

UDK 616-053.2:613.95+616-002+612.017.1:615.37

D.S. Yankovsky¹, V.P. Shirobokov², G.S. Dyment¹

The role of microbiome in the formation of child health (literature review)

¹Scientific Production Company O.D. Prolisok, Kyiv, Ukraine

²Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Modern pediatrics. Ukraine. 2019.5(101):64-111; doi 10.15574/SP.2019.101.64

For citation: Yankovsky DS, Shirobokov VP, Dyment GS. (2019). The role of microbiome in the formation of child health (literature review). Modern Pediatrics.Ukraine. 5(101): 64-111. doi 10.15574/SP.2019.101.64

The review is devoted to the microbiome interactions with physiologic and pathologic processes that have place during child organism development. Modern data concerning the questions of the microbiome formation in children are examined, beginning from the intrauterine fetus development and further during the process of ontogenesis. Characteristics of the microbiota content and functional activity in infants are presented. Influence of changed microbiota on the disease development in the child age is described. Analysis of the data available is performed with appreciation of medicines used for the improvement of microbiome health at different forms of child pathology.

No conflict of interest was declared by the authors.

Key words: microbiome, microbiota, metabolites, diseases, inflammation, dysbiosis, immunity, probiotics, prebiotics, synbiotics, enterosorbent.

Child microbiome and factors influencing its formation

More than 18 years have passed from the time when there was formulated the scientific definition of microbiome as a unique human organ, which comprises microbe communities of different ecologic niches [150]. Since then, the study of microbiome has begun with great progress. In particular, many investigations with very interesting results have been done in the framework of the Human Microbiome Project [244]. When realizing this project, a great number of microbiome characteristics has been obtained, microbiome has been shown to influence different processes of the human organism, including metabolic brain mechanisms [19, 35, 39, 40, 59, 63, 73, 77, 83, 226, 227, 245, 258, 268, 269, 275].

Of special interest are the questions of the microbiome formation in children, as the growth and development of the child organism and its health in further life depends on how this process is physiological.

Initial microbiome formation in the child biotopes has its characteristic specifics that significantly distinguishes from others tissues, organs and systems.

This process occurs mainly at the perinatal and infant age; it is under the influence of many factors, in particular, the state of mother microbiome, features of infant feeding, mother diet during pregnancy and breast feeding, quality of breast milk, application of medicamental therapy (especially antibiotics), the state of environment etc.

Recent experiments have cast doubt on the previous notions about sterility of the fetus during placental period. Classical conception that the first contact of the child organism with microbes occurs in maternal generative passages was shaken. In a number of studies, convincing evidences have been

obtained that the process of microbe system formation begins as early as during the period of intrauterine development of fetus due to the presence of unique placental microbiome in the organism of pregnant woman, which existence has not been even suspected not very long ago.

First information that the microbiome may be formed in mammals still before the birth appeared in 2008. Researchers from Complutense University of Madrid added milk with marked microorganisms into the food of pregnant mice. One day before estimated delivery date, the mice were underwent cesarean section in sterile conditions; in newborn mice, meconium was analyzed and marked bacteria were revealed in it [119].

In 2009, American researchers isolated bifidobacteria and lactobacilli DNA from placenta of 34 women [220]. As far as living microorganisms were not detected by cultivation on nutritional media, the authors supposed the translocation of nucleic acids through placental membrane. According to the researchers, nucleic acids, revealed in placenta, might promote much earlier development of Th-1-type immune mechanisms through activation of Toll-9-like receptor [220].

The ability of pregnant women microbiota to overcome placental barrier was convincingly proofed in 2012 by a group of scientists from the University of Valencia that discovered bacteria from the genera *Lactobacillus* and *Escherichia* in meconium of 20 newborns [100]. At that, lactobacilli dominated approximately in half newborns and escherichia prevailed in the other half. Dependence between lactobacilli and escherichia from different external factors and physiological features of mother organism were not clearly ascertained; however, the authors assumed that the content of newborn microbiome depended

on the life style of pregnant woman, her diet and physical activity [100].

Later, the presence of microorganisms in meconium was confirmed by other researchers [92, 178, 236]. The authors of these studies have shown that the predominance of opportunistic microorganisms in meconium was associated with the infant predisposition to allergic and respiratory diseases.

Transitory colonization of germ-free mice during pregnancy assured innate immunity maturing in their germ-free offsprings, which gave better defense against infections [90]. Infections play an important role in disorders of the child development; therefore, these results suppose that translocation of microbe products from mother to her fetus may be very important for the immunity maturation and, possibly, for the child development after birth.

In 2014, researchers from Texas children's hospital in Houston identified genetic sequences of bacteria from placenta in 320 women. Tissues were taken at once after birth on the inside of placenta, therefore, the samples did not contact with the microbiota of parturient canal. In these tissues, a surprisingly wide array of bacteria was discovered. This testifies to the existence of a unique placenta microbiome, which, undoubtedly, is very important for the fetus development and further formation of the child microbe system [20].

Metagenome analysis revealed five basic types of adult human microbiome: *Firmicutes*, *Tenericutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* and *Fusobacteria* [20].

Unexpected was the fact that these microorganisms differed from the women intestinal and vaginal micro-symbionts; they were identical to the bacteria widely present in the biocenosis of oral cavity. In view of such differences between placental microbiomes in women that carried a full term child and that had preterm child (up to 37 weeks of pregnancy), the conclusion was suggested that pathological placental microbiome might be a risk factor of the preterm delivery. Besides, there was shown that the content of placental microflora is under the negative influence of the infectious diseases, which the mother had before delivery; these are mainly infections of the urinary tract in the first trimester of pregnancy [262].

It should be noted that microflora of oral cavity was already found in amniotic fluid earlier. Thus, in 2002, fusobacteria and streptococci, identical to the microflora of oral cavity, were isolated from amniotic fluid of pregnant women with planned cesarean section. Then, the researchers supposed that amniotic fluid was infected with opportunistic microorganisms, because of their translo-

cation from oral cavity through bloodstream, and proposed to consider this phenomenon as a marker of pregnancy complications [32].

Recently, a group of Australian researchers from the Edith Cowan University and the University of Western Australia also confirmed the availability of microbes in placenta, amniotic fluid and newborn meconium. In these microbiomes, a wide spectrum of bacteria was determined that were widely spread on skin, in oral cavity and human intestine [236].

Undoubtedly, inherent placental microbes carry out a significant influence on the growth and development of the fetus and on its microbiome. This indicates more large influence of the woman microbiome on her child health than it was supposed earlier. Moreover, the results obtained are an additional evidence of the close interconnection between the organism local biocenoses; the last are united into a single microbe ecological system that takes part in different functions and reactions of other organs and systems and provides and maintains homeostasis.

Therefore, in normal conditions, child adaptation to the life in the world of microbes begins long before birth; furthermore, intrauterine microbe surrounding influences both fetus development and physiological state of birth as well as postnatal health of the child. Contact with symbiotic microorganisms already in the mother's womb is a major mechanism of the long-term adaptation of fetus and its immunological apparatus to the life in the world of microbes, where the newborn finds itself after the birth. In this connection, a matter of great consequence may be the improvement of woman microbiome well before pregnancy with maintaining its normal state during pregnancy and the period of newborn breast feeding, that is, in the periods, when the microflora of woman organism has the most effect on the establishment of the child microbiome. In addition, attention should be paid not only to the state of intestinal and vaginal biocenoses, but also to all other biotopes, including oral cavity.

Later on, during the birth and postnatally, the child becomes actively colonized with mother strains from other biotopes – intestine, vagina, skin, breast milk.

As H. Makino et al. (2013) have shown, mother intestine is the most important source for colonizing her child with physiologic microorganisms, in particular, bifidobacteria. According to the available data, naturally born healthy infants, acquire, during first three days after birth, from one to

seven bifidobacteria strains from mother intestinal microbiome [164].

Child gestational age is an important factor that influences the process of colonization with the formation of child microbiome. In premature infants, colonization of mucous membranes with symbiotic microorganisms passes frequently at a much slower rate; their biocenoses are more variable and with lesser diversity in comparison with healthy full-term children [85, 156, 164]. According to the available information, preterm birth may be connected with disturbed microbiome of mother [18, 51, 127, 206].

According to D.A. Chernikova et al. (2018), microbiomes in preterm children differ by their diversity depending on gestational age [51]. In such children, early colonizers of their biotopes are often opportunistic representatives of the genera *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Clostridium*, *Candida* etc. [5, 15, 17, 96, 118, 119]. At the same time, saccharolytic anaerobes from the genera *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*, usual for intestine of healthy full-term children, can not always be discovered in sufficient quantity in feces of preterm children [15, 164]. Delayed colonization and reduced diversity of intestinal microbiota in preterm children may be connected with their maintenance in aseptic conditions of intensive care units and delayed feeding *per os* [156]. Besides that, large application of antibiotics in such children also may be an important factor disturbing microbiota content [10, 11, 198]. In view of this, preterm children may be more susceptible to disorders of gastrointestinal tract functions with development of infectious diseases, for example, such severe pathology as necrotizing enterocolitis [11, 37, 53, 180].

Mode of delivery plays a noticeable role in the formation of adequate child microbiome. According to data available, the fecal flora of naturally born children is most similar to mother vaginal communities with dominance of the genera *Lactobacillus*, *Prevotella* and *Atopobium*. Contrary, in children with cesarean delivery, fecal bacterial content is mostly close to mother skin microbiota with dominance of bacteria from the genera *Staphylococcus* and *Corynebacterium* [94, 118, 156].

On evidence of H.E. Jakobsson et al. (2014), children with cesarean delivery (unlike naturally born) had much lower microbe diversity in intestinal biotope during first two years of their life with slow establishment of populations from the type *Bacteroidetes* and reduced Th1- response [115].

Cesarean delivery children are often colonized with potentially pathogenic clostridia species. Such children microbiome contains low quantity of bifidobacteria but bacteria of the species *Clostridium difficile* are significant and appear in intestine already at the first days of life [198]. At the same time, microbiome of vaginally born children contains rather high populations of bifidobacteria, in particular, the species *Bifidobacterium longum* and *B. Catenulatum*, with rare representatives of the species *Clostridium difficile* [156, 198].

Last years, rather interesting correlations were discovered between specific microbe taxons (especially from intestine microbiome) and the macroorganism genotype [35, 40, 59, 91, 136, 227]. One such association was observed between expression of mother gen fucosyl transferase-2 (FUT2) and the colonization of infant intestine with bacteria of the genus *Bifidobacterium*. Infants, born from mothers with absent secretion of this enzyme (FUT2-/-), had delayed intestine colonization with representatives of the genus [28, 154]. As is well known, this genus encodes main component adapted to metabolize oligosaccharides of mother milk [24, 28, 234]. It should be noted that bacteria *Bifidobacterium* play key role in maintaining infant health due to regulation of intestinal permeability and reduction of inflammation [52].

Last years, special attention has been given to the proliferation of bifidobacteria of the subspecies *B. longum. spp. infantis* in the newborn intestine. These bacteria are unique for the infant organism as they have in their genome a special cluster of 43,000 bp [86, 151, 152, 229]. This cluster contains 30 genes and four of them are coding enzymes that decompose breast milk oligosaccharides to monosaccharides [86, 134]. This group of enzymes contains sialyidase, fucosidase, N-acetyl- β -hexosaminase and β -galactosidase.

According to E. Rosberg-Cody et al. (2004), certain bacterial strains, in the content of healthy infant microbiota, may produce conjugated isomers of linoleic acid, which, as was shown, possess antitumoral and anti-inflammatory properties [216]. Infants born by cesarean section are devoid mother vaginal and intestinal microflora in their organisms; accordingly, such infants have much prolonged and unhealthy formation of biocenoses and more subjected to colonization by hospital strains, dysbiosis development and infectious diseases [4, 10, 11, 13, 18, 156, 277].

Therefore, early colonization is initiated by placental microbiome in uterus, but after birth, it is defined mostly by microorganisms that are trans-

located into the infant organism from vagina, intestinal tract and skin of mother [85].

The mode of infant feeding is very significant for the microbiome formation. Of great importance are the first portions of colostrum that enter into the infant intestinal tract immediately after the birth; it contains not only valuable nutritious, immune and bifidogenic factors, but also living microflora and plays a large part in the formation of physiologic microbiome [10, 45, 55, 66, 95, 110, 119, 146, 166, 179, 190]. It is estimated that 25–30% of infant bacterial microbiota comes from breast milk [193].

Oligosaccharides of breast milk play a special part in the formation of healthy infant microbiome with prevalence of physiologic bifidobacteria. Mother milk/colostrum comprises 5–23 g/l of oligosaccharides [143, 280], which, at lactose-reducing end, contain fucosyl and/or sialyl N-lactose-amine units [41]. Joining of these units leads to the creation of more than 200 different structures of mother milk oligosaccharides (HMOs), which distinguish by their size, charge and sequences [41].

HMOs are known by their anti-adhesive properties — they may bind pathogen bacteria preventing them from adhesion to targeted mucin oligosaccharides or epithelial cells [184]. In particular, anti-adhesive activity of free HMOs was described for pathogen bacteria *Streptococcus pneumoniae* [25], enteropathogenic *E. coli* [25, 56], *Listeria monocytogenes*, *Vibrio cholera* [56], *Salmonella fyris* [56], as well as for human immunodeficiency virus (HIV) [106]. Presumably, glycolipids and glycoproteins of woman milk also take part in defense mechanisms against such pathogens as *Pseudomonas aeruginosa* [153], *Noroviruses* [117], *Vibrio cholera* [18] and *Rotovirus* [273].

A number of molecules in mother milk and colostrum supplement innate immunity and may influence the content of child microbiome. Fatty acids and peptides in the content of milk belong to antimicrobial factors and some of them may be activated at partial milk digestion [203, 241]. Local and system immunity of newborn may also be modulated by such milk components as secretory IgA, lactoferrin, lysozyme, lipoprotein-lipase and soluble signal molecules [148]. Milk is well known by its inhibiting action on pathogen microbes, but it also exerts positive selective influence on symbiotic microbiota. Accumulating data testify that the child organism receives with mother milk living bacterial cells and products, which promote adjustment of tolerant responses in child [162, 199].

Earlier, an opinion has been generally accepted that milk of healthy women was sterile with the

possibility of its contamination only with skin microflora in the field of mammary gland, but lately a specific microbiome of breast milk was discovered. Its bacterial community, undoubtedly, performs the important function in the formation of child microbe ecologic system [28, 54, 79].

According to the results of a group of Spanish and Finnish scientists, healthy woman milk contains hundred species of different bacteria [167, 168]. At that, colostrum differs by the most diversity; it contains more than 700 microorganisms [190].

A. Donnet-Hughes et al. (2010) showed that dendritic cells of mucous membranes take part in the process of the microbiota translocation from the gut to tissues of mammary glands during the lactation period [66]. L. Fernandez et al. (2013) detected some mechanisms responsible for the translocation of mother microbiota into colostrum and breast milk. According to the authors, this takes place at the late pregnancy and during lactation period with the participation of gut monocytes [79].

In the normal condition, breast milk microbiota is an additional dose of physiologic bacteria that enters *per os* the child digestive tract [79, 119, 166]. These bacteria protect the child from infections and favor maturation of its immune system. On the other part, dysbiosis of mammary gland, due to proliferation of opportunistic microorganisms, may cause development of mastopathy and increase the risk of child contamination with harmful microflora [79, 172].

Breast milk of healthy woman is an effective natural synbiotic that plays an essential part in the formation and optimization of the immune system in postnatal period. During lactation period, microbe content in milk changes and species diversity decreases; this associates with increasing abundance of own infant microflora and, accordingly, necessity in the inflow of new species with breast milk lowers. At this stage, bifidogenic and immune factors of milk may have greater influence on the formation of microbiome and immune system. Breast milk is also an important source of secretory immunoglobulin (sIgA), which is important for infant with its passive neonatal immunity [172].

Time of the first breast feeding and further natural feeding substantially influence the formation of healthy child microbiome. During lactation period, physiologic bacteria considerably cumulate on the surface of nipples and areolae of gland in the feeding women; from here, they enter into the milk and in child digestive tract and favour the development of microbiome [45, 146].

Mode of child nutrition influences the integration of its microbiome into the functioning of child digestive system. This regularity was revealed on children of the first year that were maintained on natural or artificial feeding. Lactose and oligosaccharides, coming in with the breast milk, stimulate the growth of intestine physiologic microbiota with prevalence in it of the genera *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*; while, at artificial feeding with milk formula based on cow milk, streptococci, bacteroids and representatives of the family Enterobacteriaceae predominate in the content of gut microbiome.

Children on breast-feeding differ from the ones fed with adapted mixture formula. The first have more healthy gut microbiome with prevalence of bifidobacteria and lactobacilli, they are more stable to infectious and allergic diseases and have developed mechanisms of the immune response [18, 10, 11, 45, 95].

Depending on feeding, spectrum of bacterial metabolites in the gut and the character of metabolic processes may also change. At natural feeding, acetate and lactate prevail in the products of fermentation, while acetate and propionate dominate at artificial feeding. Protein metabolites (phenol, cresol, ammonia etc.) are largely produced in the gut at artificial feeding. At that, detoxicant function of the digestive system against these products is reduced. In children on milk formula, activities of β -glucuronidase and β -glucosidase are also higher, which is typical for some representatives of the genera *Bacteroides* and *Clostridium*. Such modifications of the microbiome content may result in both decrease of metabolic functions and direct damaging of the gut [276].

Therefore, neonatal age is a complex period of the microbiome formation; it plays a significant role in the infant adaptation to the life outside the mother organism. This process is influenced by a variety of factors; this explains why neonatal microbiome is so unstable and vulnerable to the action of endo- and exogenous influences. Available information suggests that the microbiome may partially be modified during the life, but initial development of this unique organ may have a particular importance for the formation of the microbiome central core that is stable to further modification. Dysregulation of microbiome in the initial, critical period during infancy may have long-lasting effects on the immune and metabolic functions and its repairing is very difficult [84, 177].

Changes of child microbiome during of ontogenesis

Microbiome formation continues several years and deeply depends on the state of the microbe ecology of mother organism, mode of delivery, feeding and maintenance of child. It is believed that the period from ovum fertilization to two-year age represents a critical window for the growth and development in the early childhood [214]. This prenatal and early postnatal period is characterized by rapid maturing of metabolic, endocrinous, nervous and immune ways that profoundly influence the growth and development of the child. All these ways develop jointly in strong interdependence and in dependence of internal and external signals [214].

In the view of a number of researchers, a rather firm configuration of steadily inhabited bacteria is achieved in children approximately in 4-year age [43, 161, 272]. At the same time, results of J. Cheng et al. (2015) testify that gut microbiota may often be unstable even in 5-year age [50]. According to the data available, main changes in the content of microbiome take place between 2-year age and sexual maturation of the organism [29].

Autogenic succession may be especially clear observed during first 2–3 years of child life; it passes several stages: before introduction of additional feeding, after introduction of additional feeding, after introduction into the diet of solid food, after termination of breast-feeding. Changes in the microbiome content may be influenced also by physiological processes in the child organism during its growth, such as establishment of immune and enzymatic systems, the change of hormonal background in juvenile age and so on [161].

Successive replacement of microbiota in early life plays an important role in the development and maturation of endocrine, mucosal immune and central nervous system [214].

P. Ferretti et al. (2018) have studied microbiome development from birth to 4 months after birth on 25 pairs «mother-child» [81]. They showed that the initial infant microbiome contained mother skin, oral and fecal strains; at that, the variability in each site was very large, in spite of the fact that all infants were born vaginally. According to the authors, transmission from skin and vagina was not long lasting and the child gut microbe content had the most similarity to the mother gut microbiome on the 4-th month after the birth [81].

American scientists observed some regularities of the microbiome formation in practically healthy children; they concluded that the diet changes and

child age had the most importance in this process [137]. Phylogenetic diversity of microbiome increases noticeably with the increase of child age and the introduction of additional food [137, 191]. The transfer of children to solid food leads to rapid and steady changes of their gut microbiota. First weeks after birth, the gut metagenome community contains mainly genes responsible for the fermentation of lactose and oligosaccharides of breast milk. However, with introduction of solid food, the authors noticed sharp increase of genes associated with decomposition of vegetable carbohydrates, degradation of xenobiotics, and synthesis of a large spectrum of short chain fatty acids (SCFA), vitamins and amino acids [137].

While determining the diet of a first year child, one should take into account the successive establishment of metabolic functions and its dependence on food. In normal state, mucin decomposition begins after 3 months of life, synthesis of coprostanol – in the second half-year, synthesis of urobilinogen – in 11–21 months of life. At the normal formation of gut microbiome, activities of β -glucuronidase and β -glycosidase, are rather low during the first year of life [68].

J.E. Koenig et al. (2011) studied gut microbiome in children over a period of more than two years. Studies, performed with the use of 16S rRNA pyrosequencing, showed that introduction of solid food into the diet of a child on breast milk led to the abundant increase of the type *Bacteroidetes* in their gut [137]. Other group of researchers, M. Fallani et al. (2010), with the use of fluorescent hybridization *in situ*, studied the content of gut microbiome in 531 children before weaning and 4 weeks after the first feeding with solid food. They found out significant increase of the species *Clostridium coccooides* and *C. leptum* together with lowered quantity of the genus *Bifidobacterium* [74].

Therefore, children food is an important regulator of functional microbiome diversity, which corresponds to different age-related stages of life. After weaning, child microbiome quickly becomes identical to adult microbiome; it gains new properties including possibility to use new complex high-energy nutrients.

Multitude of exogenous factors influence the formation of microbiome, however, hereditary features also should be taken into account. A number of studies have showed that, during first year of life, the microbiome content in twins has much more overlapping elements as compared with unrelated children. Clear evidence of relations

between genetic structure of macroorganism and its microbiome has been obtained on mice models [156]. These results extend our knowledge about genetic factors of macroorganism that influence the assemblage of gut microbiome. For example, under the influence of environmental parameters, microbiome in genetically susceptible children may promote health disorders connected with immunity [156].

Therefore, a number of factors promote population of child biotopes with physiologic microflora, which reinforces child adaptation to new more aggressive environment.

Connection of child microbiome with immunity and other organs and systems

The formation of infant microbiome takes place in the close relation with development of mucosal and systemic immunity, physiologic maturation, nervous and endocrinous systems. Therefore, inhabiting biotopes with physiologic microbiota prevents from disturbances in homeostatic links, and from pathologies associated with vitamin and mineral metabolism, in particular, rachitis, iron-deficient anemia etc. [39, 93, 94, 107, 130, 189, 199, 233, 276].

Physiologic microbiota provides stimulation necessary for development of fully functioning and well-balanced immune system; the last includes not only homing of B- and T-cells to lamina propria, spreading and maturation of IgA-plasmacyte and production of IgA, but also induction of tolerance to safe food and microbe antigens [43, 63, 87, 96, 172, 268, 275].

Newborns and early age children are characterized by transient immunodeficiency, which concerns mostly humoral immunity. To some extent, this accounts for more frequent microbiome anomaly in the first year children as compared with older ones. Physiologic insufficiency of local gut immunity during first three months of child life is partially compensated by intake of protective factors with breast milk, such as sIgA, lysozyme, lactoferrin, complement, properdin, lactoperoxidase etc. [116, 188, 205].

Training of adaptive immune response to microbe colonization needs the growth of subset of inherent lymphoid cells and all lymphoid tissue with establishment of mutualistic relationship between macroorganism and its microsymbionts.

Initial microbe colonization leads to substantial changes of mucosal and system immunity. Maturing of the immune system is initiated still at the stage of fetus, but it grows and transforms

very dynamically during the first months after birth and in childhood [184]. Newborns are characterized by the low expression of jointly stimulated molecules, low differentiation of dendritic cells, weakened phagocytosis, poorly developed interactions between dendritic cells, T-lymphocytes and regulatory T-cells as well as low cytotoxic activity of T-cells [141, 247]. Mother immunoglobulin G penetrates into fetus through placenta; due to its activity, newborn has no specific immune reactions, including local immunity of mucous membranes owing to minimal levels of IgA [129]. These features of the newborn organism were convincingly confirmed in experiments on animals. For example, in the germ-free mice and mice in the first days of microbe colonization, Peyer's plaques have less size, lamina propria contains low cell number and also lower levels of CD4⁺ and CD8⁺ T-lymphocytes [72, 257]. Besides, mucous membrane of the small gut rarely contains intra-epithelial lymphocytes and plasmatic cells, the levels of secretory immunoglobulin (sIgA) are considerably lowered and expression of genes and markers of gut macrophage activation are suppressed [72, 176].

Using germ-free animals, M. Gomez de Agüero et al. (2016) showed considerable influence of mother microbiota on the early postnatal development of innate immunity in descendants. According to their results, monocolonization of germ-free animals during pregnancy with the strain *E. coli* HA107 influenced the quantity of innate gut leukocytes in newborns in early postnatal period; as compared with sterile control, this also increased innate lymphoid cells (ILC) in small intestine and their general number, especially cells from subset NKp46⁺RORγt⁺ ILC3 [90].

Last year studies on experimental animals brought in some clarity into our understanding how gut microbiota within several days of colonization may program gut mucous membrane to maintain balanced immune response [69, 71, 87]. Results of these studies indicate that, during early stage of life, the biology of macroorganism undergo rather large changes in answer to colonization with microbiota. According to S. El Aidy et al. (2016), macroorganism encounters antigenic stimuli that evoke responses, including activation of genic network associated with different diseases [73]. Therefore, anomalous shifts in the process of infant development at this early phase may have long-lasting effects on the state of its health [58]. Accumulated data suggest singular critical window in the early stage of life; during the window,

all full-scale organization of adequate homeostatic symbiosis of macroorganism with its microbiota is permitted. During this period, disturbed responses may lead to the development of pathologies in further life [44].

In postnatal period, digestive system maturing is of a large value; this system, like the immune one, should be prepared for the creation of mutualistic relations with microbiome. Studies on experimental animals showed that microbiota initiates significant changes of gut morphology [235]. These changes affect the architecture of villi, crypt depth, stem cell proliferation, blood vessel density, mucous layer properties and maturing of lymphoid tissue that is connected with mucous membrane.

In germ-free mice, in the distal part of small intestine, villi are longer and thinner than in conventional animals. Besides, at the absence of microbiota, villi have less complex vascular network, and gut crypts are less deep and contain less quantity of growing stem cells. In germ-free mice, mucous is thinner with changed properties. Such animals also contain very small quantity of isolated lymphoid follicles, immature Peyer's plaques and immature mesenteric lymph nodes (MLN); the levels of both immunoglobulins A (IgA) and antibacterial peptides (AMP) are lower than in conventional animals. In conventional animals, polysaccharide A (PSA), produced by *Bacteroides fragilis*, induces CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺-regulatory T-cells (Treg), which possess anti-inflammatory effect and suppress immune responses. On the opposite side, other studies showed that segmented filamentous bacteria (SFB) could induce the growth of T-helper 17 cells (TH17) that exert anti-inflammatory effect [235].

Microbiome plays a critical role in nutrient production and macroorganism metabolism and influences digestion, absorption and energy storage. At the beginning of life, all metabolic paths that are connected with development may be disturbed; immature microbiota cannot protect gut barrier, which may lead to blunting villi, mucous degradation, increased gut permeability and immune response abnormality. Such gut disorders may result in dysfunction of gut environment, chronic system inflammation, infectious diseases and diarrhea; each of these factors may disturb child development. Dysbiosis may also disturb metabolism of key nutrients, including essential amino acids, with violation of the normal child development. At defective content of gut microbiome, normal production of growth hormones may change [214].

Central place in the functioning of intestinal microbiome and its interaction with macroorga-

nism is possessed by mucous layers. Mucus thickness depends on the concentration of microbiota that regulates mucin production by special gut cells in small and large intestines. Obligate gut microbiota, presented in neonatal age mainly by bifidobacteria, actively decomposes complex O-linked glycans (mucins) and produces short chain fatty acids (SCFAs), which serve as the important source of energy and anti-inflammatory factor, and are toxic for many pathogens.

Large intestine epithelial cells utilize SCFAs, especially butyrate, which supply them by 60–70% with energy and promote strengthening of the mucous membrane barrier [78]. SCFAs also regulate the metabolism of glucose and lipids and immune functions [177]. Butyrate, acting as the inhibitor of histone-deacetylase, takes part in producing and maintaining the level of regulatory T-cells [177].

Intestinal barrier is very important for adequate functioning of the intestine and its formation largely depends from microbiota. As is well known, the main function of the intestinal barrier is regulation of absorption of nutrients, electrolytes and water from intestinal lumen into bloodstream together with nonadmission of pathogen microbes and toxins [131]. Intestinal barrier regulates molecular exchange between the environment and macroorganism through influence on the balance between tolerance and immunity to one or several antigens. These functions are maintained by a number of structures, including mucous layer and monolayer of epithelial cells connected by tight joints. Mucous layer, containing sIgA and antimicrobial peptides, covers the epithelial cells. It facilitates nutrient transport and serves as a protection from bacteria invasion [121]. Intestinal barrier is in the close and permanent interaction with gut microbiota, which disturbances may have serious consequences for maintaining key barrier functions [17].

