^7 КУО/г вміст біфідобактерій; тобто у процес залучається анаеробна біота, що складає до 95% усієї бактеріальної біоти кишечника [Belizário et al., 2018; Gagliardi et al., 2018].

При різко виражених порушеннях біоценозу кишечника відзначаються значні коливання процентного вмісту неповноцінних кишкових паличок (від 5 до 100%), різке зниження вмісту ентерококів. Більш ніж у половини дітей виявляються різні штами умовно-патогенних бактерій (ізолюються в монокультурах чи в асоціаціях). На тлі низького вмісту біфідобактерій (аж до повного зникнення) при одночасному розширенні ареалу мешкання

сапрофітних і умовно-патогенних мікроорганізмів зростає частота виявлення ешерихій, клебсієл інших ентеробактерій на шкірі, у сечі та ін. [Vancamelbeke et al., 2017].

Мікроекологічні розлади, пов'язані з пригніченням нормальної мікробіоти та зниженням її антагоністичних властивостей, призводять до надмірного збільшення кількості умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів, які у сприятливих для себе умовах реалізують адгезивні, цитотоксичні, ентеротоксичні властивості та здатність підвищувати лікарську стійкість [Weiss et al., 2017].

Виявлене ще А. Nissle зниження антагоністичних функцій кишкових паличок, а також, що ще більш важливо, лактобактерій і біфідобактерій призводить до зниження антимікробного захисту слизової оболонки кишечника. Різке зниження коліцинів, молочної кислоти й антибіотичних речовин (лактоліну, лактоцидіну, лізоциму, ацидофіліну), які продукуються *E. coli*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* призводить до активізації патогенної й умовно-патогенної біоти кишечника [Carding et al., 20215]. Клебсієла, протей, синьогнійна паличка, ешерихії, стрептококи, стафілококи, сальмонели, деякі L-форми бактерій, викликають запальні і деструктивні зміни слизової оболонки кишечника, що у свою чергу призводить до порушень ферментативної активності і моторики ШКТ [Казмирчук та ін., 2017; Fan et al., 2021].

Зниження активності біфідобіоти призводить до зменшення абсорбції в кишечнику солей заліза, кальцію і вітаміну Д, що особливо негативно впливає на розвиток дитини раннього віку. При цьому також порушується синтез амінокислот, білків, вітаміну Д, тіаміну, рибофлавіну й інших вітамінів групи В, фолієвої, ніотинової, пантотенової кистот [Тоjo et al., 2014].

У патогенезі дисбактеріозу кишечника важливу роль відіграє також порушення імуногенної функції кишкової мікробіоти. Тривале зниження вмісту в кишечнику ешерихій, лактобактерій і біфідобактерій призводить до послаблення антигенної стимуляції лімфоїдного апарату кишечника, а отже, до зниження синтезу імуноглобулінів, пропердину, комплементу, лізоциму,

підвищенню проникності судинних тканинних бар'єрів для токсичних продуктів патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів [Незгода та ін., 2011; Belizário et al., 2018].

Продукти метаболізму умовно-патогенної мікробіоти (індол, скатол, сірководень та ін.) та токсини знижують детоксикаційну функцію печінки, пригнічують регенерацію слизової оболонки, сприяють утворенню пухлин, пригнічують перистальтику та зумовлюють розвиток диспепсичного синдрому. Вплив бактеріальних токсинів призводить до збільшення проникності слизового бар'єру та пошкодження епітелію слизової оболонки кишечника. Макромолекули нерозщеплених білків і цукрів, що проникли через пошкоджені мембрани ентероцитів, є причиною алергічних реакцій і харчової непереносимості [Vancamelbeke et al., 2017; Weiss et al., 2017].

Надмірне розмноження патогенної мікробіоти створює так званий банк генів, що беруть участь у формуванні особливо вірулентних штамів мікроорганізмів, що характеризуються стійкістю до антибактеріальних препаратів [Деркач та ін., 2020].

Клінічні прояви дисбіозу включають місцеві (кишкові) симптоми і синдроми, а також системні порушення, зумовлені транслокацією кишкової мікробіоти та її токсинів у внутрішнє середовище макроорганізму, порушенням процесів всмоктування, імунологічними порушеннями та ін. [Патратій та ін., 2016; Tremaroli et al., 2016; Marchesi et al., 2016].

Порушенням складу та функцій мікробіоти людини можуть бути зумовлені етіологія та патогенез цілого ряду різних клінічних синдромів та станів, серед яких діареї, закрепи, коліти, синдром подразненої кишки, гастрити, дуоденіти, виразкова хвороба шлунку та ін. У дітей раннього віку клінічні симптоми бувають досить вираженими і проявляються у зниженому апетиті, відставанні в наростанні маси тіла, блювоті, субфебрильному підвищенні температури тіла, ознаках загальної астенії, алергійних симптомах, як реакції на антибіотики й інші лікарські засоби та ін. [Lee et al., 2012; Di Vincenzo et al., 2023].

1.3. Принципи корекції кишкового дисбіозу

Багатофакторність етіопатогенезу дисбактеріозу кишечника вимагає дуже обережного підходу до терапії з врахуванням провідної причини дисбактеріозу кишечника [Бережний та ін., 2016; Carding et al., 2015].

При лікуванні дитини, особливо у віці до 1-го року, варто також обстежувати і лікувати його матір. Дослідження кишкової мікробіоти матері необхідно тому, що наявність у її кишечника таких мікроорганізмів, як стафілокок, умовно-патогенні ентеробактерії, синьогнійна паличка та інші сприяє контамінації цими мікроорганізмами кишечника дитини. У цих випадках рекомендується одночасне застосування біологічних бактерійних препаратів як у дитини, так і в матері [Скляр та ін., 2018].

Без сумніву, ефективна корекція дисбіотичних порушень можлива лише за комплексного підходу: усунення причин їх виникнення (необхідно мінімізувати, а по можливості – нейтралізувати фактори, що призвели до змін кишкового мікробіоценозу); проведенні адекватного лікування основного захворювання, що виникли секреторних (шлункова, панкреатична та тонкокишкова секреції, жовчовиділення) та моторно-евакуаторних розладів органів травлення, а також власне корекції порушень якісного та кількісного складу мікробіоти кишечника. Так як при кишковому дисбіозі страждає імунна система, необхідно досягти мобілізації захисних сил організму з метою пригнічення розвитку патогенної мікробіоти [Buttó et al., 2016; Marchesi et al., 2016].

Одним з основних моментів у лікуванні дисбактеріозу кишечника є дієтотерапія. Проведення раціонального вигодовування, що не тільки забезпечує організм дитини енергетичними і пластичними речовинами, але також регулює моторику кишечника, стабілізує рН його різних відділів, що дуже важливо для становлення нормальної кишкової мікробіоти. У дітей першого року життя особливо важливо зберегти грудне вигодовування, оскільки в молоці матері містяться не тільки фактори росту кишкової мікробіоти (біфідогенний фактор, лізоцим, лактопероксидаза), але також

речовини систем природної резистентності й імунного захисту макроорганізму (комплемент, лізоцим, лактоферрин, інтерферон, імуноглобуліни А, М, G, Е, D, макрофаги, Т-лімфоцити, В-лімфоцити) [Бережний та ін., 2016; Parkin et al., 2021].

Власне корекція дисбіозу складається із двох етапів.

I етап – мікробна елімінація (селективна деконтамінація), спрямована на знищення патогенної та умовно-патогенної мікробіоти, захист організму господаря від зараження екзогенними бактеріями, проводиться з використанням:

- ентеросорбентів;
- бактеріофагів з вузькою спрямованістю дії щодо видів мікробів, які висіваються при обстеженнях в лабораторних умовах;
- протиінфекційних засобів з переважно місцевою дією (нітрофурані, похідні 8- оксихіноліну та ін);
- пробіотиків конкурентної дії [Воронкова та ін., 2012; Деркач та ін., 2020].

Застосування тих чи інших лікарських препаратів залежить від основної причини дисбактеріозу. Терапія повинна бути спрямована на усунення причини, що викликала розвиток дисбіозу, на нормалізацію моторно-рухової функції кишечника, на поліпшення процесів травлення й всмоктування, на корекцію імунної реактивності [Макаренко та ін., 2016].

II етап – нормалізація мікробіоти. Відновлення кишкового еубіозу можна представити у виді трьох послідовних етапів:

- 1) створення кислого середовища в кишечнику і придушення патогенної й умовно-патогенної мікробіоти;
- 2) застосування живих бактерійних препаратів з урахуванням віку і стану біоценозу;
- 3) закріплення отриманого ефекту, підвищення неспецифічних захисних сил організму, що сприяють формуванню нормальної мікробіоти [Vijaya Kumar et al., 2015].

На цьому етапі використовують:

- пребіотики;
- пробіотики [Рудіченко та ін., 2014].

На сьогоднішній день з врахуванням віку дітей (немовлята), у яких діагностують дисбіоз кишечника, все більше спеціалістів на першому етапі корекції дисбіотичних станів перевагу віддають використанню бактеріофагів [Жмінко та ін., 2015].

Бактеріофаги є вірусами бактерій, які проявляють селективний (бажано не лише видоспецифічний, а й штамоспецифічний) бактерицидний ефект до відповідної умовно-патогенної мікробіоти. Підбір необхідного препарату проводять строго індивідуально, тому що головною умовою його успішного застосування є використання тільки тих серій, що лізують виділені від даного хворого штами мікроорганізмів, у протилежному випадку велика ймовірність сенсibiliзації і розвитку у подальшому алергічних реакцій. Бактеріофаги не пригнічують природну мікробіоту людини, не викликають побічних реакцій і ускладнень, можуть поєднуватися з антибіотиками й іншими препаратами [Воронкова та ін., 2012]. При виділенні від хворого фагорезистентних штамів бактеріофаги застосовувати нераціонально [Деркач та ін., 2020].

Використовують бактеріофаги:

- моновалентні (наприклад, стафілококовий, клебсієльозний, протейний);
- дивалентні (коліпротейний);
- полівалентні (піобактеріофаг - суміш фаголізатів кишкової палички, клебсієл, синьогнійної палички, стафілококів, стрептококів, протей; комбінований бактеріофаг - фаголізати стафілококів, стрептококів, кишкової палички, протей, синьогнійної палички).

При відсутності ефекту відразу після терапії бактеріофагами чи у важких випадках застосовують антибіотики (бактеріофаги збільшують ефект антибіотиків). Лікування повинне бути короткочасним – 7–10 днів з урахуванням виду мікроорганізмів, що висіваються з кишечника, і їх

чутливості до антибактеріальних засобів. Препарати звичайно призначають у середніх терапевтичних дозах [Жмінько та ін., 2015].

На другому етапі відновлення кишкового еубіозу полягає у використанні пребіотиків чи пробіотиків [Bertelsen et al., 2016].

Пребіотики – це препарати, що не містять живих мікроорганізмів, проявляють позитивний ефект на організм людини через стимуляцію росту або посилення метаболічної активності нормальної мікробіоти кишечника. До пребіотиків висуваються такі вимоги: • не повинні піддаватися гідролізу травними ферментами ШКТ; • не повинні всмоктуватися у тонкій кишці; • повинні бути селективним субстратом для росту або метаболічної активації одного виду чи певної групи видів мікроорганізмів, резидентних для товстої кишки; • повинні бути безпечними при тривалому застосуванні. Подібні характеристики мають різні речовини: • моносахариди та спирти (ксиліт, сорбіт, рафінозу та ін.); • полісахариди (пектини, декстрин, інулін); • олігосахариди (лактоулоза, фруктозолігосахариди, галактоолігосахариди та ін.). Як пребіотик може використовуватися Хілак-форте (містить продукти обміну нормальної мікробіоти), кальцію пантотенат, параамінобензойна кислота, лізоцим [Рудіченко та ін., 2014].

Ключове положення в корекції порушень мікробіому кишечника в даний час займають пробіотики – препарати, що містять живі мікроорганізми, які при природному способі введення в адекватних кількостях позитивно впливають на фізіологічні функції, біохімічні та поведінкові реакції організму через оптимізацію його мікроекологічного статусу [McFarland, 2014].

Існують принципові вимоги, що висуваються до штамів бактерій, на основі яких створюються пробіотики. Вони повинні: • бути виділені від здорових людей та ідентифіковані до виду за фено- та генотиповими ознаками; • мати генетичний паспорт; • бути здатними до колонізації кишечника; • мати широкий спектр антагоністичної активності щодо патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів; • мати високу життєздатність і біологічну активність; • проявляти стійкість до фізико-хімічних факторів (кислотність,

осмотичний шок, температура, дія жовчних кислот тощо); • бути антибіотикостійкими; • бути безпечними для людей, включаючи імунологічну безпеку; • виробничі штами мають бути стабільними за біологічною активністю та задовольняти технологічні вимоги. Пробиотики не повинні: • пригнічувати нормальний мікробіоценоз; • бути патогенними [Лясковський та ін., 2005].

