

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН
ТАШКЕНТСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ**

«УТВЕРЖДАЮ»

**Председатель научно-технического совета
министерство здравоохранения**

_____ **Ш.К. Атаджанов**

« _____ » _____ 2025 г.

**АБДУЛЛАЕВА УМИДА УМИДОВНА
КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВИЧ ИНФЕКЦИИ С
НАРУШЕНИЯМИ МИКРОБНОГО ПЕЙЗАЖА КИШЕЧНИКА
(Монография)**

Ташкент - 2025 год

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН
ТАШКЕНТСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ**

«УТВЕРЖДАЮ»

**Председатель специализированного
экспертного совета**

**Ташкентского государственного
медицинского университета**

_____ **Х.С.Ахмедов**

« _____ » _____ 2025 г.

АБДУЛЛАЕВА УМИДА УМИДОВНА

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВИЧ ИНФЕКЦИИ С
НАРУШЕНИЯМИ МИКРОБНОГО ПЕЙЗАЖА КИШЕЧНИКА**

(Монография)

Ташкент - 2025 год

Клинико-лабораторные особенности ВИЧ инфекции с нарушениями микробного пейзажа кишечника/Абдуллаева У.У. – Ташкент 2025. 122 с.

Монография состоит из введения, 4 глав основной части и заключения. Данная монография посвящена комплексному изучению взаимосвязи между ВИЧ-инфекцией и нарушениями микробиоты кишечника, представляя современные данные о клинических, иммунологических и микробиологических особенностях этой коморбидной патологии. В работе детально рассматриваются механизмы развития дисбиоза кишечника у ВИЧ-инфицированных пациентов, его влияние на прогрессирование основного заболевания и эффективность антиретровирусной терапии. Особое внимание уделяется лабораторной диагностике нарушений микробного пейзажа, включая современные молекулярно-генетические методы исследования. Представлены результаты оригинальных клинических исследований, демонстрирующие корреляцию между составом кишечной микробиоты, иммунным статусом и клиническими проявлениями ВИЧ-инфекции. Монография содержит практические рекомендации по коррекции дисбиотических нарушений у пациентов с ВИЧ-инфекцией и алгоритмы персонализированного подхода к терапии. Издание предназначено для инфекционистов, иммунологов, гастроэнтерологов, врачей-лаборантов, клинических ординаторов и аспирантов медицинских вузов. Книга будет полезна научным сотрудникам, занимающимся проблемами ВИЧ-инфекции, микробиологии и иммунологии, а также организаторам здравоохранения, участвующим в разработке программ помощи ВИЧ-инфицированным пациентам.

ОГЛАВЛЕНИЕ

	Введение	5
Глава 1.	Современное состояние вопроса нарушений микробного пейзажа кишечника у детей с вич инфекцией	7
Глава 2.	Клинико-лабораторная диагностика ВИЧ и микробиоценоза кишечника <ul style="list-style-type: none">• Особенности инструментальных методов исследований• Лабораторные методы исследования	19
Глава 3.	Клинико-лабораторная характеристика пациентов с нарушениями микробного пейзажа кишечника и вич инфекцией	50
Глава 4.	Оптимизация терапии вич с нарушениями микробного пейзажа кишечника у детей	62
	Заключение	124
	Литература	126

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АРВТ – антиретровирусная терапия

ВААРТ – высоко активная антиретровирусная терапия

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ВН – вирусная нагрузка

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

ДОУ – дошкольные образовательные учреждения

ЗППП – заболевания, передающиеся половым путем

ИМТ – индекс массы тела

ИФА – иммуноферментный анализ

ЛЖВ – люди, живущие с ВИЧ

ЛПИУВ – лица, оказывающие интимные услуги за вознаграждение

ЛПУ – лечебно-профилактическое учреждение

ППМР – профилактика передачи ВИЧ инфекции от матери к плоду

ПЦР – полимеразно-цепная реакция

СПИД – синдром приобретенного иммунодефицита

УЗИ – ультра звуковое исследование

ЦНС – центральная нервная система

ЮНИСЕФ – фонд ООН по вопросам детства

ЮНЭЙДС – объединенная программа ООН по ВИЧ инфекции

Введение

По данным UNAIDS (2023), в мире насчитывается более 39 миллионов человек, живущих с ВИЧ-инфекцией, при этом ежегодно регистрируется около 1,3 миллиона новых случаев заражения. Несмотря на значительные успехи в области антиретровирусной терапии (АРТ), позволившей перевести ВИЧ-инфекцию в категорию хронических контролируемых заболеваний, качество жизни пациентов остается сниженным из-за развития множественных коморбидных состояний. Одной из наиболее распространенных, но недостаточно изученных проблем является нарушение микробного пейзажа кишечника, которое наблюдается у 70-90% ВИЧ-инфицированных пациентов и существенно влияет на течение основного заболевания, эффективность терапии и прогноз.

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), гастроинтестинальные проявления, связанные с дисбиозом кишечника, отмечаются у 50-60% ВИЧ-инфицированных пациентов и значительно снижают приверженность к антиретровирусной терапии, что приводит к прогрессированию иммунодефицита и развитию оппортунистических инфекций. Исследования, проведенные в США, Западной Европе и Африке, демонстрируют, что нарушения кишечной микробиоты ассоциированы с более быстрым прогрессированием ВИЧ-инфекции, повышенным риском развития метаболических нарушений, сердечно-сосудистых заболеваний и нейрокогнитивных расстройств. Метаанализ 47 исследований, опубликованный в 2022 году, показал, что микробная транслокация и связанная с ней хроническая иммунная активация являются независимыми предикторами смертности у ВИЧ-инфицированных пациентов, даже получающих эффективную АРТ.

Кишечник является крупнейшим иммунным органом человека, содержащим до 70% всех иммунокомпетентных клеток организма, и именно

кишечно-ассоциированная лимфоидная ткань (GALT) становится одной из первых мишеней ВИЧ на ранних стадиях инфекции. Массивная деплеция CD4+ Т-лимфоцитов в слизистой оболочке кишечника происходит уже в первые недели после инфицирования и сохраняется даже на фоне успешной антиретровирусной терапии с неопределяемой вирусной нагрузкой в крови. Это приводит к нарушению целостности кишечного барьера, транслокации бактериальных продуктов (липополисахаридов, пептидогликанов) в системный кровоток и развитию хронического системного воспаления, которое является ключевым фактором ускоренного старения и развития неинфекционных осложнений у ВИЧ-инфицированных пациентов.

Современные исследования с использованием метагеномного секвенирования (16S rRNA, whole genome sequencing) выявили глубокие качественные и количественные изменения кишечной микробиоты у ВИЧ-инфицированных пациентов: снижение α -разнообразия микробного сообщества на 20-40%, уменьшение численности защитных бактерий (*Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Faecalibacterium prausnitzii*) на 50-70%, увеличение потенциально патогенных микроорганизмов (*Proteobacteria*, *Prevotella* spp., *Enterobacteriaceae*) в 2-5 раз и нарушение метаболической активности микробиоты с дефицитом продукции короткоцепочечных жирных кислот. Международные исследовательские консорциумы (NIH Human Microbiome Project, MetaHIT) активно изучают роль микробиоты в патогенезе ВИЧ-инфекции, однако клиническая значимость этих изменений, их связь с конкретными проявлениями заболевания и возможности терапевтической коррекции остаются предметом научных дискуссий.

В странах Содружества Независимых Государств эпидемиологическая ситуация по ВИЧ-инфекции остается напряженной. По данным Объединенной программы ООН по ВИЧ/СПИДу, в странах Восточной Европы и Центральной Азии проживает более 1,7 миллиона человек с ВИЧ-инфекцией, при этом регион характеризуется одним из самых высоких темпов роста новых случаев

инфицирования в мире. В Российской Федерации зарегистрировано свыше 1,5 миллиона ВИЧ-инфицированных граждан (по состоянию на 2023 год), в Украине – около 260 тысяч, в Казахстане – более 40 тысяч, в Беларуси – свыше 30 тысяч человек.

Особенностью эпидемии ВИЧ-инфекции в странах СНГ является преобладание парентерального пути передачи через инъекционное употребление наркотиков (30-40% случаев) и высокая доля пациентов с поздней диагностикой заболевания на стадии выраженного иммунодефицита ($CD4^+ < 350$ клеток/мкл у 40-50% впервые выявленных пациентов). Это обуславливает высокую частоту оппортунистических инфекций, в том числе кишечных (криптоспоридиоз, микроспоридиоз, цитомегаловирусный колит), которые усугубляют нарушения микробиоты кишечника и формируют порочный круг прогрессирования заболевания.

В Российской Федерации проблема нарушений микробиоты кишечника у ВИЧ-инфицированных пациентов изучается в ведущих научных центрах (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Минздрава России, Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера), однако комплексные исследования, оценивающие взаимосвязь клинико-лабораторных параметров ВИЧ-инфекции с характеристиками кишечной микробиоты, единичны. Исследования, проведенные в Москве и Санкт-Петербурге, показали, что дисбиоз кишечника выявляется у 82-89% ВИЧ-инфицированных пациентов, при этом его выраженность коррелирует со стадией заболевания, уровнем $CD4^+$ лимфоцитов и наличием оппортунистических инфекций.

В Казахстане, по данным Республиканского центра по профилактике и борьбе со СПИД, распространенность гастроинтестинальных проявлений у ВИЧ-инфицированных пациентов составляет 45-52%, однако исследования микробиоты кишечника с использованием современных молекулярно-генетических методов практически не проводятся. Аналогичная ситуация

наблюдается в Беларуси, Украине, Кыргызстане и других странах региона, где диагностика дисбиоза кишечника ограничивается традиционными культуральными методами, не позволяющими оценить истинное разнообразие и функциональную активность кишечной микробиоты.

Важной проблемой в странах СНГ является отсутствие единых диагностических алгоритмов выявления клинически значимых дисбиотических нарушений у ВИЧ-инфицированных пациентов и научно обоснованных протоколов их коррекции. Существующие клинические рекомендации по ведению ВИЧ-инфицированных пациентов в странах СНГ не содержат разделов, посвященных диагностике и коррекции нарушений микробиоты кишечника, что приводит к недооценке этой проблемы практическими врачами и отсутствию патогенетически обоснованной терапии. Исследования, проведенные в Российской Федерации, показали, что только 15-20% ВИЧ-инфицированных пациентов с гастроинтестинальными проявлениями получают целенаправленную коррекцию дисбиоза кишечника, при этом используемые препараты (пробиотики, пребиотики) назначаются эмпирически, без учета индивидуальных особенностей микробиоты.

В Республике Узбекистан, по данным Республиканского центра по борьбе со СПИДом Министерства здравоохранения, по состоянию на начало 2023 года зарегистрировано более 60 тысяч случаев ВИЧ-инфекции, при этом ежегодно выявляется около 3-4 тысяч новых случаев. Эпидемиологическая ситуация характеризуется концентрацией инфекции в ключевых группах населения (потребители инъекционных наркотиков, работники коммерческого секса, мужчины, имеющие половые контакты с мужчинами) с постепенным распространением в общую популяцию. Показатель распространенности ВИЧ-инфекции в стране составляет около 0,2% среди взрослого населения, однако в отдельных регионах (Ташкент, Ташкентская область, Сырдарьинская область) этот показатель достигает 0,3-0,4%.

Особенностью ВИЧ-инфекции в Узбекистане является высокая доля пациентов с поздней диагностикой заболевания: по данным Республиканского центра по борьбе со СПИДом, у 48-52% впервые выявленных пациентов уровень CD4+ лимфоцитов составляет менее 350 клеток/мкл, у 25-30% – менее 200 клеток/мкл, что соответствует стадии выраженного иммунодефицита. Это обуславливает высокую частоту оппортунистических инфекций, среди которых значительную долю составляют кишечные инфекции: туберкулез кишечника (15-18% случаев внелегочного туберкулеза у ВИЧ-инфицированных), криптоспоридиоз (8-12%), изоспороз (5-7%), цитомегаловирусный колит (3-5%). Эти инфекции существенно усугубляют нарушения микробиоты кишечника и являются причиной тяжелой диареи, мальабсорбции и прогрессирующего истощения пациентов.