Impermeability of the internal mucous layer for microbes is ensured by high concentration of antimicrobial peptides and secretory immunoglobulins as well as tight junctions.

Tight junctions are complex protein structures, composed of transmembrane proteins — claudin, occludin and triculin that are joined with plasmatic membranes through ties between epithelial cells with formation of barrier between cells [57]. The structure of intestinal barrier in fetus was shown to form already to the end of the first trimester of pregnancy [131]. Epithelial cells with microvilli, goblet and enteroendocrine cells appear

at the 8-th week of pregnancy, while tight junctions may be found out at the 10-th week. Functional development of intestinal barrier continues after birth and the diet influences it considerably [249]. Disturbance of this process leads to the underdevelopment of intestinal barrier, which may be observed in premature infants, and predisposes to the dysimmunity. Early in life, development of gut microbiota and intestinal barrier overlap. Intestinal barrier, functioning as protection, may be modified by gut microbiota and its metabolites. Mechanisms, underlying epithelial barrier regulation, are rather complex and examined only partially.

Physical and psychoneurological child development depends on the content of microbiome. Relations between development of gut and brain in infants is a field of modern studies of microbiome. Early microbiota colonization was shown to go in parallel with neuron migration. Establishment of microbiome during the first 2–3 years of child life coincides with critical periods of brain growth, myelination and synaptic brain clearance. Therefore, optimization of microbiome establishment in the early age is an important factor that favours the physiological development of brain [108, 209, 223, 256, 269].

Thus, the microbiome processes, taking place at the beginning of life, are the foundation for forming and maintaining child health. Therefore, we should have perfect approaches to optimize the formation of physiologic microbiome, which regulates interactions between the organism and environment and promotes the optimal child adaptation to the extrauterine conditions of life.

Any changes in the microbiome formation are a serious risk of diseases in early child life and their chronical passing in the future.

Microbiome disturbances and their link with pathology in the child age

At present, increasing number of specialists considers microbiome as a modulator of diseases. Last year, a number of works has appeared with detailed description of functional relationships between microbiome disturbances (dysbioses) and a broad spectrum of pathologies in children [3, 4, 18, 32, 137, 160, 187, 199, 207, 214, 216].

In adults and children of the older age, dysbiotic disturbances are caused by modification of already formed microbiome, while, in children of early age, disbioses take place against the background of abnormalities of natural rather fragile initial microbiota. Neonatal microbiome distur-

bances became chronic very rapidly; and pathological microbiome, generated in the early age, cannot be easily normalized later on.

The formation of infant microbiome is inseparably tied with the ontogenetic development of mucosal and systemic immunity; therefore, dysbiosis leads to disturbances not only in the microbiota content but also in the system of immune response to microbe antigens.

Children on artificial or early mixed feeding are devoid of protective factors of breast milk. Development of dysbioses, allergies and other pathologies is observed much frequently in such infants. Atypical gut colonization during first weeks of infant life increases its susceptibility to immune and metabolic diseases [149, 188].

In particular, replacement of natural child feeding by artificial mixtures lead to the failure of the synthetic and exchange properties and to the impaired supplying of trophic and energetic substrates to the gut epithelium. Modification of the microbiome content results in overload of immature child immunity with microbe antigens, which may favour the formation of an inadequate immune response, inflammation and metabolic disorders.

Mother microflora plays a key role in the formation of infant microbiome; accordingly, the state of women microbe system is the main factor that defines both establishment of physiological microbiome in child and development of dysbiotic abnormalities. Immunologically immature organism of the newborn in the neonatal age, that is, during the period of most active formation of its own microbe ecosystem, is completely dependent on the functioning of mother indigenous microbiota. Her healthy oral, vaginal, gut and skin microflora are supported by microbes and prebiotic factors of breast milk; all these factors promote selective proliferation of most physiologic microbe symbionts in the child biotopes, and favours postnatal adaptation of newborn organisms [4, 14, 16, 18, 19, 88, 188, 198].

At the same time, pathologic changes of mother microbiome are a source of child infection with microflora dangerous for his health. This indicates how responsible attitude a woman should have to her health and the state of her microbiome in order to prevent dysbiotic complications in her child.

In connection with complicated multifactorial and multistage process of physiologic microbe colonization, newborns and small children are the most vulnerable contingent of population, as they may have serious microbiome disorders. Even microflora of healthy child that receives mother milk may change significantly. However, at natural fee-

ding, infants receive with breast milk a wide spectrum of immune and microbiological protective factors that optimize the formation of healthy child microbiome and effective immune system.

Vast biologic potential of microbiome and its unique role in generation and maintaining of child health is well understood. Close attention of scientists and medical practitioners to this question should help optimizing the process of establishing microbe system in peri- and postnatal periods in order to maintain it in healthy state in future.

Strong changes of microbiome at the early stage of its formation are the most dangerous, as they may lead to unfavorable consequences not only in child age but also at subsequent stages of human life. In particular, it is supposed that microbiome damage owing to treatment with antibiotics in early child age may significantly increase the risk of gut inflammatory diseases in mature age [198, 226, 230, 258].

The influence of environmental factors on the gut colonization of children born by cesarean section is highly important. On such infants, researchers have observed delayed formation of stable bifidoflora and high levels of opportunistic bacteria of the species *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus haemolyticus* [15, 17, 228]. Such microbe contamination disturbs the processes of immune adaptation, lowers gut protective barrier and favours development of inflammation.

Formation of gut microbiome at early stages of the child growth is of great importance for the prophylaxis of obesity [228]. Some studies have identified differences in microbiome content associated with body weight [174]. For instance, longitudinal study by M. Kalliomaki et al. (2008), with the use of modern molecular-genetic methods (FISH) and flow cytometry, has shown relation between lowering of bifidobacterial species during the first year of life and obesity in such children in the age of 7 years. In children with extra mass in the age of 6 to 12 months, the level of infantile bifidobacterial species (*B. breve*, *B. infantis* and *B. longum*) was lower then in children with normal body mass. Also in children with obesity in 7-year age, the level of bacteria *Staphylococcus aureus* was significantly higher on the first year of life as compared with children that had normal indexes of body mass at the school age [127].

Physiological colonization of child biotopes plays an important role in preventing allergy [95, 105]. A number of studies has describe the

content of microbiome in infants with developed allergic disturbances [38, 124, 197].

Studies by A. Shreiner et al. (2008) have revealed marked differences in the content of gut microflora in healthy and allergic children [232]. Normal microflora inhibits the process of food histidine decarboxylation, which lowers the synthesis of histamine and reduces the risk of food allergy in children. Antiallergenic properties of healthy microbiome are supplemented with strong barrier function of epithelial biofilm that prevents penetration of food allergens and toxic substances through gut wall into blood flow.

Epidemiological researches showed greater risk of allergic diseases in children born by cesarean section [105]. The cause of this may consist in colonization of infant gut with skin or hospital microflora, for example, with opportunistic bacteria of the genera *Staphylococcus* and *Acinetobacter*; their redundant populations disturb normal establishment of the immune system. Late beginning of infant breast feeding and prophylactic using by mother of antibacterial preparations also have negative effect.

Epidemiologic studies have shown that microflora of atopic and non-atopic infants is different. M.A. Johansson et al. (2011) revealed that infants of non-allergic parents are more frequent colonized with lactobacilli; that indicates the role of mother microflora in protection from allergic diseases. In gut microbiome of healthy children, bifidobacteria of the species *B. longum* and *B. breve* are prevalent, while children with eczema have colonization of adult type with domination of the species *B. adolescentis*. In newborns, having gut colonized with bacteria of the species *Staphylococcus aureus* and *Clostridium difficile*, atopy was observed in later childhood [120].

Gut microbiota provides strong source of stimuli for macroorganism. The path for the first allergic reactions often arises in gastrointestinal tract, and food allergy represent common problem in children with atopic eczema. Violation of barrier in gut mucous membrane lead to increased penetration of antigens through mucosal barrier and to the change of transfer pathways. This results in the formation of distorted immune responses and the release of proinflammatory cytokines with further impairment of barrier functions. In turn, such inflammatory state lead to increased gut permeability; thus, in genetically susceptible individuals, we observe vicious circle of self-amplified allergic responses and dysregulation of immune reaction in response to antigens.

Preterm delivery is the primary cause of neonatal mortality and child disability. Premature newborns distinguishes by immature digestive tract and insufficient preparation of mucous membranes for their colonization with physiologic microflora; they make a group of increased risk for development of necrotizing enterocolitis, sepsis, meningitis and other serious diseases with high rate of fatal outcome [137, 159].

Index of infant mortality was significantly reduced due to a number of organizational measures in the system of mother and child health protection, such as organization of intensive care units in maternity homes with their modern equipment. However, this gave rise to new complex problems, connected with wide using of invasive diagnostic and therapeutic methods. As a result, new forms of nosocomial infections appeared, in particular, bacteremias, associated with the use of catheters, and pneumonias after artificial ventilation of the lungs.

Premature infants have much higher risk of complications after birth, including necrotizing enterocolitis. It is supposed that a risk factor of necrotizing enterocolitis is disturbed gut microbiota, which favours increased susceptibility of premature infants to systemic infections [37, 53, 61, 180, 182, 192, 228, 261].

Necrotizing enterocolitis (NEC) is a very dangerous life disease, provoking gut necrosis; it may also affect other organs, including brain with consequences much serious than damages of digestive system. NEC affects 5–10% infants that were born with the mass less than 1500 g. In spite of progress in child care, this disease is lethal in about 30% cases [82] and is associated with prolonged intellectual disability.

M. Hallstrom et al. (2004) detected in gut microbiome of newborns with necrotizing enterocolitis high concentrations of opportunistic microorganisms from the genera *Enterococcus* and *Candida* that, according to the authors, may play an important enteropathogenic role in the course of the disease. At that, microbiome of infants that were prematurely but normally born contained much less populations of opportunistic microorganisms as compared with premature infants born by cesarean section [99].

Breast milk is a rather effective means for prophylaxis of necrotizing enterocolitis; it facilitates gut colonization with helpful microflora, which exerts health-improving function on mucous membrane and raises the protective function of the organism.

Premature infants are frequently delivered by cesarean section; they are given antibiotics and may have problems with feeding. Moreover, premature infants have functionally immature digestive tract with low level of acidity in the stomach, as a result of insufficient secretion of gastric acid, and they need more frequent feeding. These circumstances lead to increased content of potentially pathogenic bacteria in gastrointestinal tract and to lesser microbe diversity in such children in comparison with full-term infants [27, 48].

Low body mass at birth is an important risk factor of neonatal mortality and various diseases; this is caused by immaturity of immune system and barrier mechanisms of infant gastrointestinal tract as well as frequent using of invasive diagnostic and treatment procedures.

Premature newborns kept in intensive care units may contain a special microbe flora, which is substantially modified and with higher levels of opportunistic species, as compared with the microbiota of full-term infants. In microbiome of premature newborns, J.C. Madan et al. (2012) revealed, among facultative anaerobes, prevalent staphylococci of the species *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*, enterobacteria of the genus *Klebsiella* and enterococci, while clostridia were widespread among obligate anaerobes [159].

At violation of gut microbiome establishment, direct bilirubin, released with bile, undergoes enzymatic action of β -glucuronidase from intestinal wall with the producing of toxic unconjugated (non-direct) bilirubin. The last is absorbed in intestine, enters blood flow and may increase intoxication and jaundice, which is especially dangerous in newborns so as ductus (Arantius) venosus is still functioning in them [188]. The processes of calcium and iron absorption, synthesis of many vitamins and assimilation of D- and E-vitamins are also disturbed.

It should be taken into account that the microbiome destabilization lead to lowering of its detoxication properties; accordingly, loading on child liver significantly increases and may result in hepatocyte damage and development of hepato-biliary pathology.

Child pathologies are a serious problem of neonatology and pediatrics. Child organism substantially differs from the adult one by the structure and functions of different organs and systems with continuous morpho-functional changes, associated with growth and development; accordingly, child organism has greater susceptibility to infectious factors.

According to WHO, infectious diseases make up about 63% among causes of mortality in children [1, 15].

Infectious pathology of the fetus and newborn occupies one of leading places in the structure of morbidity and mortality during neonatal period. Treating perinatal infections of newborns with antimicrobial preparations that traditionally are used in neonatology (mainly cephalosporins and aminoglycosides of the third generation) lead to marked disturbances of the process of gut colonization. At that, studies testifies gut colonization with bacteria, resistant to utilized antibiotics (enterobacteria, enterococci, staphylococcus et al.), as well as fungi [11, 12].

Opportunistic fungi of the genus *Candida*, which can be considerably stimulated with medicamentous therapy (especially antibiotics), frequently become a danger to the life of premature infants. Causative agents of neonatal candidiasis possess very high pathogenic potential; they can provoke sepsis and severe neurologic diseases in premature infants [34, 159, 163, 187].

The risk of invasive mycotic infections is much higher in premature infants with very small body weight at birth if they receive antibiotics in the complex of intensive therapy. Metagenomic analysis of microbiome of newborns with small body mass determined high concentrations of aggressive fungus species from the genus *Candida* in their gut biocenosis, which possess high invasive activity [145, 165].

In biocenoses of children with very low body mass, after antibiotic therapy there was observed poor species diversity of bacterial flora with predominance of antibiotic resistant bacteria, in particular, representatives of the species *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecium*, which in many cases may become an etiological factor of sepsis [159, 161, 180, 218].

At present, there is not a single antibacterial preparation, which could act only on pathogenic microorganisms and do not affect indigenous flora. Gut microbiocenosis disturbances, associated with the use of antibiotics, lead to lowered resistance to the organism colonization; this creates favorable conditions for both infection of a patient with exogenous nosocomial strains and raised virulence of opportunistic autoflora.

Scientists from Wageningen University (the Netherlands) showed that using antibiotics in mother or child interferes with the formation of microbiome even at breast feeding of the infant. In their gut microflora, such infants contained predominantly enterococci, clostridia and escherichia with the complete absence of bifidobacteria [76].

Frequent antibiotic usage in child age is associated with increased risk of the resistance to anti-

biotics [185]; this may occur due to the changes in microbiome and may predispose to the increased risk of diseases, including obesity [30] and inflammatory gut diseases [270].

Antibiotic-associated diarrhea (AAD) is an example of the negative influence of antibiotics on the infant organism. Most researchers suppose that etiologic factor of AAD is clostridia, in particular, the one of the species *Clostridium difficile*. This microorganism gives about 10–20% cases of AAD [23, 64].

French researches, on basis of their results, came to the opinion that antibacterial therapy not always lead to the newborn colonization with clostridia. These microorganisms overfill all hospital environment, which, in most cases, is the source of child colonization [80]. On the contrary, according to S. Matsuki et al. (2005), infection of newborn with clostridia in maternity hospital takes place from mothers. It has been established, that 50–70% newborns may play a role of the carriers of the species *Clostridium difficile*, which may be connected with low colonization resistance of the intestine in the children of early age [169]. Intake of antibiotics may selectively increase the aggressive potential of clostridia and favour the development of the disease.

As was shown, besides *Clostridium difficile*, other microorganisms may also be causative agents of antibiotic-associated diarrhea in newborns and early age children, for example, representatives of the species *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella sp.*, *Klebsiella oxytoca*, fungi of the genera *Candida* etc. [228]. At that, according to Y.G. Kim et al. (2017), some clostridia species effectively protect infant digestive tract from colonization with pathogens [133].

Epidemiological studies, performed by Denmark scientists, testify that using antibiotics in early childhood is an unfavourable prognostic factor for the development of some gut inflammatory diseases. 500 thousand newborns were included in a perspective study, during which all volume of antimicrobial therapy was taken into account. The analysis showed that morbidity from Crohn's disease substantially increased in infants that were given antibiotics in the first years of life. Besides, the risk of the disease increased proportionally to the number of courses of antibiotic therapy [112].

In spite of life-saving functions of antibiotics, accumulated data suppose that early and repeated using of antibiotics and, possibly, other medications in the child age is an important factor influencing the microbiome, which may increase the risk of further diseases.

The state of child microbiome may be associated with the risk (at a later time) of many serious diseases, in particular, chronic intestine disease, endocrine, autoimmune, allergic and other pathologies. Special attention of specialists is drawn by the possible relationship between changes of microbiome in children and development of mental pathology. For instance, autism has been associated with differences in the content of microbiome [108, 209, 223, 245, 278].

It is known that brain possesses extensive metabolic ability during childhood; it makes up 5–10% from total body mass and is responsible for almost 50% basic metabolic energy of the body, and is especially sensitive to lowered energy consumption [214]. Due to the ability of gut microbiota to regulate the quantity of incoming energy, microbiome may play a regulatory role in the development of the nervous system during first years of child life. Parallel maturing of both microbiome and CNS in early life testifies the possibility to promote physiological development of nervous system in children through optimization of microbe establishment [223, 269].

Some works show that microbiome plays a role in the immune response at vaccination [63, 279]. At vaccine introduction, higher quantities of bacteria from the type *Actinobacteria* and *Firmicutes* were associated with much strong humoral and cellular response, while relatively high numbers of *Proteobacteria* and *Bacteroidetes* were associated with reduced responses [102, 109].

Numerous studies of the last decade convincingly testify that the establishment of healthy microbiome in child is an important factor for the formation of normal immune system and prevention of many chronic diseases. That is why, measures, oriented at optimization of microbiome processes in early childhood are of urgent interest for microbiologist, neonatologist and pediatricians.

Modern approaches to optimization of microbiome formation and its maintaining in children

Probiotics take up a special place among means used to optimize formation of healthy microbiome in early child age.

Already in XVIII century in the Netherlands, cultured buttermilk was proposed for feeding sucking children that suffered from dyspepsia. Later on, a number of products for child nourishment appeared that were enriched with cells of lactococci [31]. With development of microbiology and methods of bacterial therapy, increasing data confirmed beneficial effect of lactococci and bifido-

bacteria on the health of suckling children; this favoured the production of large assortments of child products that contained these microorganisms [144].

In recent years, employment of probiotics in neonatology and pediatrics significantly increased. Results of researches show beneficial effect of some probiotics on the course of a number of gut diseases; they may be used with benefit at diarrhea, food allergy and other types of pathology [8, 12, 15, 37, 53, 135, 140, 180, 237, 258, 281].

Despite all complications of postnatal microbiome formation, this microbe organ in the stage of its formation may be much easier restored to the normal state as compared with microbiome restoration in older children and adults.

Choice of probiotics for newborns and small children has a key importance to get positive results. «Child» probiotic must have a number of biologic properties, and, first of all, reliably proved its safety. To prevent remote undesirable effects on the child health, one should not routinely use many probiotics containing microorganisms, which are not typical for child microbiome, as well as many additional ingredients of non-microbe origin. Of importance is optical configuration of the used substances. It is well known that L(+)-lactic acid is physiological for the human organism. And, on the contrary, D(-)-lactic acid is much worse tolerated, as it firstly transforms under the influence of D-2-hydroacid dehydrogenase and only thereafter may be assimilated by the organism [19]. Entering into child organism, D(-)-lactic acid may provoke acidoses, especially in small children [208, 209, 252].

Nowadays, results available show reasonability of using probiotics to improve microbiome in newborns and small children.

Probiotics, based on saccharolytic bacteria of the genera *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, are mostly used in neonatology and pediatrics, which, foremost, is accounted for by non-pathogenic profile of these microorganisms. Besides, such probiotics possess a number of other useful properties, which, in particular, include xenobiotic detoxication [12, 171], vitamin biosynthesis [14, 13, 15, 101], useful metabolic effects [17, 19, 135, 181], positive influence on the transit of intestinal contents [170], competition with pathogenic bacteria for nutrients and binding sites [19, 47], modulation of the immune response [19, 173].

Probiotics became wider used for prophylaxis of necrotizing enterocolitis, which is characterized by high mortality rate in premature newborns with low body mass at birth [37, 53, 140, 180, 194,

254]. This disease quickly affects gut mucous membrane, with removing off some parts of it. Breast milk is a rather effective means for preventing necrotizing enterocolitis; it favours gut colonization with useful microflora that improves health of mucous membrane and increases protection of the organism. To increasing favourable influence of breast milk, probiotics may be used orally.

In newborns that do not receive breast milk, enrichment of the diet with probiotic additives, which optimize the process of healthy microbiome formation, is very important for preventing necrotizing enterocolitis. Many studies showed efficiency of probiotics applied for this purpose [53, 89, 140, 147, 157, 194, 217, 218, 224, 254, 255].

Metaanalysis of 9 randomized, placebo-controlled trials with inclusion of 1425 premature newborns showed that probiotics appreciably lowered frequency of necrotizing enterocolitis in children; besides, their usage also significantly lowered mortality from this disease in children with body mass less than 1000 g at birth [22]. The authors of the metaanalysis are persuaded in the usefulness of applying probiotics in premature children for prophylactic purposes.

Randomized trial was carried out in Taiwan on 367 children with very small body mass at birth; it showed that, additionally to breast-feeding, everyday twofold intake of probiotic, containing strains of the species *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium infantis*, lowered frequency and severity of necrotizing enterocolitis [157].

Another placebo-controlled trial was performed in perinatal center Shaare Zedek (Israel) on 72 infants with very low body mass. The infants were given probiotic mixture from the species *Bifidobacterium infantis*, *B. bifidum* and *Streptococcus thermophilus*; necrotizing enterocolitis was diagnosed only in 3 infants (4%), while in control group (n=73) with infants on breast or mixed feeding, 12 (16,4%) infants were diseased. At that, severe form of necrotizing enterocolitis (stage 2 or 3 according to Bell-test) was in 1 infant from probiotic group, while 10 such cases were diagnosed in control group among 73 patients (14%) (P=0,013) [37].

Japanese scientists in their review have summarized data of clinical trials on application of probiotic strain *Bifidobacterium breve* M-16V in premature newborns [271]. To estimate the protective effect of the strain in prophylaxis of necrotizing enterocolitis and other infectious diseases in premature newborns, there was performed clinical trial with participation of 338 children with very

low body mass (total time of trials was 5 years). The children were given the probiotic *B. breve* M-16V in doze 10^9 cfu/day from the first hours after birth; control group (226 premature children) were not given the probiotic. As it turned out, the frequency of necrotizing enterocolitis and total frequency of infectious diseases were reliably lower in the group receiving bifidobacteria as compared with control [271].

G. Deshpande et al. (2007) carried out meta-analysis of randomized, controlled trials and showed that prophylactic application of probiotics in premature newborns can lower frequency of necrotizing enterocolitis by 30% [61]. Thus, results of many researches convincingly testify that probiotics based on physiologic bacteria may serve as an effective measure for preventing necrotizing enterocolitis and other infectious diseases in premature newborns.

Studies have shown positive effect of probiotics on the dynamics of growth and weight in children. For example, in a twice-blind study, performed on 105 infants of 0–2 month age, infants were given milk formula, containing probiotic strains *Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC 53103 (10^7 cells/g); they better grew and gained weight as compared with infants that were given the same diet but without addition of probiotic [248]. In other study, the authors showed that fermented milk, containing lactobacilli *L. acidophilus* (10^8 cells/g), improved growth and weight indexes in children [221]. These results were explained by increased food conversion and, as a result, improved digestibility of food ingredients.

Placebo-controlled studies showed that full-term infants, which, from the first day of life, were given probiotic with *Lactobacillus plantarum*, had colonization of mucous membranes with lactic-acid bacteria that inhibited proliferation of opportunistic gram-negative flora predominating in children on placebo [213].

Well demonstrated is clinical efficiency on children of some probiotics in treatment of lactose intolerance [201], antibiotic-associated diarrhea (AAD) [19, 23, 33, 64, 123], atopic diseases [77, 114, 122, 124, 125, 126, 211, 240] and rotavirus gastroenteritis [195].

In the metaanalysis, G. Bernaola Aponte et al. (2013) showed that probiotics might be an effective means at chronic (persistent) diarrhea in children. Inclusion of probiotics based on physiologic bacteria into treatment schemes decreased stool frequency and duration of diseases. Unfavourable side effects of used probiotics were not detected in the study [36].

Cohrane Systematic Reviews [123] showed efficiency of some probiotics in preventing antibiotic-associated diarrhea (AAD) in suckling children. Analysis of 16 trials with participation of 3432 children allowed concluding that dozes of probiotic bacteria higher than 5×10^9 cells/day reliably lowered risk of AAD. In some trials, prophylactic effect against acute gut diseases in infants was shown for bifido-containing probiotics [23, 237]. The authors emphasize that the effect of preparations administered depended on the used strains and dozes.

Three-strain probiotic mixture was more effective in treating early age children, which appeared in decreased acuity of diarrhea and in lowered stay in a hospital [605].

According to L. Vitetta et al. (2014), probiotics at inflammatory gut diseases in most cases gave positive effect [251]. X.L. Liu et al. (2013) testify that administration of probiotics to children of early and preschool age resulted in lowered probability of diarrhea [158].

In randomized, double-blind, placebo-controlled trial with participation of 742 hospitalized children, Hojsak et al. (2010) revealed lowered of risk of nosocomial infections of gastrointestinal tract and respiratory airways in the group of children that every day were given a probiotic strain of the species *Lactobacillus rhamnosus* in 100 ml of cultured milk [104]. In another randomized, double blind, placebo-controlled trial with participation of 624 children (1–4 years), Szazawal et al. (2010) showed lowering rate of dysentery and respiratory infections in the group of children that during a year were given the culture *Bifidobacterium lactis* with milk [225]. According to systematic review of J.A. Applegate et al. (2013), inclusion of probiotics into the therapy of acute diarrhea in children younger than 5-year reduced diarrhea duration and stool frequency beginning from the second day of the disease [26]. N. Phavichitr et al. (2013) showed that probiotic, containing species *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum*, in the therapy of children hospitalized with acute diarrhea led to shortening of their hospitalization [202]. H. Szajewska et al. (2013) in their metaanalysis evaluated 15 randomized clinical trials with participation of 2963 children with acute gastroenteritis; they showed that intake of the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* (LGG) lowered duration of diarrhea [238].

Some probiotics based on lactobacilli could decrease the risk of gastro-intestinal colonization with fungi of the genera *Candida* with further in

premature newborns from the intensive care unit. Children that were given probiotics had lesser neurologic abnormalities during first year of life as compared with the control group [215].

Increasing data indicate higher effectiveness of polyspecies probiotics. Clinical trials showed that such probiotics were more effective when treating children with antibiotic-associated diarrhea [242].

According to modern recommendations, all patients that were given antibiotics should take a course of probiotic prophylaxis. These recommendations should be based on experimental and clinical data of the sensitivity of probiotics to different antibacterial preparations. Some studies have shown that the intake of probiotics based on lactic-acid bacteria may prevent lowering of gut lactobacilli at antibiotic application [33, 103, 140, 204, 243, 282]. According to other results, simultaneous intake of antibiotics with probiotics is possible, when probiotic microorganisms are resistant to antibacterial preparations. In this respect, poly-species probiotics are more effective [1, 138, 175].

Scientists of the department of child infections of A.A. Bogomolets National medical university analyzed effectiveness of the home multiprobiotic Symbiter® in the complex treatment of children with infectious pathology (purulent meningitis, lacunar tonsillitis, pneumonia). Control group of children (n=36) had standard therapy of a basic disease with antibacterial preparations (penicillin, ceftriaxone, cefotaxime). Primary group (n=34) was additionally given multiprobiotic Symbiter®, which is resistant to most widespread antibacterial means. The preparation was prescribed for all period of antibiotic therapy and during 10 days after its cessation. Multiprobiotic Symbiter decreased main and side symptoms of antibiotic therapy connected with gastrointestinal tract (diarrhea, abdominal pain, meteorism, vomiting); the authors concluded about reasonability of its inclusion into complex therapy of infectious diseases [1].

Frequent problem in children of the first months of life is intestinal colic. For the most part, colics appear as a result of child gastrointestinal tract adaptation to new conditions [266]. At frequent colics, formation of gut microbiota in children became disturbed; in view of this, probiotic mixtures are proposed in the diet [231].

Italian researchers from Torino University showed positive influence of some probiotic lactobacilli at intestinal colics on the state of newborns and infants of the first months of life. Similar results were obtained also in other studies [98, 113]. According to the data available, probiotics based

on lactic-acid bacteria lower intensity of intestinal colics, decrease the frequency of regurgitation and vomiting and favorably influence gut peristalsis in premature newborns.

F. Savino et al. (2007) established that in children with colics, gut microflora contains lesser quantity of lactic-acid bacteria; instead, anaerobe gram-negative prokaryotes are rather frequent. In randomized, blind, prospective trial, 7-day course of lactobacilli probiotic showed considerable lowering of colic symptoms in 95% infants in comparison with control group, where only 7% children responded to simethicone therapy ($p < 0.01$) [224].

According to the data available, breast feeding with addition of bifidobacterial probiotics may maintain optimal content of gut microbiome and improve responses to vaccines in early child age. Dysbiotic microbiota, modifying mechanisms of T-lymphocytes development, may by indirect way change the response to vaccination. M.N. Huda et al. (2014) suppose that probiotics at vaccination may be especially useful for early year children that are subjected to frequent infectious diseases, hospitalizations and antibiotic prescription, which damage child microbiome [109].