Тільки клінічно ефективні штами мікроорганізмів можуть бути використані для виробництва пробіотиків [Liévin-Le Moal et al., 2014].

Прикладом пробіотика, що відповідає перерахованим вимогам, є Лінекс, висока пробіотична ефективність якого підтверджена тривалим досвідом клінічного застосування як у нашій країні, так і за кордоном. Лінекс містить виділені у здорових людей живі ліофілізовані бактерії *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium infantis* var. *liberorum*, нетоксигенний молочнокислий *Enterococcus faecium*.

Класифікації пробіотиків ґрунтуються на кількості мікроорганізмів, що входять до препарату, їх родової приналежності або наявності додаткових компонентів у складі препарату. Виділяють такі групи (покоління) пробіотиків [Лях та ін., 2018]:

Група 1 – монокомпонентні: біфідумбактерин, лактобактерин, колибактерін, біовестін та ін., до їх складу входить один конкретний штам мікроорганізму – представника облігатної мікробіоти кишечника.

Група 2 – препарати конкурентної дії (так звані самоелімінуючі антагоністи), витісняють умовно-патогенні та патогенні мікроби та надалі не колонізують кишечник. До них відносять нетипових мешканців кишечника: *Bacillus subtilis* (Бактисубтіл, Біоспорин, Споробактерін, Флонівін БС та ін.), *Saccharomyces boulardi* (Ентерол).

Група 3 – полікомпонентні препарати (симбіотики). Вони складаються з декількох штамів бактерій (Ацилакт, Біфацид, Вітафлор та ін.) або з декількох видів бактерій (Лінекс, Полібактерін, Біфідін, Біфікол та ін.), що перебувають у симбіотичних відносинах, тобто підсилюють дію один одного.

Група 4 – комбіновані препарати (синбіотики), до складу яких поряд з облігатними бактеріями входять додаткові речовини з пребіотичною дією (Біфіліз, Кіпацид, Аципол, Нутролін В та ін.).

Група 5 – полікомпонентні комбіновані препарати. До їх складу входять симбіонтна облігатна біота та речовини з пребіотичною дією (Біфіформ, БІОН 3, Ламінолакт та ін.).

Пробіотики, до складу яких входять симбіонтні штами бактерій, аероби та анаероби, як правило, проявляють більш багатоплановий і потужний ефект, ніж монокомпонентні препарати. Різні відділи ШКТ мають мікробіологічні особливості. Однокомпонентні препарати не завжди можуть викликати повноцінний лікувальний ефект, оскільки працюють тільки в певних ділянках кишечника. Тільки полікомпонентні та комбіновані пробіотики можуть ефективно здійснювати корекцію змін мікробіоти по всій довжині кишечника.

Позитивна дія пробіотиків визначається, насамперед, активністю власної мікробіоти, що підтримується мікроорганізмами, які вводяться ззовні. З іншого боку, і самі пробіотичні мікроби впливають як на кишечник, так і на метаболічні процеси в організмі загалом, причому цей вплив багато в чому подібний до дії нормальної мікробіоти [McFarland, 2014].

Частіше лікування проводиться після закінчення курсу антибактеріальної терапії, а деякі автори рекомендують призначати біопрепарати чи паралельно на 3 – 5-й день лікування антибіотиками [Vidlock et al., 2012].

«Підсів» корисної мікробіоти здійснюють індивідуально, щоб уникнути сенсibilізації організму, тому що лабораторні штами бактерій, особливо при завищених дозах, часто є потенційними алергенами. Для закріплення ефекту, отриманого на попередніх етапах, лікування біопрепаратами продовжують у підтримуючій дозі, що складає половину від лікувальної дози, під контролем посіву калу, копрограми, імунограми [Бережний та ін., 2019].

Враховуючи відмінності у складі препаратів-пробіотиків та суворі вимоги, які висуваються сьогодні до них, можна рекомендувати до

застосування у дітей лише ті препарати, які відповідають цим вимогам і довели свою клінічну ефективність та безпечність у рандомізованих дослідженнях.

Дія пробіотиків не зводиться до простого заселення кишечника. Їх вплив більш складний і багатоплановий:

- пряма антагоністична дія щодо патогенної та умовно-патогенної мікробіоти;
- конкуренція за рецептори для адгезії;
- конкуренція за поживні речовини та фактори росту;
- стимуляція імунної відповіді [Gagliardi et al., 2019].

При внутрішньому прийомі пробіотики колонізують слизову оболонку відповідних відділів кишечника. Їх конкурентна дія здійснюється завдяки здатності синтезувати бактерицидні речовини (молочна кислота, перекис водню та ін.); конкуренції за поживні речовини та фактори росту; зниженню внутрішньо порожнинного рН (молочна кислота); запобіганню адгезії та інвазії в слизову оболонку патогенних мікробів [Liévin-Le Moal et al., 2014].

Здатність адгезуватися до кишкового епітелію є найважливішою властивістю пробіотиків. Адгезія до кишкового епітелію забезпечує взаємодію пробіотиків із імунною системою кишечника. Зрештою, це призводить до підвищення колонізаційної резистентності слизової оболонки, сприяє регенерації кишкового епітелію та нормалізації функцій слизової оболонки кишечника. Показано, що при захворюваннях кишечника призначення пробіотика, що містить лактобактерії, достовірно знижує кишкову проникність [Liévin-Le Moal et al., 2014; Tojo et al., 2014].

Таким чином, пробіотики відіграють важливу роль у корекції кишкового дисбіозу. Їм відводиться важлива роль у вирішенні проблем антибіотикорезистентності. Вибір конкретного засобу повинен ґрунтуватися на знанні характеру порушення мікробіоти, особливостей складу препарату, можливості його взаємодії з антибіотиками. Тривають клінічні дослідження, результати яких можуть стати основою для розширення показань для застосування пробіотиків [Лях та ін., 2018; Videlock et al., 2012].

2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Мікробіологічне дослідження на дисбактеріоз

Експериментальна частина роботи виконана у 2022 р. в клініко-діагностичній лабораторії медичного центру KinderKlinik (КіндерКлінік, м. Київ).

Усі дослідження проведені згідно Наказу МОЗ України № 438 від 26.05.2010 р. «Про затвердження протоколів діагностики та лікування захворювань органів травлення у дітей» [Наказ..., 2010].

Матеріалом дослідження були проби фекалій після природної дефекації немовлят віком від 0 до 12 місяців. Забір матеріалу проводили стерильною скляною паличкою у стерильний посуд із середньої порції калу в кількості не менш 2 г. Матеріал доставлявся в лабораторію в найкоротші терміни, не пізніше ніж через 2 год після забору проби (інтервал між забором проби і початком посіву не перевищував 4 год). З моменту взяття матеріалу і до посіву проби зберігалися в холодильнику при температурі 4 °С.

Для повного кількісного обліку результатів після ретельного емульгування проби готували десятикратні серійні розведення. З отриманих розведень робили посіви.

Посіви проводили на універсальне середовище, яке використовується у більшості випадків лабораторної діагностики дисбактеріозів, 5% кров'яний агар, на якому підраховували гемолітичні бактерії і коки для визначення їх кількісного співвідношення.

Окрім цього посіви проводили на середовища:

- Ендо, селенітовий бульйон, вісмут-сульфіт агар – для виявлення представників родини *Enterobacteriaceae*. З середовищем Ендо використовували дві чашки (друга використовується для підрахунку лактозонегативних колоній *Escherichia coli*).

- Блаурокка – для проведення кількісного обліку представників роду *Bifidobacterium*.

- МРС – для проведення кількісного обліку представників роду *Lactobacillus* і *Enterococcus*.

- Чистовича – для виділення бактерій роду *Staphylococcus*.

- Сабуро – для виділення дріжджоподібних грибів роду *Candida*.

Хід мікробіологічного дослідження

Із проби відбирали у стерильний флакон кал у кількості 0,5 (1,0) г і до нього додавали 4,5 (9,0) мл ізотонічного розчину хлориду натрію, щоб одержати розведення 10^{-1} . Шляхом послідовних розведень з основного готували серію розведень 10^{-3} , 10^{-5} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} .

З розведення 10^{-5} по 0,1 мл проводили посів на 5% кров'яний агар для виділення і кількісного обліку ентеробактерій і мікроорганізмів кокової групи гемолітичних форм.

Для виділення патогенних ентеробактерій, у тому числі кишкової палички зі зміненими ферментативними властивостями, посіви із розведення 10^{-1} проводили на середовища Ендо, вісмут-сульфіт агар (по 01 мл) і 1,0 мл у середовище збагачення (селенітовий бульйон).

З розведень 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} по 1 мл сіяли у напіврідке печінкове середовище Блаурокка для виділення і кількісного обліку біфідобактерій.

Для кількісного визначення лактобактерій по 0,1 мл з цих же розведень робили посів на поверхню щільного поживного середовища МРС.

Для виявлення стафілококів посів із 10^{-3} в об'ємі 0,1 мл проводили на поверхню щільного поживного середовища Чистовича.

По 0,1 мл з розведення 10^{-3} проводили посів на поверхню середовища Сабуро з додаванням антибіотика (левоміцетину по 0,05 мг/мл) для виявлення дріжджоподібних грибів роду *Candida*.

Посіви інкубували при 37°C 24 – 48 год. (для виділення біфідобактерій в анаеробних умовах). Посіви на середовищі Сабуро інкубували при 37°C 48 год і ще 3 доби при кімнатній температурі. Після підрахунку колоній визначали кількість мікроорганізмів у 1 г фекалій, для чого враховувати ступінь розведення досліджуваного матеріалу і величину посівної дози.

Кількісний облік всіх видів мікроорганізмів в 1 г фекалій визначали за формулою:

$M = n \times a \times \sigma$, де n – число колоній, що виростили на середовищі; a – коефіцієнт посівної дози (при посіві 0,1 мл $a = 10$); σ – ступінь розведення посівного матеріалу [Климнюк та ін., 2004; Наказ..., 2010].

Ідентифікація виділених мікроорганізмів

Ентеробактерії. При дослідженні фекалій здорових дітей на середовищі Ендо звичайно виростили червоні лактозопозитивні колонії кишкових паличок. Лактозонегативні культури вивчали щодо їхньої приналежності до патогенних ентеробактерій. Родовий склад лактозонегативних бактерій, що не відносилися до облігатно-патогенних представників родини *Enterobacteriaceae*, визначали за допомогою тестів [Климнюк та ін., 2004]. У 4 –13% випадків у здорових дітей виявляли лактозонегативні бактерії, що не відносилися до ентеропатогенних ешерихій, але не більш 10% від загальної кількості кишкових паличок. Гемолітичні штами в нормі не повинні виявлятися [Наказ..., 2010].

Біфідобактерії. Робили мікроскопічні препарати із колоній, починаючи з останньої пробірки, в якій був ріст. Пастерівською піпеткою відбирали характерні колонії в вигляді гвіздків, комет, крупинок або, в випадку рівномірного помутніння, робили відбір з дна пробірки. При дослідженні мазків, забарвлених за методом Грама, ураховували розведення, при якому виявляли грампозитивні палички, злегка зігнуті, з розгалуженням на одному або двох кінцях, розміщені в вигляді римської букви V, гантелеподібної форми [Климнюк та ін., 2004].

Лактобактерії. Робили препарати із характерних колоній (округлих молочного кольору, гладеньких блискучих, дещо опуклих), що виростили на поверхні щільного поживного середовища МРС. При мікроскопії забарвлених за методом Грама препаратів увагу звертали на наявність грампозитивних паличок різної довжини (від дуже коротких до дуже довгих), як правило, тонких, розташованих у вигляді скупчень певної форми або у ланцюжках,

рідше поодинці. Не продукують каталазу, не утворюють індол. Ріст поліпшується в мікроаерофільних умовах. Проявляють добре виражену цукролітичну активність, утворюють молочну кислоту [Климнюк та ін., 2004].

Ентерококи. Диплококи подовженої, ланцетоподібної форми, у мазках розташовуються переважно попарно або у вигляді коротких ланцюжків, нерухомі, спор і капсул не утворюють. На поверхні щільних поживних середовищ формують дрібні, круглі, опуклі колонії. Ентерококи, виділені з фекалій здорових людей, як правило, не володіють гемолітичною активністю. Для диференціації *E. faecium* ставили тест на каталазу. Тест на каталазу: на склю наносили краплю 3% -го розчину перекису водню і ретельно розтирали в ній знятий петлею матеріал з колонії. Поява пухирців газу свідчила про позитивний результат. Ентерококам не властива каталазна активність, що дає змогу диференціювати їх від стафілококів, які є каталазопозитивними [Казмирчук та ін., 2017]. У нормі кількість гемолітичних ентерококів не повинна перевищувати 5% від загальної їх кількості [Наказ..., 2010].