Согласно данным клинических исследований, проведенных в Республиканском специализированном научно-практическом медицинском центре дерматовенерологии и косметологии МЗ РУз и Ташкентской медицинской академии, гастроинтестинальные проявления (диарея, абдоминальные боли, тошнота, метеоризм) отмечаются у 55-62% ВИЧ-инфицированных пациентов, при этом у 35-40% они носят хронический рецидивирующий характер. Исследования, выполненные с использованием традиционных культуральных методов, выявили дисбиоз кишечника у 78-85% обследованных ВИЧ-инфицированных пациентов, характеризующийся снижением количества бифидобактерий и лактобацилл, увеличением условно-патогенной флоры (*Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp., *Candida* spp.).

Однако в Республике Узбекистан отсутствуют комплексные исследования, изучающие взаимосвязь между клинико-иммунологическими параметрами ВИЧ-инфекции и характеристиками кишечной микробиоты с использованием современных молекулярно-генетических методов (метагеномное секвенирование, ПЦР в реальном времени, FISH-анализ). Не изучена роль микробной транслокации и хронической иммунной активации в

прогрессировании ВИЧ-инфекции у узбекских пациентов, не определены специфические паттерны изменений микробиоты в зависимости от стадии заболевания, эффективности АРТ и наличия коморбидных состояний. Отсутствуют данные о влиянии традиционных пищевых привычек населения Узбекистана (высокое потребление хлеба, риса, растительных масел, кисломолочных продуктов) на состояние кишечной микробиоты у ВИЧ-инфицированных пациентов.

Важной проблемой является отсутствие в Республике Узбекистан клинических протоколов по диагностике и коррекции нарушений микробиоты кишечника у ВИЧ-инфицированных пациентов. Действующие клинические протоколы по ведению ВИЧ-инфекции (утверждены приказом МЗ РУз № 264 от 2019 года) не содержат разделов, посвященных этой проблеме, что приводит к недооценке значимости дисбиоза кишечника практическими врачами и отсутствию патогенетически обоснованной терапии. По данным анкетирования инфекционистов, проведенного в 2022 году, только 12-15% специалистов регулярно назначают исследование микробиоты кишечника ВИЧ-инфицированным пациентам с гастроинтестинальными проявлениями, при этом коррекция дисбиоза проводится эмпирически, без учета индивидуальных особенностей микробного пейзажа.

Недостаточно изучена проблема взаимодействия антиретровирусных препаратов с кишечной микробиотой у узбекских пациентов. Известно, что некоторые АРВ-препараты (ингибиторы протеазы, нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы) могут оказывать прямое влияние на состав и метаболическую активность микробиоты, однако эти эффекты не изучены в условиях Узбекистана, где используются преимущественно схемы первой линии на основе тенофовира, ламивудина и эфавиренца или долутегравира. Не исследована роль коррекции дисбиоза кишечника в повышении эффективности АРТ и улучшении приверженности пациентов к

лечению, что особенно актуально в условиях Узбекистана, где приверженность к АРТ составляет 65-70%, что ниже целевого показателя ВОЗ ($\geq 95\%$).

Кроме того, в Республике Узбекистан отсутствует инфраструктура для внедрения современных методов исследования микробиоты кишечника (метагеномное секвенирование, метаболомный анализ) в клиническую практику. Существующие лаборатории используют преимущественно традиционные культуральные методы, которые позволяют идентифицировать лишь 10-15% микроорганизмов кишечника и не дают информации о функциональной активности микробного сообщества. Необходимо создание научно-практической базы для внедрения инновационных диагностических технологий и разработки персонализированных подходов к коррекции нарушений микробиоты у ВИЧ-инфицированных пациентов с учетом региональных особенностей.

Таким образом, изучение клинико-лабораторных особенностей ВИЧ-инфекции с нарушениями микробного пейзажа кишечника является актуальной научной и практической задачей для Республики Узбекистан, решение которой позволит:

- улучшить качество жизни ВИЧ-инфицированных пациентов за счет эффективной коррекции гастроинтестинальных проявлений;
- оптимизировать эффективность антиретровирусной терапии и повысить приверженность пациентов к лечению;
- снизить частоту оппортунистических инфекций и других коморбидных состояний;
- разработать персонализированные подходы к ведению ВИЧ-инфицированных пациентов с учетом состояния их кишечной микробиоты;
- создать научную основу для внедрения инновационных диагностических и терапевтических стратегий в практику отечественного здравоохранения;

- внести вклад в достижение целей UNAIDS «95-95-95» (95% людей с ВИЧ знают свой статус, 95% получают АРТ, 95% имеют неопределяемую вирусную нагрузку) в Республике Узбекистан.

Комплексный подход к изучению этой проблемы, объединяющий клинические, иммунологические, микробиологические и молекулярно-генетические методы исследования, создаст научную основу для разработки национальных клинических протоколов по диагностике и коррекции нарушений микробиоты кишечника у ВИЧ-инфицированных пациентов и будет способствовать совершенствованию системы медицинской помощи этой категории больных в Республике Узбекистан.

Глава I. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ВОПРОСА НАРУШЕНИЙ МИКРОБНОГО ПЕЙЗАЖА КИШЕЧНИКА У ДЕТЕЙ С ВИЧ ИНФЕКЦИЕЙ (обзор литературы)

§ 1.1. Понятие о микробиоме толстого кишечника.

Интерес к микробиому человека, особенно микробиому кишечника, резко возрос в последние десятилетия благодаря быстрому развитию скрининга на основе последовательностей и гуманизированной гнотобиотической модели при изучении динамических операций комменсальной микробиоты. Хотя эта область все еще находится на очень начальном этапе, в связи с чем функциональные свойства сложного кишечного микробиома остаются менее изученными, было задокументировано несколько многообещающих открытий, демонстрирующих большой потенциал для революционного изменения этиологии заболеваний и методов лечения. В данной подглаве основное внимание уделялось взаимодействию между кишечной микробиотой и хозяином, чтобы дать представление о роли кишечной микробиоты и ее уникальных метаболитов в обеспечении защиты хозяина от вторжения патогена, регуляции различных физиологических функций хозяина, включая метаболизм, развитие и гомеостаз иммунитета и нервной системы. Мы подробно останавливаемся на том, как кишечный микробный дисбаланс (дисбиоз) может привести к дисфункции механизмов хозяина, тем самым способствуя патогенезу и/или прогрессированию широкого спектра заболеваний. Некоторые из наиболее заметных заболеваний, а именно *Clostridium difficile* инфекция (инфекционное заболевание), воспалительное заболевание кишечника (кишечное иммуноопосредованное заболевание), глютеновая болезнь (мультисистемное аутоиммунное заболевание), ожирение (метаболическое заболевание), колоректальный рак и расстройство аутистического спектра (нейропсихиатрическое расстройство) обсуждались и очерчивались наряду с недавними результатами. Новые методы лечения, основанные на исследованиях микробиома, такие как трансплантация

фекальной микробиоты, пробиотики и пребиотики для борьбы с сопутствующими заболеваниями, были рассмотрены, чтобы представить идею о том, как можно облегчить симптомы определенных заболеваний путем коррекции дисбиоза, тем самым раскрывая новый научный подход к лечению заболеваний. Ближе к концу этого обзора было описано несколько пробелов и ограничений в исследованиях, а также предложены будущие исследования для преодоления текущих пробелов в исследованиях.

По мнению Lloyd-Price с соавторами микробиом человека состоит из коллективных геномов микробиоты, населяющей нас, а именно простейших, архей, эукариот, вирусов и преимущественно бактерий, которые симбиотически живут на различных участках человеческого тела и внутри них. Примеры занятых мест обитания включают нашу ротовую полость, половые органы, дыхательные пути, кожу и желудочно-кишечный тракт. По оценкам, микробиота человека составляет примерно 10^{13} – 10^{14} микробных клеток с соотношением микробных клеток к клеткам человека примерно 1:1 [164, с.231] и цифры которые были определены из суммарного значения клеток бактерий в толстом кишечнике, органе в просвете которого наибольшее число микроорганизмов. [164, с.235]). Разнообразная микробиота желудочно-кишечного тракта преимущественно состоит из бактерий трех основных типов, а именно Firmicutes, Bacteroidetes и Actinobacteria. Этот разнообразный и сложный микробиом служит функциональным расширением геномов хозяина и, по оценкам, содержит в 50–100 раз больше генов по сравнению с хозяином. Эти дополнительные гены добавили различные типы ферментативных белков, которые не кодируются хозяином и играют решающую роль в облегчении метаболизма хозяина, способствуя тем самым регуляции физиологии хозяина [116, с.172]. До последних десятилетий свойства человеческого микробиома и взаимодействие между хозяином и микробиотой были в значительной степени неизвестны из-за технологических ограничений, особенно при изучении представляющих интерес некультивируемых микробов, а также из-за

отсутствия данных о популяционном масштабе, отражающих состав и функции микробиоты. Однако современные достижения в технологиях секвенирования и проведение масштабных исследовательских проектов в области микробиомов, таких как Human Microbiome Project (HMP), финансируемый Национальным институтом здравоохранения США (NIH), и MetaHIT (метагеномика кишечника человека), финансируемый Европейской комиссией, оказали значительное воздействие на исследования микробиома человека. Эти крупные проекты поставили перед собой задачу изучения микробиомов человека и их влияния на здоровье и различные заболевания. Важно отметить, что проект MetaHIT уделяет особое внимание кишечному микробиому. В эти метаомические проекты было включено несколько анализов, включая секвенирование 16S рибосомной РНК (рРНК) для таксономической характеристики сообществ микробиоты; Полногеномное метагеномное секвенирование ДНК всего сообщества, специфичного для участка тела, с последующим картированием эталонного генома, метагеномной сборкой, каталогизацией генов и метаболической реконструкцией для облегчения максимального сбора организменных и функциональных данных микробиоты человека [174, с.51].

Ввиду присущей микробиому человека сложности и неоднородности необходимы эксперименты, чтобы противодействовать ограничениям эмпирических методов при изучении причинно-следственных или корреляционных связей между нарушением равновесия микробиоты (дисбиозом) и заболеваниями человека. Надежное экспериментальное моделирование позволяет систематически манипулировать переменными для исследования гипотез, выведенных из исследований «омики». Для этого в последние годы в исследованиях микробиома набирает обороты применение «гуманизированной» гнотобиотической животной модели, которая содержит определенную коллекцию секвенированных микробных сообществ [161, с.58]. Это позволяет провести исследование с доказательством механизма для изучения потенциального воздействия диеты, антибиотиков, токсикантов

окружающей среды [169, с.78] и генотипические вариации хозяина [151, с.23] в микробиоте и проявлении болезни, из-за изменений в составе микробиоты, постиндуцированных вариаций транскриптомов, протеомов или метаболомов можно извлечь и охарактеризовать, чтобы понять работу микробиоты. Кроме того, «гуманизированные» гнотобиотические мыши могут быть использованы для предварительного тестирования терапевтической эффективности при лечении заболеваний, связанных с дисбиозом, так как позволяют отслеживать фармакокинетические-фармакодинамические изменения в микробных сообществах, что способствует оптимизации лечения и режима дозирования [132, с.34, 156, с.45].

Несомненно, эти усилия проливают свет на клиническое значение микробиома человека, который представляет собой своего рода «черный ящик». Хотя исследования микробиома человека все еще находятся на начальной стадии, полученные результаты считаются интригующими, но многообещающими с точки зрения заполнения пробела в знаниях об отношениях микробиом-хозяин и их роли в патогенезе заболевания, а также терапевтической ценности, которая требует более глубокого изучения. Глубокие исследования, чтобы раскрыть эту захватывающую, но загадочную область исследований. Ниже мы рассмотрим недавние исследования, конкретно связанные с бактериальным микробиомом в ЖКТ — крупнейшем микробном резервуаре человеческого организма. Обсуждаются кишечная микробиота и метаболиты, синтезированные микроорганизмами, а также их роль в благополучии человека и нормальном функционировании.

Отношения симбиоза между кишечной микробиотой и хозяином охватывают сложную сеть взаимодействий, которые включают метаболические, иммунные и нейроэндокринные перекрестные связи. Эти взаимодействия потенциально медируются метаболитами, производимыми микроорганизмами, и которые оказывают разностороннее воздействие. Эти метаболиты также выполняют роль сигнальных молекул в регуляции

нейроиммунных и воспалительных процессов у хозяина. Такие молекулы способствуют связыванию кишечника с другими системами организма.