According to some researches of early age children, bifidobacteria, predominant in their gut microbiome, may stimulate growth of thymus and immunologic responses to both vaccines – oral and parenteral. At the same time, decrease of bifidobacteria and increase of opportunistic microorganisms promotes the system inflammation, development of immunosuppression and lesser response on the vaccination [109, 175].

One of most important medical problems is prevention of allergic diseases in children. A number of clinical trials on allergy prophylaxis with the use of probiotics was successful. It is believed that child susceptibility to allergy is defined by the microbiome violation. A. Shreiner et al. (2008) revealed appreciable differences in gut microflora between healthy and allergic individuals with the possibility of reducing allergies by using some probiotics [232].

In a number of studies, atopic diseases in infants were prevented through the intake of probiotics by both mother during pregnancy and infant after its birth [67, 122, 135, 196, 210].

Antiallergic effectivity of probiotics is significantly higher in infants on breast feeding, especially when probiotics are also used by the mother during pregnancy and breast feeding [67]. Breast milk contains important immunoregulatory factors, such as TGF- β and IgA, which may protect infant from allergic diseases [212]. Biological mechanisms, responsible for such properties of

breast milk, are studied still insufficiently and further researches are needed.

Joint studies with prenatal and postnatal probiotic usage showed considerable decrease of general eczema manifestation and/or IgE-associated eczema in 6 from 9 randomized clinical trials with participation of children up to 2 year old [67, 124, 132, 142, 186, 263]. In three trials, such effects were not observed [21, 111, 139].

2012 Metaanalysis detected significant lowering of eczema risk in 2-7 year old children, when women took probiotic lactobacilli during pregnancy, as compared with placebo and probiotics of other content [65]. In two other trials with the use of different probiotic mixtures, eczema decreased in a year [132] and in three months, accordingly [186].

K. Wickens et al. (2008) has studied effect of two types of probiotics against placebo and showed that the strain *L. rhamnosus* HN001 significantly lowered total eczema and IgE-associated eczema on the 2 year, however, it has no influence on the state of sensitization [264].

According to S.I. Woo et al. (2010), 12-week intake of *L. sakei* KCTC 10755BP by small children also led to lowering of atopic dermatitis and thrice decreased the disease activity comparing with children that were given placebo [265].

Analysis of the results available confirms considerable differences between probiotics in their biologic activity. Consequently, while planning clinical trials with probiotics, careful analysis should be done of not only species, but also strain content.

It should be noted that, in spite of positive effect of a number of probiotics, some researchers observed also increased incidence of asthma-like symptoms, two [139] and seven years after probiotic intake was finished [126]. Therefore, it is very important to take care of tested groups over a period of several years in order to clear up the duration of probiotic influence on the health of children.

At application of probiotic strain *L. paracasei* F19, lowering of general eczema cases was observed after 13 months [260]. Overall, these researches show that only postnatal application of probiotics may be insufficient to lower clinical symptoms of allergic diseases; therefore, early period of life, when we may influence microbiome and immune function, may begin before birth. Because of differences in trial organization, it is rather hard to obtain significant conclusions. Apparently, only prenatal using of probiotics is insufficient, they should be used also in postnatal period.

F. Campeotto et al. (2011) studied efficiency of a probiotic culture, based on *Bifidobacterium bre-*

vis and *Streptococcus salivarius subsp. thermophiles*, on premature infants. Infants with gestational age 30–35 weeks were given the probiotic and the authors observed lowering of proinflammatory markers, associated with some features of gastrointestinal tolerance [46].

According to P. Van Baarlen et al. (2009), probiotic based on *Lactobacillus plantarum* induces tolerance to food allergens owing to initiation of AhR-signaling path within mucous membrane [246].

Increasing results confirm reasonability of using probiotics to prevent respiratory diseases in children. Double blind, placebo-controlled, randomized study was performed from 1 December 2000 till 30 September 2002 in 14 centers of child-care in province Beersheba (Israel). Healthy, full-term infants of 4 to 10 month age were included in the study. Duration of observation for each participant was 12 weeks. Probiotics based on lactobacilli and bifidobacteria considerably lowered disease frequency in children with respiratory pathology and shortened the disease duration, which allowed diminishing the dose of administered antibiotic [259].

Microbiota modulation was proposed as a preventive means against usual cold and influenza symptoms in children [155, 274]. In double blind, placebo-controlled, randomized study, 326 children 3 to 5 year old were given during 6 months twice a day probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* (n=110), the mixture of strains *L. acidophilus* и *B. animalis lactis Bi-07* (n=112), or placebo (n=104). To the end of the study, children taking one-strain or combined probiotic had considerable lowering of frequency and duration of states with higher temperature, cough and rhinorrhea as compared with placebo group [155].

Randomized, placebo-controlled, study showed improvement of mucosal immunity and decreased frequency and severity of intestinal and respiratory diseases in children that were given yoghurt, containing the probiotic strain *L. rhamnosus* CRL1505. Frequency of infectious diseases decreased from 66% in placebo-group to 34% in the group that received yoghurt with probiotic. At that, in children that received yoghurt, severity of such diseases, as fever, decreased and the need in antibiotics lowered [250].

One more randomized, clinical trial with the participation of 110 healthy children in the age of 1 month to 4 years showed prophylactic efficiency of multiprobiotic Symbiter in respect of seasonal respiratory diseases. 3-month course of the multiprobiotic lowered severity of acute respiratory viral infection in children and dura-

tion of main symptoms of the disease; probability of the disease complications was also lower and, accordingly, the need in antibacterial preparations decreased [2].

According to A.M. Deasy et al. (2015), probiotic based on the species *Neisseria lactamica* in the form of nasal drops lowered colonization of meningitis causative agent *Neisseria meningitides*. It is supposed that these effects are realized due to the mechanisms of competing interactions between microorganisms or through innate immune responses, which become activated at the availability of necessary symbionts [60].

Treatment with modification of microbiome content, including faecal transplantation and probiotic usage, improved some symptoms of child autism [128, 219].

In view of numerous results available, usage of probiotics for prophylaxis and treatment of dysbiotic violations in children represents large interest. At the same time, prophylactic usage of probiotics in neonatology still induces many discussions.

In particular, according to one opinion, prescription of prebiotic preparations to practically healthy newborns is unreasonable, as it may interfere with replantation of mother physiological strains. However, it should be taken into account that at once after the birth the child finds itself in the world, which is closely peopled with opportunistic microorganisms, among which nosocomial strains present a special hazard for its health. In adults, most part of exogenous microflora is perished due to mechanisms of specific and nonspecific protection, while newborn organism is less defended from the outer microbiological attack. Therefore, substantial part of microbe cells, entering into its organism, has a chance to survive and disturb the mechanisms of its microbiome formation.

Main protection of the newborn organism is the contact with the body of healthy mother and natural feeding. In most cases, such preventive mechanisms are not sufficiently effective. In particular, this may be seen in the fact that currently the phase of transitory dysbiosis in healthy newborns persists not less than a month and sometimes may lasts 2–3 years, while in the past this phase lasted only 6–8 days [4].

Neonatal age is characterized by maximal tension of all organism adaptive reactions; in this state, the spectrum of microflora, contacting with the organism, and the degree of its aggressive properties have extremely large importance. Newborn organism is very vulnerable; it is subjected to high risk of colonization with hospital strains of poten-

tial pathogens with their penetration into near-epithelial biofilms. «Defective» biofilms of high stability may form; they promote development and chronization of pathological processes not only in digestive tract but also in other organs and systems [7, 8, 13].

At neonatal infections, traditional usage of antibacterial preparations complicates still more the formation of healthy microbiome; this lead to selective advantages of opportunistic microflora due to the proliferation of antibiotic-resistant bacterial clones. Moreover, there is a danger of candido-mycoses, pseudomembranous enterocolitis and other complications.

Therefore, probiotic optimization of the microbiome formation in newborns, including premature infants, is one of effective approaches to their successful postnatal adaptation.

Until the present time, there are disagreements concerning effectiveness of probiotics on newborns in different clinical situations; it, to a considerable degree, is associated with using in studies of preparations with different content. There is common opinion about reasonability of using probiotics. However, clinical effect of a number of preparations has not been demonstrated; such effect was mechanically transferred from other preparation with similar species content. Such situation is unacceptable, as among great diversity of strains for each species of microorganisms, only some of them possess high probiotic effectiveness.

Therefore, medical and prophylactic usage of probiotics, based on physiologic bacteria, in neonatology and pediatrics is one of perspective methods for making healthier child population. Safety and simplicity of their application attract growing number of specialists to the methods of probiotic therapy and prophylaxis. At the same time, large introduction of «child» probiotics into the practice requires further studies to optimize their application.

Besides probiotics, prebiotics, fermented milk products and some enterosorbents may be used for making healthier child microbiome.

Prebiotics are food components, chiefly oligosaccharides, which, because of their structural organization, are not digested in small intestine; they are fermented in large intestine by anaerobic saccharolytic bacteria, which promotes the growth of their population in the microbiome. It is obvious that the greatest positive effect has prebiotics known as short chain fatty acids (SCFA).

Prebiotics may be used in the content of child mixtures. According to S. Fanaro et al. (2005), combination of galacto-oligosaccharides (GOS)

and fructo-oligosaccharides (FOS) in the ratio close to their content in breast milk may stimulate the growth of bifidobacteria. Such mixture may influence the distribution of certain species among gut microflora and change faeces pH and the levels of SCFA, bringing their concentrations closer to the content in the gut of infants on breast feeding [75].

M. Haarman and J. Knol (2005), using similar prebiotic mixtures on allergic children, showed their ability to induce bifidobacteria content close to healthy children on breast milk feeding [97]. Along with other means for improving microbiome, prebiotics increase functioning of newborn immune system and protect the organism from pathogens [42, 222].

Complex of probiotics with prebiotics — synbiotics — are also of significant interest. Many specialists suppose that prebiotics synergistically interact with probiotics and exercise a significant positive influence on the state of microbiome and the health of intestinal tract.

In the study K.G. Wu et al. (2012), children with eczema (from moderate to severe) were treated during 8 weeks with the combination of lactobacilli strain from the species *L. salivarius* and FOS. Such treatment gave significant lowering of the illness severity as compared with the children that were given only FOS; but, in the study, placebo group, needed for reliable comparison, was absent [267].

Advantage of fermented milk products in child feeding has been proved in many researches. In particular, regular consumption of probiotic products lead to quick restoration of physiologic microbe balance in biotopes of intestinal tract, favours the treatment of peptic ulcer, colitises, acute gut infections, improves the state of patients with metabolic disorders.

Some types of enterosorbents also enter to the group of means for microbiome improvement. Mechanism of their action is mainly caused by sanitization of gut lumen and improvement of the conditions for functioning of physiologic microbiota.

Enterosorption is a non-invasive method of the efferent therapy. With the choice of adequate sorbent, it may promote effective purification of the organism from allergens, mediators, the products of allergic and inflammatory reactions, metaboli-

tes, toxins, active peroxide compounds, viruses and other substances. Improvement of biotopes optimizes conditions for functioning of physiologic microbiome [6, 9, 19].

At present, we may choose a large assortment of different enterosorbents; however, not all of them are effective at microbiome disorders, especially in children.

Enterosorbents based on clay minerals are perspective for using in pediatrics; for example, smectites that are characterized by small particles and ability to form gels with cytomucoprotector properties. Smectites possess high adsorptive, water-retaining and ion exchange properties [6, 9]. Of large interest is their ability to sorb gut viruses; therefore, they are effective at enterovirus infections [9, 239]. Smectite was shown to suppress infectivity of 90% rotavirus inoculum at minimal concentrations during a minute of their contact [239].

Fundamental researches the authors led to the creation of a new generation of effective enterosorbents of the series Symbiogel®; they showed high results in the complex scheme of microbiome improvement in children. This series enterosorbents ensure effective sanitization of intestine tract, improvement of protective mucous layer of gut wall and conditions for active vital activity of physiological bacteria.

Conclusion

Numerous studies of the last two decades show that microbiome makes a substantial contribution into formation and maintaining the child health. It takes part in essential physiologic processes from the moment of conception and guides the development of child organism. Biologic potential of microbiome and its unique role in maintaining the child health are enormous. Scientists and medical practitioners should give special attention to the process of microbe system formation in pery- and postnatal periods in order to preserve it in healthy state in the future. Anomalies in the structure of microbiome associate with a wide spectre of diseases; therefore, its optimization and improvement in the early age is an extremely important factor for improving the health of children and adults.

REFERENCES/ЛІТЕРАТУРА

- Kramarev SA, Yankovskyy DS, Dyment GS. (2007). Antibiotico-assotitsirovannyye diarei u detei s infektsionnymi zaboлевaniami i vozmozhnosti ikh profilaktiki. *Sovremennaya pediatriya*. 4(17): 157–161. [Крамарев СА, Янковский ДС, Дымент ГС. (2007). Антибиотико-ассоциированные диареи у детей с инфекционными заболеваниями и возможности их профилактики. *Современная педиатрия*. 4(17): 157–161].
- Kramarev SA, Vygovskaya OV, Yankovskyy DS, Dyment GS. (2013). Opyt primeneniya myltiprobiotika «Simbiter» v klinike detskikh infektsii. *Sovremennaya pediatriya*. 4(52): 1–7. [Крамарев СА, Выговская ОВ, Янковский ДС, Дымент ГС. (2013). Опыт применения мультипробиотика «Симбитер» в клинике детских инфекций. *Совр. Педиатрия*. 4(52): 1–7].
- Lukianova EM, Yankovskyy DS, Antipkin JG, Dyment GS. (2005). K voprosu o polikomponentnosti probiotikov. *Health of Woman*. 3(23): 186–194. [Лукьянова ЕМ, Янковский ДС, Антипкин ЮГ, Дымент ГС. (2005). К вопросу о поликомпонентности пробиотиков. *Здоровье женщины*. 3(23): 186–194].
- Lukianova EM, Yankovskyy DS, Dyment GS, Antipkin JG, Berejnoj VV, Shunko EE, Kramarev SA. (2005). Nekotorye zamechaniia otnositelno taktiki ispolzovaniia probiotikov v neonatologii i pediatrii. *Sovremennaya pediatriya*. 3(8): 230–240. [Лукьянова ЕМ, Янковский ДС, Дымент ГС, Антипкин ЮГ, Бережной ВВ, Шунько ЕЕ, Крамарев СА. (2005). Некоторые замечания относительно тактики использования пробиотиков в неонатологии и педиатрии. *Современная педиатрия*. 3(8): 230–240].
- Ott VD, Marushko TL, Tutchenko LI, Mukvich OM. Systemni porushennia mikrobiotsenozu, ikh profilaktika ta likuvannia iz zastosuvanniam multikomponentnykh probiotykyv u vagitnykh, goduiuchykh materiv i ditei. *Zb. prac naukovo-praktychnoi konferensii «Probiotyky XXI stolittia. Biologiia, medytyna, praktyka»*. Ternopil, 127–132. [Отт ВД, Марушко ТЛ, Тутченко ЛИ, Муквич ОМ. (2004). Системні порушення мікробіоценозу, їх профілактика та лікування із застосуванням мультикомпонентних пробіотиків у вагітних, годуючих матерів і дітей. *Мат. Міжнарод. науково-практ. конф. «Пробіотики XXI століття. Біологія. Медицина. Практика»*. Тернопіль, 2004: 127–132].
- Shyrobokov VP, Yankovskyy DS, Dyment GS. (2012). Svit glyv i zdorovia ludy. *Svitoglyad*. 2(34): 6–17. [Широбоков ВП, Янковский ДС, Дымент ГС. (2012). Світ глив і здоров'я людини Світгляд. 2(34): 6–17].
- Shyrobokov VP, Yankovskyy DS, Dyment GS. (2011). Bioeticheskie problemy ispolzovaniia probiotikov v medicinie. *Sb. trudov IV Nacionalnogo kongressa po bioetike*. Kyiv: 123–128. [Широбоков ВП, Янковский ДС, Дымент ГС. (2011). Биоэтические проблемы использования пробиотиков в медицине. *Сб. трудов IV Национального конгресса по биоэтике*. — Киев: 123–128].
- Shyrobokov VP, Yankovskyy DS, Dyment GS (2010). Novye strategii v oblasti sozdaniia i klinicheskoho ispolzovaniia probiotikov. *Visnyk farmakologii ta farmatsii*. 2: 18–30. [Широбоков ВП, Янковский ДС, Дымент ГС. (2010). Новые стратегии в области создания и клинического использования пробиотиков. *Вісник фармакології та фармації*. 2: 18–30].
- Shyrobokov VP, Yankovskyy DS, Dyment GS. (2015). Sozdanie ozdorovitelnykh sredstv novoho pokoleniia na osnove smektita. *Vrachebnoe delo*. 1(2): 3–9. [Широбоков ВП, Янковский ДС, Дымент ГС. (2015). Создание оздоровительных средств нового поколения на основе смектита. *Врачебное дело*. 1(2): 3–9].
- Shunko EE, Yankovskyy DS, Dyment GS. (2003). Novyi vzglad na formirovaniie endomikroekologicheskogo statusa u novorojdennykh detei. *Jurnal praktychnogo likaria*. 1: 54–61. [Шунько ЕЕ, Янковский ДС, Дымент ГС. (2003). Новый взгляд на формирование эндомикроекологического статуса у новорожденных детей. *Журнал практичного лікаря*. 1: 54–61].
- Shunko EE, Yankovskyy DS, Dyment GS, Krasnova JJ. (2004). Problemyne voprosy mikroekologii i antibakterialnoi terapii novorojdennykh s perinatalnoi patologiei. *Health of Woman*. 4(20): 171–177. [Шунько ЕЕ, Янковский ДС, Дымент ГС, Краснова ЮЮ. (2004). Проблемные вопросы микробиологии и антибактериальной терапии новорожденных с перинатальной патологией. *Здоровье женщины*. 4(20): 171–177].
- Yankovskyy DS, Dyment GS. (2005). Era probiotikov. *Protivorechia, problemy, diskussii. Kolega*. 3–4. [Янковский ДС, Дымент ГС. (2005). Эра пробиотиков. *Противоречия, проблемы, дискуссии. Колега*. 3–4].
- Yankovskyy DS, Dyment GS. (2007). Probioticheskaia optimizatsiia pervichnogo formirovaniia normalnykh biocenozov v neonatalnom vozraste — zalog preduprejdzenia disbiozov. *Reproductivnoie zdorovie jenshchiny*. 3: 192–199. [Янковский ДС, Дымент ГС. (2007). Пробиотическая оптимизация первичного формирования нормальных биocenozov в неонатальном возрасте — залог предупреждения дисбиозов. *Репродуктивное здоровье женщины*. 3: 192–199].
- Yankovskyy DS, Dyment GS. (2007). Uluchshenie reproductivnogo zdorovia zhenshchiny putem optimizatsii mikroekologii pishchevaritel'nogo i urogenital'nogo trakta. *Reproductivnoie zdorovie jenshchiny*. 3: 148–154. [Янковский ДС, Дымент ГС. (2007). Улучшение репродуктивного здоровья женщины путем оптимизации микроэкологии пищеварительного и урогенитального тракта. *Репродуктивное здоровье женщины*. 3: 148–154].
- Yankovskyy DS, Dyment GS. (2008). Mikroflora i zdorovie cheloveka. Kyiv: «Chervona Ruta-Turs»: 552. [Янковский ДС, Дымент ГС. (2008). Микрофлора и здоровье человека. Киев: Червона Рута-Турс: 552].
- Yankovskyy DS, Shyrobokov VP, Moiseenko RA, Volosovets AP, Krivopustov SP, Dyment GS. (2010). Disbiozy i sovremennyye podkhody k ikh profilaktike. *Sovremennaya pediatriya*. 3(31): 143–151. [Янковский ДС, Широбоков ВП, Моисеенко РА, Волосовец АП, Кривоустов СП, Дымент ГС. (2010). Дисбиозы и современные подходы к их профилактике. *Современная педиатрия*. 3(31): 143–151].
- Yankovskyy DS, Shyrobokov VP, Dyment GS. (2011). Integralnaia rol simbioticheskoi mikroflory v fiziologii cheloveka. Kyiv: «Chervona Ruta-Turs»: 169. [Янковский ДС, Широбоков ВП, Дымент ГС. (2011). Интегральная роль симбиотической микрофлоры в физиологии человека. Киев: Червона Рута-Турс: 169].
- Yankovskyy DS, Antipkin JG, Dyment GS, Znamenskaia TK, Shunko EE, Davydova JV (2015). Mikrobaia ekologia novorojdennykh: osobennosti formirovaniia microbioma i profilaktika ego narusheniia. *Neonatologia, hirurgiia ta perynatalna medycyna*. 5(2): 93–105. [Янковский ДС, Антипкин ЮГ, Дымент ГС, Знаменская ТК, Шунько ЕЕ, Давыдова ЮВ. (2015). Микробная экология новорожденных: особенности формирования микробиома и профилактика его нарушений. *Неонатология, хирургия та перинатальна медицина*. 5, 2: 93–105].
- Yankovskyy DS, Shyrobokov VP, Dyment GS. (2018). Microbiom. Kyiv: FOP «Veres O.I.»: 640. [Янковский ДС, Широбоков ВП, Дымент ГС. (2017). Микробиом — Киев: ФЛП Верес О.И.: 640].
- Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. (2014). The Placenta Harbors a Unique Microbiome. *Sci. Transl. Med*. 6: 237–265.
- Abrahamson TR, Jakobsson HE, Andersson AF, Bjorksten B, Engstrand L, Jenmalm MC. (2012). Low diversity of the gut microbiota in infants with atopic eczema. *J. Allergy Clin. Immunol*. 129: 434–440.
- Alfaleh K, Bassler D. (2011). Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev*. (3):CD005496.
- Allen SJ, Wareham K, Wang D, Bradley C, Hutchings H, Harris W, Dhar A, Brown H, Foden A, Gravenor MB, Mack D. (2013). Lactobacilli and bifidobacteria in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea and Clostridium difficile diarrhoea in older inpatients (PLACIDE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet*. 382(9900): 1249–1257.
- Allen-Blevins CR, Sela DA, Hinde K. (2015). Milk bioactives may manipulate microbes to mediate parent-offspring conflict. *Evol. Med. Public Health*. 2015: 106–121.
- Angeloni S, Ridet JL, Kusy N, Gao H, Crevoisier F, Guinchard S, Kochhar S, Sigrist H, Sprenger N. (2005). Glycoprofiling with micro-arrays of glycoconjugates and lectins. *Glycobiology*. 15: 31–41.
- Applegate JA, Fischer Walker CL, Ambikapathi R, Black RE. (2013). Systematic review of probiotics for the treatment of community-acquired acute diarrhoea in children. *BMC Public Health*. 13(3):16. doi: 10.1186/1471-2458-13-S3-S16.
- Arbolea S, Binetti A, Salazar N, Fernandez N, Solis G, Hernandez-Barranco A, Margolles A, de los Reyes-Gavilan CG, Gueimonde M. (2012). Establishment and development of intestinal microbiota in preterm neonates. *Fems Microbiology Ecology*. 79(3): 763–772.
- Arbolea S, Watkins C, Stanton C, Ross RP. (2016). Gut Bifidobacteria Populations in Human Health and Aging. *Front. Microbiol*. 19: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.01204>.

29. Avershina E, Storro O, Oien T, Johnsen R, Pope P, Rudi K. (2014). Major faecal microbiota shifts in composition and diversity with age in a geographically restricted cohort of mothers and their children. *FEMS Microbiol. Ecol.* 87: 280–290.
30. Azad MB, Moossavi S, Owora A, Sepehri S. (2017). Early-Life Antibiotic Exposure, Gut Microbiota Development, and Predisposition to Obesity. *Nestle Nutr. Inst. Workshop Ser.* 88: 67–79. doi: 10.1159/000455216.
31. Ballarin O. (1971). The scientific rationale for the use of acidified and fermented milk feeding infants and young children // *FAO/WHO/UNICEF Protein Advisory Group. Doc.* 1.14/19.
32. Bearfield C, Davenport ES, Sivapathasundaram V, Allaker RP. (2002). Possible association between amniotic fluid microorganism infection and microflora in the mouth. *Br J Obstet Gynaecol.* 109: 527–533.
33. Beausoleil M, Fortier N, Guenette S et al. (2007). Effect of a fermented milk combining *Lactobacillus acidophilus* C11285 and *Lactobacillus casei* in the prevention of antibiotic-associated diarrhea: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Can. J Gastroenterol.* 21: 732–736.
34. Benjamin DK, Stoll BJ, Fanaroff AA, Mc Donald SA, Poole K, Laptook A. (2006). Neonatal Candidiasis among extremely low birth weight infants: risk factors, mortality rates and neurodevelopment outcomes at 18 to 22 months. *Pediatrics.* 117: 84–92.
35. Benson AK. (2015). Host genetic architecture and the landscape of microbiome composition: humans weigh in. *Genome Biol.* 16: <http://www.genomebiology.com/2015/16/1/191>.
36. Bernaola Aponte G, Bada Mancilla CA, Carreazo NY, Rojas Galarza RA. (2013). Probiotics for treating persistent diarrhoea in children. *Cochrane Database Syst Rev.* 20 (8): CD007401.
37. Bin-Nun A, Bromiker R, Wilschanski M et al. (2005). Oral Probiotics Prevent Necrotizing Enterocolitis In Very Low Birth Weight Neonates. *Pediatrics.* 147: 192–196.
38. Bjorksten B, Sepp E, Julge K, Voor T, Mikelsaar M. (2001). Allergy development and the intestinal microflora during the first year of life. *J. Allergy Clin. Immunol.* 108(4): 516–520.
39. Blaut M, Clavel T. (2007). Metabolic diversity of the intestinal microbiota: implications for health and disease. *J. Nutr.* 137: 751–755.
40. Blekhnman R, Goodrich JK, Huang K, Sun Q, Bukowski R, Bell JT, Spector TD, Keinan A, Ley RE, Gevers D et al. (2015). Host genetic variation impacts microbiome composition across human body sites. *Genome Biol.* 16: 191.
41. Bode L. (2006). Recent advances on structure, metabolism, and function of human milk oligosaccharides. *J. Nutr.* 136: 2127–2130.
42. Boehm G, Moro G. (2008). Structural and functional aspects of prebiotics used in infant nutrition. *Journal of Nutrition.* 138(9): 1818–1828.
43. Borchers AT, Selmi C, Meyers FJ, Keen CL, Gershwin ME. (2014). Probiotics and immunity. *J. Gastroenterol.* 44: 26–46.
44. Borre YE, O’Keeffe GW, Clarke G, Stanton C, Dinan TG, Cryan JF. (2014). Microbiota and neurodevelopmental windows: implications for brain disorders. *Trends Mol. Med.* 20(9): 509–518.
45. Cabrera-Rubio R, Collado MC, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E, Mira A. (2012). The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *American Journal of Clinical Nutrition.* <http://www.fecyt.es/fecyt/home.do>.
46. Campeotto F, Suau A, Kapel N, Magne F, Viallon V et al. (2011). A fermented formula in preterm infants: clinical tolerance, gut microbiota, down-regulation of faecal calprotectin and up regulation of faecal secretory IgA. *Br J Nutr.* 105: 1843–1851.
47. Candela M, Perna F, Carnevali P, Vitali B, Ciati R, Gionchetti P, Rizzello F, Campieri M, Brigidi P. (2008). Interaction of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains with human intestinal epithelial cells: Adhesion properties, competition against enteropathogens and modulation of IL-8 production. *Int J Food Microbiol.* 125: 286–292.
48. Chang JY, Shin SM, Chun J, Lee J-H, Seo J-K. (2011). Pyrosequencing-based Molecular Monitoring of the Intestinal Bacterial Colonization in Preterm Infants. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition.* 53(5): 512–519.
49. Chen CC, Kong MS, Lai MW, Chao HC et al. (2010). Probiotics have clinical, microbiologic, and immunologic efficacy in acute infectious diarrhea. *Pediatr Infect Dis J.* 29(2): 135–138.
50. Cheng J, Ringel-Kulka T, Heikamp-de Jong I, Ringel Y, Carroll I, de Vos WM et al. (2015). Discordant temporal development of bacterial phyla and the emergence of core in the fecal microbiota of young children. *ISME J.* 10(4): 1002–1014.
51. Chernikova DA, Madan JC, Housman ML, Zain-Ul-Abideen M, Lundgren SN, Morrison HG, Sogin ML, Williams SM, Moore JH, Karagas MR, et al. (2018). The premature infant gut microbiome during the first 6 weeks of life differs based on gestational maturity at birth. *Pediatr. Res.* 84: 71–79. doi: 10.1038/s41390-018-0022-z.
52. Chichlowksi M, De Lartigue G, German JB, Raybould HE, Mills DA. (2012). Bifidobacteria isolated from infants and cultured on human milk oligosaccharides affect intestinal epithelial function. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 55: 321–327.
53. Claud EC, Walker WA. (2001). Hypothesis: inappropriate colonization of the premature intestine can cause neonatal necrotizing enterocolitis. *FASEB J.* 15: 1398–1403.
54. Collado MC, Rautava S, Aakko J, Isolauri E, Salminen S. (2016). Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid. *Sci. Rep.* 6: 23129. doi: 10.1038/srep23129.
55. Coppa GV, Bruni S, Morelli L, et al. (2004). The first prebiotics in humans: human milk oligosaccharides. *J. Clin. Gastroenterol.* 38: 80–83.
56. Coppa GV, Zampini L, Galeazzi T, Facinelli B, Ferrante L, Capretti R, Orazio G. (2006). Human milk oligosaccharides inhibit the adhesion to Caco-2 cells of diarrheal pathogens: *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, and *Salmonella typhi*. *Pediatr. Res.* 59: 377–382.
57. Cording J, Berg J, Kading N, Bellmann C, Tscheik C, Westphal JK, Milatz S, Gunzel D, Wolburg H, Piontek J, Huber O, Blagis IE. (2013). In tight junctions, claudins regulate the interactions between occludin, tricellulin and marvelD3, which, inversely, modulate claudin oligomerization. *J. Cell. Sci.* 126(2): 554–564.
58. Costello EK, Stagaman K, Dethlefsen L, Bohannan BJ, Relman DA. (2012). The application of ecological theory toward an understanding of the human microbiome. *Science.* 336: 1255–1262.
59. Davenport ER. (2016). Elucidating the role of the host genome in shaping microbiome composition. *Gut Microb.* 7: 178–184.
60. Deasy AM, Guccione E, Dale AP, Andrews N, Evans CM, Bennett JS, Bratcher HB, Maiden MC, Gorringer AR, Read RC. (2015). Nasal Inoculation of the Commensal *Neisseria lactamica* Inhibits Carriage of *Neisseria meningitidis* by Young Adults: A Controlled Human Infection Study. *Clin Infect Dis.* 60(10): 1512–1520.
61. Deshpande G, Rao S, Patole S. (2007). Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm neonates with very low birthweight: a systematic review of randomised controlled trials. *Lancet.* 369(9573): 1614–1620.
62. Deshpande G, Rao S, Kell A, Patole S. (2011). Evidence-based guidelines for use of probiotics in preterm neonates. *BMC Medicine.* 9: 92–105.
63. Desselberger U. (2018). The mammalian intestinal microbiome: composition, interaction with the immune system, significance for vaccine efficacy, and potential for disease therapy. *Pathogens.* 7:E57. 10.3390/pathogens7030057.
64. De Wolfe TJ, Eggers S, Barker AK, Kates AE, Dill-McFarland KA, Suen G, et al. (2018). Oral probiotic combination of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* alters the gastrointestinal microbiota during antibiotic treatment for *Clostridium difficile* infection. *PLoS One.* 13:e0204253. 10.1371/journal.pone.0204253.
65. Doege K, Grajecki D, Zyriax BC, Detinkina E, Zu Eulenburg C, Buhling KJ. (2012). Impact of maternal supplementation with probiotics during pregnancy on atopic eczema in childhood – a meta-analysis. *Br J Nutr.* 107: 1–6.
66. Donnet-Hughes A, Perez PF, Dore J, Leclerc M, Levenez F, Benyacoub J, et al. (2010). Potential role of the intestinal microbiota of the mother in neonatal immune education. *Proc. Nutr. Soc.* 69: 407–415.
67. Dotterud CK, Storro O, Johnsen R, Oien T. (2010). Probiotics in pregnant women to prevent allergic disease: a randomized, double-blind trial. *Br J Dermatol.* 163: 616–623.
68. Edwards CA, Parrett AM. (2002). Intestinal flora during the first months of life: new perspectives. *British Journal of Nutrition.* 88(1): 11–18.
69. El Aidi S, van Baarlen P, Derrien M, Lindenbergh-Kortleve DJ, Hooiveld G, Levenez F, Dore J, Dekker J, Samsom JN, Nieuwenhuis EE, Kleerebezem M. (2012). Temporal and spatial interplay of microbiota and intestinal mucosa drive establishment of immune homeostasis in conventionalized mice. *Mucosal Immunol.* 5(5): 567–579.