Стафілококи. Грампозитивні коки в мазках розташовуються скупченнями у виді виноградних грон, спор і капсул не утворюють. У виділених культур визначали здатність коагулювати плазму (на середовищі з кролячою плазмою), лецитовителлазну активність (на жовточно-сольовому агарі), гемолітичну активність (на кров'яному агарі). Плазмокоагулазну здатність визначали шляхом внесення агарової культури петлею в аглютинаційну пробірку з 0,5 мл стерильної плазми людини, розведеної 1:5. Пробірки ставили в термостат і перевіряли утворення згустку через 30 хв і через 4 год. Контролем була пробірка з плазмою без культури. Здатність до утилізації глюкози визначали в анаеробних умовах на середовищі Хью - Лейфсона. Здатність до споживання манніту визначали в аеробних і анаеробних умовах також на середовищі Хью - Лейфсона, але замість глюкози до складу середовища входив манніт. Анаеробні умови створювали, наносячи на поверхню засіяних пробірок шар стерильної вазелінової олії [Климнюк та ін., 2004; Казмирчук та ін., 2017]. Стафілококи виділяються в 2,5% здорових дітей [Наказ..., 2010].

Мікроскопічні дріжджоподібні гриби роду *Candida*. Колонії грибів роду *Candida* – опуклі, сметаноподібні, блискучі, із гладкою чи зморшкуватою поверхнею, спочатку білого, а потім кремового кольору з рівними краями і глибоким вrostанням у середовище. Мікроскопічно виявляли нитки псевдоміцелію, рідше істинного міцелію і велику кількість круглих і овальних клітин, що брунькулися [Климнюк та ін., 2004].

2.2. Визначення кількості життєздатних клітин бактерій у складі пробіотичних препаратів

Визначення кількості життєздатних клітин штамів *Bifidobacterium bifidum* № 1, *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 і *Bacillus subtilis* УКМВ-5020, які входять до складу відповідних пробіотичних препаратів Біфідумбактерин (Ензим, ДВ, Україна), БіоГая (Delta Medical Promotions AG, Швейцарія) і Субалін (Біофарма, Україна) проводили, переводячи препарати із ліофілізованої форми у суспензійну. Для цього у флакони із препаратами вносили стерильний фізіологічний розчин із розрахунку 1 мл фізрозчину на 1 г препарату. Після цього методом поступових десятикратних розведень отримували суспензії у розведеннях 10^{-1} – 10^{-9} . Посіви в об'ємі 0,1 мл проводили із розведень, в яких передбачали кількість відповідних мікроорганізмів, яку можна було б підрахувати. Для підрахунку кількості життєздатних клітин штаму *B. bifidum* № 1, що входить до складу препарату Біфідумбактерин, посів проводили на щільне поживне середовище Блаурокка *L. reuteri* DSM 17938 (у складі препарату БіоГая) – на щільне поживне середовище МРС, *B. subtilis* УКМВ-5020 (у складі препарату Субалін) – на поживне середовище МПА [Климнюк та ін., 2004]. Культивували 24 год при 37 °С в анаеробних умовах у випадку вирощування штаму *B. bifidum* № 1, мікроаерофільних умовах у випадку – штаму *L. reuteri* DSM 17938 і аеробних умовах у випадку – штаму *B. subtilis* УКМВ-5020.

Кількість колонієутворюючих одиниць в 1 мл суспензії (КУО/мл) розраховували за формулою:

$M = a \times 10^n / V$, де a – кількість колоній, що виростили; 10^n – розведення; V – посівна доза (0,1 мл).

2.3. Визначення антагоністичної активності пробіотичних штамів бактерій щодо умовно-патогенних мікроорганізмів

Визначення проводили методом лунок [Климнюк та ін., 2004]. Для цього пробіотичні штами бактерій культивували у відповідних рідких поживних середовищах: *B. bifidum* № 1 – у середовищі Блаурокка, *L. reuteri* DSM 17938 – у МРС-бульйоні і *B. subtilis* УКМВ-5020 – в МПБ протягом 24 год для накопичення у середовищах продуктів метаболізму.

Антагоністичну активність пробіотичних штамів перевіряли по відношенню до штамів мікроорганізмів, виділених у дітей з дисбіотичними розладами кишечника. У досліді було задіяно по два штами кожного роду (виду) виділених мікроорганізмів: *E. coli* зі зміненими ферментативними властивостями, *Staphylococcus sp.*, *Candida sp.* Добові культури цих штамів, вирощених в МПБ (*E. coli* і *Staphylococcus sp.*) і в рідкому середовищі Сабуро (*Candida sp.*), сіяли по 0,1 мл на поверхню щільних середовищ МПА і Сабуро, відповідно. Після цього у засіяних чашках стерильним пробійником робили лунки, в які вносили по 0,3 – 0,5 мл добових культур пробіотичних штамів бактерій. Інкубацію проводили при 37 ± 1 °C (при визначенні антагоністичної дії щодо бактерій) і 25 ± 1 °C (при дослідженні антагоністичних властивостей щодо дріжджоподібних грибів) протягом 24 год. Результати враховували шляхом виміру зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунок із бульйонними культурами пробіотичних бактерій. Експеримент проведено у трьох повторах.

2.4. Чутливість мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів

Чутливість/резистентність пробіотичних штамів бактерій і штамів мікроорганізмів, виділених у дітей з дисбіозом кишечника, до антибактеріальних препаратів визначали методом дифузії в поживні

середовища з використанням стандартних паперових дисків [Наказ..., 2007; Наказ..., 2022]. Метод дифузії оснований на здатності антибіотиків дифундувати в щільне поживне середовище. Даний метод показує так званий терапевтичний рівень стійкості мікроорганізмів до антибіотиків і використовується для оцінки чутливості збудника захворювання до антибактеріальних препаратів.

При проведенні дослідження 0,1 мл 24-х годинної бульйонної культури мікроорганізмів наносили на поверхню відповідного поживного середовища в чашках Петрі і рівномірно розподіляли шпателем Дригальського. Для визначення чутливості/резистентності використовували такі середовища:

- для *B. bifidum* № 1 – щільне середовище Блаурокка,
- для *L. reuteri* DSM 17938 – щільне середовище МРС,
- для *B. subtilis* УКМВ-5020, *E. coli* і *Staphylococcus sp.* – МПА,
- для *Candida sp.* – щільне середовище Сабуро.

Стандартні паперові диски, просочені відповідними розчинами антибіотиків у концентрації 30 мкг/мл, розкладали на засіяну поверхню агару на однаковій відстані один від одного, дотримуючись правил асептики. Були використані такі антибіотики: кліндаміцин, цефтріаксон, цефіксим, амоксицилін, флоксацилін, ністатин. Визначення чутливості/стійкості штамів до антибіотиків і оцінку результатів проводили після 24 год інкубації шляхом виміру зон затримки росту в міліметрах. При цьому користувалися Наказом МОЗ України № 167 від 05.04.2007 р. «Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів», Наказом МОЗ України № 823 від 18.05.2022 р. «Стандарт медичної допомоги про раціональне застосування антибактеріальних і антифунгальних препаратів з лікувальною та профілактичною метою» та рекомендаціями EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing), що дозволило розподілити штами на чутливі, помірночутливі і стійкі до певного антибіотика [Наказ..., 2007; Наказ..., 2022, European..., 2007].

2.5. Визначення чутливості бактерій до препаратів бактеріофагів

Чутливість штамів бактерій, виділених у дітей з дисбіозом кишечника, до комерційних препаратів бактеріофагів крапельним методом [Деркач, 2022]. В основу данного методу закладено принцип спільного культивування досліджуваної культури з бактеріофагом. Настання лізису є індикаторною ознакою, що визначає чутливість мікроорганізмів до бактеріофагів [Деркач та ін., 2020].

Для проведення дослідження добову агарову культуру досліджуваних штамів пересівали в МПБ і культивували при 37 °С. Через 3 – 5 год (після появи видимого росту культур) 0,1 мл бульйонної культури наносили на поверхню МПА в чашках Петрі і рівномірно розподіляли шпателем Дригальського. Після цього відразу інсуліновим шприцем по одній краплі наносили препаратів фагів. Після того як зразки бактеріофагів всмоктувалися в поживне середовище чашки з посівами культивували при 37 °С. Через 18 – 20 год проводили облік результатів, звертаючи увагу на наявність та інтенсивність зон лізису. До «фагочутливих» віднесено штами, які мали показники лізису ++++ (100% лізис) і +++ (зона лізису складає більше 75%); до «помірночутливих» – штами із показниками лізису ++ (зона лізису 75% – 50%) і +(зона лізису 50% - 25%), до стійких – штами із показниками лізису – (зона лізису менше 25%) [Деркач, 2022].

У дослідженнях використано вітчизняні полівалентні бактеріофаги, які випускає ТОВ «Фармаксгруп» (Україна): «Інтестіфаг бактеріофаг полівалентний» (1 мл препарату містить специфічні бактеріофаги у концентрації не менше 1×10^5 фагових часток до таких видів мікроорганізмів: *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*); і «Піофаг бактеріофаг полівалентний» (1 мл препарату містить специфічні бактеріофаги у концентрації не менше 1×10^5 фагових часток до таких видів мікроорганізмів: *Streptococcus pyogenes*,

Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Proteus vulgaris, Proteus mirabilis).

Усі експерименти проведено у трьох повторях, результати обробляли статистично і графічно з використанням комп'ютерної програми «MSExcel». Достовірність отриманих результатів оцінювали за критерієм Стьюдента з вірогідністю $p < 0,05$.

3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Частота виявлення дисбіозу кишечника у немовлят

Відомо, що формування мікробіоти кишечника новонародженого розпочинається після народження та відбувається швидкими темпами із постійними змінами в якісному та кількісному складі. Мікробіота немовлят менш різноманітна за складом мікроорганізмів, має більше фізіологічне значення для організму, при цьому вона більш чутлива до зовнішніх чинників, деякі із яких (наприклад, перенесені захворювання й препарати, що використовувалися для терапії) призводять до порушення якісного і кількісного складу мікробіому, тобто до виникнення дисбіозу [Zhang et al., 2019; Parkin et al., 2021].

При дослідженні 68 зразків фекалій, взятих у обстежених немовлят віком від 0 до 1 року, в клініко-діагностичній лабораторії медичного центру KinderKlinik (КіндерКлінік, м. Київ) у 76,5 % (52 дитини) відзначено зміни кількісного і якісного складу нормальної мікробіоти товстого кишечника.

В усіх виявлених випадках дисбіозу відзначалося зниження титру молочнокислих бактерій (представників родів *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*) з 10^{10} до 10^5 КУО/мл з одночасним зростанням на цьому тлі титру умовно-патогенних мікроорганізмів.

Отримані дані свідчать про непоодинокі випадки дисбіозів серед дітей у віці до року і збігаються з результатами інших дослідників, у роботах котрих звертається увага на розвиток і важкий перебіг дисбіозу кишечника у немовлят [Бережний та ін., 2016; Ротар та ін., 2017; Backhed et al., 2015]. Серед можливих причин відзначається те, що, по-перше, в дитячому віці мікроекологічна система кишечника переживає період становлення і адаптації до збільшення харчового навантаження, що робить мікробіоту нестабільною і чутливою по відношенню до дії несприятливих факторів [Траверсе та ін., 2010; Скляр та ін., 2018]. По-друге, схильність до більш швидкого та легкого розвитку дисбіозу пов'язана з ферментативною та імунною незрілістю кишечника [Belizário et al., 2018].

Становлення мікробіоценозу дитини залежить від значної кількості факторів, серед яких важливе місце відводиться генетичним чинникам, віку дитини, типу вигодовування та ін. [Фролова та ін., 2019; Vokulich et al., 2016; Martin et al., 2016].

Аналіз результатів, отриманих при проведенні досліджень, дозволив простежити деякі закономірності виникнення дисбіозів. Розвиток дисбіотичних станів залежав від віку немовлят і від типу вигодовування. Виявлено, що випадки дисбіозу виявлялися у немовлят і у віковій категорії від 0 до 6 місяців, і від 7 місяців до року (рис. 1). При цьому випадки дисбіотичних станів у немовлят до 7 місяців виявлялися набагато частіше (більш ніж у 1,5 рази), ніж у дітей від 7 до 12 місяців, що є свідченням як процесу адаптації до оточуючого середовища, так і високої чутливості до зовнішніх чинників.