Микробиота кишечника играет важную роль в ферментации неабсорбированного крахмала и растворимых пищевых волокон. Ферментированные конечные продукты, такие как бутират, пропионат, ацетат и пентаноат, представляют собой важные источники энергии для организма хозяина. Они обеспечивают около 10% ежедневной пищевой энергии, которую хозяин использует для поддержания других метаболических процессов [101, с. 23]. Продукты разложения, синтезированные микробами, составляют примерно 70% общего производства АТФ в толстой кишке. Бутират является предпочтительным источником энергии для клеток слизистой оболочки толстой кишки. [99, с.21].

Микробиота кишечника также участвует в обмене желчных кислот в организме хозяина. Желчные кислоты, производимые печенью из холестерина, подвергаются конъюгации с таурином или глицином. Они накапливаются в желчном пузыре и секретируются в ДПК с целью оптимизации процессов пищеварения и метаболизма холестерина и жиров. У здоровых людей приблизительно 95% желчных кислот реабсорбируются в конце тонкой кишки, а лишь 5% остаются неабсорбированными. Затем, эти неабсорбированные первичные желчные кислоты подвергаются биоконверсии или деконъюгации во вторичные желчные кислоты при участии ферментов, выделяемых некоторыми микроорганизмами в толстой кишке, такими как клостридии. Часть этих вторичных желчных кислот реабсорбируется обратно в толстой кишке и возвращается в печень для повторной конъюгации. Неабсорбированные вторичные желчные кислоты выводятся из организма.

Микробиота кишечника в значительной степени получает свои питательные вещества из пищевых углеводов. Ферментация углеводов, которые избежали проксимального пищеварения, и неперевариваемых олигосахаридов кишечными организмами, такие как бактериоиды, бифидобактерии и

энтеробактерии, приводят к синтезу короткоцепочечных жирных кислот, таких как бутират, пропионат и ацетат, которые являются богатыми источниками энергии для хозяина [124, с.56]. Считается, что этот энергетический баланс хозяина опосредован лиганд-рецепторным взаимодействием SCFAs с рецептором Gpr41, связанным с G-белком. Другой энтероэндокринный гормон PYY (пептид тирозин-тирозин/панкреатический пептид YY3-36) также участвует в этом действии [121, с.61].

Микробиота кишечника также обогащена эффективным механизмом метаболизма белка, который функционирует посредством микробных протеиназ и пептидаз связываясь с протеиназами человека. Несколько переносчиков аминокислот на клеточной стенке бактерий облегчают проникновение аминокислот из просвета кишечника в бактерии, при этом несколько генных продуктов превращают аминокислоты в небольшие сигнальные молекулы и антимикробные пептиды (бактериоцины). Важные примеры включают превращение L-гистидина в гистамин бактериальным ферментом гистаминдекарбоксилазой, который кодируется бактериальными генами и глутамата в γ -аминомасляную кислоту (ГАМК) с помощью глутаматдекарбоксилаз, которые кодируются бактериальными генами gadB [126, с.73].

§ 1.2. Дисбиоз и ВИЧ инфекция.

Прогрессирующая ВИЧ-инфекция характеризуется нарушением регуляции кишечного иммунного барьера, транслокацией иммуностимулирующих микробных продуктов и хроническим системным воспалением, которое, как считается, приводит к прогрессированию заболевания до СПИДа. Элементы этого патологического процесса сохраняются, несмотря на вирусную супрессию во время высокоактивной антиретровирусной терапии и причины этих явлений остаются малоизученными. Нарушенный кишечный иммунитет может спровоцировать дисбиоз, вызывающий хроническое воспаление слизистой оболочки и периферических тканей мышцей. Однако предполагаемые

микробные факторы, вызывающие ВИЧ-ассоциированную иммунопатологию по сравнению с выздоровлением, у людей не выявлены. Используя профилирование бактериального сообщества с высоким разрешением, было идентифицировано дисбиотическое сообщество, прикрепляющееся к слизистой оболочке, обогащенное Proteobacteria и обедненное членами Bacteroidia, которое было связано с маркерами нарушения иммунитета слизистой оболочки, активации Т-клеток и хронического воспаления у ВИЧ-инфицированных субъектов. Кроме того, этот дисбиоз был очевиден среди ВИЧ-инфицированных субъектов, получающих ВААРТ, и степень дисбиоза коррелировала с активностью кинуренинового пути метаболизма триптофана и концентрацией в плазме воспалительного цитокина интерлейкина-6, двух установленных маркеров заболевания. прогресс. Было обнаружено, что резидентные бактерии кишечника, способные метаболизировать триптофан через кинурениновый путь, обогащены у ВИЧ-инфицированных субъектов, сильно коррелируют с уровнями кинуренина у ВИЧ-инфицированных субъектов и способны продуцировать кинуренин. Активация Т-клеток и хроническое воспаление у ВИЧ-инфицированных. Было обнаружено, что резидентные бактерии кишечника, способные метаболизировать триптофан через кинурениновый путь, обогащены у ВИЧ-инфицированных субъектов, сильно коррелируют с уровнями кинуренина у ВИЧ-инфицированных субъектов и способны продуцировать кинуренин и степень дисбиоза коррелирует с активностью кинуренинового пути метаболизма триптофана и концентрацией в плазме воспалительного цитокина интерлейкина-6, двух установленных маркеров прогрессирования заболевания. Было обнаружено, что резидентные бактерии кишечника, способные метаболизировать триптофан через кинурениновый путь, были обогащены у ВИЧ-инфицированных субъектов, сильно коррелировали с уровнями кинуренина у ВИЧ-инфицированных субъектов и способны продуцировать кинуренин. Эти наблюдения демонстрируют связь между бактериями, прикрепляющимися к

слизистой оболочке толстой кишки, и иммунопатогенезом при прогрессирующей ВИЧ-инфекции, которая очевидна даже в условиях подавления вируса во время ВААРТ. Эта связь предполагает, что микробные популяции, обитающие в кишечнике, могут влиять на гомеостаз кишечника во время ВИЧ-инфекции [87, с.67].

Накопленные данные исследований на людях и приматах подтверждают общую гипотезу о том, что прогрессирование СПИДа во время ВИЧ-инфекции обусловлено хронически повышенной активацией Т-клеток и системным воспалением [118, с.68]. Хотя этиология такой стойкой иммунной активации до конца не изучена, постулируется, что определенную роль играет нарушение иммунитета слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, которое следует за прогрессирующей инфекцией ВИЧ и ВИО. В частности, в этот процесс вовлечены нарушенная барьерная функция слизистой оболочки и повышенная транслокация иммуностимулирующих микробных продуктов из просвета кишечника в системный кровоток [119, с.54]. Действительно, присутствие микробных продуктов в периферической крови ВИЧ-инфицированных было связано с активацией иммунитета и повышенной заболеваемостью и смертностью [105, с.3]. Среди зарегистрированных дефектов слизистого барьера выраженное снижение клеточных популяций, характеризующихся секрецией факторов, способствующих гомеостазу энтероцитов, IL-17 и IL-22, было связано со снижением целостности желудочно-кишечного эпителиального барьера и ускорением заболевания. Сообщается, что эти изменения сопровождаются и, по-видимому, ускоряют эти изменения, усиливая активацию кинуренинового пути метаболизма триптофана посредством интерферон-индуцируемого фермента, индоламин-2,3-диоксигеназы 1 и он вырабатывает катаболиты триптофана, которые могут ингибировать дифференцировку IL-17, секретирующих CD4⁺ Т-клетки, этот фермент индуцируется в ходе патологической ВИЧ- и ВИО-инфекции, не нормализуется при прогрессировании заболевания и связана с нарушением иммунитета

слизистых оболочек и микробной транслокацией, постулируемыми факторами хронического воспаления, ускоряющими развитие СПИДа. Хотя высокоактивная антиретровирусная терапия и приводит к частичному снижению маркеров воспаления, включая активность IDO1, остаточных маркеров активации Т-клеток и воспаления и интерферон-индуцируемого белка 10 сохраняются, и степень их повышения коррелирует с неполным восстановлением иммунитета и повышенным риском заболеваний, не связанных со СПИДом [161, с.54], молекулярные и клеточные механизмы, способствующие этому воспалительному процессу во время ранней инфекции и инфекции, получающей антиретровирусное лечение, остаются плохо изученными.

Бактерии, обитающие в кишечнике, могут модулировать иммунную систему слизистой таким образом, что это совпадает с характерными чертами патогенеза ВИЧ. Тем самым, отсутствие комменсальной бактерии класса Clostridia, сегментированных нитчатых бактерий в кишечнике мышей приводит к уменьшению субпопуляций CD4 [34, с.67], в то время как другие кластридии. Было обнаружено, что кластридии индуцируют экспрессию IDO1 в слизистой оболочке и представители семейства Enterobacteriaceae, Клебсиеллы, цитробактеры и сальмонеллы [65, с.4] индуцируют воспалительную среду в желудочно-кишечном тракте, которая поддерживает их пролиферацию и персистенцию. Кроме того, нарушения в системе врожденного иммунитета слизистой оболочки могут привести к развитию «дисбиотического» провоспалительного сообщества, которого может быть достаточно для поддержания патологического, хронического воспаления в слизистой оболочке и на периферии [91, с.43]. Эти результаты свидетельствуют не только о том, что виды кишечных бактерий могут модулировать иммунитет слизистой оболочки у людей, но также и о том, что воспалительный дисбаланс может способствовать росту патобионтов, которые еще больше усугубляют нарушение иммунного равновесия слизистой оболочки. Исходя из того, что

ВИЧ-инфекция характеризуется существенными изменениями в иммунной системе слизистых оболочек и длительными воспалительными процессами, наша цель заключалась в выяснении, происходят ли изменения в составе кишечной микробиоты при ВИЧ-инфекции и в выявлении связи между этими изменениями и характерными иммунологическими состояниями, которые характеризуют прогрессирование ВИЧ-инфекции. [163, с.65].

Считается, что микробиом кишечника играет центральную роль в иммунопатогенезе ВИЧ-1, а также в хронических осложнениях, связанных с ВИЧ. Инфекция ВИЧ-1 повреждает барьер слизистой оболочки кишечника и связанные с кишечником лимфоидные ткани [155, с.12] обеспечивая перемещение бактериальных продуктов в регионарные лимфатические узлы и системный кровоток. Инфекция также вызывает воспаление мезентериального жира и способствует обширному нарушению регуляции местных иммунных реакций. В целом это способствует хроническому воспалению и активации иммунной системы, которые лишь частично восстанавливаются с помощью АРТ. Иммунная активация препятствует восстановлению иммунитета, снижает эффективность стратегий профилактики и лечения ВИЧ способствует иммунному старению, а на уровне слизистых оболочек является основным фактором риска передачи ВИЧ [158, с.43].

В последние годы было высказано предположение, что бактерии, обогащенные кишечной микробиотой ВИЧ, устойчивы к кислороду, тогда как истощенные бактерии были строго анаэробы. Действительно, было обнаружено увеличение числа представителей энтеробактерий и энтерококков с несколькими видами, для которых корреляция с маркерами иммунной активации или транслокации была положительной. С другой стороны, уменьшилось количество видов, принадлежащих к руминококкам, включая клостридий и они отрицательно коррелировали с этими маркерами [119, с.22-28].

§ 1.3. Роль *Clostridium difficile* в патогенезе дисбиотических нарушений кишечника у детей.

Распространение инфекции, связанной с *Clostridium difficile* (Cld-АИ), продолжает демонстрировать устойчивую тенденцию к увеличению. Биологические характеристики *Clostridium difficile* (*C. difficile*) и его способность вызывать разнообразные формы инфекционного процесса подчеркивают значимость интенсивного исследования различных аспектов этих заболеваний у как детей, так и взрослых. [78, с.91-96; 71, с.200-232; 196, с.695-703; 156, с.761 -765; 108, с.646 p; 2014, с.604-609; 40, с.82-89.].

Анаэробная бактерия *Clostridium difficile* является условно-патогенным микроорганизмом человека, ответственным за инфекции в толстой кишке желудочно-кишечного тракта человека [199, с.478.]. Различные исследования показали, что от 3% до 15% здоровых взрослых бессимптомно колонизируются *C. difficile* [147, с.390-397; 95, с.405-410; 179, с.167-172; 185, с.51-58; 123, с.516.].