70. El Aidy S, Kleerebezem M. (2013). Molecular signatures for the dynamic process of establishing intestinal host-microbial homeostasis: potential for disease diagnostics? *Curr Opin Gastroenterol.* 29(6): 621–627.
71. El Aidy S, Merrifield CA, Derrien M, van Baarlen P, Hooiveld G, Levenez F, Dore J, Dekker J, Holmes E, Claus SP, Reijngoud DJ, Kleerebezem M. (2013). The gut microbiota elicits a profound metabolic reorientation in the mouse jejunal mucosa during conventionalization. *Gut.* 62(9): 1306–1314.
72. El Aidy S, Derrien M, Aardema R, Hooiveld G, Richards SE, Dane A, Dekker J, Vreeken R, Levenez F, Dore J, Zoetendal EG, van Baarlen P, Kleerebezem M. (2014). Transient inflammatory-like state and microbial dysbiosis are pivotal in establishment of mucosal homeostasis during colonisation of germ-free mice. *Benef Microbes.* 5(1): 67–77.
73. El Aidy S, Stilling R, Dinan TG, Cryan JF. (2016). Microbiome to Brain: Unravelling the Multidirectional Axes of Communication. *Adv. Exp. Med. Biol.* 874: 301–336.
74. Fallani M, Young D, Scott J, Norin E, Amari S., Adam R, Aguilera M, Khanna S, Gil A, Edwards CA, Dore J. (2010). Intestinal microbiota of 6-week-old infants across Europe: geographic influence beyond delivery mode, breast-feeding, and antibiotics. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 51(1): 77–84.
75. Fanaro S, Boehm G, Garssen J, Knol J, Mosca F, Stahl B, Vigi V. (2005). Galactooligosaccharides and long-chain fructo-oligosaccharides as prebiotics in infant formulas: A review. *Acta Paediatrica.* 94: 22–26.
76. Favier CF, de Vos WM, Akkermans AD. (2005). Development of bacterial and bifidobacterial communities in feces of newborn babies. *Anaerobe.* 9: 219–229.
77. Feehley T, Plunkett CH, Bao R, Choi Hong SM, Cullen E, Belda-Ferre P, et al. (2019). Healthy infants harbor intestinal bacteria that protect against food allergy. *Nat. Med.* doi 10.1038/s41591-018-0324-z. Epub ahead of print.
78. Feng Y, Wang Y, Wang P, Huang Y, Wang F. (2018). Short-Chain Fatty Acids Manifest Stimulative and Protective Effects on Intestinal Barrier Function Through the Inhibition of NLRP3 Inflammasome and Autophagy. *Cell Physiol Biochem.* 49:190–205. doi: 10.1159/000492853.
79. Fernandez L, Langa S, Martin V, Maldonado A, Jimenez E, et al. (2013). The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacol. Res.* 69: 1–10.
80. Ferraris L, Butel MJ, Campeotto F, Vodovar M, Roze JC. (2012). Clostridia in premature neonates' gut: incidence, antibiotic susceptibility, and perinatal determinants influencing colonization. *PLoS One.* 7: e30594. doi: 10.1371/journal.pone.0030594.
81. Ferretti P, Pasolli E, Tett A, Asnicar F, Gorfer V, Fedi S, Armanini F, Truong DT, Manara S, Zolfo M, et al. (2018). Mother-to-Infant Microbial Transmission from Different Body Sites Shapes the Developing Infant Gut Microbiome. *Cell Host Microbe.* 24. doi: 10.1016/j.chom.2018.06.005.
82. Fitzgibbons SC, Ching YM, Yu D, Carpenter J, Kenny M, Weldon C, Lillehei C, Valim C, Horbar JD, Jaksic T. (2009). Mortality of necrotizing enterocolitis expressed by birth weight categories. *Journal of Pediatric Surgery.* 44(6): 1072–1076.
83. Fukui H, Xu X, Miwa H. (2018). Role of gut microbiota-gut hormone axis in the pathophysiology of functional gastrointestinal disorders. *J. Neurogastroenterol. Motil.* 24: 367–386. 10.5056/jnm18071.
84. Fulde M, Sommer F, Chassaing B, van Vorst K, Dupont A, Hensel M, Basic M, Klopffleisch R, Rosenstiel P, Bleich A, et al. (2018). Neonatal selection by Toll-like receptor 5 influences long-term gut microbiota composition. *Nature.* doi: 10.1038/s41586-018-0395-5.
85. Funkhouser LJ, Bordenstein SR. (2013). Mom knows best: the universality of maternal microbial transmission. *PLoS Biol.* 11:e1001631 10.1371/journal.pbio.1001631.
86. Garrido D, Barile D, Mills DA. (2012). A molecular basis for bifidobacterial enrichment in the infant gastrointestinal tract. *Adv Nutr.* 3: 415–421.
87. Geva-Zatorsky N, Sefik E, Kua L, Pasman L, Tan TG, Ortiz-Lopez A, et al. (2017). Mining the human gut microbiota for immunomodulatory organisms. *Cell.* 168: 928–943. 10.1016/j.cell.2017.01.022.
88. Gilbert SF. (2014). A holobiont birth narrative: the epigenetic transmission of the human microbiome. *Front Genet.* 5: 282.
89. Girish D. (2007). Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm neonates with very low birthweight: a systematic review of randomised controlled trials. *Lancet.* 369: 1614–1620.
90. Gomez de Agüero M, Ganai-Vonarburg SC, Fuhrer T, Rupp S, Uchimura Y, Li H, Steinert A, Heikenwalder M, Hapfelmeier S, Sauer U, McCoy KD, Macpherson AJ. (2016). The maternal microbiota drives early postnatal innate immune development. *Science.* 351(6279): 1296–1302.
91. Goodrich JK, Davenport ER, Waters JL, Clark AG, Ley RE. (2016). Crossspecies comparisons of host genetic associations with the microbiome. *Science.* 352: 532–535.
92. Gosabes MJ, Llop S, Valles Y, Moya A, Ballester F. (2013). Meconium microbiota types dominated by lactic acid or enteric bacteria are differentially associated with maternal eczema and respiratory problems in infants. *Clin Exp Allergy.* 43(2): 198–211.
93. Gray JW. (2007). Surveillance of infection in neonatal intensive care units. *Early Hum Develop.* 83: 157–163.
94. Gronlund MM. (1999). Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after Cesarean delivery / M.M. Gronlund, O.P. Lehtonen, E.P. Erkk et al. *JPGN.* 98: 19–25.
95. Grunlund M, Guimonde M, Laitinen K. (2007). Maternal breast-milk and intestinal bifidobacteria guide the compositional development of the Bifidobacterium microbiota in infants at risk of allergic disease. *Clin. and Experimental Allergy.* 111: 1–9.
96. Guarino A, Wudy A, Basile F, Ruberto E, Buccigrossi V. (2012). Composition and roles of intestinal microbiota in children. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 25(1): 63–66.
97. Haarman M, Knol J. (2005). Quantitative real-time PCR assays to identify and quantify fecal Bifidobacterium species in infants receiving a prebiotic infant formula. *Applied and Environmental Microbiology.* 71(5): 2318–2324.
98. Hall B, Chesters J, Robinson A. (2011). Infantile colic: A systematic review of medical and conventional therapies. *J Paediatr Child Health.* 10(11): 1440–1754.
99. Hallstrom M, Eerola E, Vuento R, Janas M, Tammela O. (2004). Effects of mode of delivery and necrotising enterocolitis on the intestinal microflora in preterm infants. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 23(6): 463–470.
100. Hamzelou J. (2012). Babies are born dirty, with a gutful of bacteria. *New Scientist.* 214: 2.
101. Hardy H, Harris J, Lyon E, Beal J, Foey AD. (2013). Probiotics, Prebiotics and Immunomodulation of Gut Mucosal Defences: Homeostasis and Immunopathology. *Nutrients.* 5: 1869–1912.
102. Harris VC, Armah G, Fuentes S, Korpela KE, Parashar U, Victor JC, Tate J, de Weerth C, Giaquinto C, Wiersinga WJ, et al. (2017). Significant Correlation Between the Infant Gut Microbiome and Rotavirus Vaccine Response in Rural Ghana. *J Infect Dis.* 215: 34–41. doi: 10.1093/infdis/jiw518.
103. Hickson M, D'Souza AL, Muthu N, et al. (2007). Use of probiotic Lactobacillus preparation to prevent diarrhoea associated with antibiotics: randomised double blind placebo controlled trial. *BMJ.* 335(7610). <https://doi.org/10.1136/bmj.39231.599815.55>.
104. Hojsak I, Abdovic S, Szajewska H, Milosevic M, Krznaric Z, Kolacek S. (2010). Lactobacillus GG in the prevention of nosocomial gastrointestinal and respiratory tract infections. *Pediatrics.* 125(5): 1171–1177.
105. Hong PY, Lee BW, Aw M, Shek LP, Yap GC, et al. (2010). Comparative analysis of fecal microbiota in infants with and without eczema. *PLoS ONE.* 5: e9964. doi: 10.1371/journal.pone.0009964.
106. Hong P, Nononuevo MR, Lee B, Lebrilla C, Bode L. (2009). Human milk oligosaccharides reduce HIV-1-gp120 binding to dendritic cell-specific ICAM3-grabbing non-integrin (DC-SIGN). *Br J Nutr.* 101: 482–486.
107. Hong PY, Croix JA, Greenberg E, Gaskins HR, Mackie RI. (2011). Pyrosequencing-based analysis of the mucosal microbiota in healthy individuals reveals ubiquitous bacterial groups and micro-heterogeneity. *PLoS One.* 6(9):e25042. doi: 10.1371/journal.pone.0025042. Epub 2011 Sep 22.
108. Hooks KB, Konsman JP, O'Malley MA. (2018). Microbiota-gut-brain research: a critical analysis. *Behav. Brain Sci.* Epub ahead of print.
109. Huda MN, Lewis Z, Kalanetra KM, Rashid M, Ahmad SM, Raqib R, Qadri F, Underwood MA, Mills DA, Stephensen CB. (2014). Stool Microbiota and Vaccine Responses of Infants. *Pediatrics.* 134(2). doi: 10.1542/peds.2013-3937.
110. Hunt KM, Foster JA, Forney LJ, Schutte UM, Beck DL, Abdo Z, Fox LK, Williams JE, McGuire MK, McGuire MA. (2011). Characterization of the diversity and temporal stability of bacterial communities in human milk. *PLoS One.* 6:e21313.

111. Huurre A, Laitinen K, Rautava S, Korkeamaki M, Isolauri E. (2008). Impact of maternal atopy and probiotic supplementation during pregnancy on infant sensitization: a double-blind placebo-controlled study. *Clin Exp Allergy*. 38: 1342–1348.
112. Hviid A, Svanstrom H, Frisch M. (2011). Antibiotic use and inflammatory bowel diseases in childhood. *Gut*. 60: 49–54.
113. Indrio F, Riezzo G, Raimondi F, Bisceglia M, Cavallo L, Francavilla R. (2008). The effects of probiotics on feeding tolerance, bowel habits, and gastrointestinal motility in preterm newborns. *J Pediatr*. 152(6): 801–806.
114. Isolauri E, Kalliomaki M, Laitinen K, Salminen S. (2008). Modulation of the maturing gut barrier and microbiota: a novel target in allergic disease. *Curr. Pharm. Des.* 14: 1368–1375.
115. Jakobsson HE, Abrahamsson TR, Jenmalm MC, Harris K, Quince C, Jernberg C, et al. (2014). Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by caesarean section. *Gut*. 63: 559–566.
116. Jeurink PV, van Bergenhenegouwen J, Jimnez E, Knippels LMJ, Fernndez L, Garssen J, Knol J, Rodriguez JM, Martn R. (2013). Human milk: a source of more life than we imagine. *Beneficial Microbes*. 4(1): 17–30.
117. Jiang X, Huang P, Zhong W, Tan M, Farkas T, Morrow AL, Newburg DS, Ruiz-Palacios GM, Pickering LK. (2004). Human milk contains elements that block binding of noroviruses to human histo-blood group antigens in saliva. *J Infect Dis*. 190: 1850–1859.
118. Jimenez E, Fernandez L, Marin ML, Martin R, Odriozola JM, et al. (2005). Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section. *Current Microbiology*. 51: 270–274.
119. Jimenez E, Delgado S, Maldonado A, et al. (2008). Staphylococcus epidermidis: A differential trait of the fecal microbiota of breast-fed infants. *BMC Microbiology*. 8(10): 143.
120. Johansson MA, Sjogren YM, Persson JO, Nilsson C, Sverremark-Ekstrom, E. (2011). Early colonization with a group of Lactobacilli decreases the risk for allergy at five years of age despite allergic heredity. *PLoS ONE*. 6: e23031. doi: 10.1371.
121. Johansson ME, Larsson JM, Hansson GC. (2011). The two mucus layers of colon are organized by the MUC2 mucin, whereas the outer layer is a legislator of host-microbial interactions. *Proc Natl Acad Sci USA*. 108(1): 4659–4665.
122. Johnson K. (2014). Probiotics in Pregnancy, Lactation Reduce Dermatitis. *Medscape Medical News*. <http://www.medscape.com/viewarticle/835445>.
123. Johnston BC, Goldenberg JZ, Vandvik PO. (2011). Probiotics for the preventions of pediatric antibiotic-associated diarrhea. *Cochrane Database Syst. Rev.* 9(11):CD004827.
124. Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E. (2001). Probiotics in primary prevention of atopic disease: A randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 357: 1076–1079.
125. Kalliomaki M. (2003). Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 361(9372): 1869–1871.
126. Kalliomaki M, Salminen S, Poussa T, Isolauri E. (2007). Probiotics during the first 7 years of life: a cumulative risk reduction of eczema in a randomized, placebo-controlled trial. *J. Allergy Clin Immunol*. 119: 1019–1021.
127. Kalliomaki M, Collado MC, Salminen S, Isolauri E. (2008). Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight. *Am. J. Clin. Nutr.* 87(3): 534–538.
128. Kang DW, Adams J, Coleman DM, Pollard EL, Maldonado J, McDonough-Means S, Krajmalnik-Brown R. (2019). Long-term benefit of Microbiota Transfer Therapy on autism symptoms and gut microbiota. *Scientific reports*. 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42183-0>.
129. Keles S, Artac H, Kara R, Gokturk B, Ozen A, Reisli I. (2010). Transient hypogammaglobulinemia and unclassified hypogammaglobulinemia: 'similarities and differences'. *Pediatr. Allergy Immunol*. 21(5): 843–851.
130. Kelly D, Conway S, Aminov R. (2005). Commensal gut bacteria: mechanisms of immune modulation. *Trends in Immunology*. 26(6): 326–333.
131. Kelly JR, Kennedy PJ, Cryan JF, Dinan TG, Clarke G, Hyland NP. (2015). Breaking down the barriers: the gut microbiome, intestinal permeability and stress-related psychiatric disorders. *Front Cell Neurosci.* — 2015. 9: 392.
132. Kim JY, Kwon JH, Ahn SH, Lee SI, Han YS, Choi YO, Lee SY, Ahn KM, Ji GE. (2010). Effect of probiotic mix (Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium lactis, Lactobacillus acidophilus) in the primary prevention of eczema: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Pediatr Allergy Immunol*. 21(2 Pt 2): 386–393.
133. Kim YG, Sakamoto K, Seo SU, Pickard JM, Gilliland MG, Pudlo NA, et al. (2017). Neonatal acquisition of Clostridia species protects against colonization by bacterial pathogens. *Science*. 356: 315–319. 10.1126/science.aag2029.
134. Klaassens ES, de Vos WM, Vaughan EE. (2007). Metaproteomics approach to study the functionality of the microbiota in the human infant gastrointestinal tract. *Appl Environ Microbiol*. 73(4): 1388–1392.
135. Kleerebezem M, Binda S, Bron PA, Gross G, Hill C, van Hylckama Vlieg JE, et al. (2018). Understanding mode of action can drive the translational pipeline towards more reliable health benefits for probiotics. *Curr. Opin. Biotechnol*. 56: 55–60. 10.1016/j.copbio.2018.09.007.
136. Knights D, Silverberg MS, Weersma RK, Gevers D, Dijkstra G, Huang H, Tyler AD, van Sommeren S, Imhann F, Stempak JM, et al. (2014). Complex host genetics influence the microbiome in inflammatory bowel disease. *Genome Med*. 6: 107. doi: 10.1186/s13073-014-0107-1. eCollection 2014.
137. Koenig JE, Spor A, Scalfone N, Fricker AD, Stombaugh J. (2011). Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proc Natl Acad Sci USA*. 108: 14578–14585.
138. Koning CJ, Jonkers DM, Stobberingh EE, Mulder L, Rombouts FM, et al. (2008). The effect of a multispecies probiotic on the intestinal microbiota and bowel movements in healthy volunteers taking the antibiotic amoxicillin. *American Journal of Gastroenterology*. 103: 178–189.
139. Kopp MV, Hennemuth I, Heinzmann A, Urbanek R. (2008). Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of probiotics for primary prevention: no clinical effects of Lactobacillus GG supplementation. *Pediatrics*. 121: 850–856.
140. Korpela K, Salonen A, Vepsalainen O, Suomalainen M, Kolmeder C, Varjosalo M, et al. (2018). Probiotic supplementation restores normal microbiota composition and function in antibiotic-treated and in caesarean-born infants. *Microbiome*. 6: 182. 10.1186/s40168-018-0567-4.
141. Kotiranta-Ainamo A, Rautonen J, Rautonen N. (2004). Imbalanced cytokine secretion in newborns. *Biol Neonate*. 85(1): 55–60.
142. Kukkonen K, Savilahti E, Haahtela T, Juntunen-Backman K, Korpela R, Poussa T, Tuure T, Kuitunen M. (2007). Probiotics and prebiotic galacto-oligosaccharides in the prevention of allergic diseases: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol*. 119: 192–198.
143. Kunz C, Rudloff S, Baier W, Klein N, Strobel S. (2000). Oligosaccharides in human milk: Structural, functional, and metabolic aspects. *Annu. Rev. Nutr.* 20: 699–722.
144. Kurmann JA, Rasic JL. (1988). Fermented milks. *Science and technology. Bulletin of the international dairy federation*. 227: 237–260.
145. LaTuga MS, Ellis JC, Cotton CM, Goldberg RN, Wynn JL. (2011). Beyond bacteria: a study of the enteric microbial consortium in extremely low birth weight infants. *PLoS One*. 6(12): e27858. doi: 10.1371/journal.pone.0027858.
146. Law BJ, Urias BA, Lertzman J, Robson D, Romance L. (1989). Is Ingestion of Milk-Associated Bacteria by Premature Infants Fed Raw Human Milk Controlled by Routine Bacteriologic Screening? *J Clin Microbiol*. 27(7): 1560–1566.
147. Lawrence G, Tudehope D, Baumann K, et al. (2001). Enteral human IgG for prevention of necrotising enterocolitis: a placebo-controlled, randomised trial. *Lancet*. 357(9274): 2090–2094.
148. Lawrence RM, Pane CA. (2007). Human breast milk: current concepts of immunology and infectious diseases. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*. 37: 7–36.
149. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, et al. (2013). Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*. 500(7464): 541–546.
150. Lederberg J. (1998). *Plasmid*. 39: 1–9.
151. Lee JH, O'Sullivan DJ. (2010). Genomic Insights into Bifidobacteria. *Microbiol Mol Biol Rev*. 74(3): 378–416.
152. Leke A, Romond MB, Mullie C. (2007). Insights in the Human Bifidobacterial Flora Through Culture-Dependent and Independent Techniques. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*. 2: 758–765.

153. Lesman-Movshovich E, Lerrer B, Gilboa-Garber N. (2003). Blocking of *Pseudomonas aeruginosa* lectins by human milk glycans. *Can J Microbiol.* 49: 230–235.
154. Lewis ZT, Totten SM, Smilowitz JT, Popovic M, Parker E, Lemay DG, Van Tassel ML, Miller MJ, Jin YS, German JB, et al. (2015). Maternal fucosyltransferase 2 status affects the gut bifidobacterial communities of breast-fed infants. *Microbiome.* 3: 13. doi: 10.1186/s40168-015-0071-z. eCollection 2015.
155. Leyer GJ, Li S, Mubasher ME, Reifer C, Ouwehand AC. (2009). Probiotic effects on cold and influenza-like symptom incidence and duration in children. *Pediatrics.* 124(2): 172–179.
156. Li M, Wang M, Donovan SM. (2014). Early Development of the Gut Microbiome and Immune-Mediated Childhood Disorders. *Semin Reprod Med.* 32: 74–86.
157. Lin HC, Su BH, Chen AC. (2005). Oral probiotics reduce the incidence and severity of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics.* 115(1): 1–4.
158. Liu XL, Li ML, Ma WX, Xia SL, Xu BL. (2013). Clinical trial on the prevention of diarrhea by oral BIFICO for infants aged 1–6 years. *Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi.* 27(4): 277–279.
159. Madan JC, Salari RC, Saxena D, Davidson L, O'Toole GA. (2012). Gut microbial colonisation in premature neonates predicts neonatal sepsis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal.* 97(6): 456–462.
160. Madianos PN, Bobetsis YA, Offenbacher S. (2013). Adverse pregnancy outcomes (APOs) and periodontal disease: pathogenic mechanisms. *J Periodontol.* 84: 170–180.
161. Magne F, Abely M, Boyer F, Morville P, Pochart P, et al. (2006). Low species diversity and high interindividual variability in faeces of preterm infants as revealed by sequences of 16S rRNA genes and PCR-temporal temperature gradient gel electrophoresis profiles. *FEMS Microbiol Ecol.* 57: 128–138.
162. Martin R, Heilig HG, Zoetendal EG, Jimenez E, Fernandez L, Smidt H, Rodriguez JM. (2007). Cultivation-independent assessment of the bacterial diversity of breast milk among healthy women. *Res Microbiol.* 158: 31–37.
163. Makhoul IR, Bental Y, Weisbrod M, Sujov P, Lusky A, Reichman B. (2007). *Candida* versus bacterial late-onset sepsis in very low birth weight infants in Israel: a national survey. *J Hosp Infect.* 65: 237–243.
164. Makino H, Kushiro A, Ishikawa E, Kubota H, Gawad A, Sakai T, et al. (2013). Mother-to-infant transmission of intestinal bifidobacterial strains has an impact on the early development of vaginally delivered infant's microbiota. *PLoS ONE.* 8:e78331 10.1371/journal.pone.0078331.
165. Manzoni P, Pedicino R, Stolfi I, Decembrino L, Castagnola E, Pugni L. (2004). the Neonatal Fungal Infections Task Force of the Italian Neonatology Society. Criteri per una corretta Diagnosi delle Infezioni Fungine Sistemiche Neonatali in TIN: i suggerimenti della Task Force per le Infezioni Fungine Neonatali del G.S.I.N. *Pediatr. Med. Chir.* 26(2): 89–95.
166. Marcobal A, Sonnenburg J. (2012). Human milk oligosaccharide consumption by intestinal microbiota. *Clin Microbiol Infect.* 18: 12–15.
167. Martin RI. (2003). Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut / R.I. Martin, S.H. Langa, C.F. Reviriego. *J Pediatrics.* 143, 6: 754–758.
168. Martin RI. (2005). Probiotic potential of 3 *Lactobacilli* strains isolated from breast milk / R.I. Martin, M.G. Olivares, M.R. Martin. *J Hum Lact.* 21, 1: 351–365.
169. Matsuki S, Ozaki E, Shozu M, et al. (2005). Colonization by *Clostridium difficile* of neonates in a hospital, and infants and children in three day-care facilities of Kanazawa. *Japan Int Microbiol.* 8 (1): 43–48.
170. Matsumoto M, Ishige A, Yazawa Y, Kondo M, Muramatsu K, Watanabe K. (2012). Promotion of intestinal peristalsis by *Bifidobacterium* spp. Capable of hydrolysis sennosides in mice. *PLoS One.* 7: e31700.
171. Maurice CF, Haiser HJ, Turnbaugh PJ. (2013). Xenobiotics shape the physiology and gene expression of the active human gut microbiome. *Cell.* 152: 39–50.
172. Maynard CL, Elson CO, Hatton RD, Weaver CT. (2012). Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. *Nature.* 489: 231–241.
173. Mazmanian SK, Lui C, Tzianaboz AO, Kasper DL. (2005). An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell.* 122: 107–118.
174. Mbakwa CA, Hermes GDA, Penders J, Savelkoul PHM, Thijs C, Dagnelie PC, Mommers M, Zoetendal EG, Smidt H, Arts ICW. (2018). Gut Microbiota and Body Weight in School-Aged Children: The KOALA Birth Cohort Study. *Obesity (Silver Spring).* doi: 10.1002/oby.22320.
175. Mercenier A, Pavan S, Pot B. (2003). Probiotics as biotherapeutic agents: present knowledge and future prospects. *Curr Pharm Des.* 9(2): 175–191.
176. Mikkelsen HB, Garbarsch C, Trantum-Jensen J, Thuneberg L. (2004). Macrophages in the small intestinal muscularis externa of embryos, newborn and adult germ-free mice. *J Mol Histol.* 35(4): 377–387.
177. Mohammadkhah AI, Eoin Simpson B, Patterson SG, Ferguson JF. (2018). Development of the Gut Microbiome in Children, and Lifetime Implications for Obesity and Cardiometabolic Disease Children (Basel). 5(12): 160. doi: 10.3390/children5120160.
178. Moles L, Gomez M, Heilig H, Bustos G, Fuentes S. (2013). Bacterial Diversity in Meconium of Preterm Neonates and Evolution of Their Fecal Microbiota during the First Month of Life. *PLoS ONE.* 8(6): 669–686.
179. Morrow AL. (2005). Human-milk glyeans that inhibit pathogenbinding protect breastfeeding infants against infectious diarrhea / AL Morrow, GM Ruiz-Palacios, XL Jiang, DS Newburg. *J Nutr.* 135: 1304–1307.
180. Mshvildadze M, Neu J, Shuster J, Theriaque D, Li N. (2010). Intestinal microbial ecology in premature infants assessed with non-culture-based techniques. *J Pediatr.* 156: 20–25.
181. Nelson DE, Dong Q, Van der PB, et al. (2012). Bacterial communities of the coronal sulcus and distal urethra of adolescent males. *PLoS ONE.* 7: e36298.
182. Neu J, Walker WA. (2011). Medical Progress: Necrotizing Enterocolitis. *New England Journal of Medicine.* 364(3): 255–264.
183. Neufeld KM, Kang N, Bienenstock J, Foster JA. (2011). Reduced anxiety-like behavior and central neurochemical change in germ-free mice. *Neurogastroenterol Motil.* 23: 255–264.
184. Newburg DS., Walker WA. (2007). Protection of the neonate by the innate immune system of developing gut and of human milk. *Pediatr Res.* 61(1): 2–8.
185. Nicolini G, Sperotto F, Esposito S. (2014). Combating the rise of antibiotic resistance in children. *Minerva Pediatr.* 66: 31–39.
186. Niers L, Martin R, Rijkers G, Sengers G, Timmerman H, van Uden NN, Smidt H, Kimpen J, Hoekstra M. (2009). The effects of selected probiotic strains on the development of eczema (the PandA study). *Allergy.* 64: 1349–1358.
187. Oliveri S, Trovato L, Betta P, Romeo MG, Nicoletti G. (2008). Experience with the *Platelia Candida* ELISA for the diagnosis of invasive candidosis in neonatal patients. *Clin Microbiol Infect.* 14: 377–397.
188. O'Sullivan A, Farver M, Smilowitz JT. (2015). The Influence of Early Infant-Feeding Practices on the Intestinal Microbiome and Body Composition in Infants. *Nutr Metab Insights.* 8(1): 1–9.
189. Ouwehand A, Isolauri E, Salminen S. (2002). The role of intestinal microflora for development of the immune system in early childhood. *Eur J Nutr.* 41, 1: 132–137.
190. Ouwehand AC, Isolauri E, He F, Hashimoto H, Benno Y, Salminen S. (2001). Differences in *Bifidobacterium* flora composition in allergic and healthy infants. *J Allergy Clin Immunol.* 108(1):144–145.
191. Palmer C, Bik EM., DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. (2007). Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol.* 5: e177. doi: 10.1371/journal.pbio.0050177.
192. Pammi M, Cope J, Tarr PI, Warner BB, Morrow AL, Mai V, Gregory KE, Kroll JS, McMurtry V, Ferris M.J, et al. (2017). Intestinal dysbiosis in preterm infants preceding necrotizing enterocolitis: A systematic review and meta-analysis. *Microbiome.* 5:31. doi: 10.1186/s40168-017-0248-8.
193. Pannaraj PS. et al. (2017). Association between breast milk bacterial communities and establishment and development of the infant gut microbiome. *JAMA Pediatr.* 171: 647–654.
194. Patel RM, Underwood MA. (2018). Probiotics and necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg.* 27: 39–46. 10.1053/j.sempedsurg.2017.11.008.
195. Pedone CA, Arnaud CC, Postaire ER, et al. (2000). Multicentric study of the effect of milk fermented by *Lactobacillus casei* on the incidence of diarrhoea. *Int J Clin Prac.* 54(9): 568–571.
196. Penders J, Stobberingh EE, van den Brandt PA, Thijs C. (2007). The role of the intestinal microbiota in the development of atopic disorders. *Allergy.* 62(11): 1223–1236.