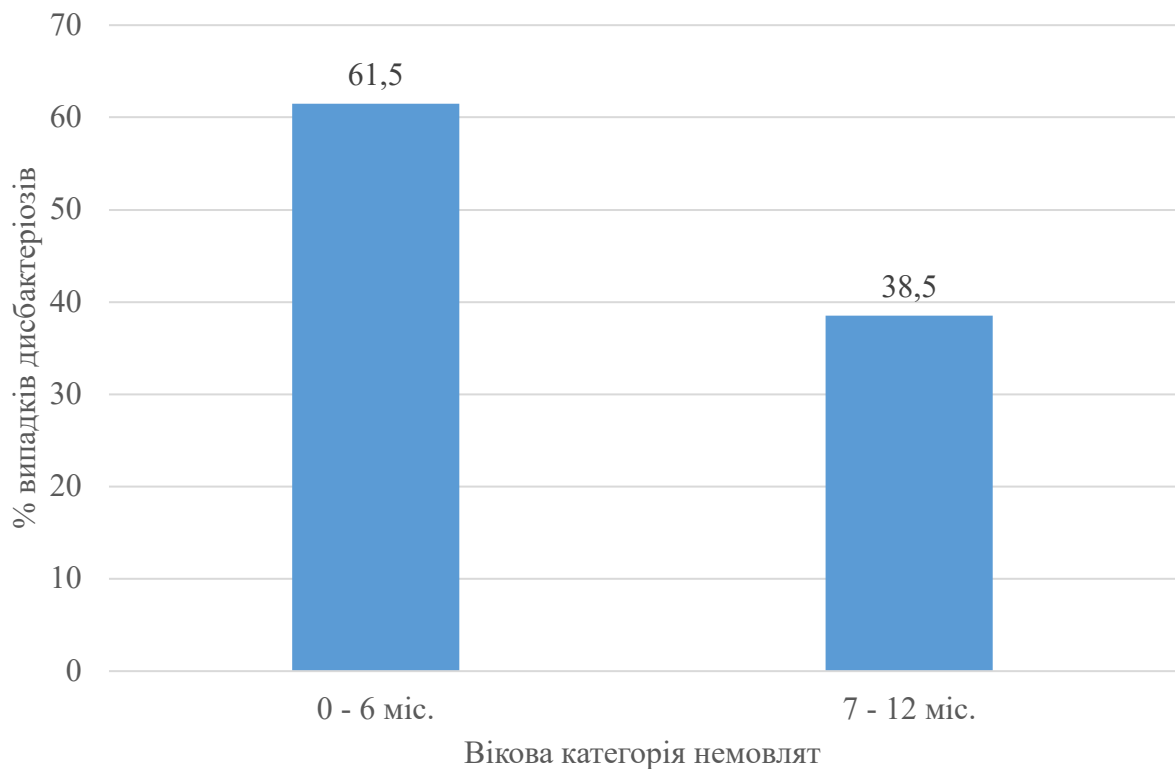


Рис. 1. Частота виявлення дисбіозу кишечника у немовлят різних вікових категорій.

Відомо, що тип вигодовування, як і вік, також відіграє суттєву роль у становленні мікробіоценозу кишечника, оскільки як зазначали Martin et al.,

різні типи вигодовування по-різному впливають на формування кишкової мікробіоти [Martin et al., 2016; Parkin et al., 2021].

В результаті даних досліджень встановлено, що дисбіози у дітей виявлялися при всіх типах вигодовування та у різних вікових категоріях (рис 2).

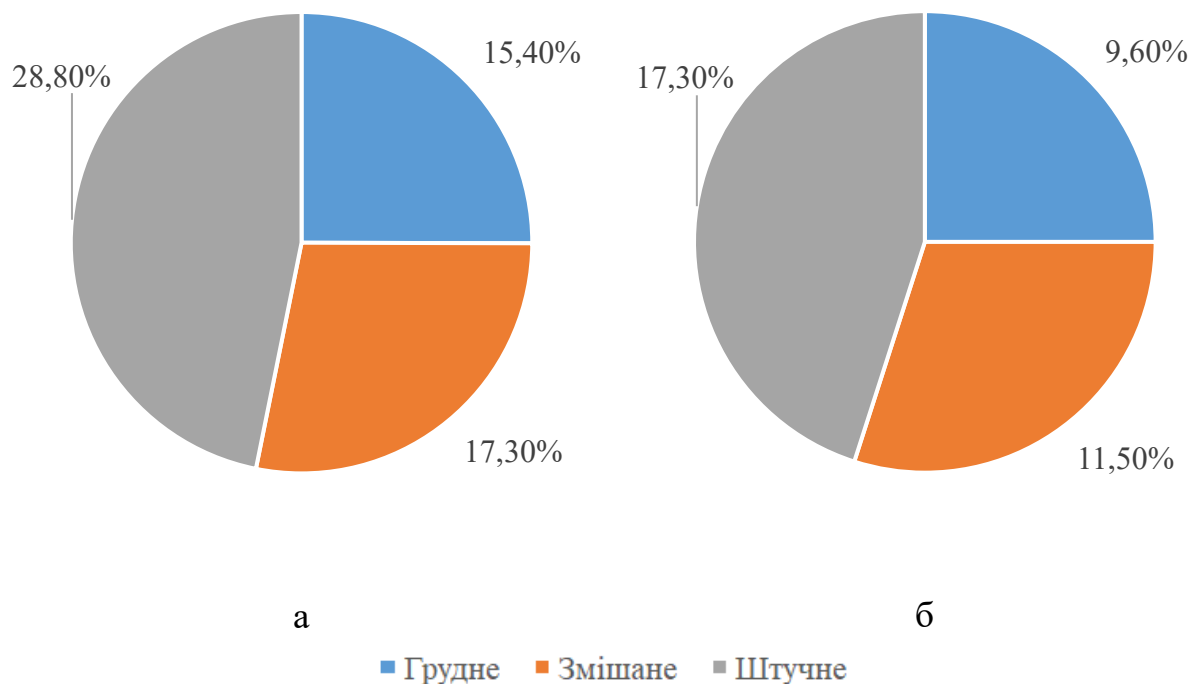


Рис. 2. Частота виявлення дисбіозів у немовлят при різних типах вигодовування: а) вікова категорія 0 – 6 міс.; б) вікова категорія 7 – 12 міс.

Але при цьому і у віці 0 – 6 місяців, і 7 – 12 місяців частіше такі випадки відзначалися при штучному вигодовуванні (відповідно, 28,8 % і 17,3 % від усіх виявлених випадків дисбіозів). Хоч би якими збалансованими не були суміші для годування, замінити материнське молоко вони не можуть. Відомо, що грудне молоко це комплекс мікронутрієнтів, створений природою, який постійно адаптується до віку дитини, забезпечує їй харчування й захист, а контакт з матусею заспокійливо діє на немовля [Ротар та ін., 2017], тобто грудне молоко є потужним протективним фактором. Саме тому, частота виявлення дисбіозів у немовлят на природному вигодовуванні обидвох

вікових груп незначна (15,4 % і 9,6 %, відповідно). Крім того, грудне молоко є постійним джерелом материнської мікробіоти, що колонізує ШКТ [Макаренко та ін., 2016]. Більше того, вченим вдалося підтвердити ідентичність штамів мікроорганізмів в кишечнику матері, грудному молоці та фекаліях немовляти [Рудіченко та ін., 2014; Thursby et al., 2017]. Можливо, випадки дисбіозів у дітей, які були на грудному вигодовуванні, пов'язані з певними проблемами зі здоров'ям їхніх матерів.

Низка авторів у своїх роботах підкреслюють, що у кишечнику немовлят, котрі знаходилися на штучному вигодовуванні, частіше виникають гнильні патологічні процеси, що пояснюється не тільки зниженням титру нормальної мікробіоти, але й збільшенням частоти виділення умовно-патогенних мікроорганізмів [Незгода та ін., 2011; Parkin et al., 2021].

Отримані нами результати при проведенні досліджень зразків фекалій немовлят, у котрих були виявлені порушення мікробіоценозу кишечника, співпадають із даними Д. В. Ротар та ін. [2017], Zhang et al. [2019]. Незалежно від типу вигодовування при дисбіотичних станах спостерігали збільшення частоти виділення умовно-патогенних мікроорганізмів, що були представлені бактеріями роду *Staphylococcus*, *Escherichia coli* зі зміненими ферментативними властивостями і мікроскопічними дріжджоподібними грибами роду *Candida*. Але якщо при грудному вигодовуванні середня частота виділення умовно-патогенних мікроорганізмів приблизно склала 35%, то при змішаному цей показник збільшився у 1,5 рази, досягши 60 – 70%, а при штучному – зріс вдвічі і склав 80 – 90% (рис. 3). І ця закономірність простежувалася при виділенні та встановленні частоти всіх умовно-патогенних мікроорганізмів.

Отримані результати констатували позитивний вплив грудного вигодовування на формування, стан і функціонування ШКТ немовлят.

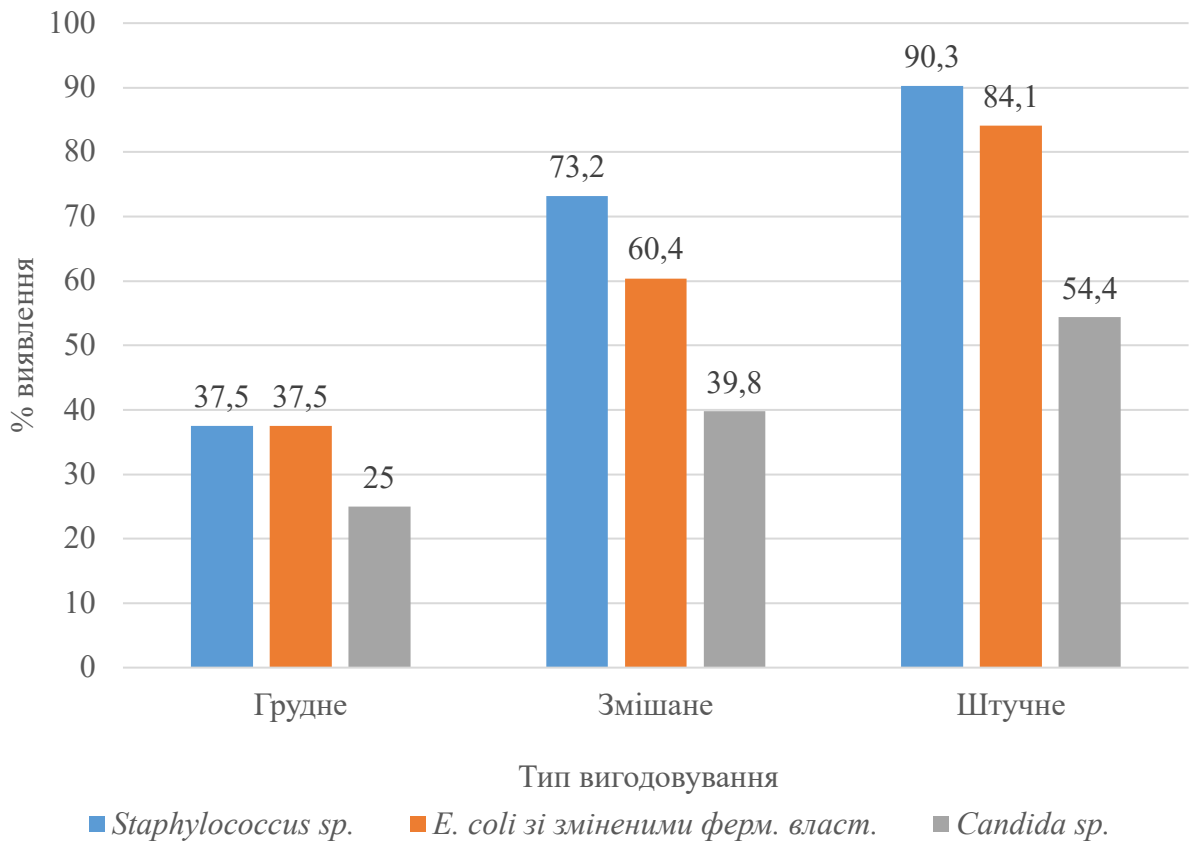


Рис. 3. Частота виділення умовно-патогенних мікроорганізмів у немовлят при дисбіозі кишечника.

Як зазначили вище, у всіх виявлених випадках дисбіозу спостерігали зменшення кількості молочнокислих бактерій, натомість титр виділених умовно-патогенних мікроорганізмів збільшився. Так, якщо у дітей, у котрих не діагностували дисбіоз, умовно-патогенні бактерії не виділялися або виділялися у титрі не вищому 10^1 КУО/мл, то у дітей з порушеннями мікробіоценозу спостерігали збільшення кількісних показників умовно-патогенних мікроорганізмів.

При цьому у немовлят, котрі перебували на грудному вигодовуванні, кількість бактерій роду *Staphylococcus* приблизно склала 10^2 КУО/мл, *E. coli* зі зміненими властивостями – 10^4 КУО/мл і дріжджоподібних грибів роду *Candida* – 10^1 КУО/мл, то у дітей на штучному вигодовуванні ці показники були значно вищі: кількість виділених стафілококів і кишкових паличок зі зміненими

ферментативними властивостями збільшилася до 10^6 КУО/мл, а кандід – до 10^4 КУО/мл (рис. 4).