Виды-комменсалы в здоровом кишечнике обычно обеспечивают устойчивость к патогенной колонизации *C. difficile*. Инфекция *C. difficile* (CDI) наиболее распространена у пациентов, ранее получавших антибиотики широкого спектра действия, которые разрушают здоровую кишечную микробиоту и снижают конкуренцию за доступные питательные вещества [106, с.435-438.], что приводит к дисбиозу, способствующему размножению *C. difficile* [181, с.337–357; 203, с.445–461.]. Симптомы CDI могут варьироваться от легкой диареи до тяжелого и опасного для жизни колита [199, с.478.]. Вирулентность *C. difficile* обусловлена секрецией высокомолекулярных токсинов А и В, которые способствуют повреждению эпителиальных тканей и быстрой потере жидкости. У некоторых штаммов *C. difficile* развилась устойчивость к обычным антибиотикам, в то же время проявляя более серьезную патогенность [136, с.5164-5185.]. CDI стала особенно распространенной в условиях стационаров из-за способности *C. difficile* образует споры, которые прилипают к

поверхностям и сопротивляются общепринятым протоколам дезинфекции. По оценкам исследований, в США ежегодно происходит почти 500 000 случаев CDI [150, с.825-834.], что приводит к 29 000 смертям и более чем 4,8 миллиардам долларов связанных с этим расходов только в учреждениях неотложной помощи [115, с.88-92.].

До недавнего времени считалось, что развитие диареи и колита вызывается двумя основными токсинами: токсином А (TcdA) с молекулярным весом 308 кД и токсином В (TcdB) с молекулярным весом 269 кД. Оба этих токсина производятся бактерией одновременно, совместно воздействуют и кодируются в локусе патогенности PaLoc размером 19,6 кВ. Этот локус содержит гены, регулирующие как положительные, так и отрицательные аспекты выражения токсинов, а также ген холина, способствующий их высвобождению. По своему патогенному действию TcdA относится к энтеротоксинам, а TcdB — к цитотоксинам. TcdB не обладает энтеротоксической активностью, однако его патогенное воздействие сильнее в 10 раз [ссылка 108, с.646]. Одними из самых значительных результатов исследований последних двух десятилетий являются данные о патогенетической и эпидемиологической значимости нового штамма возбудителя — гипервирулентного фторхино-лонрезистентного штамма *S. difficile* PCR ribotype 027 North American pulsed-field type 1 (NAPI) (REA type B1, toxinotype III). [108, с.646].

Согласно данным L.R. Mody и коллег (80), у 75,5% ВИЧ-инфицированных пациентов, страдающих от *S. difficile*-ассоциированной диареи, наблюдается летальный исход. Однако высокая частота и тяжесть заболеваний, связанных с *S. difficile*, у ВИЧ-инфицированных обусловлены не таким повышенным уровнем восприимчивости этой категории пациентов к возбудителю, сколько интенсивной антимикробной терапией, проводимой из-за резкого снижения иммунитета и, следовательно, ухудшения противоинфекционной защиты организма. Наиболее распространенной

причиной диареи у этих пациентов является использование цефалоспоринов третьего поколения. [170, с.42-5.].

Диагностика CDI основана на сочетании истории болезни и лабораторного выявления токсина *C. difficile* в кале или культивируемых изолятах [103, с.604-630; 96, с.1405-1423]. Коммерческие наборы на основе ПЦР, которые обладают высокой чувствительностью и специфичностью [177, с.889-893; 149, с.2714-2716], широко используются для диагностики CDI в развитых странах, но их стоимость превышает доступность многих лабораторий в развивающихся странах.

Специфические лабораторные методы играют важную роль в установлении и подтверждении диагноза инфекции *C.difficile* путем обнаружения возбудителя и его токсинов. Оценка эффективности каждого из разработанных методов показывает, что на данный момент ни один из лабораторных тестов не может быть применен как самостоятельный метод диагностики *C. Difficile*-ассоциированных заболеваний.

На протяжении последних 2х десятилетий иммуноферментный анализ (ИФА) для выявления сначала токсина А *C. difficile*, а затем токсинов А и В был наиболее широко используемым диагностическим тестом для диагностики инфекций *C. difficile*. Недавно этот диагностический подход был поставлен под сомнение из-за признания того, что скрининговый тест, который обнаруживает глутаматдегидрогеназу, антиген клеточной стенки *C. difficile*, был значительно более чувствительным, чем EIAS токсинов А и В, что делает его эффективным скрининговым тестом на инфекцию *C. difficile*. [191, с.270-3].

Глутаматдегидрогеназа (GDH) является конститутивным ферментом, продуцируемым в больших количествах всеми штаммами *C., difficile* независимо от токсигенности. GDH легко обнаруживается в кале, что делает его хорошим маркером для скрининга *C. difficile*. Чтобы улучшить лабораторные диагностические возможности для исследования CDI, предыдущие исследования рекомендовали использовать GDH *C. difficile* в

качестве предварительного скринингового теста с последующими подтверждающими тестами на выработку токсина и наличие генов токсина [204, с.1145-1149; 109, с.1053-1066; 110, с.3073-3076; 199, с.478-498; 183, с.1057-1064; 127, с.770-778.]

Несколько исследований продемонстрировали, что GDH является хорошим скрининговым тестом на *C. difficile* в образцах кала [118, с.3211-3217; 141, с.235-239]. По данным Cheng J-W. С группой авторов было установлено, что исследования показателей GDH продемонстрировал высокую чувствительность (100%) и благоприятный NPV (100%) по сравнению с культуральным методом. Тестирование на GDH позволяет эффективно выявлять образцы, отрицательные на CDI, с минимальными затратами времени и средств [107].

Таким образом, точная и своевременная диагностика CDI необходима для надлежащего клинического ведения пациентов и мероприятий по инфекционному контролю, особенно среди детей с ВИЧ. Однако CDI не получил широкого признания в Азии, включая Узбекистан.

§ 1.4. Способы коррекции дисбиотических изменений.

Дисбаланс кишечной микробиоты влияет на здоровье кишечника человека. Следовательно, восстановление баланса кишечной среды может быть потенциальной терапевтической целью. Международная научная ассоциация пробиотиков и пребиотиков переопределила пробиотики как «живые микроорганизмы, которые при введении в адекватных количествах приносят пользу здоровью хозяина», оказывая широкий спектр эффектов. Пробиотики могут использоваться как для предупреждения возникновения дисбиоза при наличии у пациента предрасполагающих состояний (длительная антибиотикотерапия, интенсивные физические или умственные нагрузки, хронические изнурительные заболевания и т.д.), так и в качестве терапевтических средств для балансировки текущего состояния дисбиоза. Пробиотические штаммы должны соответствовать следующим критериям:

быть членами видов, которые нормально присутствуют в микробиоте нашего кишечника; входить в группу микроорганизмов, известных как GRAS (обычно считаемых безопасными), даже для пациентов с ослабленной иммунной системой; продемонстрировать сохранение активности и жизнеспособности в течение разумного времени в кишечной среде, а также сохранять стойкость при воздействии желудочной среды, такой как желчные кислоты и секреты поджелудочной железы. Местные человеческие штаммы, безусловно, обладают адаптивными чертами, которые позволяют им стабильно колонизироваться и более эффективно и длительно оказывать благотворное воздействие. Благоприятные эффекты пробиотических штаммов можно разделить на иммунологические и неиммунологические. Иммунологические преимущества включают активацию местных макрофагов, увеличение продукции иммуноглобулина, модуляцию профилей цитокинов и индукцию гипореакции на пищевые антигены. Неиммунологические преимущества включают процесс пищеварения, конкуренцию с потенциальными патогенами за питательные вещества и участки кишечной адгезии, изменения pH и выработку бактериоцинов. [112, с.82]. Противораковые свойства также были связаны с пробиотиками, которые действуют как антимутагены и оказывают действие на разных стадиях канцерогенеза. Используемые в настоящее время пробиотики включают молочнокислые бактерии, бифидобактерии, энтерококки, дрожжи *Saccharomyces boulardii*, молочные пропионибактерии, виды *Bacillus* и грамотрицательный штамм *E.coli*.

Известно, что лактобациллы являются модуляторами воспаления кишечника и иммунных реакций. Их назначение рекомендуется при желудочно-кишечных заболеваниях, характеризующихся высоким уровнем воспаления, для профилактики диареи, при лечении инфекций, вызванных кишечными патогенами, а также у детей для профилактики/лечения детских коликов. Несколько исследований показывают, что отношения *Lactobacillus*/человек-хозяин должны быть пересмотрены [87, с.12-18]. Примечательно, что лишь

небольшая часть известных видов *Lactobacillus* обитает в желудочно-кишечном тракте человека, и подавляющее большинство из них являются аллохтонными представителями, происходящими из ферментированных пищевых продуктов. Бифидобактерии составляют 8–10% микробиоты кишечника и способны продуцировать витамины, ферменты, уксусную и молочную кислоты; они также снижают рН толстой кишки, ингибируют патогены и обладают свойствами активации иммунной системы. Пероральное введение бифидумбактерина, по-видимому, подавляет выработку специфического иммуноглобулина Е и стимулирует реакцию IgА, что полезно для профилактического лечения аллергических реакций IgЕ, в микробиоте детей, находящихся на грудном вскармливании, преобладают бифидобактерии, а их наличие положительно коррелирует с состоянием здоровья. Напротив, кишечная микробиота младенцев, находящихся на искусственном или смешанном вскармливании, характеризуется значительно сниженной распространенностью бифидобактерий и увеличением видов *Bacteroides* и кишечной палочки, такие различия коррелируют с повышенной частотой колик и других нарушений кишечного происхождения. *Bacillus subtilis* способна секретировать многие внеклеточные ферменты (α -амилазу, арабиназу, целлюлазу, β -глюканазу и ДНКазу) и является одним из наиболее эффективных средств против диареи, кишечная палочка повышает гомеостаз кишечника и улучшает кишечный барьер, уменьшая инвазию эпителиальных клеток кишечника несколькими патогенами [65, с.54]. Штаммы бактерий, принадлежащие к семейству стрептококков, особенно два рода стрептококкус и лактококкус, а также штамм *Enterococcus faecium* (бывший *Streptococcus*, в настоящее время выделенный из рода *Enterococcus*), также использовались в качестве пробиотиков в продуктах питания и кормах, лактококк лактис обладает высокой устойчивостью к искусственной желудочной кислоте и желчным сокам [32, с.98]. Имеющиеся данные показывают, что он способствует эубиозу, способствуя выработке молочной кислоты и витаминов

группы В и предотвращая размножение вредных дрожжей. Недавнее исследование показало, что введение *Saccharomyces boulardii* в течение четырех недель привело к значительному снижению суточного количества опорожнений и диареи у пациентов с СРК [127, с.21]. В последние годы, благодаря их безопасности и эффективности, пробиотики стали включать не только в молочные продукты, но и в немолочные продукты, такие как фруктовые соки и злаки [129, с.23-26]. Несколько недавних исследований были сосредоточены на использовании пробиотиков для предотвращения диареи, связанной с антибиотиками, для ограничения использования антибиотиков и, следовательно, для уменьшения распространения устойчивых к антибиотикам штаммов [131, с.67]. Основные выводы этих исследований подтверждение того, что введение пробиотиков помогает свести к минимуму распространенность и тяжесть инфекционных заболеваний (как следствие реализации антимикробного иммунного ответа и общего состояния здоровья человека); их специфическая способность восстанавливать баланс кишечной микробиоты позволяет использовать их в качестве единственного лечения во многих случаях кишечных расстройств, что значительно снижает назначение антибиотиков; даже когда необходимы антибиотики, одновременное назначение пробиотиков сокращает продолжительность лечения; сокращение назначений антибиотиков, безусловно, потенциально связано с уменьшением распространения устойчивости к антибиотикам, хотя это нелегко продемонстрировать. Было показано, что комбинация 17 штаммов *Clostridium* человеческого происхождения снижает тяжесть индуцированного аллергического колита у грызунов; эти эффекты были опосредованы активацией Тreg-клеток; однако идентичность бактериальных продуктов, вовлеченных в эту активацию, остается неясной [98, с.5]. Смесь VSL#3 (состоящая из четырех штаммов лактобацилл: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus bulgaricus* и *Lactobacillus acidophilus*; трех из бифидобактерий: *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve* и

Bifidobacterium infantis и *S.thermophilus*) продемонстрировал положительный эффект при лечении ЯК [87, с.21], в то время как показания для пробиотической эффективности при БК невелики. Этот консорциум, по-видимому, усиливает барьерную функцию кишечника, оказывает благотворное влияние на постиммунологический спровоцированный стресс, а также ингибирует и стимулирует уровни Th2 и IL-10 соответственно, что дает полезные эффекты у пациентов с пищевой непереносимостью [43, с.67]. Кроме того, многовидовые пробиотики облегчали симптомы СРК и модулировали состав микробиоты. Доза, необходимая для обеспечения клинической эффективности пробиотиков, варьируется; как правило, продукты, содержащие пробиотики, должны иметь минимальное количество жизнеспособных клеток от 10^6 до 10^8 колониеобразующих единиц на грамм (КОЕ/г) конечного продукта или $10^8 - 10^{10}$ КОЕ/день (с учетом 100 г или 100 г). мл принятой пищи). Хотя длительное использование пробиотиков, а также данные исследований *in vitro* и *in vivo* подтверждают мнение о том, что пробиотики безопасны, в некоторых отчетах о случаях отмечаются доказательства нескольких рисков, включая системные инфекции, измененные метаболические пути, усиленную иммунную стимуляцию, перенос генов, желудочно-кишечные расстройства. Необходимы дополнительные исследования, чтобы точно определить возникновение и тяжесть неблагоприятных событий, связанных с пробиотиками [77, с.22].