197. Penders J, Thijs C, van den Brandt PA, Kummeling I, Snijders B, Stelma F, Adams H, van Ree R, Stobberingh EE. (2007). Gut microbiota composition and development of atopic manifestations in infancy: the KOALA Birth Cohort Study. *Gut*. 56(5): 661–667.
198. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, van den Brandt PA, Stobberingh EE. (2006). Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics*. 118(2) 511–521.
199. Perez PE. (2007). Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? / PE Perez, JK Dore, MV Ledere, et al. *Pediatrics*. 6:724–732.
200. Perez-Munoz ME, Arrieta MC, Ramer-Tait AE, Walter J. (2017). A critical assessment of the «sterile womb» and «in utero colonization» hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome. *Microbiome*. 5: 48. DOI: 10.1186/s40168-017-0268-4.
201. Pettoello MM, et al. (1989). Lactose malabsorption in children with symptomatic giardia Lambiainfection: feasibility of yoghurt supplementation. *J Pediatr Gastroenterol*. 9: 295–300.
202. Phavichitr N, Puwdee P, Tantibhaedhyangkul R. (2013). Cost-benefit analysis of the probiotic treatment of children hospitalized for acute diarrhea in Bangkok, Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 44(6): 1065–1071.
203. Phadke SM, Deslouches B, Hileman SE, Montelaro RC, Wiesenfeld HC, Mietzner TA. (2005). Antimicrobial peptides in mucosal secretions: the importance of local secretions in mitigating infection. *J Nutr*. 135: 1289–1293.
204. Plummer SF, Garaiova I, Sarvotham T, et al. (2005). Effect of probiotics on the composition of the intestinal microbiota following antibiotic therapy. *Int J Antimicrob Agents*. 26: 69–74.
205. Praveen P, Jordan F, Priami C, Morine MJ. (2015). The role of breast-feeding in infant immune system: a systems perspective on the intestinal microbiome. *Microbiome*. doi: 10.1186/s40168-015-0104-7.
206. Prince AL, Ma J, Kannan PS, Alvarez M, Gisslen T, Harris RA, Sweeney EL, Knox CL, Lambers DS, Jobe AH, et al. (2016). The placental membrane microbiome is altered among subjects with spontaneous preterm birth with and without chorioamnionitis. *Am J Obstet Gynecol*. 214: 627.e1-627.e16. doi: 10.1016/j.ajog.2016.01.193.
207. Probiotic in children (2016) / Ed. M Manfredi and GL de'Angelis. — New York: Nova Science Publishers Inc: 352.
208. Quigley EMM, Pot B, Sanders ME. (2018). 'Brain foginess' and D-lactic acidosis: probiotics are not the cause. *Clin Transl Gastroenterol*. 9:187. 10.1038/s41424-018-0057-9.
209. Rao SSC, Rehman A, Yu S, Andino NM. (2018). Brain foginess, gas and bloating: a link between SIBO, probiotics and metabolic acidosis. *Clin Transl Gastroenterol*. 9:162. 10.1038/s41424-018-0030-7.
210. Rather IA, Bajpai VK, Kumar S, Lim J, Paek WK, Park YH. (2016). Probiotics and Atopic Dermatitis: An Overview. *Front Microbiol*. 7: 507. doi: 10.3389/fmicb.2016.00507.
211. Rautava S, Kalliomaki M, Isolauri E. (2002). Probiotics during pregnancy and breast-feeding might confer immunomodulatory protection against atopic disease in the infant. *J Allergy Clin Immunol*. 109(1): 119–121.
212. Rautava S, Arvilommi H, Isolauri E. (2006). Specific probiotics in enhancing maturation of IgA responses in formula-fed infants. *Pediatr Res*. 60: 221–224.
213. Rautava S, Salminen S, Isolauri E. (2009). Specific probiotics in reducing the risk of acute infections in infancy — a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Br J Nutr*. 101: 1722–1726.
214. Robertson RC, Manges AR, Finlay BB, Prendergast AJ. (2019). The Human Microbiome and Child Growth — First 1000 Days and Beyond. *Trends Microbiol*. 27(2): 131–147. doi: 10.1016/j.tim.2018.09.008.
215. Romeo MG, Romeo DM, Trovato L, Oliveri S, Palermo F, Cota F, Betta P. (2011). Role of probiotics in the prevention of the enteric colonization by *Candida* in preterm newborns: incidence of late-onset sepsis and neurological outcome. *J Perinatol*. 31(1): 63–69.
216. Rosberg-Cody E, Ross RP, Hussey S, Ryan CA, Murphy BP, Fitzgerald GF, Devery R, Stanton C. (2004). Mining the microbiota of the neonatal gastrointestinal tract for conjugated linoleic acid-producing bifidobacteria. *Appl Environ Microbiol*. 70(8): 4635–4641.
217. Rouge C, Piloquet H, Butel MJ, Berger B, Rochat F. (2009). Oral supplementation with probiotics in very-low-birth-weight preterm infants: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 89: 1828–1835.
218. Rouge C, Goldenberg O, Ferraris L, Berger B, Rochat F. (2010). Investigation of the intestinal microbiota in preterm infants using different methods. *Anaerobe*. 16: 362–370.
219. Sanctuary MR, Kain JN, Chen SY, Kalanetra K, Lemay DG, Rose DR, et al. (2019) Pilot study of probiotic/colostrum supplementation on gut function in children with autism and gastrointestinal symptoms. *PLoS ONE*. 14(1): e0210064. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210064>
220. Satokari R, Gronroos T, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E. (2009). Bifidobacterium and Lactobacillus DNA in the human placenta. *Lett Appl Microbiol*. 48: 8–12.
221. Saran S, Gopalan S, Krishna TP. (2002). Use of fermented foods to combat stunting and failure to thrive. *Nutrition*. 18: 393–396.
222. Saulnier DMA, Spinler JK, Gibson GR, Versalovic J. (2009). Mechanisms of probiosis and prebiosis: considerations for enhanced functional foods. *Current Opinion in Biotechnology*. 20(2): 135–141.
223. Savidge TC. (2016). Epigenetic regulation of enteric neurotransmission by gut bacteria. *Front Cell Neurosci*. 9:503. 10.3389/fncel.2015.00503.
224. Savino F, Pelle E, Palumeri E, Oggero R, Miniero R. (2007). Lactobacillus reuteri (American Type Culture Collection Strain 55730) versus simethicone in the treatment of infantile colic: a prospective randomized study. *Pediatrics*. 119(1): 124–130.
225. Sazawal S, Dhingra U, Hiremath G, Sarkar A, Dhingra P, Dutta A, Verma P, Menon VP, Black RE. (2010). Prebiotic and probiotic fortified milk in prevention of morbidities among children: community-based, randomized, double-blind, controlled trial. *PLoS One*: 5(8): e12164.
226. Schirmer M, Franzosa EA, Lloyd-Price J, McIver LJ, Schwager R, Poon TW. (2018). Dynamics of metatranscription in the inflammatory bowel disease gut microbiome. *Nat Microbiol*. 3: 337–346. 10.1038/s41564-017-0089-z.
227. Schnorr SL, Sankaranarayanan K, Lewis CM Jr, Warinner C. (2016). Insights into human evolution from ancient and contemporary microbiome studies. *Curr Opin Genet Dev*. 41: 14–26.
228. Schwierz A, Gruhl B, Lobnitz M, Michel P, Radke M, Blaut M. (2003). Development of the intestinal bacterial composition in hospitalized preterm infants in comparison with breast-fed, full-term infants. *Pediatr Res*. 54(3): 393–399.
229. Sela DA, Mills DA. (2010). Nursing our microbiota: molecular linkages between bifidobacteria and milk oligosaccharides. *Trends Microbiol*. 18(7): 298–307.
230. Shaw S, Blanchard J, Bernstein C. (2010). Association between the use of antibiotics in the first year of life and pediatric inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*. 105: 2687–2692.
231. Shornikova AV, Casas IA, Mykkanen N, Salo E, Vesikari T. (1997). Bacteriotherapy with *Lactobacillus reuteri* in rotavirus gastroenteritis. *Pediatr Infect Dis J*. 16: 1103–1107.
232. Shreiner A, Huffnagle GB, Noverr MC. (2008). The Microflora Hypothesis of allergic disease. *Adv Exp Med Biol*. 635: 113–134.
233. Siggers RH, Siggers J, Thymann T, Boye M, Sangild PT. (2011). Nutritional modulation of the gut microbiota and immune system in preterm neonates. *J Nutr Biochem*. 22: 511–521.
234. Smilowitz JT, Lebrilla CB, Mills DA, German JB, Freeman SL. (2014). Breast milk oligosaccharides: structure-function relationships in the neonate. *Annu Rev Nutr*. 34: 143–169.
235. Sommer F, Backhed F. (2013). The gut microbiota — masters of host development and physiology. *Nat Rev Microbiol*. 11(4): 227–238.
236. Stinson LF, Boyce MC, Payne MS, Keelan JA. (2019). The Not-so-Sterile Womb: Evidence That the Human Fetus Is Exposed to Bacteria Prior to Birth. *Front Microbiol*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01124>.
237. Szajewska H, Mrukowicz JZ. (2005). Use of probiotics in children with acute diarrhea. *Pediatr Drugs*. 7(2): 111–122.
238. Szajewska H, Skorka A, Ruszczyński M, Gieruszczak-Bialek D. (2013). Meta-analysis: *Lactobacillus GG* for treating acute gastroenteritis in children — updated analysis of randomised controlled trials. *Aliment Pharmacol Ther*. 38(5): 467–476.
239. Tazi-Makhasassi L. (1985). Apport d'une argile naturelle, la Smectite, un complement de la rehydratation orale dans le traitement de l' diarrhee aiguë de l'enfant. 16 eme Congres

- de l'Union des Societes de Pediatrie du Moyen-Orient et de la mediterrane Marakech 21–23 nov. 1985.
240. Taylor AL. (2007). Probiotic supplementation for the first 6 months of life fails to reduce the risk of atopic dermatitis and increases the risk of allergen sensitization in high-risk children: a randomized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol.* 119(1): 184–191.
 241. Thormar H, Hilmarsson H. (2007). The role of microbicidal lipids in host defense against pathogens and their potential as therapeutic agents. *Chem Phys Lipids.* 150: 1–11.
 242. Timmerman HM, Koning G, Mulder L, et al. (2004). Monostrain, multi-strain and multispecies probiotics-A comparison of functionality and efficacy. *Int J Food Microbiol.* 96 (3): 219–233.
 243. Tong JL, Ran ZH, Shen J, et al. (2007). Meta-analysis: the effect of supplementation with probiotics on eradication rates and adverse events during *Helicobacter pylori* eradication therapy. *Aliment Pharmacol Ther.* 25: 155–168.
 244. Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JL. (2007). The human microbiome project. *Nature.* 449(7164): 804–810.
 245. Valles-Colomer M, Falony G, Darzi Y, Tigchelaar EF, Wang J, Tito RY, et al. (2019). The neuroactive potential of the human gut microbiota in quality of life and depression. *Nat Microbiol.* 10.1038/s41564-018-0337-x.
 246. Van Baaren P, Troost FJ, van Hemert S, van der Meer C, de Vos WM, de Groot PJ, Hoiveld GJEJ, Brummer RM, Kleerebezem M. (2009). Differential NF- κ B pathways induction by *Lactobacillus plantarum* in the duodenum of healthy humans correlating with immune tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA.* 106: 2371–2376.
 247. Velilla PA, Rugeles MT, Chougnet CA. (2006). Defective antigen-presenting cell function in human neonates. *Clin Immunol.* 121(3): 251–259.
 248. Vendt N, Grunberg H, Tuure T, Maliniemi O, Wuolijoki E, Tillmann V, Sepp E, Korpela R. (2006). Growth during the first 6 months of life in infants using formula enriched with *Lactobacillus rhamnosus* GG: double-blind, randomized trial. *J Hum Nutr Diet.* 19: 51–58.
 249. Verhasselt V. (2010). Oral tolerance in neonates: from basics to potential prevention of allergic disease. *Mucosal Immunol.* 3(4): 326–333.
 250. Villena J, Salva S, Nunez M, Corzo J, Tolaba R, Faedda J, et al. (2012). Probiotics for everyone! The novel immunobiotic *Lactobacillus rhamnosus* CRL1505 and the beginning of Social Probiotic Programs in Argentina. *Int J Biotechnol Wellness Ind.* 1: 189–198.
 251. Vitetta L, Briskey D, Alford H, Hall S, Coulson S. (2014). Probiotics, prebiotics and the gastrointestinal tract in health and disease. *Inflammopharmacology.* 22(3): 135–154.
 252. Vitetta L, Coulson S, Thomsen M, Nguyen T, Hall S. (2017). Probiotics, D-Lactic acidosis, oxidative stress and strain specificity. *Gut Microbes.* 8: 311–322. 10.1080/19490976.2017.1279379.
 253. Voreades N, Kozil A, Weir TL. (2014). Diet and the development of the human intestinal microbiome. *Front Microbiol.* 5: 494.
 254. Wandro S, Osborne S, Enriquez C, Bixby C, Arrieta A, Whiteson K. (2018). The microbiome and metabolome of preterm infant stool are personalized and not driven by health outcomes, including necrotizing enterocolitis and late-onset sepsis. *mSphere.* 3: e104-18. 10.1128/mSphere.00104-18.
 255. Wang Y, Hoenig JD, Maini KJ, Qamar S, Petrof EO. (2009). 16S rRNA gene-based analysis of fecal microbiota from preterm infants with and without necrotizing enterocolitis. *ISME J.* 3: 944–954.
 256. Wang S, Harvey L, Martin R, et al. (2018). Targeting the gut microbiota to influence brain development and function in early life. *Neurosci Biobehav Res.* 95:191-201. doi: 10.1016/j.neubiorev.2018.09.002.
 257. Wei B, Wingender G, Fujiwara D, Chen DY, McPherson M, Brewer S, Borneman J, Kronenberg M, Braun J. (2010). Commensal microbiota and CD8⁺ T cells shape the formation of invariant NKT cells. *J Immunol.* 184(3): 1218–1226.
 258. Weiss GA, Hennem T. (2017). Mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis. *Cell. Mol. Life Sci.* 74: 2959–2977. 10.1007/s00018-017-2509-x.
 259. Weizman Z, Asli G, Alsheikh A. (2005). Effect of a probiotic infant formula on infections in child care centers: comparison of two probiotic agents. *Pediatrics.* 115(1): 5–9.
 260. West CE, Hammarstrom ML, Hernell O. (2009). Probiotics during weaning reduce the incidence of eczema. *Pediatr. Allergy Immunol.*: 430–437.
 261. Westerbeek EAM, van den Berg A, Lafeber HN, Knol J, Fetter WPF, van Elburg RM. (2006). The intestinal bacterial colonisation in preterm infants: A review of the literature. *Clinical Nutrition.* 25(3): 361–368.
 262. Whiteman H. (2014). Placenta 'not a sterile environment', study suggests // *Medical News Today.* // <http://www.bodyecology.com/.../what-pregnant-women-ne>.
 263. Wickens KL, Crane J, Kemp TJ, Lewis SJ, D'Souza WJ, Sawyer GM, Stone ML, Tohill SJ, Kennedy JC, Slater TM, et al. (1999). Family size, infections, and asthma prevalence in New Zealand children. *Epidemiology.* 10: 699–705.
 264. Wickens K, Ingham T, Epton M, Pattermore P, Town I, Fishwick D, Crane J. (2008). The association of early life exposure to antibiotics and the development of asthma, eczema and atopy in a birth cohort: Confounding or causality? *Clin Exp Allergy.* 38: 1318–1324.
 265. Woo SI, Kim JY, Lee YJ, Kim NS, Hahn YS. (2010). Effect of *Lactobacillus sakei* supplementation in children with atopic eczema-dermatitis syndrome. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 104: 343–348.
 266. Woodgate P, Cooke L, Webster H. (2005). Medical therapy for infantile colic. *Cochrane Database Syst Rev.* 4: 43–82.
 267. Wu KG, Li TH, Peng HJ. (2012). *Lactobacillus salivarius* plus fructo-oligosaccharide is superior to fructo-oligosaccharide alone for treating children with moderate to severe atopic dermatitis: a double-blind, randomized, clinical trial of efficacy and safety. *Br J Dermatol.* 166: 129–136.
 268. Yan J, Herzog JW, Tsang K, Brennan CA, Bower MA, Garrett WS. (2016). Gut microbiota induce IGF-1 and promote bone formation and growth. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 113: E7554-E7563. 10.1073/pnas.1607235113.
 269. Yano JM, Yu K, Donaldson GP, Shastri GG, Ann P, Ma L. (2015). Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis. *Cell.* 161; 264–276. 10.1016/j.cell.2015.02.047.
 270. Yamamoto-Hanada K, Yang L, Narita M, Saito H, Ohya Y. (2017). Influence of antibiotic use in early childhood on asthma and allergic diseases at age 5. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 119: 54–58. doi: 10.1016/j.anai.2017.05.013.
 271. Yamashiro Y, Nagata S. (2010). Beneficial microbes for premature infants, and children with malignancy undergoing chemotherapy. *Benef. Microbes.* 1(4): 357–365.
 272. Yatsunencko T, Rey FE, Manary MJ, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature.* 486: 222–227.
 273. Yolken RH, Peterson JA, Vonderfecht SL, Fouts ET, Midthun K, Newburg DS. (1992). Human milk mucin inhibits rotavirus replication and prevents experimental gastroenteritis. *J Clin Invest.* 90: 1984–1991.
 274. Zelaya H, Alvarez S, Kitazawa H, Villena J. (2016). Respiratory Antiviral Immunity and Immunobiotics: Beneficial Effects on Inflammation-Coagulation Interaction during Influenza Virus Infection. *Front Immunol.* 7: 633. doi: 10.3389/fimmu.2016.00633.
 275. Zeng MY, Cisalpino D, Varadarajan S, Hellman J, Warren HS, Cascalho M. (2016). Gut microbiota-induced immunoglobulin G controls systemic infection by symbiotic bacteria and pathogens. *Immunity.* 44: 647–658. 10.1016/j.immuni.2016.02.006.
 276. Zhang J, Ouyang H, Zhu HB, Zhu H, Lin X, Co E. (2006). Development of gastric slow waves and effects of feeding in pre-term and full-term infants. *Neurogastroenter Motil.* 18: 284–291.
 277. Zhang Y, Brady A, Jones C, Song Y, Darton TC, Jones C, et al. (2018). Compositional and functional differences in the human gut microbiome correlate with clinical outcome following infection with wild-type *Salmonella enterica* serovar Typhi. *mBio.* 9: e686-18. 10.1128/mBio.00686-18.
 278. Zhu CS, Grandhi R, Patterson TT, Nicholson SE. (2018). A Review of Traumatic Brain Injury and the Gut Microbiome: Insights into Novel Mechanisms of Secondary Brain Injury and Promising Targets for Neuroprotection. *Brain Sci.* 8: 113. doi: 10.3390/brainsci8060113.
 279. Zimmermann P, Curtis N. (2018). The influence of the intestinal microbiome on vaccine responses. *Vaccine.* 36: 4433-4439. doi: 10.1016/j.vaccine.2018.04.066.
 280. Zivkovic AM, German JB, Lebrilla CB, Mills DA. (2011). Human milk glyco-biome and its impact on the infant gastrointestinal microbiota. *PNAS.* 108(1): 4653–4658.
 281. Zmora N, Zilberman-Schapira G, Suez J, Mor U, Dori-Bachash M, Bashiardes S, et al. (2018). Personalized gut mucosal colonization resistance to empiric probiotics is associated with unique host and microbiome features. *Cell.* 174: 1388-1405.e22. 10.1016/j.cell.2018.08.041.
 282. Zoppi G, Cinquetti M, Benini A, Bonamini E, Minelli E. (2001). Modulation of the intestinal ecosystem by probiotics and lactulose in children during treatment with ceftriaxone. *Curr. Therap. Res.* 62: 418–435.

Information about authors:

Yankovsky D.S. — Doctor of biological sciences, Professor, Director General of the Scientific production company O.D. Prolisok
Shirobokov V.P. — Doctor of Medicine, Professor, academician of the NAS of Ukraine, academician of the NAMS of Ukraine, Head of the chair of microbiology, virology and immunology of the A.A. Bogomolets National medical university
Dymnt G.S. — candidate of technical sciences, Director General of the Scientific center of the Scientific production company O.D. Prolisok

Article received: Apr 04, 2019. Accepted for publication: Aug 20, 2019.

УДК 616-053.2:613.95+616-002+612.017.1:615.37

Д.С. Янковский¹, В.П. Ширококов², Г.С. Дымент²

Роль микробиома в формировании здоровья ребенка (обзор литературы)

¹НПК «О.Д. Пролисок», с. Великая Ольшанка, Украина²Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, г. Киев, Украина

Modern pediatrics. Ukraine. 2019.5(101):64-111; doi 10.15574/SP.2019.101.64

For citation: Yankovsky DS, Shirobokov VP, Dyment GS. (2019). The role of microbiome in the formation of child health (literature review). Modern Pediatrics.Ukraine. 5(101): 64-111. doi 10.15574/SP.2019.101.64

Обзор посвящен изучению связи микробиома с физиологическими и патологическими процессами, протекающими при развитии организма ребенка. Приведены современные данные, касающиеся становления микробиома у детей, начиная с внутриутробного развития плода, а также микробиомных изменений, протекающих в процессе онтогенеза. Дана характеристика состава и функциональной активности микробиоты у детей раннего возраста. Описано влияние измененного микробиома на развитие заболеваний детского возраста. Проведен анализ результатов исследований, касающихся целесообразности использования отдельных средств оздоровления микробиома при разной форме детской патологии.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Ключевые слова: микробиом, микробиота, метаболиты, заболевания, воспаление, дисбиоз, иммунитет, пробиотики, пребиотики, синбиотики, энтеросорбенты.

Роль мікробіома у формуванні здоров'я дитини (огляд літератури)

Д.С. Янковський¹, В.П. Ширококов², Г.С. Димент²¹НПК «О.Д. Пролісок», с. Велика Ольшанка, Україна²Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

Огляд присвячено вивченню зв'язку микробиома з фізіологічними і патологічними процесами, що відбуваються під час розвитку організму дитини. Наведено сучасні дані щодо становлення микробиома у дітей, починаючи з внутрішньоутробного розвитку плода, а також микробиомних змін, що відбуваються у процесі онтогенезу. Охарактеризовано склад і функціональну активність микробиоти у дітей раннього віку. Описано вплив зміненого микробиома на розвиток захворювань дитячого віку. Проведено аналіз результатів досліджень щодо доцільності використання окремих засобів оздоровлення микробиома при різних формах дитячої патології.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Ключові слова: микробиом, микробиота, метаболіти, захворювання, запалення, дисбіоз, імунітет, пробіотики, пребіотики, синбіотики, ентеросорбенти.

Микробиом ребенка и факторы, влияющие на его формирование

Прошло уже больше 18 лет с тех пор, как было сформулировано научное определение микробиома как уникального органа человека, основу которого составляет совокупность микробных сообществ различных экологических ниш [150]. С тех пор изучение микробиома прогрессировало в исключительно быстром темпе. В частности, многочисленные исследования, давшие весьма интересные результаты, были проведены в рамках проекта «Микробиом человека» (Human Microbiome Project) [244]. В ходе реализации этого проекта получено множество убедительных доказательств огромного потенциала воздействия микробиома на различные процессы функционирования организма человека, включая метаболические механизмы мозга [19,35,39,40,59,63,73,77,83,226,227,245,258,268,269,275].

Особый интерес вызывают вопросы становления микробиома у детей, поскольку от степени физиологичности этого процесса зависит не только рост и развитие детского организма, но и его здоровье в дальнейшие стадии жизни.

Первичное формирование микробиома в биотопах ребенка имеет свои характерные особенности, значительно отличающиеся от механизмов развития всех остальных тканей,

органов и систем. Этот процесс происходит, в основном, в перинатальном и раннем детском возрасте, и на его развитие влияют многие факторы, в частности состояние микробиома матери, характер вскармливания ребенка, рацион женщины во время беременности и грудного вскармливания, качество грудного молока, применение медикаментозной терапии (особенно антибиотиков), состояние окружающей среды и др.

Результаты исследований последних лет поставили под сомнение прежние представления о стерильности условий плацентарного периода развития плода и пошатнули уже ставшее классическим утверждение о том, что первое знакомство организма младенца с живой микрофлорой происходит в родовых путях матери. В ряде работ получены убедительные свидетельства того, что процесс становления микробной системы начинается еще в период внутриутробного развития плода за счет формирования в организме беременной уникального по своей значимости микробиома плаценты, о существовании которого специалисты не так давно даже не подозревали [18,20,28,54,85,88,200,236].

Первые сведения о том, что микробиом может формироваться у млекопитающих еще

до рождения, появились в 2008 году. Исследователи из университета Комплутенсе в Мадриде (Complutense University of Madrid) добавляли в корм беременным мышам молоко, содержащее меченые микроорганизмы. За день до назначенного срока родов мышам провели кесарево сечение в стерильных условиях, а у новорожденных мышей исследовали меконий, в котором обнаружили меченые бактерии [119].