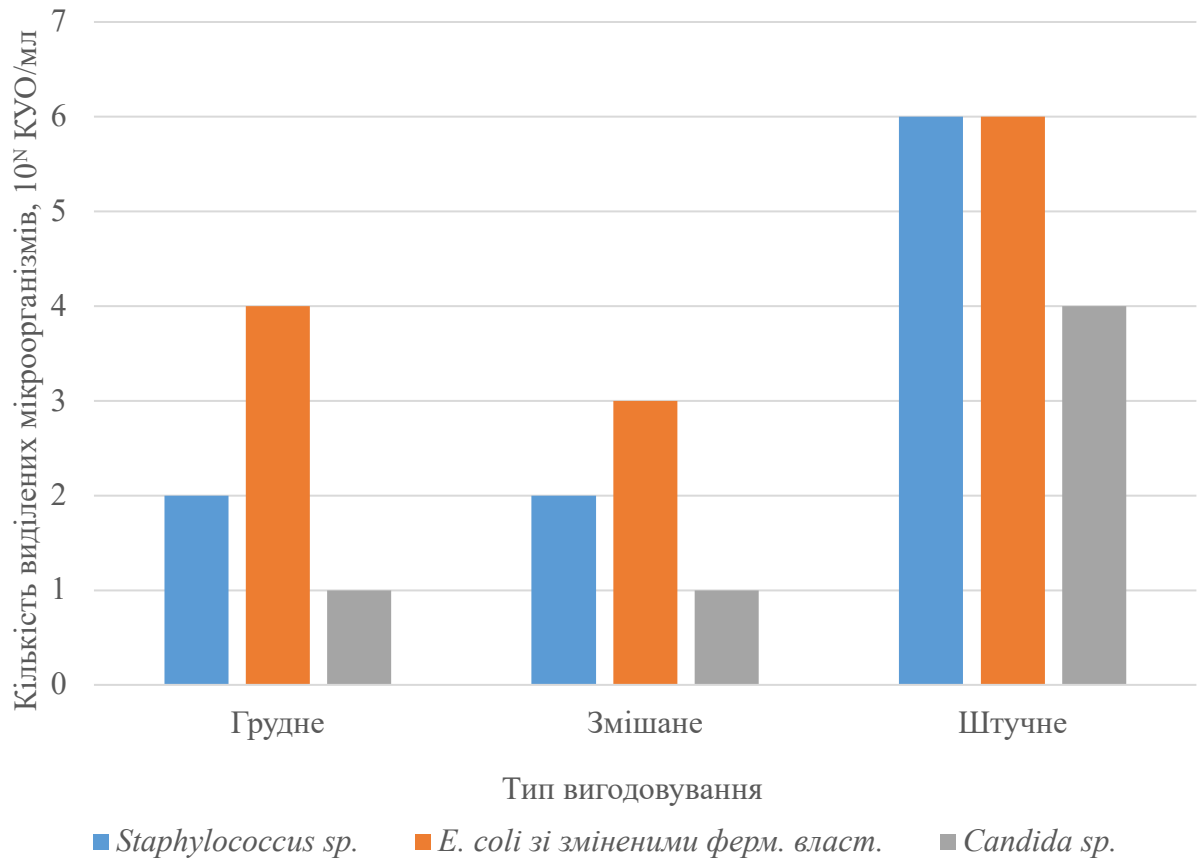


Рис. 4. Кількісні показники виділення умовно-патогенних мікроорганізмів у немовлят при дисбіозі кишечника

Отримані дані підтверджують думки інших авторів, що материнське молоко забезпечує дитину не тільки поживними речовинами, але є джерелом захисних імунних факторів, таких як комплемент, лізоцим, лактоферин, інтерферон, імуноглобуліни А, М, G, Е, D, макрофаги, Т-лімфоцити, В-лімфоцити, плазматичні клітини, нейтрофіли, що запобігають розмноженню умовно-патогенних мікроорганізмів [Бережний та ін., 2016; Martin et al., 2016].

3.2. Життєздатність штамів бактерій дослідних пробіотичних препаратів

Коригування порушення мікробіоти кишечника є одним із кроків лікування основного захворювання, яке призвело до появи дисбактеріозу у

дитини. Для відновлення мікробіоти ШКТ багато спеціалістів рекомендують комплекс заходів, спрямованих на коригування складу мікробіоти та її нормалізації: На думку більшості фахівців, найбільш дієвим методом боротьби з дисбіозом є застосування пробіотичних дієтичних добавок [Vidlock et al., 2012 Vidlock et al., 2013;; Vuccigrossi et al., 2013; Tojo et al., 2014; Bertelsen et al., 2016].

Пробіотичні препарати повинні відповідати певним вимогам, зазначеним у рекомендаціях Міжнародних організацій (FAO/WHO) [Лясковський та ін., 2005]. Однією досить суттєвою вимогою є здатність штамів бактерій зберігати життєздатність протягом вказаного терміну зберігання. Відомо, що кількість життєздатних клітин мікроорганізмів, що входять до складу пробіотиків, може зменшуватися на кінець терміну зберігання [Лях та ін., 2018].

Було досліджено кількість життєздатних клітин штамів бактерій, які входять до складу препаратів-пробіотиків, що найчастіше рекомендуються і застосовуються у терапії дисбіозів кишечника немовлят. У роботі використано препарати: Біфідумбактерин, БіоГая і Субалін.

Отримані результати наведено у табл. 1.

Таблица 1

Кількість життєздатних клітин бактерій у складі досліджених пробіотичних препаратів, КУО/мл

Пробіотичний препарат	Штам мікроорганізмів	Вказана кількість бактерій	Висіяна кількість бактерій
Біфідумбактерин	<i>Bifidobacterium bifidum</i> № 1	$>1,0 \times 10^8$	$0,8 \times 10^8$
БіоГая	<i>Lactobacillus reuteri</i> DSM 17938	$>1,0 \times 10^9$	$7,9 \times 10^8$
Субалін	<i>Bacillus subtilis</i> УКМВ-5020	$>1,0 \times 10^9$	$2,5 \times 10^9$

До складу пробіотичного препарату Біфідумбактерин входять живі ліофілізовані клітини бактерій штаму *Bifidobacterium bifidum* № 1 не менше

1×10^8 КУО в одній дозі. При висіві 0,1 мл суспензії даного препарату на щільне поживне середовище Блаурокка, яке є найбільш оптимальним для культивування біфідобактерій в лабораторних умовах, встановлено, що кількість життєздатних клітин незначно відрізнялася від кількості, зазначеній в інструкції виробника (табл. 1). Можливо, це пов'язано як з адаптацією штаму до умов культивування, так і частковою втратою його життєздатності ще на етапі виробничої ліофілізації.

До складу препарату БіоГая входить штам *Lactobacillus reuteri* DSM 17938, кількість життєздатних клітин якого повинна бути не менше $1,0 \times 10^9$ КУО в одній дозі. При посіві суспензії даного препарату на середовище MRS-агар, яке використовують в лабораторіях для виділення і культивування лактобацил, встановлено $7,9 \times 10^8$ КУО/мл життєздатних клітин зазначеного штаму.

Натомість кількість життєздатних клітин штаму *Bacillus subtilis* УКМВ-5020, який входить до складу препарату Субалін, склала $2,5 \times 10^9$ КУО/мл, відповідає кількості, вказаній в інструкції виробника. Відзначимо, що бактерії роду *Bacillus* відзначаються високою стійкістю у навколишньому середовищі і здатні виживати при несприятливих умовах [Сафронова та ін., 2021].

Таким чином, пробіотичні штами, що входять до складу відповідних препаратів, були досить життєздатними, лише кількість деяких із них була незначно меншою від вказаної виробником, що можливо, пов'язано з технологією початкових етапів виробничої ліофілізації, коли може відбуватися ослаблення або навіть загибель незначної кількості мікроорганізмів.

3.3. Антагонізм пробіотичних штамів бактерій проти умовно-патогенних мікроорганізмів, виділених у дітей з дисбіозом кишечника

Серед вимог, які висуваються до пробіотиків, вагоме значення має антагоністична активність штамів, що входять до складу відповідних препаратів [Лясковський та ін., 2005; Liévin-Le Moal et al., 2014].

Тому наступним етапом нашої роботи було визначення антагоністичної активності пробіотичних штамів *B. bifidum* № 1, *L. reuteri* DSM 17938 і *B. subtilis* УКМВ-5020, які є основою відповідних препаратів Біфідумбактерин, БіоГая і Субалін, щодо виділених умовно-патогенних мікроорганізмів.

У даному дослідженні було використано по два штами кожного роду (виду) мікроорганізмів, виділених у дітей з дисбіотичними порушеннями. Пробиотичні штами бактерій попередньо культивували протягом 24 год у відповідних рідких середовищах для накопичення екзометаболітів. Отримані результати наведено у табл. 2.

Таблиця 2

Зони відсутності росту виділених мікроорганізмів (мм) за впливу пробіотичних штамів бактерій

Пробиотичний штам	<i>Staphylo coccus sp.</i> КМ 12-21	<i>Staphylo coccus sp.</i> КМ 17-21	<i>E. coli</i> КМ 23-21	<i>E. coli</i> КМ 26-21	<i>Candida sp.</i> КМ 32-21	<i>Candida sp.</i> КМ 36-21
<i>B. bifidum</i> № 1	10,4± 0,2	9,5± 0,1	13,3± 0,3	12,9± 0,2	11,2± 0,2	10,5± 0,3
<i>L. reuteri</i> DSM 17938	12,7± 0,2	14,1± 0,3	10,1± 0,1	10,8± 0,2	9,0± 0,1	10,3± 0,2
<i>B. subtilis</i> УКМВ-5020	9,3± 0,1	10,1± 0,1	12,4± 0,2	11,6± 0,2	13,0 ± 0,3	17,4± 0,2

Як видно із отриманих даних, наведених у табл. 2, досліджені штами пробіотичних бактерій проявили антагоністичну активність проти усіх взятих у дослід штамів мікроорганізмів, виділених у дітей з дисбіозами. Зони відсутності росту при цьому були неоднакові і визначені у межах 9,0± 0,1 мм (за дії *L. reuteri* DSM 17938 на *Candida sp.* КМ 32-21) – 17,4± 0,2 мм (за дії *B. subtilis* УКМВ-5020 на *Candida sp.* КМ 36-21).

Попри те, що розміри зон відсутності росту залежали як від антагоністичної активності штамів пробіотичних бактерій, так і від чутливості штамів патогенних мікроорганізмів, нами відмічена певна особливість. Так,

штам *B. bifidum* № 1 найбільшу активність проявив щодо штамів кишкової палички зі зміненими ферментативними властивостями: зони відсутності росту *E. coli* КМ 23-21 і *E. coli* КМ 26-21 склали $13,3 \pm 0,3$ мм і $12,9 \pm 0,2$ мм, відповідно. Антагоністичний ефект біфідобактерій обумовлений продукцією ними в процесі своєї життєдіяльності молочної й оцтової кислот, які знижують рН. Окрім цього біфідобактерії також продукують антимікробні речовини – бактеріоцини (біфідин, біфілонг), які також здатні пригнічувати мікроорганізми [Тоґо et al., 2014]. Натомість штам *L. reuteri* DSM 17938, антагоністичні властивості якого також значною мірою обумовлені продукцією органічних кислот, краще пригнічував ріст штамів *Staphylococcus* sp. Антимікробна дія *L. reuteri* також обумовлена низкою антимікробних речовин таких як: реутерин, реутерицин б і реутерициклін, що можуть пригнічувати ріст різних бактерій, включаючи *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Clostridium*, а також дріжджоподібних грибів і вірусів [Liévin-Le Moal et al., 2014]. У цей же час штам *B. subtilis* УКМВ-5020 найкраще пригнічував ріст обох штамів *Candida* sp. Відомо, що представники виду *B. subtilis* здатні синтезувати циклічні ліпопептидні антибіотики [Марушко, 2015]. Основні компоненти цих антибіотиків – сурфактин і фенгіцин – характеризуються множинною антибіотичною активністю, зокрема щодо дріжджоподібних грибів роду *Candida* [Патратій та ін., 2016; Сафронова та ін., 2021].

3.4. Чутливість до антибіотиків штамів пробіотичних і умовно-патогенних мікроорганізмів

Крім такого могутнього природного фактора захисту як материнське молоко стан дисбактеріозу коригується шляхом одночасного застосування антибактеріальних препаратів і пробіотиків [Траверсе та ін., 2010; Філімонова та ін., 2011]. При цьому важливо мати інформацію про антибіотикорезистентність пробіотичних штамів, незважаючи на те, що дана ознака є одним із критеріїв відбору штамів-пробіотиків для створення на їх

основі препаратів пробіотиків [Лясковський та ін., 2005, Патратій та ін., 2016]. Визначення чутливості/резистентності проводили до антибіотиків, які при необхідності рекомендуються для застосування у терапії дітей до року [Наказ..., 2022].