Концепция, лежащая в основе использования пребиотиков, была впервые представлена в 1995 г. [56, с.43]. В соответствии с Глобальными рекомендациями Всемирной гастроэнтерологической организации пребиотики представляют собой неперевариваемые вещества, принимаемые человеком-хозяином, которые при приеме в адекватных количествах оказывают благотворное физиологическое воздействие на хозяина, избирательно стимулируя рост и метаболическую активность организма. ограниченное количество полезных местных бактерий (бифидобактерий и молочнокислых

бактерий) [102, с.45]. Пребиотики считаются особым топливом, которое местные пробиотические бактерии могут использовать для роста. Пребиотики — это, прежде всего, диетические компоненты пищевых продуктов (в основном некрахмальные полисахариды и олигосахариды), используемые в качестве ингредиентов для обогащения. Наиболее известные и охарактеризованные пребиотики включают фруктоолигосахаридные добавки (ФОС), галактоолигосахариды, инулин (также способный увеличивать абсорбцию кальция), лактулозу (синтетический дисахарид, используемый в качестве лекарственного средства для лечения запоров и печеночной энцефалопатии) и молочные железы. молочные олигосахариды [74, с.65]. Пребиотики представляются перспективными терапевтическими средствами при желудочно-кишечных заболеваниях; тем не менее, необходимы дальнейшие исследования с более крупными исследуемыми популяциями, чтобы установить их эффективность, модальности и продолжительность лечения. Крупномасштабные исследования, особенно хорошо спланированные рандомизированные контролируемые испытания, необходимы для демонстрации безопасности и эффективности этих добавок. Кроме того, было проведено несколько исследований желудочно-кишечного дискомфорта после лечения пробиотиками, пребиотиками и синбиотиками, таких как высокое осмотическое давление, метеоризм и вздутие живота [129, с.87].

Диетический подход к модуляции кишечной микробиоты.

Диетический подход к модулированию микробиоты должен учитывать влияние долгосрочных диет [135, с.46]. Недавние исследования выявили важные различия в способности модулировать состав микробиоты при долгосрочном и краткосрочном рационе. В краткосрочных диетах изменения значительны и быстры, но масштабы изменений скромны и недостаточны для перемещения людей из одного энтеротипа в другой [137, с.11-19]. Напротив, долгосрочные диеты адекватны для перемещения энтеротипов [67, с.89]. Если показано, что энтеротип является причиной/связан с заболеванием, долгосрочные

диетические вмешательства могут представлять собой хорошую стратегию, чтобы помочь [39, с.45]. Среди диетических вмешательств было показано, что режим питания с низким содержанием ферментируемых олигосахаридов, дисахаридов, моносахаридов и полиолов (FODMAP) уменьшает желудочно-кишечные симптомы у пациентов с СРК менее чем за 48 часов [78, с.12].

Диета является легко модифицируемым фактором и, следовательно, является очень привлекательным терапевтическим подходом к модуляции кишечной микробиоты. В настоящее время предлагается несколько функциональных пищевых продуктов, но диета, подходящая для всех субъектов, невозможна; вместо этого требуются персонализированные функциональные продукты. Технологии метаболического профилирования обеспечивают достоверную поддержку для улучшения функциональных пищевых продуктов. Существование высокой межиндивидуальной изменчивости указывает на то, что более персонализированный подход, сопровождаемый персонализированным функциональным питанием, — это путь вперед.

Структура кишечной микробиоты претерпевает значительные колебания в течение жизни; эти модификации часто связаны или сопровождаются нежелательными эффектами на здоровье человека. На колебания влияют несколько факторов, таких как образ жизни, стресс, факторы питания и антибиотики. Было показано, что стратегии уравнивания этих вредных колебаний эффективны для уменьшения симптомов, а иногда и для лечения некоторых из этих патологий.

Выводы по главе: Дети, у которых есть ВИЧ-инфекция и нарушения микробного баланса в кишечнике, имеют повышенный риск заболеваний кишечного тракта. Одной из ключевых функций нормальной микрофлоры является ее способность предотвращать колонизацию и избыточное размножение патогенных и условно-патогенных микроорганизмов на слизистых оболочках. Поддержание устойчивого микробиологического баланса особенно важно для детей с ВИЧ, поскольку вторичные бактериальные и

грибковые инфекции, вызванные условно-патогенной микрофлорой, часто становятся причиной смертельных исходов, наравне с туберкулезом и протозойными инфекциями.

Глава II. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

§ 2.1. Материал исследования

Для достижения итоговых целей и осуществления результативного исследования проспективного типа были осуществлены многокомпонентные клинико-лабораторные исследования 148 лиц детского возраста с наличием ВИЧ-инфекции, данная группа лиц проходила курсы терапии в специализированной инфекционной больнице Республиканского центра по борьбе с синдромом приобретенного иммунодефицита в временной период с 2017 по 2020 годы, на протяжении 2-4 лет с момента регистрации патологии.

В рамках ведущих приоритетов и целей данной научной работы была создана “карта формализованного описания диагностики стандартизированных клинических данных пациентов” для регистрации значений формализованного типа в базу, требуемые для дальнейших анализов статистического типа итоговых данных.

Перед начало проведения исследования было получено соглашение у родителей либо опекунов лиц участвующих в текущем исследовании. Все включенные участники проходили исследование в соответствии с Хельсинкской декларацией биомедицинской этики; устное согласие было получено после надлежащей ориентации участников в отношении целей исследования, конфиденциальности данных и влияния исследования. Исследователи подчеркнули, что принятие в исследование было по воле исследуемых и с тотальной конфиденциальностью.

Показателями участия в исследовании были следующие: лица детского возраста с наличием вируса иммунодефицита человека на 2-4 стадиях патологии, возрастающая группа от 2 до 18 лет, получение специфического противовирусного лечения.

Показателями исключения из исследования были следующие: отказ родителей либо опекунов от участи на каком-либо этапе исследования,

наличием кишечных патологий инфекционной природы за последние 3 месяцев, туберкулез, возраст до 1,5 лет (18 месяцев), несоблюдение приверженности к АРВ терапии, острые соматические заболевания и хронические соматические заболевания в стадии декомпенсации.

В ходе проведения обследования использовались базовые и специальные виды исследования классической диагностики и терапии лиц с наличием вируса иммунодефицита человека:

1. Общеклинические;
2. Клинико-лабораторные методы;
3. Бактериологическое исследование кала по методу Грачевой;
4. ИФА фекалий: определение глутамат дегидрогеназы;
5. Иммунологические методы исследования: показатели клеточного иммунитета CD4+, CD8+, ИРИ.

Были использованы иммунологические методы исследования, требуемые для полного обследования лиц с наличием вируса иммунодефицита человека, вычислялось число CD4+ и CD8+ лимфоцитов в составе крови посредством методик цитофлуометрии проточного типа на базе моноплатформенной технике на цитофлюомере проточного типа Navios (США): нагрузка вируса РКН ВИЧ-1 вычисляли посредством тестирования системой Kit HIV-1CAP/CT ROCH чувствительность которого равна $20-1.0E^8$ копий/мл крови. Помимо этого, осуществляли исследования биохимического типа, клиническое исследование крови и мочи.

В процессе госпитализации проводилось специальное обследование пациентов в динамике: первичный анализ в первые дни после поступления (I анализ) и последующий через 7-10 дней (II анализ). У пациентов брался биологический материал (цельная кровь, фекалии) для лабораторного исследования. Всем пациентам рекомендовалось придерживаться здорового питания, ограничивать стрессовые ситуации, увеличивать время отдыха, сна и пребывания на свежем воздухе.

Одна основная группа включала 60 пациентов, которые получали специализированную антиретровирусную терапию и препараты с *Saccharomyces Boulardii*. В этой группе проводилось сравнение состава микробного сообщества в кишечнике, стадии ВИЧ-инфекции и уровня клеточного иммунитета. Также детально изучалось влияние препаратов с *Saccharomyces Boulardii* на состав микробного сообщества в толстом кишечнике и иммунные клетки (CD4+, CD8+).

В качестве контрольной группы были 57 пациентов, получавших только специализированную антиретровирусную терапию. Участники основной и контрольной групп были сопоставимы по полу, возрасту, стадии ВИЧ-инфекции, путям передачи инфекции и социальному статусу.

Было проведено исследование 148 лиц детского возраста с наличием отклонений в биоценозе кишечника и с наличием вируса иммунодефицита человека, средние возрастные значения составили $9,2 \pm 1,6$ год. Классификация исследуемых по возрастному критерию изложена в рисунке 2.1.

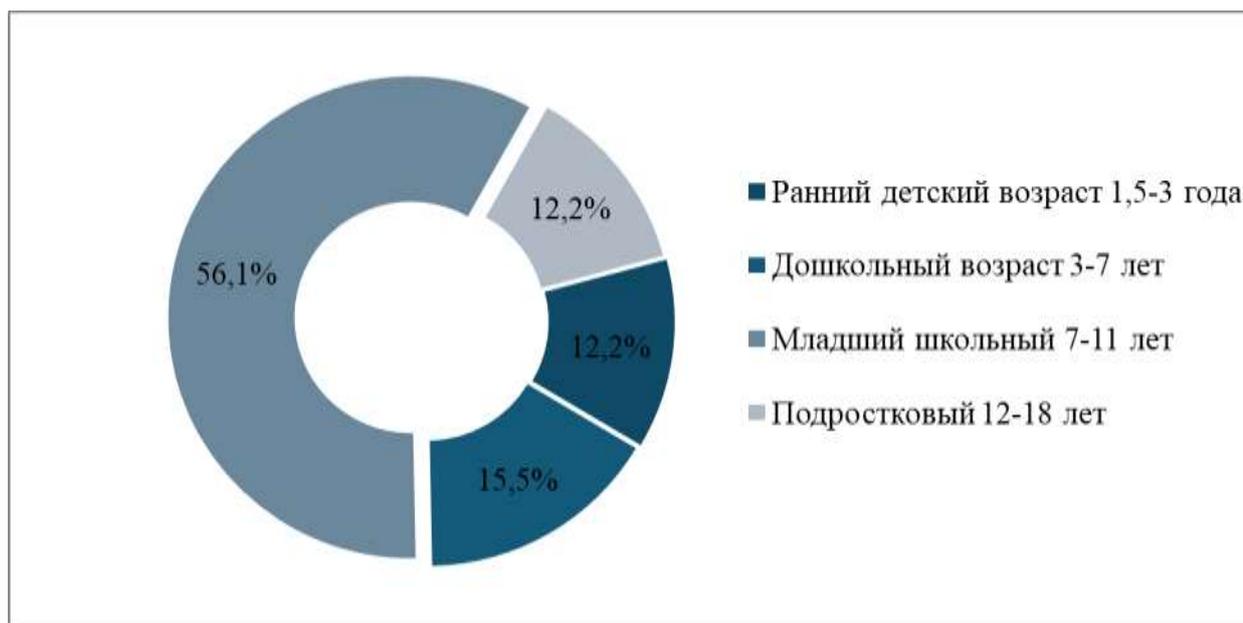


Рис.2.1 Распределение пациентов по возрасту.

При распределении по возрастному составу согласно градации детского возраста по ВОЗ 83 (56,1%) составили дети младшего школьного возраста, 24

(16,2%) подросткового возраста, 23 (15,5%) дошкольного возраста и 18 (12,2%) пациенты раннего детского возраста.