В 2009 году американские исследователи опубликовали данные об изоляции из плаценты 34 пациенток ДНК бифидобактерий и лактобацилл [220]. Поскольку культивированием на питательных средах живые микроорганизмы обнаружить не удалось, авторы этого исследования предположили возможность транслокации молекул нуклеиновых кислот через плацентарную оболочку. По мнению исследователей, функция обнаруженных в плаценте нуклеиновых кислот может заключаться в способствовании более раннему, чем предполагалось, развитию иммунных механизмов Th-1-типа через активацию Toll-9-подобного рецептора [220].

Убедительные доказательства способности микробиоты беременной женщины преодолевать плацентарный барьер были получены в 2012 году группой ученых из Университета Валенсии, обнаружившей бактерии рода *Lactobacillus* и *Escherichia* в меконии 20 новорожденных детей [100]. Причем, примерно у половины новорожденных доминирующими оказались лактобациллы, в то время как у другой половины преобладала кишечная палочка. Зависимость соотношения между лактобациллами и эшерихиями от различных внешних факторов и физиологических особенностей организма матери четко установлена не была, однако исследователи предположили, что состав микробиома новорожденных зависит от образа жизни беременной женщины, ее диеты и физической нагрузки [100].

Позже присутствие микроорганизмов в меконии было подтверждено другими исследованиями [92,178,236]. Авторы этих работ установили, что преобладание в меконии условно-патогенных бактерий ассоциировалось с предрасположенностью младенцев к аллергическим и респираторным заболеваниям.

Кратковременная колонизация стерильных мышей во время беременности обеспечивает созревание врожденного иммунитета у их безмикробных отпрысков, что дает лучшую защиту от инфекций [90]. Поскольку инфекции

играют важную роль в нарушении развития ребенка, эти результаты предполагают, что транслокация кишечных микробных продуктов от матери плоду играет важную роль в созревании иммунитета и, возможно, в развитии фенотипа ребенка после рождения.

В 2014 году исследователи из Техасской детской больницы в Хьюстоне определили генетические последовательности бактерий из плацент 320 женщин. Ткани брались сразу же после родов, изнутри плаценты, то есть отобранные образцы не соприкасались с микробиотой родовых путей. В исследованных тканях был обнаружен удивительно широкий спектр бактерий. Выявление этого микробного сообщества свидетельствует о существовании уникального плацентарного микробиома, который, бесспорно, представляет важнейшее значение для развития плода и последующего становления микробной системы ребенка [20].

Используя метагеномный анализ, ученые обнаружили в плаценте бактерии пяти основных типов микробиома взрослого человека: *Firmicutes*, *Tenericutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* и *Fusobacteria* [20].

Главной неожиданностью для ученых стало то, что эти микроорганизмы отличались от кишечных и вагинальных микросимбионтов женщин, но оказались идентичными бактериям, широко представленным в составе биоценоза ротовой полости. Принимая во внимание выявленные различия между плацентарными микробиомами женщин, выносивших ребенка полный срок, и родивших преждевременно (до 37-й недели беременности), исследователи сделали вывод, что патологический микробиом плаценты может быть фактором риска преждевременных родов. Кроме того, установлено, что на состав плацентарной микрофлоры негативно влияют перенесенные матерью до родов инфекционные заболевания, в первую очередь инфекции мочевыводящих путей в первом триместре беременности [262].

Следует отметить, что микрофлора ротового происхождения обнаруживалась в амниотической жидкости женщин и ранее. Так, еще в 2002 году появилось сообщение об изоляции из околоплодных вод беременных с запланированным кесаревым сечением фузобактерий и стрептококков, идентичных микрофлоре ротовой полости. Но тогда исследователи предположили возможности инфицирования околоплодных вод условно-патогенными микроорганизмами за счет их транслокации из

ротовой полости по кровотоку и предложили рассматривать этот феномен в качестве одного из маркеров осложнений беременности [32].

Совсем недавно группа австралийских исследователей из Университета Эдит Коуэн (Edith Cowan University) и Университета Западной Австралии (University of Western Australia) убедительно подтвердили наличие микробов в плаценте, амниотической жидкости и меконии новорожденных. Ученые установили присутствие в этих микробиомах широкого спектра видов бактерий, распространенных на коже, в ротовой полости и кишечнике людей [236].

Выявление у плаценты собственной микробной экологии, которая, бесспорно, оказывает существенное влияние на рост и развитие плода, в том числе на формирование его микробиома, свидетельствует о более масштабном влиянии микробиома женщины на здоровье ребенка, чем предполагалось еще недавно. Кроме того, полученные результаты являются еще одним доказательством справедливости положения о тесной взаимосвязи локальных биоценозов организма, объединенных в единую микробную экологическую систему, участвующую в самых различных функциях и реакциях других органов и систем, обеспечивая и поддерживая гомеостаз.

Таким образом, в нормальных условиях адаптация ребенка к жизни в микробном мире начинается задолго до рождения, и от качества внутриутробного микробного окружения зависит как развитие плода, так и физиологичность рождения и постнатальное здоровье ребенка. Встреча с симбиотическими микроорганизмами уже в утробе матери — это важнейший механизм длительной адаптации плода и его иммунологического аппарата к жизни в мире микробов, в который он попадет после рождения. В этой связи чрезвычайно важным представляется оздоровление микробиома женщины еще на стадии планирования беременности с дальнейшим поддержанием его нормального состояния на протяжении всей беременности и периода грудного вскармливания ребенка, то есть в периоды максимального воздействия микрофлоры женского организма на формирование у ребенка собственного микробиома. При этом внимание должно уделяться не только состоянию кишечного и вагинального биоценозов, но и всех остальных биотопов организма, включая ротовую полость.

В дальнейшем, в период рождения и постнатально, ребенок активно колонизируется мате-

ринскими штаммами других биотопов: кишечника, влагалища, кожи, грудного молока.

Так, Н. Makino и соавт. (2013) установили, что кишечник родильницы является для ее ребенка важным источником колонизации физиологическими микроорганизмами, в частности бифидобактериями. По данным исследователей, здоровые младенцы, рожденные естественным путем, приобретают в течение первых трех дней после рождения от 1 до 7 штаммов бифидобактерий из кишечного микробиома матери [164].

Важным фактором, влияющим на процесс микробной колонизации биотопов организма и формирование микробиома, является гестационный возраст ребенка. Заселение слизистых оболочек симбиотическими микроорганизмами у недоношенных детей часто проходит более медленно, у них наблюдается большая вариабельность биоценозов и меньшее их разнообразие по сравнению со здоровыми доношенными детьми [85,156,164]. Есть сведения, что с преждевременным рождением может быть связано нарушение состава материнского микробиома [18,51,127,206].

По данным D.A. Chernikova и соавт. (2018), недоношенные дети имеют различия в разнообразии микробиома в зависимости от гестационного возраста [51]. Ранними поселенцами биотопов недоношенных детей часто являются условно-патогенные представители родов *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Clostridium*, *Candida* и др. [5,15,17,96,118,119]. В то же время обычные для кишечника здоровых доношенных детей сахаролитические анаэробы родов *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* в стуле недоношенных детей обнаруживаются не всегда и в недостаточном количестве [15,164]. Замедленная колонизация и меньшее разнообразие кишечной микробиоты у недоношенных детей в некоторой степени связаны с содержанием их в асептических условиях отделений интенсивной терапии и отсроченным кормлением *per os* [156]. Кроме того, широкое использование антибиотиков у таких детей также может быть важным фактором, ответственным за нарушение состава микробиоты [10,11,198], из-за чего недоношенные дети могут быть более восприимчивыми к расстройствам функций желудочно-кишечного тракта, развитию инфекционных заболеваний и такой тяжелой формы патологии, как некротический энтероколит [11,37,53,180].

Заметную роль в формировании полноценного микробиома ребенка играет способ родо-

разрешения. Установлено, что состав фекальной флоры детей, рожденных естественным путем, был наиболее близок к вагинальным сообществам матерей с преобладанием родов *Lactobacillus*, *Prevotella* и *Atopobium*. Что же касается детей, рожденных путем кесарева сечения, то у них бактериальный состав фекалий был наиболее близким к микробиоте кожи матери с преобладанием бактерий родов *Staphylococcus* и *Corynebacterium* [94,118,156].

Н.Е. Jakobsson и соавт. (2014) установили, что у детей, рожденных путем кесарева сечения, по сравнению с детьми, рожденными естественным путем, в течение первых двух лет жизни отмечается более низкое микробное разнообразие в кишечном биотопе, характеризующееся медленным становлением популяций типа *Bacteroidetes* и сниженным Th1-ответом [115].

Дети, рожденные путем кесарева сечения, часто колонизируются потенциально патогенными видами клостридий. В составе микробиома таких детей содержится мало бифидобактерий, но присутствуют в значительном количестве бактерии вида *Clostridium difficile*, которые появляются в кишечнике уже в первые три дня жизни [198]. В то же время микробиом вагинально рожденных детей отличается высокими популяциями бифидобактерий, в частности видов *Bifidobacterium longum* и *B. Catenulatum*, и редким присутствием представителей вида *Clostridium difficile* [156,198].

Вызывают интерес обнаруженные в последние годы ассоциации между специфическими микробными таксонами, особенно в кишечном микробиоме, и генотипом макроорганизма [35,40,59,91,136,227]. Одна из таких ассоциаций наблюдается между уровнями экспрессии материнского гена фукозилтрансферазы-2 (FUT2) и поселением в кишечнике младенца бактерий рода *Bifidobacterium*. При этом младенцы, рожденные от матерей, не секретирующих этот фермент (FUT2-/-), имеют задержку с колонизацией кишечника представителями рода *Bifidobacterium* [28,154]. Как известно, члены этого рода являются главной компонентой кишечного микробиома ребенка на грудном вскармливании, поскольку они уникально приспособлены для метаболизма олигосахаридов материнского молока [24,28,234] и играют ключевую роль в поддержании здоровья ребенка благодаря регуляции кишечной проницаемости и уменьшению воспаления [52].

Особое значение в последние годы придается пролиферации в кишечнике новорожденных детей бифидобактерий подвида *B. longum. spp. infantis*. Уникальность этих бактерий для детского организма заключается в наличии в составе их генома особого кластера размером 43 тыс. пар оснований [86,151,152,229]. Четыре из 30 расположенных на нем генов кодируют синтез ферментов, расщепляющих олигосахариды грудного молока до моносахаридов [86,134]. Эта группа ферментов содержит сиалидазу, фукозидазу, N-ацетил-β-гексозаминидазу и β-галактозидазу.

По данным Е. Rosberg-Cody и соавт. (2004), отдельные штаммы бифидобактерий, входящих в состав микробиоты здоровых младенцев, способны продуцировать конъюгированные изомеры линолевой кислоты с доказанным противоопухолевым и противовоспалительным эффектом [216].

При рождении путем кесарева сечения дети лишены поступления в биотопы их организма вагинальной и кишечной микрофлоры матери, в связи с чем отличаются более длительным и болезненным конструированием биоценозов, чаще подвергаются колонизации госпитальными штаммами, развитию дисбиозов и инфекционных заболеваний [4,10,11,13,18,156,277].

Таким образом, начальная колонизация, запускаемая плацентарным микробиомом внутриутробно, после рождения ребенка определяется в большой степени микроорганизмами, которые транслоцируются в детский организм из влагалища, пищеварительного тракта и кожи матери [85].

Важнейшее значение в становлении микробиома имеет способ кормления ребенка. Поступление в пищеварительный тракт младенца сразу же после рождения первых порций молозива, содержащего не только ценные питательные, иммунные и бифидогенные факторы, но и живую микрофлору, играет большую роль в становлении физиологического микробиома [10,45,55,66,95,110,119,146,166,179,190]. По различным оценкам, 25–30% бактериальной микробиоты младенцев происходит из грудного молока [193].

Особое значение в становлении здорового микробиома младенца с преобладанием физиологических бифидобактерий играют олигосахариды грудного молока. Материнское молоко/молозиво содержит от 5 до 23 г/л олигосахаридов [143,280], которые на лактозавосстанавливаемом конце содержат фуко-

зилированные и/или сialiрированные N-ацетиллактозаминные единицы [41]. Присоединение этих единиц приводит к формированию более 200 различных структур олигосахаридов материнского молока (НМО), которые различаются по размеру, заряду и последовательности [41].

Известна антиадгезивная способность НМО, которая основана на связывании патогенных бактерий и препятствии их адгезии целевым олигосахаридам муцинов или эпителиоцитам [184]. В частности, антиадгезивная активность свободных НМО была описана для патогенных бактерий видов *Streptococcus pneumoniae* [25], энтеропатогенной *E. coli* [25,56], *Listeria monocytogenes*, *Vibrio cholerae* [56], *Salmonella fityris* [56], а также возбудителя иммунодефицита человека (ВИЧ) [106]. Гликолипиды и гликопротеины женского молока, предположительно, участвуют также в защитных механизмах против колонизации такими патогенами, как *Pseudomonas aeruginosa* [153], *Noroviruses* [117], *Vibrio cholerae* [18] и *Rotovirus* [273].

Ряд молекул, содержащихся в зрелом молоке и молозиве, дополняют врожденный иммунитет, воздействуя на состав микробиома ребенка. К антимикробным факторам, из которых некоторые активируются при частичном переваривании молока, относятся жирные кислоты и пептиды, входящие в состав молока [203,241]. Кроме того, такие компоненты молока, как секреторный IgA, лактоферрин, лизоцим, липопротеин-липаза, а также растворимые сигнальные молекулы модулируют локальный и системный иммунитет новорожденного [148]. Хорошо известно ингибирующее действие молока на патогенные микробы, однако оно оказывает также положительное селективное влияние на симбиотическую микробиоту. Действительно, появляется все больше данных, свидетельствующих, что с материнским молоком в организм ребенка поступают живые бактериальные клетки и продукты, которые способствуют инокуляции или настройке толерантных ответов у ребенка [162,199].

Если ранее существовало мнение об относительной стерильности молока здоровых женщин и возможной контаминации его только микрофлорой кожи в области молочных желез, то в последнее время установлено существование специфического микробиома грудного молока. Бактериальное сообщество данного физиологически ценного для младенца субстрата, бесспорно, выполняет важные функции в становлении его микробной экологической системы [28,54,79].

Согласно результатам работы группы испанских и финских ученых, молоко здоровой женщины содержит сотни видов различных бактерий [167,168]. Причем наибольшим разнообразием отличается молозиво, в котором ученые обнаружили более 700 видов микроорганизмов [190].

Исследования, проведенные А. Donnet-Hughes и соавт. (2010), установили участие дендритных клеток слизистых оболочек в процессе транслокации микробиоты из кишечника в ткань молочной железы в период лактации [66].

L. Fernandez и соавт. (2013) представили некоторые механизмы, посредством которых микробиота матери поступает в молозиво и грудное молоко. По мнению авторов, это происходит на поздних сроках беременности и в период лактации с участием кишечных моноцитов [79].

В нормальных условиях микробиота женского молока представляет собой дополнительную дозу физиологических бактерий, попадающих *per os* в пищеварительный тракт ребенка [79,119,166]. Эти бактерии защищают ребенка от инфекций и способствуют созреванию его иммунной системы. С другой стороны, дисбиоз молочной железы, обусловленный пролиферацией условно-патогенных микроорганизмов, может явиться причиной развития мастопатии и риска заражения ребенка опасной микрофлорой [79,172].

Грудное молоко здоровой женщины представляет собой эффективный природный синбиотик, играющий существенную роль в оптимизации становления микробиома и иммунной системы в постнатальном периоде. С увеличением периода лактации микробный состав молока меняется в сторону уменьшения видового разнообразия, что ассоциируется с увеличением видовой численности собственной микрофлоры младенца и снижением потребности в притоке такого видового разнообразия микрофлоры с молоком. Большое значение на этом этапе, очевидно, приобретает усиление формирующегося микробиома и иммунной системы за счет бифидогенных и иммунных факторов молока. Материнское молоко является также важным источником секреторного иммуноглобулина (sIgA), что очень важно, учитывая весьма пассивный неонатальный иммунитет младенца [172].

Сроки первого прикладывания к груди и естественное вскармливание ребенка вносят существенный вклад в формирование здорово-

го микробиома. Известно, что в период лактации физиологические бактерии накапливаются в значительном количестве на поверхности сосков и ареол молочных желез здоровой кормящей женщины, откуда также поступают в молоко и пищеварительный тракт ребенка, укрепляя развивающийся микробиом [45,146].

Зависимость степени интеграции микробиома в функционирование пищеварительной системы организма ребенка от характера его питания не вызывает сомнений. Особенно ярко эта закономерность проявляется у детей первого года жизни, находящихся на естественном или искусственном вскармливании. Поступление с женским молоком лактозы и олигосахаридов, стимулирующих развитие сахаролитических анаэробов, способствует благополучному становлению физиологической микробиоты кишечника новорожденного ребенка с преобладанием бактерий родов *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*, в то время как при искусственном вскармливании смесями на основе коровьего молока в составе кишечного микробиома преобладают стрептококки, бактериоиды и представители семейства *Enterobacteriaceae*.

Дети, получающие грудное молоко, отличаются от детей, вскармливаемых адаптированными смесями, не только более здоровым кишечным микробиомом с преобладанием бифидобактерий и лактобацилл, но и имеют лучшую устойчивость к инфекционным и аллергическим заболеваниям, для них характерно физиологическое развитие механизмов иммунного ответа [18,10,11,45,95].

Соответственно меняется и спектр бактериальных метаболитов в кишечнике, и характер метаболических процессов. Так, при естественном вскармливании среди продуктов брожения преобладают ацетат и лактат, а при искусственном — ацетат и пропионат. В кишечнике детей, находящихся на искусственном вскармливании, в больших количествах образуются метаболиты белкового обмена (фенол, крезол, аммиак и др.). При этом детоксикационная функция пищеварительной системы относительно данных продуктов является сниженной. У детей, питающихся молочными смесями, также выше активность β -глюкуронидазы и β -глюкозидазы, что характерно для метаболизма некоторых представителей родов *Bacteroides* и *Clostridium*. Результатом подобных модификаций состава микробиома является не только снижение метаболических функций, но также и прямое повреждающее действие на кишечник [276].

Таким образом, в неонатальном периоде организм ребенка переживает сложный этап становления микробиома, играющего важную роль в адаптации младенца к жизни вне тела матери. Множество факторов, влияющих на этот процесс, является одной из причин нестабильности неонатального микробиома и особой его уязвимости к воздействию неблагоприятных изменений эндогенного и экзогенного характера. Имеющиеся сведения предполагают, что микробиом может частично модифицироваться на протяжении жизни, однако начальное развитие этого уникального микробного органа может иметь особое значение для формирования центрального звена микробиома, который устойчив к дальнейшей модификации. Дисрегуляция микробиома в начальный, критический, период в младенчестве может иметь длительные последствия на иммунную и метаболическую функцию, чему трудно дать обратный ход [84,177].

Изменения микробиома детей в процессе онтогенеза

Становление микробиома продолжается несколько лет и в большой степени зависит от состояния микробной экологии организма матери, способа родоразрешения, вскармливания и содержания ребенка. Полагают, что период от оплодотворения яйцеклетки до двухлетнего возраста представляет собой критическое окно роста и развития в раннем детстве [214]. Этот пренатальный и ранний постнатальный период определяется быстрым созреванием метаболических, эндокринных, нервных и иммунных путей, которые сильно влияют на рост и развитие ребенка и поддерживают этот процесс. Все эти пути развиваются в тандеме и сильной взаимозависимости, и со сложной программой формирования микросообществ в зависимости от внутренних и внешних сигналов [214].

По мнению ряда исследователей, достаточно устойчивая конфигурация стабильно поселившихся бактерий достигается у детей приблизительно в 4-летнем возрасте [43,161,272]. Вместе с тем исследования J. Cheng и соавт. (2015) свидетельствуют о том, что кишечная микробиота зачастую не является установившейся еще и в 5-летнем возрасте [50]. Есть данные, что главные изменения в составе микробиома происходят в периоде между 2-летним возрастом и периодом созревания организма [29].

Аутогенная сукцессия особенно четко прослеживается в течение первых 2-3-х лет жизни

ребенка и проходит несколько этапов: до введения прикорма, после появления прикорма, после включения в рацион твердой пищи, после прекращения грудного вскармливания. Изменения в составе микробиома также обусловлены физиологическими процессами, протекающими в организме ребенка при его развитии, например, становлением иммунной и ферментативной систем, изменением гормонального фона в подростковом возрасте и др. [161].

Последовательная смена микробиоты в начале жизни играет важную роль в развитии и созревании эндокринной, мукозальной, иммунной и центральной нервной систем [214].

P. Ferretti и соавт. (2018) изучали развитие микробиома от рождения до четырех месяцев послеродового периода с участием 25 пар «мать—ребенок» [81]. Результаты исследования показали, что начальный микробиом младенца содержал материнские вагинальные, кожные, ротовые и фекальные штаммы, причем вариабельность в каждом участке была очень большой, несмотря на то, что все младенцы были рождены вагинально. По данным авторов, кожная и вагинальная трансмиссия были недолговечными, и микробный состав кишечника младенца имел наибольшее сходство с кишечным микробиомом матери на четвертом месяце жизни [81].

Проследив некоторые закономерности становления микробиома у практически здоровых детей, американские ученые пришли к выводу о важнейшем значении изменений состава пищи и возраста ребенка в этом процессе [137]. С увеличением возраста младенца и при введении прикорма заметно возрастает филогенетическое разнообразие микробиома [137,191]. Перевод детей на твердую пищу приводит к быстрому и устойчивому изменению кишечной микробиоты. Если в первые недели после рождения в метагеноме кишечного сообщества ребенка в преобладающем количестве обнаружены гены, ответственные за ферментацию лактозы и олигосахаридов женского молока, то с введением в рацион твердой пищи отмечено резкое возрастание числа генов, ассоциированных с расщеплением растительных углеводов, деградацией ксенобиотиков, синтезом расширенного спектра короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), биосинтезом витаминов и аминокислот [137].

При определении рациона ребенка первого года жизни следует также учитывать зависимость от питания последовательность становления метаболических функций. Установлено,

что в норме расщепление муцина начинает проявляться после трех месяцев жизни и формируется к концу первого года, деконъюгация желчных кислот наблюдается с первого месяца жизни, синтез копростанола — во втором полугодии, синтез уробилиногена — в 11–21 месяц. Активность β -глюкуронидазы и β -глюкозидазы при нормальном становлении кишечного микробиома в течение первого года жизни остается низким [68].

J.E. Koenig и соавт. (2011) исследовали изменение состава кишечного микробиома у ребенка на протяжении более двух лет. Результаты исследований, проведенных с использованием 16S рНК пиросеквенирования, показали, что введение в рацион ребенка, питающегося грудным молоком, приблизительно с 5-месячного возраста твердой пищи приводило к устойчивому и обильному увеличению в его кишечнике грамотрицательных бактерий типа *Bacteroidetes* [137]. В свою очередь, M. Fallani и соавт. (2010) с применением флюоресцентной гибридизации *in situ* исследовали состав фекальной микробиоты у 531 ребенка до отнятия от груди и через четыре недели после первого кормления твердой пищей. Они показали, что после отнятия от груди у детей значительно увеличилось количество клостридий видов *Clostridium coccoides* и *C. leptum* на фоне численного понижения представителей рода *Bifidobacterium* [74].

Таким образом, одним из важнейших регуляторов состава и функционального разнообразия микробиома, соответствующего различным возрастным этапам жизни, является рацион питания ребенка. При завершении периода грудного вскармливания детский микробиом очень быстро становится идентичным микробиому взрослого человека, что наделяет его новыми свойствами, в том числе способствует эффективному использованию в качестве энергетического и пластического материала нутриентов новой, более сложной пищи.

Несмотря на множество экзогенных факторов, влияющих на формирование микробиома, следует учитывать и наследственные особенности. В ряде работ показано, что у близнецов в течение первого года жизни состав микробиома имеет значительно больше общего по сравнению с неродственными детьми на любой стадии первого года жизни. Четкое доказательство связи между генной структурой макроорганизма и его микробиомом было получено на мышинных моделях [156]. Эти результаты расширяют наши знания о генетических факторах

макроорганизма, которые управляют сборкой кишечного микробиома. У генетически восприимчивых детей изменение состава микробиома, например, под воздействием параметров окружающей среды, может способствовать развитию расстройств здоровья, прежде всего, связанных с иммунитетом [156].

Таким образом, природой предусмотрен целый ряд факторов, способствующих заселению биотопов ребенка физиологической микрофлорой, усиливающей его адаптационные механизмы при переходе в новую, значительно более агрессивную среду обитания.

Связь микробиома ребенка с развитием иммунитета и других органов и систем

Формирование микробиома младенца происходит в неразрывной связи с онтогенетическим развитием мукозального и системного иммунитета, физиологическим созреванием и развитием органов пищеварительной, нервной и эндокринной систем. Поэтому нормальный процесс заселения биотопов физиологической микробиотой, прежде всего, препятствует нарушениям в этих звеньях гомеостаза, а также предотвращает развитие патологии, ассоциированной с нарушением витаминного и минерального обмена, в частности рахита, железодефицитной анемии и др. [39,93,94,107,130,189,199,233,276].

Стимуляция, обеспечиваемая колонизацией физиологической микробиотой, необходима для развития полностью функционирующей и сбалансированной иммунной системы, включая не только хоминг В- и Т-клеток к lamina propria, распространение и созревание IgA-плазматических клеток и продуцирование IgA, но также индуцирование толерантности к безопасной пище и микробным антигенам [43,63,87,96,172,268,275].

Новорожденные и дети раннего возраста характеризуются транзитной иммунной недостаточностью, которая является биологической закономерностью, в основном относящейся к гуморальному иммунитету. Данная специфика иммунной системы в некоторой степени объясняет более частое возникновение стойких нарушений микробиома у детей первого года жизни по сравнению с детьми старшего возраста. Физиологическая недостаточность системы местного иммунитета кишечника в первые три месяца жизни ребенка в некоторой степени компенсируется поступлением защитных факторов с женским молоком,

в частности sIgA, лизоцима, лактоферрина, комплемента, пропердина, лактопероксидазы и др. [116,188,205].

Подготовка адаптивного иммунного ответа к микробной колонизации требует развития подмножества врожденных лимфоидных клеток, формирования лимфоидной ткани и создания условий для формирования мутуалистических отношений между макроорганизмом и его микросимбионтами.

Начальная микробная колонизация приводит к значительным изменениям мукозального и системного иммунитета. Созревание иммунной системы, которое инициируется еще на стадии плода, очень динамично и видоизменяется на протяжении первых месяцев после рождения и в детстве [184]. Новорожденные характеризуются низкой экспрессией совместно стимулирующих молекул, сниженной дифференциацией дендритных клеток, ослабленным фагоцитозом, слабо развитым взаимодействием между дендритными клетками, Т-лимфоцитами и регуляторными Т-клетками, а также слабой цитотоксической активностью Т-клеток [141,247]. Кроме того, активность материнского иммуноглобулина G, проникшего в плод трансплацентарно, приводит к дефициту у новорожденных специфических иммунных реакций, включая местный иммунитет слизистых из-за минимальных уровней IgA [129]. Эти особенности организма новорожденных убедительно подтверждены в опытах на животных. Так, например, установлено, что у стерильных мышей и мышей в первые дни микробной колонизации пейеровы бляшки имеют меньше размер, в lamina propria содержится сниженное количество клеток, а также более низкие уровни CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов [72,257]. Кроме того, в слизистой оболочке тонкого кишечника редко встречаются внутриэпителиальные лимфоциты и плазматические клетки, а уровни секреторного иммуноглобулина (sIgA) значительно снижены при подавленной экспрессии генов и маркеров активации кишечных макрофагов [72,176].

Исследования М. Gomez de Aguero и соавт. (2016) с использованием стерильных животных подтверждают существенное влияние материнской микробиоты на раннее постнатальное развитие врожденного иммунитета у потомства. В этом исследовании моноколонизация стерильных животных штаммом *E. coli* HA107 во время беременности влияла на численность врожденных кишечных лейкоци-

тов в раннем постнатальном периоде и увеличивала долю врожденных лимфоидных клеток (ILC) в тонком кишечнике и их общее число по сравнению со стерильным контролем, особенно клеток, относящихся к подмножеству NKp46⁺RORγ⁺ ILC3 [90].

Проведенные в последние годы исследования с использованием экспериментальных животных помогли внести определенную ясность в понимание того, каким образом кишечная микробиота в пределах нескольких дней колонизации программирует слизистую оболочку кишечника для поддержания сбалансированного иммунного ответа [69,71,87]. Результаты этих исследований свидетельствуют о том, что в биологии макроорганизма на начальном этапе жизни происходят весьма обширные изменения в ответ на колонизацию микробиотой. Как отмечают S. El Aidy и соавт. (2016), макроорганизм сталкивается с антигенными стимулами, которые вызывают ответы, включающие активацию генов, ассоциированной с различными заболеваниями [73]. Поэтому аномальные сдвиги в процессе развития младенца в этой ранней быстро изменяющейся фазе могут иметь длительные последствия для состояния здоровья [58]. Исследователи предполагают, что в начале жизни имеется своеобразное критическое окно, в котором разрешена вся полномасштабная организация адекватного гомеостаза симбиоза макроорганизма с микробиотой. Нарушенные ответы на протяжении этого окна могут приводить к развитию патологии в дальнейшей жизни [44].