Як видно із результатів, наведених у табл. 3, штами *B. bifidum* № 1, *L. reuteri* DSM 17938 і *B. subtilis* УКМВ-5020 були досить стійкими до використаних антибіотиків.

Таблиця 3

Розміри зон відсутності росту пробіотичних штамів бактерій за дії антибіотиків, мм

Антибіотик	<i>B. bifidum</i> № 1	<i>L. reuteri</i> DSM 17938	<i>B. subtilis</i> УКМВ-5020
Клоксацилін	7,2±0,1	6,4±0,1	0,0
Амоксицилін	5,6±0,1	6,7±0,1	0,0
Цефтріаксон	9,2±0,2	8,3±0,1	4,3±0,1
Цефіксим	8,7±0,1	8,0±0,1	4,0±0,1
Кліндаміцин	9,4±0,1	8,3±0,1	3,7±0,1
Ністатин	0,0	0,0	0,0

Розміри зон відсутності росту усіх трьох штамів не перевищували 10 мм, що, згідно рекомендацій EUCAST [2007], свідчить про високу резистентність даних штамів. При цьому розміри зон залежали як від штаму бактерій, так і від використаного антибіотика. Найбільшу стійкість до усіх антибіотиків проявив штам *B. subtilis* УКМВ-5020. Як відомо бактеріям роду *Bacillus* (не лише пробіотичним штамам) притаманна природна стійкість, яка обумовлена, у першу чергу, здатністю до спороутворення в несприятливих умовах навколишнього середовища, наприклад, за дії антибіотиків [Сафронова та ін., 2021].

Найбільшу чутливість штами *B. bifidum* № 1 і *L. reuteri* DSM 17938 проявили до цефтріаксону і кліндаміцину, а *B. subtilis* УКМВ-5020 – до цефтріаксону, цефіксиму.

При дослідженні чутливості/резистентності 34 штамів *E. coli* зі зміненими ферментативними властивостями, 18 штамів *Staphylococcus sp.* і 23 штамів *Candida sp.*, виділених у дітей з дисбіозом кишечника, показало варіабельність цієї ознаки (рис. 5 – 7).

Серед виділених штамів цих умовно-патогенних мікроорганізмів були чутливі, помірночутливі і стійкі. Більшість виділених штамів *E. coli* зі зміненими ферментативними властивостями були чутливими до цефтріаксону і цефіксиму (22 і 20 штамів, відповідно) (рис. 5).

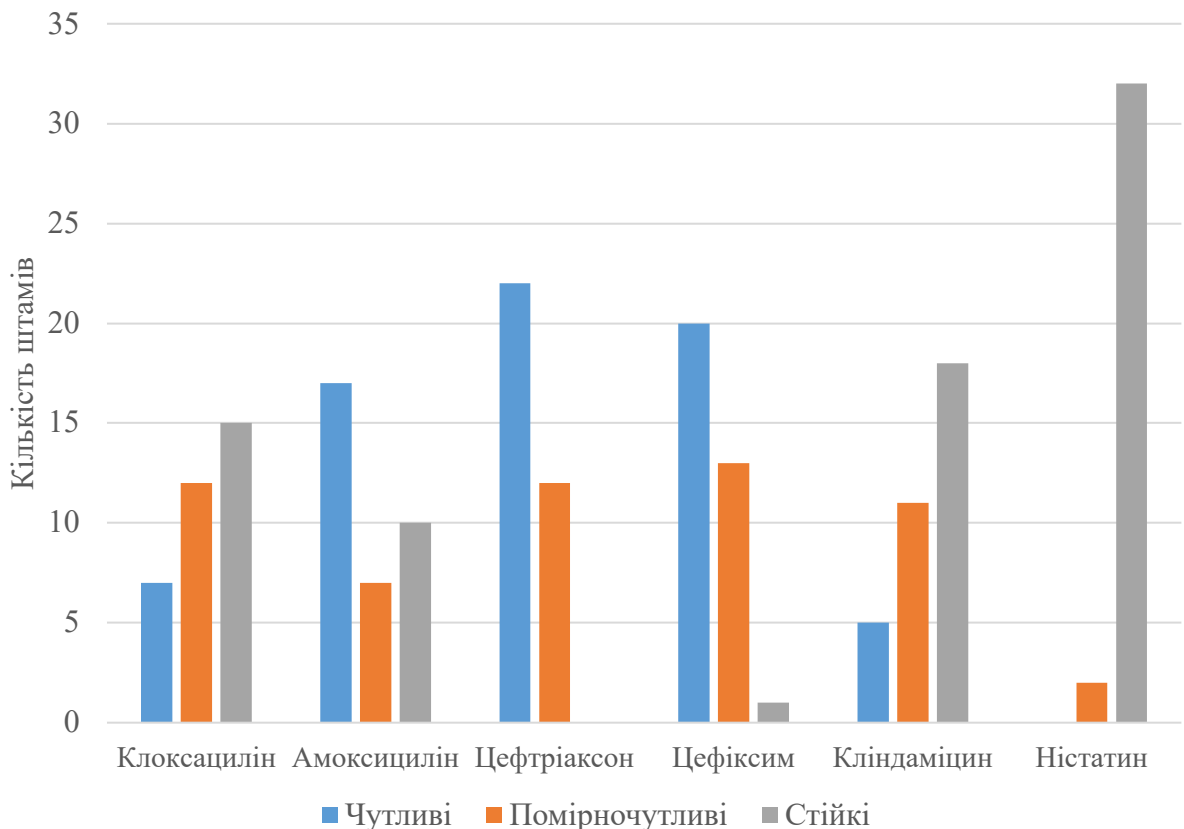


Рис. 5. Кількісний розподіл штамів *E. coli* зі зміненими ферментативними властивостями, виділеними у дітей з дисбіозом кишечника, в залежності від рівня чутливості/стійкості до антибіотиків.

Ці антибіотики є напівсинтетичними з групи цефалоспоринів III покоління широкого спектру дії, зумовленої порушенням синтезу клітинної

стілки бактерій. Половина штамів кишкової палички виявилися чутливими до амоксициліну, що є β -лактамним антибіотиком широкого спектру дії: пригнічуючи синтез бактеріальної стінки.

Висока стійкість до ністатину як штамів кишкової палички, так і стафілококів (рис. 6) пояснюється тим, що даний антибіотик є протигрибковим препаратом, він не проявляє активності щодо бактерій, оскільки механізм його дії пов'язаний зі стеринами клітинної мембрани грибків, з якими він утворює комплекси, внаслідок чого мембрана стає нездатною функціонувати як селективний бар'єр, що призводить до втрати основних компонентів клітини.

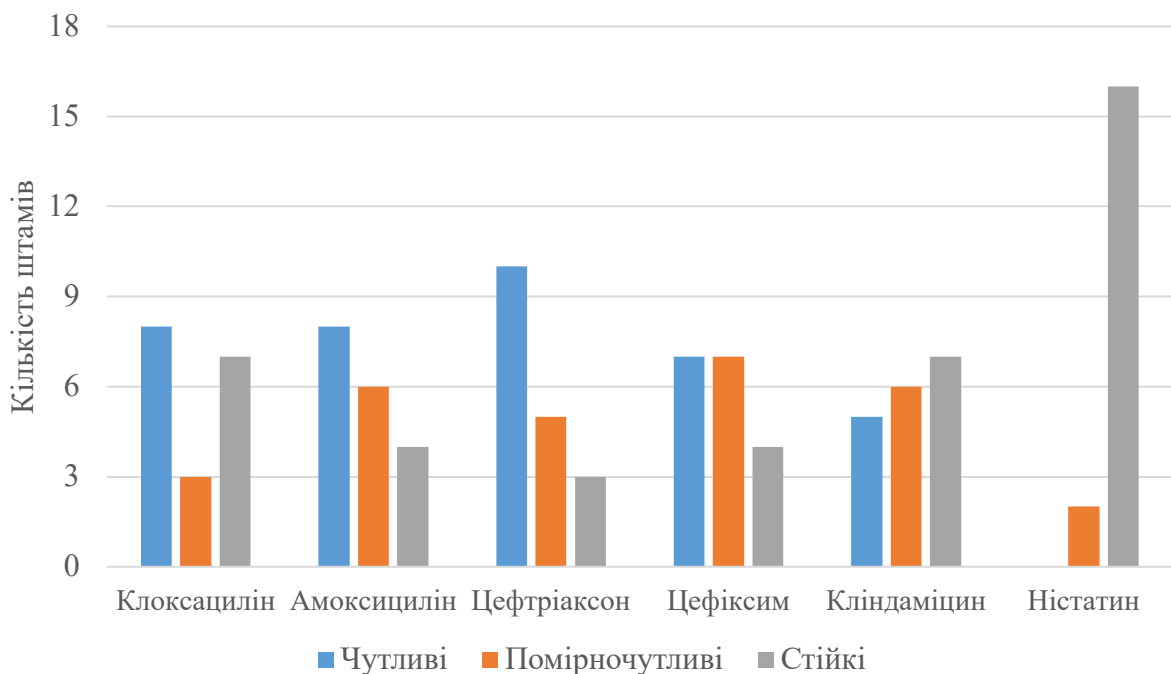


Рис. 6. Кількісний розподіл штамів *Staphylococcus sp.*, виділеними у дітей з дисбіозом кишечника, в залежності від рівня чутливості/стійкості до антибіотиків.

Серед виділених штамів *Staphylococcus sp.*, найбільше чутливих було до цефтріаксону (10 штамів) та клоксациліну й амоксициліну (по 8 штамів) (рис. 6). Клоксацилін, як і амоксицилін, є напівсинтетичним антибіотиком з групи пеніцилінів широкого спектру дії, порушує синтез клітинної стінки бактерій.

Штами *Candida sp.* були досить чутливими до ністатину (із 23 виділених штамів 17 були чутливими, 6 – помірночутливими) (рис. 7). До інших

антибіотиків серед штамів дріжджоподібних грибів були чутливі, помірночутливі та стійкі.

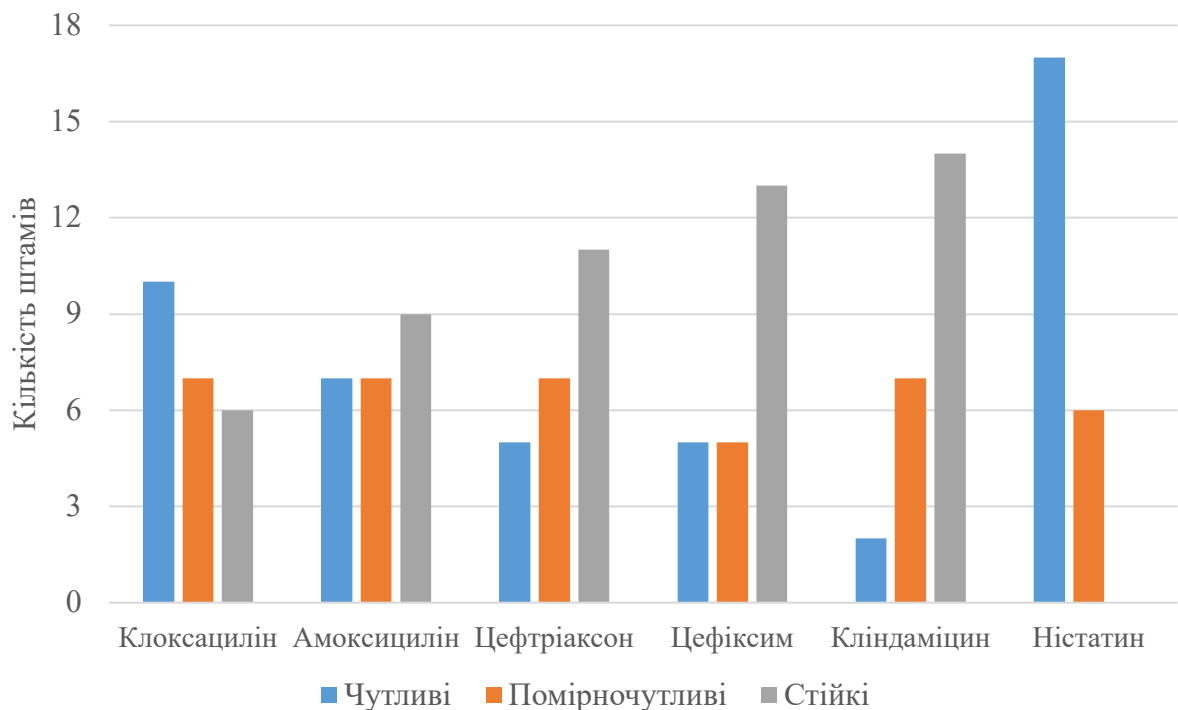


Рис. 7. Кількісний розподіл штамів *Candida sp.*, виділеними у дітей з дисбіозом кишечника, в залежності від рівня чутливості/стійкості до антибіотиків.