На рисунке 2.2 представлено разделение пациентов по гендерному признаку, из 148 пациентов – 113 (76,4%) мальчики и 35 (23,6%) девочки.

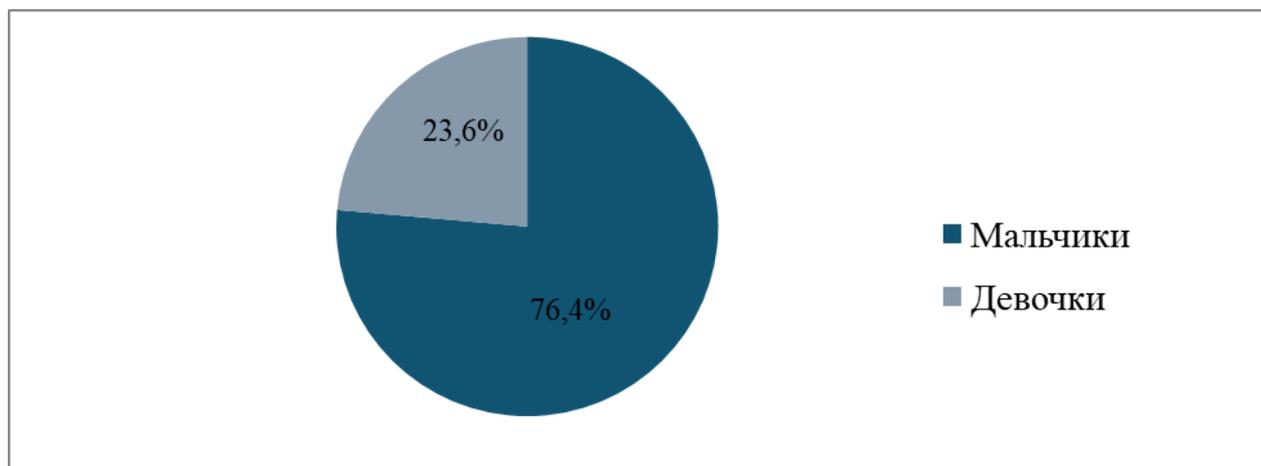


Рис.2.2 Разделение пациентов по гендерному признаку.

Данный дисбаланс по гендерному признаку наблюдался на момент исследования и не связан с течением основного заболевания.

Далее при опросе родителей и опекунов выяснялась организованность контингента пациентов, данные по организованности представлены в таблице 2.1.

Таблица 2.1

Организованность контингента пациентов

Организованность	n=148	
	абс.	%
Посещение детского дошкольного учреждения	11	7,4
Учащиеся общеобразовательной школы	99	66,9
Воспитание в условиях домов «Мехрибонлик»	23	15,5
Не организованы	15	10,1

При сборе эпид. анамнеза и опросе у родителей или опекунов пациентов было выявлено следующее, 104 (70,2%) указывают на парентеральный путь

передачи ВИЧ инфекции и связывают инфицирование с ранее перенесенными операциями, посещениями стоматолога и другими парентеральными вмешательствами, у 10 (6,8%) пациентов у матерей подтвержден ВИЧ положительный статус и считают, что инфицирование произошло во время родов, у 34 (23,0%) пути передачи ВИЧ инфекции неизвестны. Данные по путям передачи представлены на рисунке 2.3.

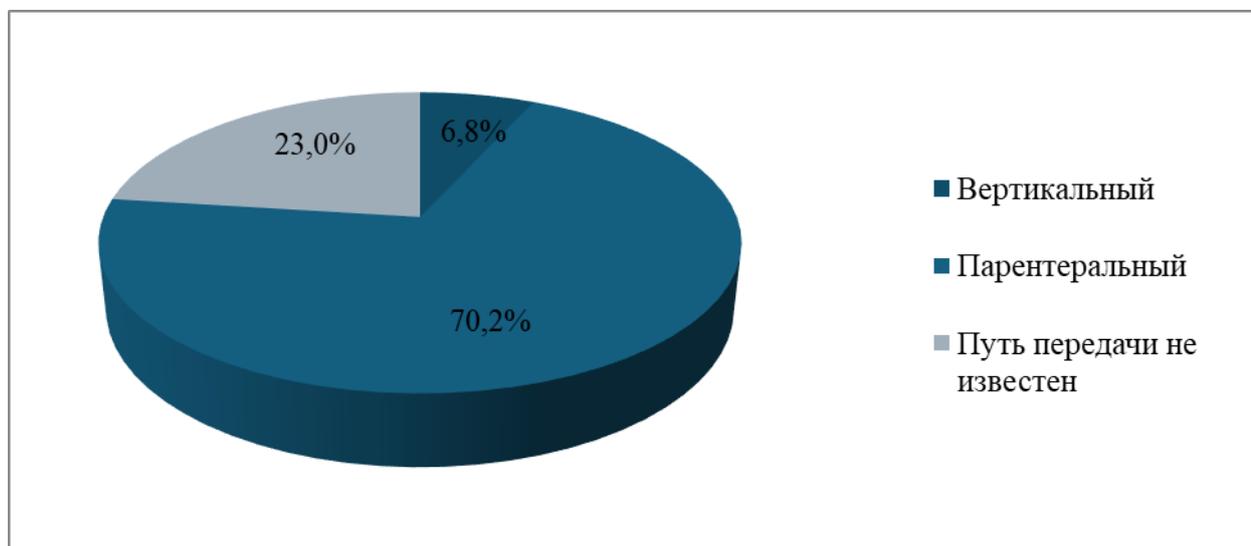


Рис.2.3 Распределение пациентов по путям передачи ВИЧ инфекции.

Стадии ВИЧ классифицировали согласно рекомендациям ВОЗ (<http://rushiv.ru/wp-content/uploads/2017/02/WHO-Paediatric-Protocol11-RU-2012-06-27.pdf>) (табл. 2.1.).

Таблица 2.2

Клиническая классификация ВОЗ ВИЧ-инфекции у детей

Клиническая стадия 1

- Бессимптомное течение
- Персистирующая генерализованная лимфаденопатия

Клиническая стадия 2

- Гепатоспленомегалия
- Зудящая папулезная сыпь
- Контагиозный моллюск с обширными высыпаниями

- Онихомикозы
- Рецидивирующие язвы во рту
- Линейная эритема десен
- Ангулярный хейлит
- Увеличение околоушных слюнных желез
- Опоясывающий лишай
- Бессимптомная лимфоидная интерстициальная пневмония
- Рецидивирующие или хронические инфекции дыхательных путей (средний отит, оторея, синусит)

Клиническая стадия 3

- Умеренные необъяснимые нарушения питания, плохо поддающиеся стандартному лечению
- Необъяснимая хроническая диарея (14 суток и более)
- Необъяснимая персистирующая лихорадка (перемежающаяся или постоянная, больше месяца)
- Кандидоз рта (у детей старше 2 месяцев)
- Волосатая лейкоплакия рта
- Острый некротизирующий язвенный гингивит или периодонтит
- Линейная гиперплазия десен
- Тяжелая рецидивирующая бактериальная пневмония
- Обширные сливные кондиломы
- Гигантский обезображивающий контагиозный моллюск
- Хронические поражения легких, обусловленные ВИЧ-инфекцией, включая бронхоэктазы
- Клинически выраженная лимфоидная интерстициальная пневмония
- Необъяснимая анемия (гемоглобин <8 г%) или нейтропения (<500/мкл)

- Необъяснимая тромбоцитопения (<50 000/мкл) длительностью >1 мес.

Клиническая стадия 4

- Необъяснимая тяжелая кахексия или выраженные нарушения питания, плохо поддающиеся стандартному лечению
- Рецидивирующие тяжелые бактериальные инфекции, кроме пневмонии (например, эмпиема плевры, пиомиозит, инфекции костей и суставов, менингит)
- Хроническая инфекция, вызванная вирусом простого герпеса (герпес губ и полости рта или кожи длительностью более месяца)
- Внелегочный туберкулез
- Саркома Капоши
- Кандидозный эзофагит
- Токсоплазменный энцефалит (кроме новорожденных)
- ВИЧ-энцефалопатия
- ЦМВ-инфекция (ретинит или инфекция внутренних органов, кроме печени, селезенки и лимфоузлов), развившаяся у ребенка старше 1 месяца
- Внелегочный криптококкоз, например менингит
- Любой диссеминированный эндемичный микоз (например, внелегочный гистоплазмоз, кокцидиоидоз, пенициллиоз)
- Криптоспоридиоз
- Изоспориаз
- Диссеминированная инфекция, вызванная атипичными микобактериями
- Кандидоз трахеи, бронхов или легких
- Висцеральный герпес
- Приобретенный прямокишечный свищ, обусловленный ВИЧ-инфекцией
- Лимфома ЦНС или В-клеточная лимфома
- Прогрессирующая мультифокальная лейкоэнцефалопатия

- ВИЧ-кардиомиопатия или ВИЧ-нефропатия
- Лейомиосаркома или другие ВИЧ-ассоциированные солидные опухоли

В ходе классификации исследуемым относительно степени прогресса вируса иммунодефицита человека было выявлено следующее у 121 (81,7%) пациентов был выставлен диагноз 3 клиническая стадия, у 17 (11,5%) 2 клиническая стадия и 10 (6,8%) 4 клиническая стадия. Распределение по стадиям ВИЧ инфекции представлено на рисунке 2.4.

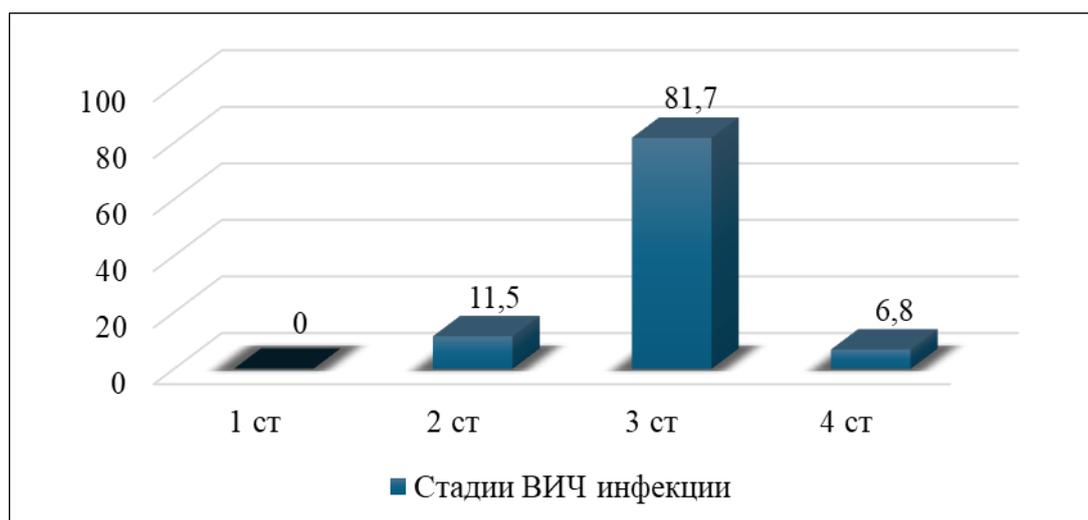


Рис.2.4 Распределение пациентов по стадиям ВИЧ инфекции

При изучении степеней нарушения микробного пейзажа кишечника контингент пациентов распределился следующим образом, микробный пейзаж кишечника был нарушен у 117 (79,1%) пациентов и это подтверждено лабораторно. В 20,9% случаях (31 ребенок) нарушения микробиоценоза кишечника не выявлено.

Дисбиоз первой степени был выявлен в 9,5% случаев, что составляет 14 человек, 2-я степень отмечалась в 50,7% случаев, что составляет 75 человек, в то время как третья степень была зарегистрирована в 18,9% случаев, что составляет 28 человек.

Уровень дисбиоза у лиц с наличием вируса иммунодефицита человека представлен на рисунке 2.5.