Большое значение в постнатальном периоде имеет процесс созревания пищеварительной системы, которая, подобно иммунной системе, должна быть подготовлена к формированию мутуалистических отношений с микробиомом. Исследования, проведенные с использованием экспериментальных животных, показали, что микробиота инициирует значительные изменения морфологии кишечника [235]. Эти изменения затрагивают архитектуру ворсинок, глубину крипт, пролиферацию стволовых клеток, плотность кровеносных сосудов, свойства слизистого слоя и созревание лимфоидной ткани, связанной со слизистой оболочкой.

У стерильных мышей ворсинки в дистальной части тонкой кишки длиннее и тоньше, чем у конвенциональных животных. Кроме того, при отсутствии микробиоты ворсинки характеризуются менее сложной сосудистой сетью, а кишечные крипты имеют меньшую глубину

и содержат меньше развивающихся стволовых клеток. У стерильных животных тоньше толщина слизи, а ее свойства изменены. У стерильных мышей также очень малое количество изолированных лимфоидных фолликулов, у них незрелые пейеровы бляшки и незрелые брыжечные лимфоузлы (MLN), а уровни иммуноглобулинов A (IgA), и антимикробных пептидов (AMP) ниже, чем у конвенциональных животных. У конвенциональных животных полисахарид A (PSA) из *Bacteroides fragilis* индуцирует распространение CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺-регуляторных T-клеток (Treg), которые обладают противовоспалительным эффектом и подавляют иммунные ответы. И напротив, было показано, что сегментированные филаментные бактерии (SFB) индуцируют рост T-хелперных 17 (TH17) клеток, которые оказывают провоспалительный эффект [235].

Микробиом играет критическую роль в продуцировании нутриентов и метаболизме макроорганизма и, таким образом, влияет на пищеварение, поглощение и запасание энергии. В дисбиотическом микробиоме в начале жизни может быть нарушен каждый из этих путей, которые связаны с развитием; незрелая микробиота не способна защитить кишечный барьер, что приводит к затуплению ворсинок, дегградации слизи, повышению проницаемости кишечника и нарушению иммунных ответов. Такие повреждения кишечника могут приводить к дисфункции среды кишечника, хроническому системному воспалению, инфекционным заболеваниям и диарее, и каждый из этих факторов может нарушать траекторию развития ребенка. Дисбиоз может также нарушать метаболизм ключевых нутриентов, включая незаменимые аминокислоты, нарушая, тем самым, нормальное развитие ребенка. При нарушенном составе кишечного микробиома может изменяться нормальное продуцирование гормонов роста [214].

Центральное место в функционировании микробиома кишечника и его взаимодействии с макроорганизмом занимают слизистые слои. Толщина слизи зависит от концентрации микробиоты, которая регулирует продукцию муцинов специализированными клетками кишечника. Эта зависимость хорошо заметна на примере тонкой и толстой кишки. Обязательная кишечная микробиота, которая в неонатальном периоде в основном представлена бифидобактериями, активно разлагает сложные O-связанные гликаны (муцины) и формирует пул короткоцепочечных жирных кислот

(КЦЖК), которые являются токсичными для многих патогенов, но для эпителиоцитов служат важным источником энергии и противовоспалительным фактором.

Эпителиальные клетки толстой кишки используют КЦЖК, особенно бутират, который на 60–70% обеспечивает их энергией, что способствует укреплению барьера слизистой оболочки [78]. КЦЖК также регулируют метаболизм глюкозы и липидов и иммунную функцию [177]. Бутират, действуя как ингибитор гистон-деацетилазы, участвует в эпигенетическом контроле за продуцированием и поддержанием уровня регуляторных Т-клеток [177].

Огромное значение имеет формирование полноценного кишечного барьера, в большой степени зависящего от микробиоты. Как известно, главная функция кишечного барьера заключается в регуляции поглощения нутриентов, электролитов и воды из просвета кишечника в кровотока и в предупреждении прохождения патогенных микробов и токсинов [131]. Важно принимать во внимание, что регуляция обмена молекулами между средой и макроорганизмом посредством кишечного барьера влияет на равновесие между толерантностью и иммунитетом к одному или нескольким антигенам. Эти функции поддерживаются благодаря ряду структурных особенностей, включая слизистый слой и монослой эпителиальных клеток, взаимосвязанных посредством плотных соединений. Слизистый слой, содержащий sIgA и антимикробные пептиды, покрывает выстилку из эпителиальных клеток. Он облегчает транспорт нутриентов и служит защитой от бактериальной инвазии [121]. Кишечный барьер находится в тесной и постоянной взаимосвязи с кишечной микробиотой, нарушение которой может иметь серьезные последствия для поддержания ключевых барьерных функций [17].

Непроницаемость для микробов внутреннего слизистого слоя обеспечивается высокой концентрацией противомикробных пептидов и секреторных иммуноглобулинов, а также белками плотных соединений.

Плотные соединения (*tight junctions*) — это сложные белковые структуры, состоящие из трансмембранных белков — клаудина, оккулина и трикуллина, которые соединяются с прилегающими плазматическими мембранами, образуя механическую связь между эпителиальными клетками и формируя, таким образом, барьер для прохождения между клетками [57]. Было показано, что структура кишеч-

ного барьера формируется у плода уже к концу первого триместра беременности [131]. Эпителиальные клетки с микроворсинками, бокаловидные и энтероэндокринные клетки появляются на 8-й неделе беременности, а плотные соединения обнаруживаются на 10-й неделе. Функциональное развитие кишечного барьера продолжается и после рождения, и на него значительное влияние оказывает диета [249]. Нарушение этого процесса, которое приводит к недоразвитию кишечного барьера, наблюдается у недоношенных детей, что предрасполагает к расстройству иммунитета. В начале жизни происходит перекрытие траекторий развития кишечной микробиоты и кишечного барьера. Кишечный барьер, действующий как защита, может быть модифицирован кишечной микробиотой или ее метаболитами. Механизм, лежащий в основе регуляции эпителиального барьера, весьма сложен и исследован только частично.

От состава микробиома зависит полноценность не только физического, но и психоневрологического развития ребенка. Изучением связи между развитием кишечника и мозга у младенцев является одной из областей современных исследований микробиома. Установлено, что ранняя колонизация микробиоты протекает параллельно с миграцией нейронов. Становление микробиома в течение первых 2-3-х лет жизни ребенка совпадает с критическими периодами роста мозга, миелинизации и синаптического очищения мозга. Поэтому оптимизация становления микробиома в раннем возрасте является важным фактором, способствующим физиологическому развитию мозга [108,209,223,256,269].

Таким образом, микробиомные процессы, происходящие в начале жизни, закладывают фундамент для формирования и поддержания здоровья ребенка. Поэтому необходимо совершенствование подходов к оптимизации условий для становления физиологического микробиома, регулирующего взаимоотношения между организмом и окружающей средой и способствующего оптимальной адаптации ребенка к внеутробным условиям жизни.

Любые изменения в становлении микробиома представляют собой серьезный риск развития заболеваний в раннем детском возрасте и хронизации многих из них в последующем.

Нарушения микробиома и их связь с развитием патологии детского возраста

В настоящее время все большее число специалистов рассматривают микробиом в каче-

стве модулятора заболеваний. В последние годы опубликован ряд работ, в которых достаточно подробно и убедительно описаны функциональные взаимосвязи нарушения микробиома (дисбиоза) с широким спектром патологических состояний у детей [3,4,18,137,160,187,199,207,216,32,214].

Если у взрослых и детей старшего возраста развитие дисбиотических нарушений обусловлено модификацией уже сформировавшегося микробиома, то у детей раннего возраста дисбиозы развиваются на фоне нарушения природных, весьма хрупких механизмов первичного становления микробиоты. Неонатальные микробиомные расстройства очень быстро хронизируются, и патологический микробиом, сформированный в раннем возрасте, в дальнейшем достаточно сложно поддается нормализации.

Поскольку становление микробиома младенца происходит в неразрывной связи с онтогенетическим развитием мукозального и системного иммунитета, при прогрессировании дисбиоза происходят нарушения не только в составе микробиоты, но и в ассоциированной с ней системе иммунного ответа на микробные антигены.

Дети, находящиеся на искусственном или раннем смешанном вскармливании, лишены защитных факторов женского молока. У таких младенцев значительно чаще наблюдается развитие дисбиозов, аллергии и другой патологии. Установлено, что атипичная колонизация кишечника в первые недели жизни младенца повышает восприимчивость его организма к иммунным и метаболическим болезням [149,188]. В частности, замена естественного питания ребенка введением искусственных смесей приводит к нарушению синтетической и обменной функций микробиоты и ухудшению снабжения эпителия кишечника трофическими и энергетическими субстратами. Модификация состава микробиома приводит к перегрузке несформированного иммунитета ребенка микробными антигенами, что может способствовать формированию неадекватного иммунного ответа, развитию воспаления и метаболических расстройств.

Поскольку ключевую роль в формировании микробиома младенца играет микрофлора матери, состояние микробиомной системы женщины является основным фактором, определяющим как становление у ребенка физиологического микробиома, так и развитие дисбиотических нарушений. Иммунологически незрелый организм новорожденного в неона-

тальном периоде, то есть в период наиболее активного формирования его собственной микробной экосистемы, оказывается полностью зависимым от функционирования индигенной микробиоты матери. Ее здоровая ротовая, вагинальная, кишечная, кожная микрофлора при поддержке иммунных, микробных и пребиотических факторов грудного молока, способствующих селективной пролиферации в биотопах ребенка наиболее физиологических для его организма микробов-симбионтов, способствует становлению у новорожденных физиологического микробиома и благополучной постнатальной адаптации их организма [4,14,16,18,19,88,188,198].

В то же время патологические изменения микробиома матери являются источником инфицирования ребенка микрофлорой, опасной для его здоровья. Это свидетельствует о необходимости ответственного отношения женщины и наблюдающего ее врача к состоянию микробиома с целью своевременного предупреждения развития или усложнения дисбиотических нарушений.

В связи с чрезвычайно сложным, мультифакторным и многоэтапным процессом физиологической микробной колонизации новорожденные и дети раннего возраста представляют наиболее уязвимый контингент населения относительно серьезности последствий расстройств микробиомного характера. Даже микрофлора здорового ребенка, получающего молоко матери, подвержена выраженной изменчивости. Однако при естественном вскармливании дети получают с женским молоком широкий спектр иммунных и микробиологических факторов защиты, оптимизирующих становление у них здорового микробиома и эффективной иммунной системы.

Огромный биологический потенциал микробиома и его уникальная роль в формировании и поддержании здоровья ребенка свидетельствует о необходимости усиления внимания ученых и практикующих врачей к вопросу оптимизации процесса становления микробной системы в пери- и постнатальном периодах и сохранения ее в здоровом состоянии в дальнейшем.

Серьезные изменения микробиома на раннем этапе его формирования являются наиболее опасными, поскольку могут привести к неблагоприятным последствиям не только в детском возрасте, но и на более позднем этапе жизни человека. В частности, высказано предположение, что повреждение микробиома

в раннем детском возрасте вследствие лечения антибиотиками значительно увеличивает риск развития воспалительных заболеваний кишечника в зрелом возрасте [198,226,230,258].

Чрезвычайно важно влияние факторов окружающей среды на интестинальную колонизацию детей, рожденных путем операции кесарева сечения. У этих младенцев, как показано в ряде исследований, отсрочено становление стабильной бифидофлоры, наблюдается высокий уровень условно-патогенных бактерий видов *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus haemolyticus* [15,17,228]. В результате такой микробной контаминации нарушаются процессы иммунологической адаптации, снижается защитный барьер кишечника и развивается воспаление.

Установлено, что формирование кишечного микробиома на ранних этапах роста малыша имеет большое значение в профилактике ожирения [228]. В некоторых исследованиях были идентифицированы различия в составе микробиома, связанные с весом тела [174]. Так, в лонгитудинальном исследовании, проведенном М. Kalliomaki и соавт. (2008) с помощью современных молекулярно-генетических методов (FISH) и проточной цитометрии, показана связь между снижением младенческих видов бифидобактерий у детей на первом году жизни и развитием ожирения у них в возрасте семи лет. Оказалось, что у детей с избыточной массой тела в возрасте 6 и 12 месяцев уровень младенческих видов бифидобактерий (*B. breve*, *B. infantis* и *B. longum*) был достоверно ниже, чем у детей с нормальной массой тела. Также у детей, развивших ожирение в семилетнем возрасте, уровень бактерий вида *Staphylococcus aureus* на первом году жизни был значительно выше по сравнению с детьми, которые к школьному возрасту имели нормальные показатели массы тела [127].

Физиологическое заселение биотопов ребенка микробиотой играет важную роль в предупреждении аллергии [95,105]. В ряде исследований описан состав микробиома у младенцев с развитыми аллергическими расстройствами [38,124,197].

Исследования А. Shreiner и соавт. (2008) показали заметные различия в составе кишечной микрофлоры здоровых и лиц с аллергией детского возраста [232]. Нормальная микрофлора тормозит процессы декарбоксилирования пищевого гистидина, уменьшая, таким образом, синтез гистамина, что снижает риск

пищевой аллергии у детей. Антиаллергические свойства полноценного микробиома дополняются мощной барьерной функцией приэпителиальной биопленки, препятствующей проникновению через кишечную стенку в кровотоки пищевых аллергенов и токсических веществ.

Проведенные эпидемиологические исследования показали более высокий риск развития аллергических заболеваний у детей, рожденных путем кесарева сечения [105]. Причиной этого может быть колонизация кишечника младенцев микрофлорой кожи либо госпитальной микрофлорой, например, условно-патогенными бактериями родов *Staphylococcus* и *Acinetobacter*, избыточные популяции которых нарушают нормальное становление иммунной системы. Также негативное значение имеет позднее начало грудного вскармливания младенцев и профилактическое назначение родильнице антибактериальных препаратов.

Несколько эпидемиологических исследований показали, что микрофлора атопических и неатопических младенцев различна. В исследовании М.А. Johansson и соавт. (2011) младенцы неаллергических родителей чаще были колонизированы лактобациллами, что свидетельствует о роли материнской микрофлоры в защите от аллергических заболеваний. Установлено, что в составе микробиома кишечника здоровых детей, как правило, преобладают бифидобактерии видов *B. longum* и *B. breve*, а у детей с экземой чаще наблюдается колонизация взрослого типа с доминированием вида *B. adolescentis*. У новорожденных с колонизацией кишечника бактериями видов *Staphylococcus aureus* и *Clostridium difficile* исследователи наблюдали развитие атопии в более позднем детстве [120].

Формирование кишечной микробиоты обеспечивает исходный и сильный источник стимулов для макроорганизма. Путь для первых аллергических реакций часто возникает в желудочно-кишечном тракте, и пищевая аллергия представляет собой обычную проблему у детей с атопической экземой. Нарушение барьерных функций в слизистой оболочке кишечника ведет к усиленному проникновению антигенов через мукозальный барьер и к изменению путей переноса. Это приводит к формированию искаженных иммунных ответов и высвобождению провоспалительных цитокинов с дальнейшим расстройством барьерных функций. Такое усиленное воспаленное состояние в свою очередь приводит к увеличению кишечной проницаемости,

и в результате получается порочный круг самоусиливающихся аллергических ответов и более стабильной дисрегуляции иммунных реакций в ответ на антигены у генетически восприимчивых индивидуумов.

Ведущей причиной неонатальной смертности и детской инвалидности являются преждевременные роды. Недоношенные новорожденные, отличающиеся незрелостью пищеварительного тракта и недостаточной подготовкой слизистых к заселению их физиологической микрофлорой, составляют группу повышенного риска по развитию некротического энтероколита, сепсиса, менингита и других серьезных заболеваний с высокой степенью летального исхода [137,159].

За счет осуществления ряда организационных мероприятий в системе охраны здоровья матери и ребенка, создания в родильных домах отделений реанимации и блоков интенсивной терапии и их оснащения современным оборудованием, удалось добиться значительного снижения показателя младенческой смертности. Но это породило новые сложные проблемы, связанные с широким использованием инвазивных диагностических и лечебных методов. В результате появились новые формы нозокомиальных инфекций, в частности бактериемии, ассоциированные с использованием катетеров, и пневмонии, развивающиеся после искусственной вентиляции легких.

У недоношенных детей намного выше риск развития осложнений после рождения, включая некротический энтероколит. Полагают, что фактором риска развития некротического энтероколита является нарушенная кишечная микробиота, способствующая повышенной восприимчивости недоношенных детей к системным инфекциям [37,53,61,180,182,192, 228,261].

Некротический энтероколит (NEC) — это опасное для жизни заболевание, вызывающее некроз кишечника, которое может поражать и другие органы, включая мозг, последствия чего еще серьезнее, чем повреждения пищеварительного тракта. NEC поражает 5–10% младенцев, которые родились с весом менее 1500 г. Несмотря на успехи в уходе за младенцами, это заболевание является фатальным приблизительно в 30% случаев [82] и ассоциируется с длительной интеллектуальной недееспособностью.

По данным M. Hallstrom и соавт. (2004), в составе кишечного микробиома новорожденных с NEC в большой концентрации содержались условно-патогенные микроорганизмы родов *Enterococcus* и *Candida*, которые, по мне-

нию исследователей, могут играть важную этиопатогенетическую роль в течении заболевания. Причем микробиом младенцев, рожденных преждевременно естественным путем, содержал намного меньшие популяции условно-патогенных микроорганизмов по сравнению с недоношенными детьми, рожденными методом кесарева сечения [99].

Достаточно эффективным средством профилактики NEC является грудное молоко, способствующее заселению кишечника полезной микрофлорой, оказывающей оздоровительную функцию на слизистую оболочку и повышающей защитную функцию организма.

Недоношенные дети часто рождаются путем кесарева сечения, получают антибиотики и могут иметь проблемы с кормлением. К тому же, недоношенные младенцы имеют функционально незрелый пищеварительный тракт с низким уровнем кислотности в желудке вследствие недостаточной секреции желудочного сока и требуют более частого кормления. Эти обстоятельства ведут к повышенному содержанию потенциально патогенных бактерий в желудочно-кишечном тракте и меньшему микробному разнообразию у таких детей по сравнению с доношенными детьми [27,48].

Низкая масса тела при рождении является важным фактором риска неонатальной смертности и развития различных заболеваний, что обусловлено незрелостью иммунной системы и барьерных механизмов желудочно-кишечного тракта младенцев, а также частым использованием инвазивных диагностических и лечебных процедур.

У недоношенных новорожденных, находящихся в отделениях интенсивной терапии, развивается особая микробная флора, которая значительно модифицирована в направлении повышения уровня условно-патогенных видов по сравнению с микробиотой доношенных младенцев. По данным J.C. Madan и соавт. (2012), в составе микробиома недоношенных новорожденных среди факультативных анаэробов преобладают стафилококки видов *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus aureus*, энтеробактерии рода *Klebsiella* и энтерококки, а среди облигатных анаэробов преимущественно встречаются клостридии [159].

При нарушении становления микробиома кишечника выделенный с желчью прямой билирубин подвергается ферментативному воздействию бета-глюкуронидазой кишечной стенки с образованием токсичного неконъюги-

рованного (непрямого) билирубина. Последний, всасываясь в кишечнике, поступает в кровоток и может увеличивать интоксикацию при желтухе, что особенно опасно у новорожденных при еще функционирующем венозном (аранциевом) протоке [188]. Также нарушаются процессы всасывания кальция и железа, синтеза многих витаминов (никотиновой и фолиевой кислот, тиамина, биотина, цианокобаламина, витаминов К, С), усвоения витаминов D и E.

Важно учитывать, что в случае дестабилизации микробиома происходит снижение его детоксикационной способности, что значительно увеличивает нагрузку на печень ребенка, может привести к повреждению гепатоцитов и развитию печеночно-билиарной патологии.

Серьезной проблемой неонатологии и педиатрии являются детские инфекции. Как известно, детский организм имеет большую восприимчивость к инфекционным факторам, так как существенно отличается от организма взрослого человека по структуре и функциям различных органов и систем, непрерывными морфофункциональными перестройками, связанным с развитием и ростом организма. Среди причин смертности у детей, по данным ВОЗ, на долю инфекционных болезней приходится около 63% [1,15].

Инфекционная патология плода и новорожденного заняла одно из ведущих мест в структуре заболеваемости и смертности в неонатальном периоде. Лечение новорожденных с перинатальными инфекциями антибактериальными препаратами, традиционно используемыми в неонатологии (преимущественно цефалоспорины и аминогликозидами третьего поколения), приводит к выраженным нарушениям процесса колонизации кишечника. При этом наблюдается заселение кишечника бактериями, обладающими устойчивостью к используемым антибиотикам (энтеробактериями, энтерококками, стафилококками и др.), а также грибами [11,12].

Условно-патогенные грибы рода *Candida*, которые значительно стимулируются медикаментозной терапией, особенно антибиотиками, часто становятся угрозой жизни недоношенных детей. Опасность неонатальных кандидозов заключается в высоком патогенном потенциале возбудителей, их способности вызывать у недоношенных детей сепсис и тяжелые неврологические заболевания [34,159,163,187].

Риск инвазивных микозных инфекций значительно выше у недоношенных детей с очень малой массой тела при рождении, которые

в комплексе интенсивной терапии получают антибиотики. С применением метагеномного анализа микробиома недоношенных новорожденных с малой массой тела установлена высокая концентрация в составе их кишечного биоценоза агрессивных видов грибов рода *Candida*, характеризующихся высокой инвазивной активностью [145,165].

В биоценозе детей с очень низкой массой тела после проведенной антибиотикотерапии отмечается бедное видовое разнообразие бактериальной флоры с преобладанием антибиотикорезистентных бактерий, в частности представителей видов *Staphylococcus aureus* и *Enterococcus faecium*, которые во многих случаях становятся этиологическим фактором развития сепсиса [159,161,180,218].

В настоящее время не существует ни одного антибактериального средства, которое действовало бы исключительно на патогенные микроорганизмы, не затрагивая индигенную флору. Ассоциированные с приемом антибиотиков нарушения микробиоценоза кишечника, сопровождающиеся снижением колонизационной резистентности организма, создают благоприятные условия не только для инфицирования больного экзогенными нозокомиальными штаммами, но и для повышения вирулентности условно-патогенных представителей аутофлоры.

Исследования группы ученых из Вагенингского университета (Нидерланды) показали, что использование антибиотиков у матери или ребенка препятствует формированию нормального микробиома, даже при наличии грудного вскармливания младенца. У этих детей в составе кишечной микрофлоры преобладали энтерококки, клостридии и эшерихии при полном отсутствии бифидобактерий [76].

Частое использование антибиотиков в детском периоде ассоциируется с повышенным риском устойчивости к антибиотикам [185], что, возможно, из-за изменений в микробиоме может predispose индивидуумов к повышенному риску заболеваний, включая ожирение [30] и воспалительные заболевания кишечника [270].

Антибиотикоассоциированная диарея (ААД) — еще один пример негативного воздействия антибиотиков на организм младенца. Этиологическим фактором ААД большинство исследователей считают клостридии, в частности вида *Clostridium difficile*. Эти микроорганизмы вызывают около 10–20% всех случаев ААД [23,64].

Французские ученые, основываясь на результатах своих исследований, пришли к выво-

ду, что к колонизации новорожденных кластридиями не всегда приводит антибактериальная терапия. Этими микроорганизмами насыщена сама госпитальная среда, которая в большинстве случаев является источником колонизации детей [80]. Напротив, по данным S. Matsuki и соавт. (2005), инфицирование новорожденного кластридиями в родильном доме происходит от матери. Установлено, что 50–70% новорожденных могут быть бессимптомными носителями вида *Clostridium difficile*, что связывают с низкой колонизационной резистентностью кишечника детей раннего возраста [169]. Прием антибиотиков может селективно увеличивать агрессивный потенциал кластридий и способствовать развитию болезни.

Установлено, что помимо *Clostridium difficile*, возбудителями ААД у новорожденных и детей раннего возраста могут быть и другие микроорганизмы, например представители видов *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella sp.*, *Klebsiella oxytoca*, грибы рода *Candida* и др. [228]. Причем, по данным Y.G. Kim и соавт. (2017), некоторые виды кластридий эффективно защищают пищеварительный тракт младенца от колонизации патогенами [133].

Эпидемиологические исследования, проведенные в Дании, однозначно свидетельствуют в пользу того, что применение в раннем детстве антибиотиков является неблагоприятным прогностическим фактором развития некоторых воспалительных заболеваний кишечника. 500 тыс. новорожденных были включены в проспективное длительное исследование, в течение которого учитывались число проведенных курсов и объем антимикробной терапии. Анализ результатов показал, что у младенцев, получавших антибиотики в первые годы жизни, в дальнейшем существенно возрастает заболеваемость болезнью Крона. Кроме того, этот риск увеличивается пропорционально количеству курсов антибиотикотерапии [112].

Несмотря на спасательные функции антибиотиков, имеются данные, что раннее и повторное использование антибиотиков, а возможно и других медикаментов, в детском возрасте является важным фактором, воздействующим на состав микробиома, что может повышать риск будущих заболеваний.

Состояние микробиома ребенка в значительной степени связано с риском развития в дальнейшем многих серьезных заболеваний, в частности хронических заболеваний кишечника, эндокринной, аутоиммунной, аллергиче-

ской и другой патологии. Особое внимание специалистов привлекают исследования связи микробиомных изменений у детей с развитием психической патологии. Например, с различиями в составе микробиома ассоциируют аутизм [108,209,223,245,278].

Известно, что мозг в детском возрасте обладает огромной метаболической способностью; он составляет 5–10% от общей массы тела, отвечает почти за 50% базовой метаболической энергии тела и поэтому особенно чувствителен к пониженному потреблению энергии [214]. Благодаря способности сообществ кишечной микробиоты регулировать количество поступающей энергии, микробиом может играть регуляторную роль в развитии нервной системы на протяжении первых лет жизни ребенка. Параллельное созревание как микробиома, так и ЦНС в начале жизни свидетельствует о возможности путем оптимизации микробиомных процессов способствовать физиологическому развитию нервной системы у детей [223,269].

Имеются сведения, что микробиом играет роль в иммунном ответе при вакцинации [63,279]. Более высокие относительные количества бактерий типов *Actinobacteria* и *Firmicutes* ассоциировались с более сильным гуморальным и клеточным ответом при введении вакцины, тогда как относительно высокие количества *Proteobacteria* и *Bacteroidetes* ассоциировались с пониженными ответами [102,109].

Результаты многочисленных исследований последнего десятилетия убедительно свидетельствуют о том, что становление у ребенка здорового микробиома является важнейшим фактором формирования нормальной иммунной системы и предупреждения многих хронических болезней. Поэтому мероприятия, направленные на оптимизацию микробиомных процессов в раннем детстве, вызывают все больший интерес у микробиологов, неонатологов и педиатров.

Современные подходы к оптимизации процесса формирования микробиома у детей и его поддержания

Особое место среди средств, используемых для оптимизации становления здорового микробиома в раннем детском возрасте, занимают пробиотики.

Еще в XVIII веке в Нидерландах было предложено для кормления грудных детей, страдающих расстройством пищеварения, использовать сквашенную пахту. Позже появился ряд продуктов детского питания, которые целенаправленно

обогащались живыми клетками лактококков [31]. С развитием микробиологии и методов бактериальной терапии все возрастающее количество данных, подтверждающих благотворное воздействие лактобацилл и бифидобактерий на здоровье грудных детей, способствовало появлению широкого ассортимента продуктов детского питания, содержащих эти микроорганизмы [144].

В последние годы использование пробиотиков в неонатологии и педиатрии значительно расширилось. Появились результаты исследований, которые демонстрируют благоприятное влияние отдельных пробиотиков на течение ряда заболеваний кишечника, показана целесообразность их использования при диарее, пищевой аллергии и других видах патологии [8,12,15,37,53,135,140,180,237,258,281].

Несмотря на сложность и хрупкость процесса формирования постнатального микробиома, находящийся в стадии становления микробный орган новорожденного при использовании адекватной терапии значительно легче вернуть к нормальному процессу, чем восстановить уже сформировавшиеся микробиомы детей старшего возраста и взрослых.

Выбор пробиотика для новорожденных и детей раннего возраста играет ключевую роль в получении позитивного результата. «Детский» пробиотик должен обладать рядом биологических характеристик, прежде всего, убедительно доказанной безопасностью. С целью предупреждения отдаленных нежелательных результатов влияния на здоровье ребенка, следует воздержаться от рутинного использования многих пробиотиков, содержащих виды микроорганизмов, не типичные для базового состава микробиома ребенка, а также дополнительные ингредиенты немикробного происхождения. Важное значение имеет оптическая конфигурация молочной кислоты, образуемой при ферментации лактозы пробиотическими бактериями. Известно, что физиологичной для организма человека любого возраста является L(+)-молочная кислота. Напротив, D(-)-молочная кислота хуже переносится организмом человека, так как она сначала преобразуется под действием фермента дегидрогеназы D-2-гидроксикилот и только после этого ассимилируется организмом [19]. Поступление в организм ребенка D(-)-лактата вызывает опасность развития ацидозов, особенно у маленьких детей [208,209,252].