Щодо кліндаміцину, то більше половини виділених штамів усіх груп мікроорганізмів були стійкими (рис. 5 – 7). За даними літератури цей препарат має обмежений спектр антибактеріальної дії та пригнічує синтез білка у бактеріальних клітинах [Цейслер, 2013].

Проведені дослідження і отримані результати ще раз підкреслюють необхідність визначення чутливості до антибіотиків виділених патогенних мікроорганізмів в кожному конкретному випадку. Загалом, опираючись на отримані результати, для більш швидкої нормалізації мікробіоценозу кишечника можна рекомендувати одночасне застосування за необхідності антибіотиків і пробіотиків.

3.5. Чутливість виділених штамів умовно-патогенних бактерій до бактеріофагів

У педіатричній практиці окрім антибіотиків, вплив яких на організм неоднозначний, все частіше рекомендують використовувати альтернативні препарати для терапії кишкових захворювань [Деркач та ін., 2020; Vokulich et al., 2016]. Одними із таких препаратів є бактеріофаги. Важливою умовою ефективної фаготерапії є попереднє визначення фагочутливості збудника [Жмінко та ін., 2015; Деркач, 2022].

Визначали чутливість бактерій цих штамів *E. coli* зі зміненими ферментативними властивостями і *Staphylococcus sp.* до двох полівалентних бактеріофагів: «Інтестіфаг бактеріофаг полівалентний» і «Піофаг бактеріофаг полівалентний», виробником яких є ТОВ «Фармаксгруп» (Україна). Ці бактеріофаги дозволені для використання у терапії дисбіозів кишечника немовлят. Отримані дані свідчать про досить високу ефективність використаних бактеріофагів: частка чутливих штамів була вищою 79,0 % (рис. 8).

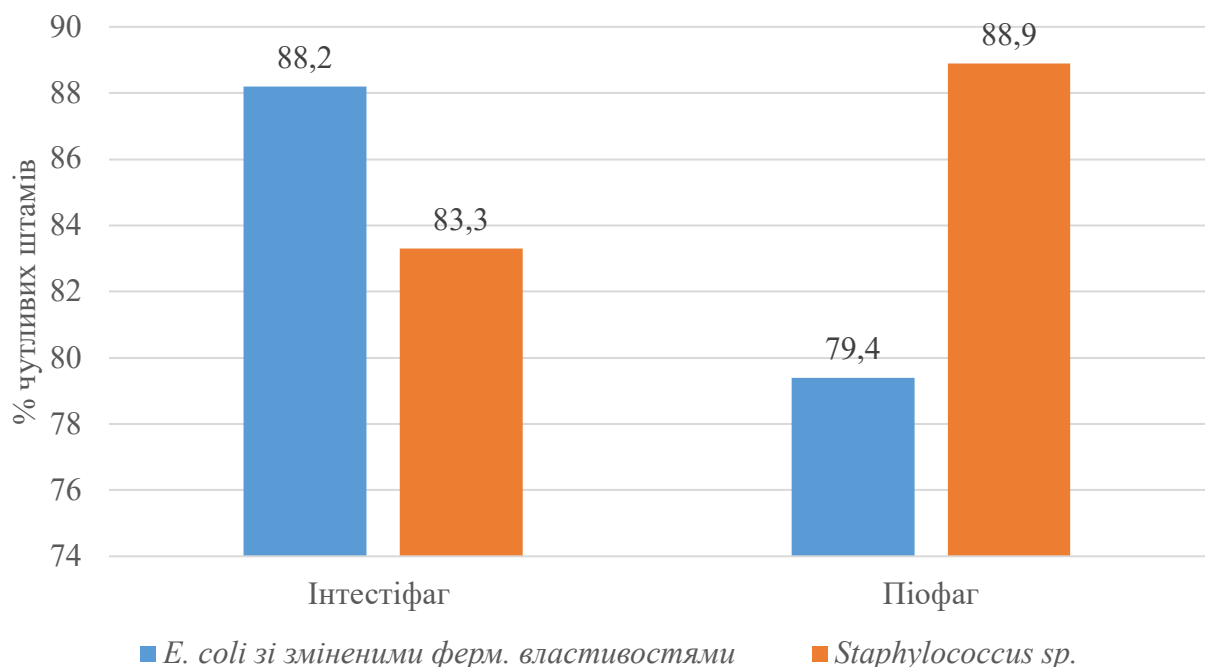


Рис. 8. Чутливість до бактеріофагів штамів *E. coli* і *Staphylococcus sp.*, виділених у дітей з дисбіозом кишечника

При цьому штами *E. coli* були більш чутливими до Інтестіфагу (88,2 % штамів від усіх виділених кишкових паличок зі зміненими ферментативними властивостями), а штами *Staphylococcus sp.* – більш чутливими Піофагу (88,9 % від усіх виділених стафілококів).

Ефективність літичної дії фагів залежить від їх специфічності та вірулентності. Так, згідно даних літературних джерел, бактеріофаги призводять не лише до лізису бактеріальних клітин, в результаті взаємодії з бактеріями вони інтенсифікують фактори гуморального і клітинного імунітету, а також сприяють втраті бактеріями патогенності і токсигенності [Деркач та ін., 2020; Деркач, 2022].

Пояснити високу чутливість виділених штамів бактерій *E. coli* і *Staphylococcus sp.* до дії комерційних препаратів бактеріофагів можна тим, що вони були отримані на від штамів бактерій, які циркулюють на території України і застосовувались проти штамів, виділених в Україні.

Отримані результати співпадають із даними інших науковців і свідчать про недостатню універсальність препаратів бактеріофагів, що, у свою чергу, вказує на необхідність вдосконалення їх отримання [Воронкова та ін., 2012; Деркач, 2022]. Одним із можливих варіантів підвищення ефективності бактеріофагів є їх виділення та адаптація до «регіональних» умовно-патогенних та патогенних бактерій. Зауважимо, що на сьогоднішній день маловивченою залишається проблема наукового обґрунтування схем комплексного прийому різних препаратів (бактеріофаги, антибіотики, пробіотики) у терапії дисбіозу кишечника.

УЗАГАЛЬНЕННЯ

Мікроекологічна система організму дитини – це складний поліфункціональний комплекс, що може здійснювати широкий спектр функцій (захисних, травних, біосинтетичних, обмінних, детоксикаційних, імуномодуляційних). Процес становлення кишкової мікробіоти залежить від багатьох факторів, зокрема складу мікробіоценозу матері, характеру вигодовування, санітарно-гігієнічного стану довкілля. Особливо він важливий на першому році життя дитини. На жаль, з кожним роком помітно збільшується кількість факторів, які негативно впливають на формування, становлення і активність мікробіоти дітей [Андрикевич, 2007; Backhed et al., 2015].

Поява чи кількісне збільшення у фекаліях нетипових *E. coli*, бактерій родів *Proteus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* та ін. призводить до зниження захисних механізмів і порушення обмінних процесів [Скляр та ін., 2018]. Тому дуже важливо, щоб у цей період дитина знаходилася на природному вигодовуванні або хоча б одержувала у раціоні материнське молоко, оскільки воно є потужним захисним фактором від шкідливого впливу умовно-патогенних мікроорганізмів і розвитку дисбіозу кишечника на першому році життя дитини [Бережний та ін., 2016].

Мікробіологічні дослідження проб фекалій немовлят віком до року, що проходили обстеження в медичному центрі KinderKlinik (м. Київ) дали змогу виявити порушення кількісного і якісного складу мікробіоти кишечника і встановити частоту таких випадків, яка була досить значною і перевищувала 76,0 %. Частота випадків дисбіотичних розладів у дітей, що перебували на грудному вигодовуванні була майже вдвічі меншою, ніж у дітей, що отримували суміші відповідно до віку. Отримані результати, як і дані спеціалістів [Ротар та ін., 2017; . Parkin et al., 2021], безсумнівно, свідчать про користь і захисну роль природного вигодовування.

При дисбіотичних станах у немовлят, особливо у тих, що приймали суміші, на тлі зменшення кількості представників родів *Lactobacillus*,

Bifidobacterium, *Enterococcus*, що є представниками нормобіоти, спостерігали збільшення як частоти виділення умовно-патогенних мікроорганізмів (бактерії роду *Staphylococcus*, *Escherichia coli* зі зміненими ферментативними властивостями і дріжджоподібні гриби роду *Candida*), так і кількості їх виділення.

Ефективна корекція дисбіотичних порушень можлива лише за комплексного підходу: усунення причин їх виникнення (необхідно мінімізувати, а по можливості – нейтралізувати, фактори, які призвели до змін кишкового мікробіоценозу); проведення адекватного лікування основного захворювання, якщо воно є, а також власне корекція порушень якісного та кількісного складу мікробіоти кишечника [Бережний та ін., 2016].

З врахуванням віку дітей, що проходили обстеження і в яких було виявлено дисбіоз кишечника засобами вибору є призначення пробіотиків, бактеріофагів (якщо мова йде про патогенні чи умовно-патогенні бактерії), в окремих важких випадках – антибіотиків.

У проведених дослідженнях було з'ясовано, що штами бактерій *Bifidobacterium bifidum* № 1, *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 і *Bacillus subtilis* УКМВ-5020, які входять до складу відповідних препаратів Біфідумбактерин, БіоГая і Субалін і дозволені у терапії дітей до року, відповідали критеріям, що висуваються до пробіотичних мікроорганізмів. Вони характеризувалися високою життєздатністю (кількість життєздатних клітин склала 10^8 – 10^9 КУО/мл, що майже відповідає кількості зазначеній виробником). Штами *B. bifidum* № 1, *L. reuteri* DSM 17938 і *B. subtilis* УКМВ-5020 з різною інтенсивністю пригнічували ріст виділених у немовлят с дисбіозом штамів умовно-патогенних бактерій, що свідчить про їх антагоністичну активність. А отже вживання цих пробіотиків буде сприяти відновленню і нормалізації мікробіоценозу кишечника дітей. Визначення чутливості до антибіотиків, які в разі необхідності можуть приймати немовлята, показало, що штами-пробіотики є досить стійкими до клоксациліну, амоксициліну, цефтріаксону,

цефіксиму, кліндаміцину і ністатину, що робить можливим їх застосування з першої доби антибіотикотерапії.

Натомість штами умовно-патогенних мікроорганізмів, виділених при дисбіотичних розладах, характеризувалися варіабельною чутливістю/стійкістю до зазначених антибіотиків, що залежала від конкретного штаму мікроорганізмів і антибіотика. Найефективнішими антибіотиками, що пригнічували ріст більше половини виділених штамів *E. coli* зі зміненими ферментативними властивостями були амоксицилін, цефтріаксон і цефіксим. Цефтріаксон також був ефективний щодо більшості виділених штамів *Staphylococcus spp.* Досить чутливими стафілококи були до амоксициліну і клоксациліну. До ністатину проявила чутливість переважна більшість виділених штамів *Candida sp.*

Попри отримані дані щодо антибіотикочутливості умовно-патогенних мікроорганізмів, що виділяються при дисбіозах кишечника, необхідно застосовувати індивідуальний підхід щодо призначення відповідного антибіотика в кожному конкретному випадку із врахуванням результатів антибіотикограми.

Досить успішним засобом у корекції нормобіозу кишечника є використання бактеріофагів [Жмілько та ін., 2015]. Але важливою умовою ефективної фаготерапії є попереднє визначення чутливості збудника до бактеріофагу. У проведених дослідженнях встановлено, що «Інтестіфаг бактеріофаг полівалентний» і «Піофаг бактеріофаг полівалентний», були досить ефективними і пригнічували ріст понад 79,0% виділених штамів умовно-патогенних бактерій. Зауважимо, що Інтестіфаг краще активність проявив до виділених штамів *E. coli*, пригнічуючи ріст 88,2% штамів, натомість Піофаг краще пригнічував ріст стафілококів (88,9% штамів були чутливими до його дії).

Результати проведених досліджень можуть служити основою для розробки, використання і подальшого вдосконалення заходів для корекції мікроценозу кишечника дітей.

ВИСНОВКИ

1. У 2022 р. в медичному центрі KinderKlinik (м. Київ) при обстеженні 68 дітей віком до року у 52 (76,5%) виявлено зміни кількісного і якісного складу нормальної мікробіоти товстого кишечника. Частота виявлення дисбіозів була вищою у немовлят вікової категорії 0 – 6 міс., що перебували на штучному вигодовуванні, і склала 28,8%.

2. При дисбіозі кишечника виділялися умовно-патогенні мікроорганізми родів *Staphylococcus* і *Candida*, а також *E. coli* зі зміненими ферментативними властивостями, частота виділення яких більш ніж у 2 рази була вищою у немовлят на штучному вигодовуванні.