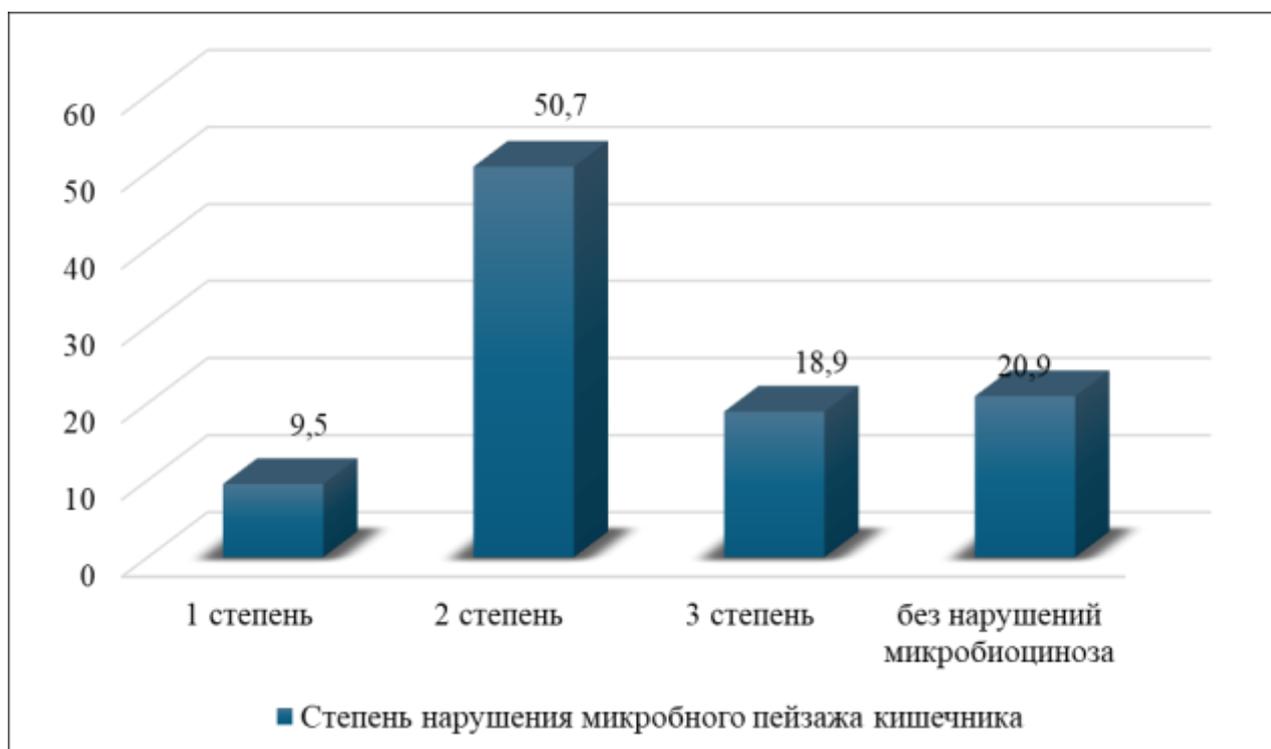


Рис. 2.5. Степени нарушения микробного пейзажа кишечника у детей с ВИЧ инфекцией (%)

Динамика наблюдения проводилась в течении 6 месяцев, после первичного осмотра.

§ 2.2. Методы исследования

В соответствии целям и задачам исследования основными методами исследования явились: клинико-лабораторный, бактериологический, иммунологический, изучение эпид.анамнеза и статистический.

Методы диагностики ВИЧ-инфекции

По установлению Министерства здравоохранения Республики Узбекистан, классическим методом лабораторной диагностики вируса иммунодефицита человека является 2хступенчатое тестирование.

Выявление специфических антител к вирусу иммунодефицита человека проводится в два этапа. На первом этапе осуществляется обнаружение общих антител, направленных против различных антигенов специфичных вирусу иммунодефицита человека. На второй стадии, с применением ИБ,

осуществляется более детальное анализирование антител, чтобы определить их специфичность к отдельным белкам вируса. Эти белки включают структурные белки оболочки ВИЧ (gp160, gp120, gp41), белки ядра (p17, p24, p55) и ферменты вируса (p31, p51, p66). Специфичное обнаружение антител к определенным белкам помогает подтвердить наличие инфекции ВИЧ. Этот метод считается надежным и широко применяется в целях диагностики вируса иммунодефицита человека.

Western-блот-тест, обычно применяемый для подтверждения ВИЧ, основан на обнаружении антител к ВИЧ в образце крови, а не самого вируса. Этот тест анализирует белки в крови и определяет определенные белки, известные как антитела к ВИЧ, что указывает на наличие инфекции ВИЧ. Вестерн-блоттинг используется для подтверждения положительного результата ИФА, а точность комбинированных тестов составляет 99,9%.

Определение CD4+, CD8+ и ИРИ. Подсчет клеток CD4 необходим для определения стадии и наблюдения за ВИЧ-инфицированными пациентами. У взрослых абсолютное число CD4+ Т-клеток на микролитр крови имеет важное прогностическое и терапевтическое значение и используется как для определения стадии ВИЧ, так и для принятия решения о лечении. Классическим методом выявления CD4+ Т-клеток является цитрометрия проточного типа.

В целях осуществления исследования защитного статуса исследуемых проводился забор крови из вены локтевого сгиба утром натощак. Полученная кровь помещалась в специальный герметичный контейнер с добавлением антикоагулянта. В данном случае в качестве антикоагулянта использовался КЗЕДТА (этилендиаминтетра-уксусная кислота) в концентрации 1,5 мг на 1 мл крови, с добавлением 0,15 мг на 1 мл крови (согласно методу, предложенному в исследовании Nicholas J.K. и др., 1993).

Соотношение CD4+/CD8+ представляет собой отношение Т-хелперов (с поверхностным маркером CD4) к цитотоксическим Т-клеткам (с

поверхностным маркером CD8) называемым иммунорегуляторным индексом. Соотношение CD4+/CD8+ в периферической крови здоровых взрослых людей и мышей составляет примерно 2:1, а измененное соотношение может свидетельствовать о заболеваниях, связанных с иммунодефицитом или аутоиммунитетом.

Степень подавления иммунной системы исследуемых классифицировался по критериям Всемирной организации здравоохранения к лицам детского возраста с наличием вируса иммунодефицита человека [174] (табл. 2.2.) и Национальному клиническому протоколу «Национального клинического отчета об организации и осуществлении медицинской помощи лицам с подтвержденным ВИЧ-статусом» № 206 от 19.08.2021 г. Министерства здравоохранения Республики Узбекистан.

Исследуемые лица детского возраста были классифицированы на две группы на основе репликации вируса, используя эмпирически определенное значение 100 000 копий/мл вирусной нагрузки (ВН). По этому критерию были выделены две группы: дети с $VH \leq 100\ 000$ копий/мл (с низкой репликацией вируса) и дети с $VH > 100\ 000$ копий/мл (с высокой репликацией ВИЧ).

Таблица 2.2

Классификация ВОЗ ВИЧ-ассоциированного иммунодефицита у детей

Классификация ВИЧ-ассоциированного иммунодефицита у детей	Уровни лимфоцитов CD4 у детей разного возраста			
	≤ 11 месяцев (%)	12—35 месяцев (%)	36—59 месяцев (%)	≥ 5 лет (в мкл)
Незначительный	>35	>30	>25	>500
Умеренный	30-35	25-30	20-25	350-499
Выраженный	25-29	20-24	15-19	200-349
Тяжелый	<25	<20	<15	<200 или <15%

Исследование фекалий. Анализ стула, представляет с собой ряд тестирования осуществляющихся на образце фекалий, для помощи выявления

ряда патологий, в число которых входят патологии ЖКТ. Данные отклонения могут развиваться с силу наличия инфицирования, неполного усвоения питательных веществ либо наличие онкологии. Для исследования образца фекалий его следует собрать в стерильный контейнер, а далее направить в лабораторию. Данный лабораторный анализ заключается в микроскопическом изучения, а также в осуществлении ряда химических и микробиологических тестирований. Также проводится исследование физических показателей таких как цвет, запах, консистенция, количество, а также наличие слизи. Данный анализ также проводится на определение скрытой крови, липидов, волокон мяса, желчи, белых кровяных телец, сахаров, а также на ряд веществ редуцированной формы. Следует также определить кислотно щелочную среду.

Для выявления патогенности микрофлоры осуществляется бактериологический посев. Забор каловых масс осуществляется в рамках рекомендаций Грачевой Н.М. и соавторов 1986.

Навеску 1 г. испражнений тщательно растирали в стерильной ступке с 9 см³ стерильного буферного раствора для лучшего сохранения анаэробных бактерий и возможности посева на отдельные сектора чашки с агаровой средой. Из этого основного разведения (1:10) для выявления патогенных энтеробактерий делали посев на обычно применяемые плотные среды (Плюскирева, Левина с синтомицином или другими антибиотиками, висмут - сульфит - агар). Для обогащения на жидкие среды (Мюллера, селенитовую, магниевую) одновременно делали массивный посев нативного материала с последующим высевам на плотные среды. Из основного разведения делали ряд последующих разведений в буферном растворе с 10 до 10⁻⁶, производили посев суспензии на соответствующие питательные среды. Все посева инкубировали в термостате при 37°C. Поскольку степень дисбиоза предопределяет необходимость и характер коррекции нарушений, мы сочли возможным предложить следующую классификацию дисбиоза.

Схема исследования испражнений. Для анализа, 1 г исходного необработанного кала (без добавления консерванта) взвешивается и гомогенизируется в 9 мл физиологического раствора, содержащего 0,85% хлорида натрия, или фосфатного буфера. Это дает исходное разведение материала (10⁻¹).

Содержимое сосуда тщательно перемешивается стеклянной палочкой и оставляется при комнатной температуре в течение 10-15 минут. Затем готовят последующие разведения материала в физиологическом растворе до концентраций 10⁻⁹ и 10⁻¹⁰. Каждое разведение кала подготавливается с использованием новой стерильной пипетки.

Далее, из полученных разведений делают дозированные посевы на специальные питательные среды, предназначенные для выращивания различных групп микроорганизмов. Чтобы подсчитать количество колоний, взяты из соответствующих разведений, наносят на твердые среды в чашках Петри 0,1 мл материала и тщательно втирают его в среду. Для жидких, полужидких и плотных сред, разлитых в пробирки, добавляют 1 мл материала в 9 мл среды. Предлагаемая схема посева (разведение до 10⁻¹⁰) на различные среды представлена в таблице 2.2.

Таблица 2.2

Схема посевов на различные среды

№	Микроорганизмы	Высеваемые разведения	Питательные среды	Количество чашек, пробирок
1	2	3	4	5
1.	Бифидобактерии	10 ⁻⁷ ; 10 ⁻⁸ ; 10 ⁻⁹ ; 10 ⁻¹⁰	Среда Блаурокк, бифидобульон инкубируют при 37 ⁰ С 24 часов	4 пробирки
2.	Эшерихии (в том	10 ⁻⁶	Эндо, Эндо с 2,5%	1 чашка

	числе и гемолитические)		кровью, желчно-кровяной агар инкубируют 18-24 часа при 37 ⁰ С	
3.	Лактобактерии	10 ⁻⁵ ;10 ⁻⁶	Молоко, МРС-4, лактобакагар, среда Рогоза инкубируют при 37 ⁰ С 24 часов	2 чашки
4.	Другие ассоциации энтеробактерий E.coli со сниженной активностью, неферментирующие бактерии (НФБ)	10 ⁻³ ;10 ⁻⁶ ;10 ⁻⁸	Эндо, Плоскирева, Левина, Конго-рот-агар, инкубируют при 37 ⁰ С 24 часа, агар Симмонса 37 ⁰ С до 72 часов	3 чашки
5.	Протей	10 ⁻¹	Скошенный агар по Шукевичу, амфолан-агар инкубируют при 37 ⁰ С 24 часов	1 пробирка
6.	Клостридии	10 ⁻²	Вильсона-Блера Ставят две пробы: гретую (при 70 ⁰ С в течение 15 мин) и негретую. В случае почернения среды с гретой пробой, ее подвергают дальнейшей идентификации. инкубируют при 37 ⁰ С	2 пробирки

			48 часов	
7.	Кампилабактерии	10^{-1}	Колумбия агар+антибиотики, кампилобактерагар инкубируют при 42 ⁰ С 24-48 часов (в микроаэрофильных условиях)	1 чашка
8.	Энтерококки	10^{-6}	Желчно-кровяной агар, Эндо кровяной, Конго рот агар, энтерококк агар инкубируют при 37 ⁰ С 24 часа	1 чашка
9.	Стафилококки РКП (+) и РКП (-)	$10^{-1};10^{-3}$	ЖСА, МЖСА, Байрд- Паркер агар, манитол- солевой агар инкубируют при 37 ⁰ С 48 часов	2 чашки
10.	Кандиды	$10^{-1};10^{-3}$	Сабуро, Никкерсона с антибиотиками инкубируют при 37 ⁰ С 48 часов затем оставляют еще 2-е суток при комнатной температуре.	2 чашки
11.	Сальмонеллы, шигеллы	10^{-1}	Плоскирева инкубируют при 37 ⁰ С 24 часа	1 чашка

Степень дисбиоза определяли по следующим критериям [61, с. 30 -31]:

I степень дисбиоза - преобладание анаэробной микрофлоры над аэробной на фоне нормативного содержания условно-патогенной флоры:

А) снижение бифидобактерий – 10^7 и лактобактерий – 10^5 ;

Б) перемена числа кишечной палочки по вектору роста либо уменьшения.