В настоящее время целесообразность использования пробиотиков для оздоровления

микробиома новорожденных и детей раннего возраста продемонстрирована результатами многочисленных исследований.

Наиболее часто в неонатологии и педиатрии используют пробиотики на основе сахаролитических бактерий родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, что, прежде всего, определяется непатогенным профилем этих микроорганизмов. Кроме того, пробиотики такого состава обладают рядом других полезных свойств. К ним, в частности относятся детоксикация ксенобиотиков [12,171], биосинтез витаминов [14,13,15,101], полезные метаболические эффекты [17,19,135,181], положительное влияние на транзит содержимого кишечника [170], конкуренция с патогенными микробами за нутриенты и сайты связывания [19,47], модуляция иммунного ответа [19,173].

Возрастающий интерес вызывает возможность использования пробиотиков для профилактики развития NEC, который является одной из основных причин смертности у недоношенных новорожденных с очень низкой массой тела при рождении [37,53,140,180,194,254]. Это заболевание быстро поражает слизистую оболочку кишечника и может стать основанием для удаления его части. Достаточно эффективным средством профилактики NEC является грудное молоко, способствующее заселению кишечника полезной микрофлорой, оказывающей оздоровительную функцию на слизистую оболочку и повышающей защитную функцию организма. Для усиления благоприятного воздействия грудного молока целесообразно энтеральное использование пробиотиков. У новорожденных, которые не получают грудного молока, профилактика развития NEC за счет обогащения рациона питания пробиотическими добавками, оптимизирующими процесс формирования здорового микробиома, является крайне необходимой. Многие исследования показали целесообразность использования пробиотиков для этой цели [53,89,140,147,157,194,217,218,224,254,255].

Метаанализ девяти рандомизированных плацебо-контролируемых исследований, в которые были включены 1425 недоношенных новорожденных, показал, что энтеральное введение пробиотиков значительно уменьшает количество случаев тяжелого NEC у детей и, кроме того, приводит к достоверному снижению смертности от этого заболевания детей с массой тела при рождении менее 1000 г [22]. Авторы исследования уверены в необходимости

широкого использования пробиотиков в профилактических целях у недоношенных детей.

Рандомизированное исследование, проведенное на Тайване среди 367 детей с очень низкой массой тела при рождении, показало, что ежедневное двукратное назначение пробиотика, содержащего штаммы видов *Lactobacillus acidophilus* и *Bifidobacterium infantis*, на фоне грудного вскармливания снижает частоту и тяжесть NEC [157].

В другом плацебо-контролируемом исследовании в перинатальном центре Shaare Zedek (Израиль) из 72 младенцев с очень низкой массой тела, получавших пробиотическую смесь, состоящую из представителей видов *Bifidobacterium infantis*, *B. bifidum* и *Streptococcus thermophilus*, у 3 (4%) был диагностирован NEC. В то же время в группе контроля, состоящей из 73 детей, находившихся на грудном или смешанном вскармливании, заболели 12 (16,4%) детей. При этом тяжелая форма NEC (стадия 2 или 3 по Bell) в пробиотической группе развилась у 1 ребенка из 72 (1%), а в группе контроля диагностировано 10 таких случаев среди 73 пациентов (14%) ($P=0,013$) [37].

В обзоре, выполненном японскими учеными, суммированы данные клинических исследований, касающихся пользы от применения у недоношенных новорожденных пробиотического штамма *Bifidobacterium breve* M-16V [271]. Для оценки защитного эффекта данного пробиотического штамма в отношении профилактики развития NEC и других инфекционных заболеваний у недоношенных новорожденных было проведено клиническое исследование с участием 338 детей, родившихся с очень низкой массой тела (общая продолжительность исследования составила пять лет). Пациентам назначался пробиотик *B. breve* M-16V в дозе 10^9 КОЕ/сутки с первых часов после рождения, группу контроля составили 226 недоношенных детей, не получавших пробиотик. Как оказалась, частота NEC и общая частота инфекционных заболеваний была статистически достоверно меньше в группе применения бифидобактерий по сравнению с контролем [271].

G. Deshpande и соавт. (2007) на основании метаанализа рандомизированных контролируемых исследований показали, что профилактическое использование пробиотиков у недоношенных новорожденных снижает заболеваемость NEC на 30% [61].

Таким образом, результаты проведенных исследований убедительно свидетельствуют о том, что назначение пробиотиков на основе

физиологических бактерий является весьма эффективной мерой профилактики NEC и других инфекционных заболеваний у недоношенных новорожденных.

Показано позитивное влияние отдельных пробиотиков на динамику роста и веса детей. Например, в двойном слепом исследовании, выполненном с участием 105 младенцев в возрасте 0–2 месяца, было показано, что дети, которым давали молочную смесь, содержащую пробиотический штамм *Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC 53103 в концентрации 10^7 клеток/г, лучше росли и набирали вес по сравнению с детьми, которых кормили той же смесью, но без добавления пробиотика [248]. В другом исследовании было показано, что ферментированное молоко, содержащее лактобациллы вида *L. acidophilus* (10^8 клеток/г), улучшало показатели роста и веса детей [221]. Авторы объясняют полученные данные увеличением конверсии пищи и, как результат, улучшением усвояемости пищевых ингредиентов.

Результаты плацебо-контролируемых исследований показали, что у доношенных новорожденных, получающих с первого дня жизни пробиотик, содержащий лактобациллы вида *Lactobacillus plantarum*, наблюдалась колонизация слизистых молочнокислыми бактериями, которые подавляли пролиферацию условно-патогенной грамотрицательной флоры, преобладающей у детей, получающих плацебо [213].

Доказана клиническая эффективность отдельных пробиотиков в лечении непереносимости лактозы [201], ААД [19,23,33,64,123], атопических заболеваний [77,114,122,124,125,126,211,240], ротавирусного гастроэнтерита у детей [195].

По данным метаанализа, проведенного G. Verpaola Aronte и соавт. (2013), пробиотики могут быть эффективными при хронической (персистирующей) диарее у детей. Включение пробиотиков на основе физиологических бактерий в схему лечения способствовало сокращению кратности стула и длительности заболевания. Неблагоприятных побочных эффектов используемых пробиотиков в исследовании не выявлено [36].

В Кокрановском систематическом обзоре [123] показана эффективность некоторых пробиотиков в профилактике развития ААД у грудных детей. Анализ 16 исследований, в которых участвовали 3432 ребенка, позволил сделать вывод, что дозы пробиотических бактерий выше 5×10^9 клеток в сутки достоверно снижают риск развития ААД у детей грудного возраста.

Профилактический эффект в отношении острых кишечных заболеваний у младенцев в ряде исследований показали бифидосодержащие пробиотики [23,237]. Авторы подчеркивают штаммо- и дозозависимый эффект используемых препаратов.

Использование трехштаммовой пробиотической смеси показало повышение эффективности лечения детей раннего возраста, что выражалось в уменьшении остроты диареи и продолжительности пребывания детей в стационаре [605].

По данным L. Vitetta и соавт. (2014), использование пробиотиков при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, в генезе которых имело значение воспаление, в большинстве случаев оказывало положительный эффект [251]. По данным X.L. Liu и соавт. (2013), назначение пробиотиков детям раннего и дошкольного возраста снижало вероятность возникновения у них диареи [158].

В рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании с участием 742 госпитализированных детей I. Hojsak и соавт. (2010) показали снижение риска внутрибольничных инфекций желудочно-кишечного тракта и дыхательных путей в группе детей, получавших ежедневно пробиотический штамм вида *Lactobacillus rhamnosus* в 100 мл кисломолочного продукта [104]. В другом рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании, проведенном S. Szazawal и соавт. (2010) с участием 624 детей 1–4 лет, в группе детей, получавших с молоком в течение года культуру *Bifidobacterium lactis*, показано снижение заболеваемости дизентерией и респираторными инфекциями нижних дыхательных путей [225]. По данным систематического обзора J.A. Applegate и соавт. (2013), включение пробиотиков в терапию острой диареи у детей младше пяти лет сокращало длительность диареи и кратность стула, начиная со второго дня заболевания [26]. По данным N. Phavichitr и соавт. (2013), использование пробиотика на основе представителей видов *Lactobacillus acidophilus* и *Bifidobacterium bifidum* в терапии детей, госпитализированных в стационар по поводу острой диареи, сокращало сроки их госпитализации [202]. Метаанализ H. Szajewska и соавт. (2013), в котором было проанализировано 15 рандомизированных клинических испытаний с участием 2963 детей с острым гастроэнтеритом, показал, что включение в терапию пробиотического штамма

Lactobacillus rhamnosus (LGG) снижало длительность диареи [238].

Показано, что отдельные пробиотики на основе лактобацилл способны уменьшить риск гастроинтестинальной колонизации грибами рода *Candida* и позднего сепсиса у недоношенных новорожденных, находящихся в отделении интенсивной терапии. Дети, принимающие пробиотики, характеризовались также меньшей частотой неврологических нарушений на первом году жизни по сравнению с контрольной группой [215].

Все больше появляется данных о более высокой эффективности поливидовых пробиотиков. Клинические исследования показали, что они оказались более действенными при лечении детей с ААД [242].

Согласно современным рекомендациям, все больные, получающие антибиотики, должны пройти курс пробиотической профилактики. Бесспорно, данные рекомендации должны основываться на результатах экспериментального и клинического изучения чувствительности пробиотических микроорганизмов к различным антибактериальным препаратам. В некоторых исследованиях показано, что прием пробиотика на основе молочнокислых бактерий способен предотвратить снижение популяций кишечных лактобацилл, связанное с применением антибиотиков [33,103,140,204,243,282]. В других сообщениях подчеркивается, что одновременный прием антибиотиков с пробиотиками возможен только с учетом резистентности пробиотических микроорганизмов к используемым антибактериальным препаратам. В этом отношении более эффективными являются поливидовые пробиотики [1,138,175].

На базе кафедры детских инфекций Национального медицинского университета имени А.А. Богомольца проведено исследование, в котором изучали эффективность включения отечественного мультипробиотика «Симбитер®» в комплексное лечение детей с инфекционной патологией (гнояный менингит, лакунарная ангина, пневмония). Контрольной группе детей (n=36) назначали стандартную терапию основного заболевания, в том числе и антибактериальные средства (пенициллин, цефтриаксон, цефотаксим). Основная группа (n=34) дополнительно получала мультипробиотик «Симбитер®», который отличается резистентностью к наиболее распространенным антибактериальным средствам. Препарат назначался на весь период антибиотикотера-

пии и в течение 10 дней после ее отмены. Применение мультипробиотика «Симбитер®» позволило уменьшить выраженность основных побочных симптомов антибиотикотерапии со стороны желудочно-кишечного тракта (диарея, боль в животе, метеоризм, рвота), что позволило авторам исследования сделать вывод о целесообразности его включения в комплексную терапию инфекционных заболеваний [1].

Частой проблемой у детей первых месяцев жизни являются кишечные колики. В подавляющем большинстве случаев колики возникают вследствие приспособления желудочно-кишечного тракта ребенка к новым условиям [266]. Поскольку при частых коликах у детей выявляются нарушения в становлении кишечной микробиоты, предлагается введение в рацион пробиотических смесей [231].

Исследование итальянских ученых из Туринского университета показывает позитивное воздействие отдельных пробиотических лактобацилл на состояние новорожденных и детей первых месяцев жизни при кишечных коликах. Похожие результаты показали и другие исследования [98,113]. Так, пробиотики на основе молочнокислых бактерий, наряду с уменьшением интенсивности кишечных колик, уменьшали частоту срыгиваний и рвоты, благоприятно влияли на перистальтику кишечника недоношенных новорожденных.

F. Savino и соавт. (2007) было установлено, что в кишечной микрофлоре детей, страдающих коликами, в гораздо меньшем количестве содержатся молочнокислые бактерии и чаще встречаются анаэробные грамотрицательные прокаротиоты. Семидневный курс использования лактобациллярного пробиотика в рандомизированном слепом проспективном исследовании показал значительное снижение симптомов проявления колик у 95% младенцев по сравнению с контрольной группой детей, где только 7% ответили на терапию симетиком ($p < 0.001$) [224].

Исследования показали, что грудное вскармливание и добавление пробиотиков на основе бифидобактерий может поддерживать оптимальный состав микробиома кишечника и улучшить ответ на вакцины в раннем детском возрасте. Установлено, что дисбиозная микробиота путем модификации механизмов развития Т-лимфоцитов может непрямым образом изменять ответ на введение вакцин. M.N. Huda и соавт. (2014) подчеркивают, что пробиотики при вакцинации особенно полезны детям

раннего возраста, которые подвержены частым инфекционным заболеваниям, госпитализациям и назначению антибиотиков, повреждающих микробиом ребенка [109].

Результатами отдельных исследований продемонстрировано, что преобладание бифидобактерий в составе микробиома кишечника у детей раннего возраста может стимулировать развитие вилочковой железы и иммунологические ответы как на пероральные, так и на парентеральные вакцины. В то же время уменьшение количества бифидобактерий и увеличение популяций условно-патогенных микроорганизмов способствует возникновению системного воспаления, развитию иммуносупрессии и менее выраженному ответу на введение вакцин [109,175].

Одной из важнейших медицинских проблем остается предупреждение развития у детей аллергических заболеваний. Клинические испытания, касающиеся профилактики аллергии с помощью пробиотиков, оказались успешными.

Предполагается, что предрасположенность ребенка к аллергии определяется физиологичностью микробиома. A. Shreiner и соавт. (2008) показали заметные различия в составе кишечной микрофлоры здоровых и лиц с аллергией и возможность облегчения проявлений аллергии при использовании некоторых пробиотиков [232].

Рядом исследований показана возможность профилактики развития атопических заболеваний у младенцев путем приема пробиотиков как матерью в период беременности, так и ребенком после его рождения [67,122,135, 196,210].

Показано, что противоаллергическая эффективность пробиотиков значительно повышается у детей, получающих грудное молоко, особенно если пробиотики принимали также их матери в периоды беременности и грудного кормления [67]. Женское молоко содержит важные иммунорегуляторные факторы, например TGF- β и IgA, которые могут защищать младенца от развития аллергических заболеваний [212]. Биологические механизмы, ответственные за такие свойства грудного молока, изучены еще недостаточно и требуют дальнейших исследований.

В комбинированных исследованиях с пренатальным и постнатальным применением пробиотиков наблюдалось значительное уменьшение общего проявления экземы и/или IgE-ассоциированной экземы в 6 из 9 опубликованных рандомизированных клинических исследованиях, выполненных с участием детей в возрасте до двух лет [67,124,

132,142,186,263]. В трех исследованиях таких эффектов не наблюдалось [21,111,139].

В проведенном в 2012 г. метаанализе было обнаружено значительное уменьшение риска заболевания экземой у детей 2–7-летнего возраста при использовании женщинами во время беременности пробиотических лактобацилл по сравнению с плацебо и пробиотиками другого состава [65].

В двух других исследованиях с использованием различных пробиотических смесей получено уменьшение случаев экземы через год [132] и через три месяца соответственно [186].

К. Wickens и соавт. (2008) исследовали эффект двух видов пробиотиков по отношению к плацебо и показали, что штамм *L. rhamnosus* HN001 значительно снижал случаи экземы и IgE-ассоциированной экземы на втором году, однако он не влиял на состояние сенсibilизации [264].

По данным S.I. Woo и соавт. (2010), 12-недельный прием *L. Sakei* KCTC 10755BP маленькими детьми также приводил к понижению SCORAD (scoring of atopic dermatitis — шкала атопического дерматита) и уменьшению активности заболевания в три раза по сравнению с детьми, которым давали плацебо [265].

Анализ результатов известных исследований подтверждает значительные различия пробиотиков относительно их биологической активности. Следовательно, при планировании клинических испытаний необходим тщательный анализ не только видового, но и штаммового состава пробиотиков.

Необходимо отметить, что, несмотря на положительный эффект ряда пробиотиков, некоторые исследователи наблюдали также увеличение случаев астма-подобных симптомов через два года [139] и через семь лет после завершения приема пробиотиков [126]. Это указывает на то, что было бы очень важно наблюдать за испытуемыми группами на протяжении нескольких лет с целью выяснения длительности влияния пробиотиков на состояние здоровья детей.

При применении пробиотического штамма *L. paracasei* F19 было получено уменьшение общих случаев экземы после 13 месяцев [260]. В целом эти исследования позволяют утверждать, что одно только постнатальное применение пробиотиков может быть недостаточным для понижения частоты клинических симптомов аллергических заболеваний и свидетельствуют, что ранний период жизни, когда можно оказывать влияние на микробиом и иммунную функцию, начинается еще до рождения.

Из-за различий в построении исследований весьма трудно получить значимые выводы. Очевидно, что одного только пренатального применения пробиотика недостаточно — его необходимо использовать также и в постнатальный период.

F. Campeotto и соавт. (2011) показали эффективность ферментированной пробиотической формулы на основе культур *Bifidobacterium brevis* и *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* у недоношенных детей. После двухнедельного кормления пробиотиком младенцев с гестационным возрастом 30–35 недель авторы отметили уменьшение провоспалительных маркеров, связанных с некоторыми особенностями желудочно-кишечной толерантности [46].

По данным P. Van Baarlen и соавт. (2009), пробиотик на основе лактобацилл вида *Lactobacillus plantarum* индуцирует толерантность к пищевым аллергенам за счет инициации пути AhR-сигнализации в пределах слизистой оболочки [246].

Появляется все больше обнадеживающих результатов исследований, подтверждающих целесообразность использования пробиотиков для профилактики у детей респираторных заболеваний. Двойное слепое плацебо-контролируемое рандомизированное исследование проводилось с 1 декабря 2000 г. по 30 сентября 2002 г. в 14 центрах по уходу за ребенком в области Беэр-Шева (Израиль). В исследования были включены здоровые доношенные дети возрастом от 4 до 10 месяцев. Продолжительность наблюдения для каждого участника составила 12 недель. Использование пробиотиков на основе лактобацилл и бифидобактерий показало значительное снижение частоты заболеваемости детей респираторной патологией, сокращение продолжительности болезни и позволило уменьшить дозу применяемого в терапии антибиотика [259].

Модуляция микробиоты предлагалась в качестве превентивного средства против обычных простудных и гриппозных симптомов у детей [155,274]. В двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании 326 детей в возрасте от 3 до 5 лет рандомизированно получали дважды в день на протяжении шести месяцев пробиотический штамм *Lactobacillus acidophilus* (n=110), или смесь штаммов *L. acidophilus* и *B. animalis lactis Bi-07* (n=112), или плацебо (n=104). К концу исследования было обнаружено, что по сравнению с группой плацебо у детей, получавших одноштабмовый или ком-

бинированный пробиотик, наблюдалось значительное снижение частоты и длительности состояний с повышенной температурой, кашля и ринореи [155].

В рандомизированном контролируемом испытании показано улучшение мукозального иммунитета и снижение частоты и тяжести кишечных и респираторных заболеваний у детей, принимающих йогурт, содержащий пробиотический штамм *L. rhamnosus* CRL1505. Частота инфекционных заболеваний уменьшилась с 66% в плацебо-группе до 34% в группе, которая получала йогурт с пробиотиком. При этом наблюдалось также значительное уменьшение показателей тяжести заболеваний, таких как лихорадка и необходимость применения антибиотиков, у детей, получавших пробиотический йогурт [250].

Еще одно рандомизированное клиническое исследование с участием 110 здоровых детей в возрасте от одного месяца до четырех лет, показало профилактическую эффективность мультипробиотика «Симбитер» относительно заболеваемости детей сезонными респираторными заболеваниями. Установлено, что трехмесячный курс приема мультипробиотика уменьшает тяжесть ОРВИ у детей и длительность основных симптомов болезни, снижает вероятность развития осложнений ОРВИ и необходимость назначения антибактериальных препаратов [2].

По данным А.М. Deasy и соавт. (2015), применение пробиотиков на основе нейссерий вида *Neisseria lactamica* в форме капель для носа уменьшает колонизацию возбудителем менингита *Neisseria meningitidis*. Ученые предполагают, что установленные эффекты реализуются за счет механизмов конкурирующих взаимоотношений микроорганизмов либо врожденных иммунных ответов, которые срабатывают при наличии необходимых симбионтов [60].

Лечение с изменением состава микробиома, включая фекальную трансплантацию и использование пробиотиков, давало улучшение некоторых симптомов у детей с аутизмом [128,219].

Учитывая многочисленные результаты исследований, перспективы использования пробиотиков для профилактики и устранения дисбиотических нарушений у детей в настоящее время вызывают возрастающий интерес. Вместе с тем вопрос о профилактическом использовании пробиотиков в неонатологии все еще бурно дискутируется.

В частности, существует мнение, что назначение пробиотических препаратов практически

здоровым новорожденным является нецелесообразным, поскольку может препятствовать приживлению физиологических штаммов матери. Однако необходимо учитывать, что сразу же после рождения ребенок попадает в мир, плотно заселенный условно-патогенными микроорганизмами, среди которых особую опасность для его здоровья представляют госпитальные штаммы. Если у взрослого человека большая часть экзогенной микрофлоры погибает за счет активности механизмов специфической и неспецифической защиты, организм новорожденного менее защищен от внешней микробиологической атаки. Поэтому значительная часть попадающих в его организм микробных клеток имеет шанс выжить и нарушить механизмы формирования микробиома.

Основная защита организма новорожденного — это контакт с телом здоровой матери и естественное вскармливание. В современных условиях данный превентивный механизм в большинстве случаев не является достаточно эффективным. Об этом свидетельствует, в частности, тот факт, что если ранее фаза транзитного дисбиоза у здоровых новорожденных длилась 6–8 суток, то в настоящее время этот процесс продолжается не менее месяца, а иногда достигает 2–3 лет [4].

В неонатальном возрасте, характеризующемся максимальным напряжением всех адаптивных реакций организма, чрезвычайно значение имеют спектр контактирующей с ним микрофлоры и степень ее агрессивных свойств. Легко уязвимый организм новорожденного подвержен высокому риску колонизации госпитальными штаммами потенциальных патогенов и внедрению их в состав приэпителиальных биопленок. Образующиеся при этом «дефектные» биопленки отличаются высокой устойчивостью, способствуют развитию и хронизации патологических процессов не только в пищеварительном тракте, но и в других органах и системах [7,8,13].

Традиционное использование при неонатальных инфекциях антибактериальных препаратов еще больше усложняет процесс формирования полноценного микробиома, поскольку повышает селективные преимущества условно-патогенной флоры за счет пролиферации антибиотикорезистентных бактериальных клонов. Кроме того, возникает опасность развития кандидомикозов, псевдомембранозного энтероколита и других осложнений.

Поэтому пробиотическая оптимизация процесса формирования микробиома у новорож-

денных, в том числе недоношенных детей, является одним из эффективных подходов к их благополучной постнатальной адаптации.

Существующие до настоящего времени разногласия относительно эффективности пробиотиков у новорожденных в различных клинических ситуациях в значительной степени обусловлены использованием в исследованиях препаратов разного состава. Несмотря на сложившееся общее мнение о целесообразности использования пробиотиков, клинический эффект ряда препаратов не доказан, а механически переносится с других препаратов сходного видового состава. Это недопустимо, поскольку среди огромного многообразия штаммов внутри каждого вида микроорганизмов лишь немногие из них обладают высокой пробиотической эффективностью.

Таким образом, лечебное и профилактическое использование в неонатологии и педиатрии пробиотиков на основе физиологических бактерий является одним из перспективных методов оздоровления детской популяции населения. Безопасность, простота и атравматичность применения привлекает все большее число специалистов к методам пробиотической терапии и профилактики. Вместе с тем широкое внедрение «детских» пробиотиков в практику требует дальнейших исследований по оптимизации их применения.

Помимо пробиотиков, для оздоровления микробиома детей могут использоваться пребиотики, ферментированные молочные продукты и некоторые энтеросорбенты.

Пребиотики — это компоненты пищи, преимущественно олигосахариды, которые, из-за своей структурной организации, не перевариваются в тонком кишечнике и ферментируются в толстой кишке анаэробными сахаролитическими бактериями, способствуя повышению их популяции в составе микробиома. Очевидно, что основная роль в реализации положительных эффектов пребиотиков принадлежит КЦЖК.

Вызывает интерес вопрос целесообразности использования пребиотиков в составе детских смесей. По данным S. Faupio и соавт. (2005), комбинация галактоолигосахаридов (GOS) и фруктоолигосахаридов (FOS), в соотношении, близком к их составу в женском грудном молоке, может стимулировать рост бифидобактерий и влиять на распределение отдельных видов среди кишечной микрофлоры, а также изменять pH фекалий и уровни продуцирования КЦЖК, приближая их концентрации

к таковым в кишечнике младенца, находящегося на грудном вскармливании [75].

M. Haarman и J. Knol (2005), используя аналогичную пребиотическую смесь у детей с аллергией, показали ее способность индуцировать бифидный видовой состав микробиома, свойственный здоровым детям, вскармливаемым грудным молоком [97].

Установлено также, что пребиотики, наряду с другими средствами оздоровления микробиома, играют положительную роль в работе иммунной системы новорожденного и защищают организм от патогенов [42,222].

Значительный интерес вызывает использование с целью оздоровления микробиома комплексов пробиотиков с пребиотиками — *синбиотиков*. Многие специалисты полагают, что пребиотики, синергически взаимодействуя с пробиотиками, оказывают положительное воздействие на состояние микробиома и здоровье кишечного тракта.

В исследовании K.G. Wu и соавт. (2012) лечение детей, страдающих экземой (от умеренной до тяжелой), комбинацией лактобациллярного штамма вида *L. salivarius* и FOS на протяжении восьми недель приводило к значительному уменьшению тяжести заболевания по сравнению с детьми, получавшими только FOS, однако в этом исследовании не было плацебо-группы, необходимой для базисного сравнения [267].

Польза для детского питания ферментированных молочных продуктов доказана многочисленными исследованиями. В частности, показано, что регулярное потребление в пищу пробиотических продуктов приводит к быстрому восстановлению физиологического микробного баланса в биотопах пищеварительного тракта, способствует лечению при язвенных болезнях, колитах, острых кишечных инфекциях, улучшает состояние больных с метаболическими нарушениями.

К группе средств оздоровления микробиома следует отнести некоторые виды энтеросорбентов. Механизм их действия в большой степени обусловлен санацией просвета кишки и улучшением за счет этого условий для жизнедеятельности физиологической микрофлоры.

Энтеросорбция является неинвазивным методом эфферентной терапии и при выборе адекватного сорбента может способствовать эффективному очищению организма от аллергенов, медиаторов, продуктов аллергической или воспалительной реакции, метаболитов, токсинов, активных перекисных соединений, вирусов

и других соединений. Оздоровление биотопов оптимизирует условия для функционирования физиологического микробиома [6,9,19].

В настоящее время существует огромный ассортимент энтеросорбентов различной природы, однако не все они являются эффективными при нарушениях микробиома, особенно у детей.

Перспективными для использования в педиатрии являются энтеросорбенты на основе глинистых минералов, например смектитов, которые отличаются мелкими частицами и способностью формировать гели, обладающие цитомукопротекторными свойствами. Смектиты обладают высокими адсорбционными, влагоудерживающими и ионообменными свойствами [6,9]. Огромный интерес вызывает их способность к сорбции кишечных вирусов, что объясняет высокую эффективность при энтеровирусных инфекциях [9,239]. Установлено, что смектит подавляет инфекционность 90% инокулята ротавируса при минимальной концентрации через минуту после их контакта [239].

Проведенный авторами цикл фундаментальных исследований привел к созданию нового поколения эффективных энтеросорбентов серии «Симбиогель®», которые удивительно результативно вписались в комплексную схему оздоровления микробиома у детей. При использовании энтеросорбентов этой серии происходит эффективная санация пищеварительного

тракта, улучшение структуры защитного слизистого слоя кишечной стенки, оптимизация условий для активной жизнедеятельности физиологических бактерий.

Заключение

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

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

REFERENCES/ЛИТЕРАТУРА

Список літератури наведений у англomовній версії статті.

Відомості про авторів:

Янковський Дмитро Станіславович — д.б.н., проф., генеральний директор НВК «О.Д. Пролісок». Адреса: Київська обл., Васильківський район, с. Велика Вільшанка, вул. Софіївська, 17-а.

Ширококов Володимир Павлович — акад. НАН і НАМН України, д.мед.н., проф., зав. каф. мікробіології, вірусології та імунології НМУ імені О.О. Богомольця. Адреса: м. Київ, просп. Перемоги, 34.

Димент Галина Семенівна — к.тех.н., директор наукового центру НВК «О.Д. Пролісок». Адреса: Київська обл., Васильківський район, с. Велика Вільшанка, вул. Софіївська, 17-а.