3. Пробіотичні штами бактерій *Bifidobacterium bifidum* № 1, *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 і *Bacillus subtilis* УКМВ-5020, що входять до складу відповідних комерційних препаратів, характеризувалися високою життєздатністю, значною антагоністичною активністю щодо виділених штамів умовно-патогенних мікроорганізмів та стійкістю до антибіотиків, які дозволені у терапії дітей до року.

4. Виділені штами умовно-патогенних мікроорганізмів в залежності від штаму і від використаного антибіотику були чутливими, помірночутливими і стійкими. Найбільш ефективними антибіотиками, до яких проявили чутливість більшість виділених штамів *Staphylococcus sp.* і *E. coli* зі зміненими властивостям, були препарати із групи цефалоспоринів.

5. Частка чутливих штамів виділених умовно-патогенних бактерій до бактеріофагів: «Інтестіфаг бактеріофаг полівалентний» і «Піофаг бактеріофаг полівалентний» перевищила 79,0 %.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андрикевич І.І. Вплив антибіотикотерапії на стан мікробіоценозу товстої кишки у дітей грудного віку при гострих захворюваннях бронхолегеневої системи. *Сучасна педіатрія*: 2007. № 4 (7). С. 181–184.
2. Бережний В.В. Маменко М.Є. Мікробіота кишечника новонародженої дитини: вплив на стан здоров'я та фізіологічні підходи до корекції порушень. *Дитячий лікар*: 2016. Т. 3 (48). С. 14–20.
3. Бережний В.В., Бондарець Ю.І. Порушення мікробіому товстого кишечника та його корекція у хворих на ювенільний ревматоїдний артрит. *Сучасна педіатрія*: 2019. Т. 2 (98). С. 76–84.
4. Воронкова О.С. Сірокваша О.А., Полішко Т.М. Перспективи використання діагностичних та лікувальних препаратів бактеріофагів у медицині. *Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Медицина*. 2012. Т. 2, Вип. 3. С. 20–25.
5. Деркач С.А., Городницька Н.І., Куцай Н.М. Антибіотикорезистентність та фагочутливість регіональних штамів-збудників гнійно-запальних захворювань (*S. aureus* та *P. aeruginosa*). *Вісник Вінницького національного медичного університету*. 2020. Т. 24, № 1. С. 6–11.
6. Деркач С.А. Бактеріофаги: актуальні питання випуску препаратів-фагів та оцінка їх активності. *Інфекційні хвороби*: 2022. № 1 (107). С. 5–10.
7. Жмін'юк П.Г., Федченко О. В., Зінов'єва М.Л. Бактеріофаги: актуальні питання безпечного застосування (огляд літератури). *Український журнал сучасних проблем токсикології*. 2015. № 3. С. 71–81.
8. Казмирчук А.А., Голодок Л.П., Воронкова О.С. Біологічні властивості штамів умовно-патогенних мікроорганізмів, що виділені при дисбіозі шлунково-кишкового тракту. *Вісник проблем біології і медицини*. 2017. Вип. 4, том 3 (141). С. 269–272.
9. Климнюк С. І., Ситник І.О., Творко М.С. Практична мікробіологія: Посібник. Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. 440 с.

10. Лясковський Т.М. Підгорський В.С. Оцінка пробіотиків, відповідно до рекомендацій Міжнародних організацій (FAO/WHO). *Мікробіол. журн.* 2005. Т. 67, № 6. С. 104 – 112.
11. Лях В.Р., Червцова В.Г, Кричківська А.М. Пробіотики як сучасні превентивні препарати захворювань шлунково-кишкового тракту. *Chemistry, Technology and Application of Substance.* 2018: Vol. 1, No 1. P. 72–77.
12. Макаренко О.М., Петров П.І., Лугіна С.В. Сучасний погляд на проблему профілактики та лікування дисбактеріозу. *Актуальні проблеми сучасної медицини.* 2016: Т. 16, Вип. 2. С. 294–300.
13. Марушко Р.В. Спортивні пробіотики та їх застосування у дітей. *Сучасна педіатрія.* 2015. №4(68). С. 77–84.
14. Мішина М.М., Коцар О.В., Кочнева О.В. Зміна мікробіому кишечника пацієнтів з коронавірусною інфекцією. *Український журнал медицини, біології та спорту.* 2021: Т. 6, № 5 (33). С. 22–27.
15. Наказ МОЗ України № 167 від 05.04.2007 р. «Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів». К.: МОЗ України, 2007. 63 с.
16. Наказ МОЗ України № 438 від 26.05.2010 р. «Про затвердження протоколів діагностики та лікування захворювань органів травлення у дітей». К.: МОЗ України, 2010. 48 с.
17. Наказ МОЗ України № 823 від 18.05.2022 р. «Стандарт медичної допомоги про раціональне застосування антибактеріальних і антифунгальних препаратів з лікувальною та профілактичною метою». К.: МОЗ України, 2022. 51 с.
18. Незгода І.І., Науменко О.М. Дисбактеріоз кишківника у дітей: проблемні питання, сучасні методи діагностики. *Клінічна імунологія, алергологія, інфектологія.* 2011. № 5 (44). С. 29–32.
19. Патратій М.В., Федін О.І., Щербиніна М.Б. Дисбіоз кишечника: клініка, діагностика, шляхи корекції. Чернівці : БДМУ, 2016. 116 с.

20. Ротар Д.В. Сидорчук Л.І., Сидорчук А.С. Популяційний рівень мікробіоти порожнини товстої кишки дітей грудного віку, які хворі на гострий колієнтерит і перебувають на природному вигодовуванні. *Запоріжський медичний журнал*. 2017: Т. 19, № 3. С. 314–318.
21. Рудіченко В.М. Одинець М.О., Годорашко І.І. Кишечна мікрофлора: вплив на неї пробіотиків та пребіотиків. *Ліки України*. 2014. № 9 (185). С. 32–35.
22. Сафронова Л.А., Скороход І.О. Потенціал бактерій роду *Bacillus* як пробіотиків. *Гастроентерологія*. 2021. № 13 – 14 (506 – 507). С. 14–15.
23. Скляр Т. В., Лаврентьєва К. В., Колоколова М.В. Дослідження мікрофлори шлунково-кишкового тракту за дисбіотичних порушень у дітей різного віку. *Наукові доповіді НУБіП України*. 2018: № 5 (75). С. 1–11.
24. Траверсе Г.М. Цвиренко С. М., Ананевич О.І. Профілактика дисбіотичних порушень у дітей раннього віку на фоні антибіотикотерапії. *Світ медицини та біології*. 2010. № 3. С. 186–189.
25. Філімонова Н.І., Дика О. М, Елааті М. М. Мікробіологічне обґрунтування сумісного застосування пробіотичних препаратів з антибіотиками. *Український біофармацевтичний журнал*. 2011. № 2. С. 74–78.
26. Фролова Т.В., Стенкова Н.Ф., Сіняєва І. Р. Корекція мікробної флори кишечника у дітей, які народилися шляхом кесарева розтину. *Клінічна педіатрія*. 2019. Т. 14, № 4. С. 119–122.
27. Харченко Н.В. Бойко С.В., Токар Д.В. Біоценоз кишківника та корекція його порушень. *Алергія у дитини*. 2008. № 1 (5). С. 25–26.
28. Цейслер Ю.В. Антибіотики. Київ: Вид-во «Україна», 2013. 186 с.
29. Backhed F. Roswall J., Peng Y. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. *Cell Host Microbe*. 2015. V. 17 (5). P. 690–703.

30. Belizário J. E. J. Faintuch, M. Garay-Malpartida Gut microbiome dysbiosis and immunometabolism: New frontiers for treatment of metabolic diseases. *Mediators Inflamm.* 2018. V. 2018. P. 2037838.
31. Belizário J. E. Faintuch J. Microbiome and gut dysbiosis. *Exp Suppl.* 2018. V. 109. P. 459–476.
32. Bertelsen R. J. Jensen E. T., Ringel-Kulka T. Use of probiotics and prebiotics in infant feeding. *Clin Gastroenterol.* 2016. V. 30 (1). P. 39–48.
33. Bokulich N. A., Chung J., Battaglia T. Antibiotics, birth mode, and diet shape microbiome maturation during early life . *Sci Transl Med.* 2016. V. 8 (343). P. 343–382.
34. Buccigrossi V. Nicastro E. Guarino A. Functions of intestinal microflora in children . *Curr Opin Gastroenterol.* 2013. V. 29 (1). P. 31–8.
35. Buttó F. L. Haller D. Dysbiosis in intestinal inflammation: Cause or consequence . *International Journal of Medical Microbiology.* 2016. V. 306 (5). P. 302–309.
36. Carding S. Verbeke K., Vipond D. T. Dysbiosis of the gut microbiota in disease . *Microb. Ecol. Health Dis.* 2015. V. 26. P. 1–9.
37. DeGruttola A. K. Low D., Mizoguchi E. Current understanding of dysbiosis in disease in human and animal models . *Inflamm Bowel Dis.* 2016. V. 22 (5). P. 1137–1150.
38. Di Vincenzo F. A. Del Gaudio, V. Petito. Gut microbiota, intestinal permeability, and systemic inflammation: a narrative review. *Intern Emerg Med.* 2023. P. 1 – 19.
39. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Antimicrobial Wild Type Distributions of Microorganisms. <http://217.70.33.99/eucast2/> (28 February 2007, date last accessed).
40. Evans J.M. Morris L.S., Marchesi J. R. The gut microbiome: the role of a virtual organ in the endocrinology of the host . *J Endocrinol.* 2013. № 218. P. 37–47.

41. Fan Y., Pedersen O. Gut microbiota in human metabolic health and disease . *Nat. Rev. Microbiol.* 2021. V. 19. P. 55–71.
42. Gagliardi A., Totino V., Cacciotti F. Rebuilding the Gut Microbiota Ecosystem . *Int J Environ Res Public Health.* 2018. V. 15 (8). P. 1679.
43. Hou K., Wu Z.-X., Wang X.-Q. Microbiota in health and diseases. Signal Transduction and Targeted Therapy. 2022. V. 7 (135). P. 3–28.
44. Hrnčir T. Gut Microbiota Dysbiosis: Triggers, Consequences, Diagnostic and Therapeutic Options . *Microorganisms.* 2022. V. 10. P. 578.
45. Liévin-Le Moal V., Servin A. L. Anti-infective activities of *Lactobacillus* strains in the human intestinal microbiota: From probiotics to gastrointestinal anti-infectious biotherapeutic agents . *Clin. Microbiol. Rev.* 2014. V. 27. P. 167–199.
46. Marchesi J. R., Adams D. H., Fava F. The gut microbiota and host health: A new clinical frontier . *Gut.* 2016. V. 65. P. 330–339.
47. Martin R. Makino H., Cetinyurek Yavuz A. Early-life events, including mode of delivery and type of feeding, siblings and gender, shape the developing gut microbiota. *PLoS One.* 2016. V. 11 (6). e0158498.
48. McFarland L.V. Use of probiotics to correct dysbiosis of normal microbiota following disease or disruptive events: a systematic review . 2014. V. 4 (8). e005047.
49. Nagpal R. Mainali R., Ahmadi S. Gut microbiome and aging: physiological and mechanistic insights. *Nutr Healthy Aging.* 2018. V. 4. P. 267–285.
50. Nuriel-Ohayon M. Neuman H., Koren O. Microbial Changes during Pregnancy, Birth, and Infancy. *Front. Microbiol.* 2016. V. 7. P. 1–13.
51. Parkin K. , Christophersen C. T., Verhasselt V. Risk Factors for Gut Dysbiosis in Early Life . *Microorganisms.* 2021. V. 9 (10). P. 1–14.
52. Schippa S. Conte M. P. Dysbiotic Events in Gut Microbiota: Impact on Human Health . *Nutrients.* 2014. V. 6. P. 5786–5805.
53. Thursby E. Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J.* 2017. V. 474 (11). P. 1823–1836.

54. Tojo R. Suarez A., Clemente M. G. Intestinal microbiota in health and disease: Role of bifidobacteria in gut homeostasis . *World J Gastroenterol.* 2014. V. 20 (41). P. 15163–15176.
55. Tremaroli V. Bäckhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism . *Nature.* 2012. V. 489 (7415). P. 242–249.
56. Videlock E. Cremonini F. M. Meta-analysis: Probiotics in antibiotic-associated diarrhea. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics.* 2012. V. 35 (9). P. 1355–69.
57. Vijaya Kumar B. Vijayendra S. V., Reddy O. V. Trends in dairy and non-dairy probiotic products – A review. *J. Food Sci. Technol.* 2015. V. 52. P. 6112–6124.
58. Weiss G. A. Hennet T. Mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis. *Cell Mol Life Sci.* 2017. V. 74 (16). P. 2959–2977.
59. Zhang D. Yang X., Li D. Effects of Different Modes of Delivery and Feeding on Intestinal Flora of Newborns and Infants with Different Ages. *Iran J Pediatr.* 2019. V. 29 (4). - e88329.