Уровень дисбиоза II степени характеризуется равным количеством аэробных и анаэробных бактерий, а также нормальным содержанием бифидо- и лактобактерий. Наблюдается незначительное снижение бифидобактерий до 10^7 и лактобактерий до 10^5 или уменьшение бифидобактерий до 10^7 при нормальных значениях лактобактерий.

А) качественные либо численные перемены кишечной палочки.

Б) увеличения числа УПФ

3 стпень нарушения биоценоза проявляется эдимиацией аэробов, бифидо- и лактобактерии в норме, снижение содержания бифидобактерий - 10^7 и ниже, лактобактерий – 10^5 и ниже

А) кишечная палочка характеризуется в 85-100% атипичными штаммами;

Б) резкое повышение количества условно-патогенной флоры.

IV степень дисбиоза – отсутствие бифидобактерий

А) отсутствие типичных форм или резкое снижение кишечной палочки;

Б) рост условно-патогенной флоры в ассоциациях или в некоторых случаях отмечается доминирование одно штамма.

Эта предложенная классификация учитывает реальные изменения как в количественном, так и в качественном составе микрофлоры, что обеспечивает основу для разумной коррекции обнаруженных аномалий.

ИФА фекалий. Для выявления наличия *C. difficile* в фекалиях традиционно используется метод определения фермента глутаматдегидрогеназы (ГДГ). ГДГ - это метаболический фермент, который присутствует во всех штаммах *Clostridium difficile*, независимо от их способности вырабатывать токсичные вещества. Помимо этого, данный фермент также присутствует у некоторых

прочих видов представителей рода *Clostridium*, таких как *C. sordelli*. Исследования разных групп показали, что обнаружение ГДГ в кале имеет высокую чувствительность и великую диагностическую ценность при диагностике *C. difficile*-ассоциированной диареи. Однако наличие ГДГ у других *Clostridium* делает этот метод менее специфичным и может вызвать ложноположительные результаты.

По итогу, выявление фермента ГДГ, как предполагают многие ученые, возможно применять на первой стадии диагностики *C. difficile*-основанной диареи исследование проводилось набором CoproELISA TM *C. difficile* GDH предназначен для определения глутаматдегидрогеназы (GDH) - антигена *Clostridium difficile* в образцах человеческого кала методом иммуноферментного анализа. Относительная чувствительность: 95.0%, Относительная специфичность: 100%.

Все штаммы *C. difficile* продуцируют высокие уровни глутаматдегидрогеназы. Поэтому фермент глутаматдегидрогеназу *C. difficile* считают очень хорошим антигенным маркером для обнаружения данного микроорганизма. Тест CoproELISATM *C. difficile* GDH является высоко специфичным и чувствительным диагностическим методом определения глутаматдегидрогеназы в образцах кала. Положительный результат подтверждает наличие *C. difficile*, а отрицательный результат указывает на его отсутствие.

Комплекс клинических и лабораторных методик исследования подобран с учетом целей и задач данного исследования.

§ 2.3. Статистические методы исследования

В ходе исследования, полученные данные, были внесены в сводные таблицы, используя табличный редактор Excel, и сгруппированы в соответствии с predetermined критериями, как описано в исследовательском протоколе. Для каждого из показателей в группах были вычислены средние значения (M) и их стандартное отклонение ($\pm m$).

Для оценки статистической значимости различий между группами был использован критерий Стьюдента. Статистическую значимость считали достоверной, если вероятность совпадения была 95% и более.

В случае, если проводились множественные сравнения, применялась поправка Бонферрони для коррекции. Для сравнения частоты встречаемости определенного признака использовался критерий хи-квадрат, и статистическая значимость определялась с учетом количества степеней свободы, используя соответствующие таблицы.

Для проведения корреляционного анализа использовался критерий Пирсона, и статистическая значимость корреляций оценивалась в зависимости от количества коррелирующих пар признаков и соответствующих таблиц (при количестве степеней свободы 200-300, для уровней значимости 95% - коэффициент корреляции $r > 0,138$, для 99% - $r > 0,181$).

Глава III. КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ С НАРУШЕНИЯМИ МИКРОБНОГО ПЕЙЗАЖА КИШЕЧНИКА И ВИЧ ИНФЕКЦИЕЙ

§ 3.1. Оценка микробного пейзажа кишечника у ВИЧ инфицированных детей

В данной подглаве дается оценка кишечного микробиоценоза у детей в зависимости от стадии ВИЧ.

В результате нами было установлено, что 2 стадия ВИЧ регистрировалась у 17 детей, 3 стадия – у 121 детей, 4 стадия – у 10 детей. Длительность течения ВИЧ в среднем составила $3,6 \pm 0,64$ лет. Все дети получали противовирусную терапию.

В дальнейшем осуществлялся бактериологический посев кала, сопоставляя с оптимальными критериями биоценоза кишечника с микрофлорой лиц с наличием вируса иммунодефицита человека, из итогов можно подвести итог, что в норме около половины всей флоры составляют актиномицеты, которые являются ступенью между бактериями и грибами. Около четверти всего биоценоза составляют кокки аэробного типа в число которых входят стафилококки, стрептококки, энтерококки, а также бактерии коринеформного типа. количество бифидо- и лактобацилл варьируется от 20 до 30%. Прочие бактерии аэробного ряда представлены пептострептококками, бактероидами, клостридиями, проппионобактериями, и занимают около 10% микрофлоры тонкого и пятую часть биоценоза толстого кишечника. Стоит отметить, что число энтеробактерий составило 1% от общего числа биоценоза слизистого слоя кишечника.

В толстой кишке уровень микрофлоры имеет значительное большее число. При этом аэробы такие как бифидо- и лактобактерии составляют от 90 до 95%, стоит отметить, что прочие микроорганизмы аэробного и факультативные микроорганизмы ряда составляют от 5 до 10%.

У лиц, которые находились на диспансерном учете в РЦПБС, были осуществлены как качественные, так и численные исследования пристеночного биоценоза в различных участках кишечника и кала, данная информация была изложена в таблице 3.1

В 95% случаев, что составляет 57 человек отмечалось выраженное снижение бифидобактерий (10^{-10} КОЕ/г), при этом в 91.7% случаев, что составляет 55 человек наличие дисбактериоза кишечника характеризовалось уменьшением числа лактобактерий (10^2 - 10^6 КОЕ/г).

Нехватка микрофлоры облигатного типа возмещалось повышением числа УПФ.

В 13.3% случаев, что составляет 8 человек отмечалось наличием стрептококков, стоит отметить, что в 3.3% случаев, что составляет 2 человека с концентрацией свыше $>10^7$ КОЕ/г. В 1.6% случаев, что равно 1 исследуемому отмечалось наличием золотистого стафилококка (10^{**} КОЕ/г). В 6.6% случаев, что составляет 4 случая отмечалось наличием патологического обсеменения клебсиеллами толстого кишечника (10^{-10} КОЕ/г). В 23.3% случаев, что составляет 14 человек отмечалось наличием Candida (10^2 - 10^4 КОЕ/г). Численная недостаточность базовой флоры оптимальной микрофлоры кишечника становилось причиной повышения числа УПФ. В 16.6% случаев, что составляет 10 человек, отмечалось повышение числа энтерококков, клебсиеллы и Candida.

Таблица 3.1

Состав микрофлоры в разных отделах кишечника и в фекалиях у детей с ВИЧ

(n=138)

Бактерии рода	Число лиц (%)									
	10 ¹⁰ -10 ²		10 ³ -10 ⁴		10 ⁵ -10 ⁶		10 ⁷		10 ⁷ <	
ЭПЭ	11	8,0	22	15,9	3	2,2	12	8,7	1	0,7
ЭТЭ	2	1,4	3	2,2	4	2,9	1	0,7	0	0,0
ЭГЭ	3	2,2	6	4,3	0	0,0	1	0,7	6	4,3
Лактобактерии	1	0,7	25	18,1	64	46,4	4	2,9	0	0,0
Бифидобактерии	9	6,5	18	13,0	26	18,8	34	24,6	1	0,7
Золотистый стафилококк	1	0,7	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Стрептококки	1	0,7	2	1,4	5	3,6	2	1,4	0	0,0
Клебсиеллы	21	15,2	11	8,0	2	1,4	0	0,0	0	0,0
Грибы рода Candida	7	5,1	10	7,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0

В силу наличия численного отклонения оптимального состава микрофлоры кишечника отмечалось наличие выраженных перемен в качественном компоненте биоценоза, которым проявлялся уменьшением ферментативной экспрессии кишечной палочки, переменами в культурального типа, повышение числа УПФ. В каждом пятом случае, что равняется 12 человек отмечалось наличием эшерихии с гемолитической экспрессией, в 50% случаев данный бактерии имели высокие удельное значения и равнялись 10⁷ и >10⁷ КОЕ/г. В 5 % случаев, что составляет 3 человека отмечалось наличием лактозно отрицательных эшерехии в числе 10⁵ КОЕ/г со слабо проявляющимся ферментативным эффектом.

По итог, у лиц с наличием вируса иммунодефицита человека отмечалось наличием дисбаланса микрофлоры кишечника с уменьшение микрофлоры облигатного типа, отмечалась также перемена ее качественного состава и усиленным повышением числа УПФ.

Дальнейший анализ состава микрофлоры кишечника в зависимости от стадии ВИЧ у детей показал, что у лиц детского возраста с наличием вируса иммунодефицита человека 2й стадии отмечалась повышенная встречаемость и численные значения бифидобактерий которая составляла 98% и 9(8; 10) lg

КОЕ/г соответственно. Определялись малые значения колонизации слизистого слоя лактобактериями и классическими кишечными палочками встречаемость которых составила 74.5 и 76.5% соответственно.

При условии, что средние показатели титров лактобактерий был в рамках оптимальных значений и составил 7 (6; 8) lg КОЕ/г, то эшерихии лактозоположительного типа имела высокий уровень и был равен 9 (8; 11) lg КОЕ/г.

У 37.3% лиц детского возраста с наличием вируса иммунодефицита человека 2й стадии в кишечнике отмечалось повышение числа Клебсиеллы среднее значений концентрации которой составило 8 (6; 9) lg КОЕ/г, у 35.3% *Escherichia coli* hly+ титры которой составили 7 (5; 8) lg КОЕ/г. Кишечные палочки лактозоотрицательного типа отмечались в 13.7% случаев, при этом их численное значение составило 9 (6; 10) lg КОЕ/г.

Биоценоз представителей кокков имел в своем составе *Enterococcus* и *Staphylococcus*. Стоит отметить, что в 90.2% исследуемых лиц детского возраста с наличием вируса иммунодефицита человека 2й стадии имела концентрацию, соответствующую возрастным рамкам и была равна 7 (6; 8) lg КОЕ/г.

В 45% случаев при наличии вируса иммунодефицита человека отмечалось наличием *E. faecium* в просвете кишечника уровень которых составил 7 (5; 8) lg КОЕ/г.

Отмечалось наличием высокого разнообразия микрофлоры рода *Staphylococcus*. Стоит отметить, что встречаемость золотистого стафилококка составила 29.4%, в то время как встречаемость *S. Epidermidis* был равен 15.7%, титры данных стафилококков достигал 5 (3; 6) lg КОЕ/г.

Со схожей встречаемостью и концентрацией, как и у стафилококка эпидермального типа в кишечнике размножались *S. xylosus*. У 11.8% исследуемых лиц детского возраста с наличием вируса иммунодефицита человека 2й стадии отмечалось наличием *S. sinuans*, в 7.8% случаев

регистрировался *S. Intermedius*, в то время как *S. Lentus* отмечался в 3.9% случаев. Из численные показатели у всех кроме *S. Lentus* превышал оптимальные значения концентрации, которые равны 4 lg КОЕ/г.

В 58.9% случаев при 2й стадии инфицирования вирусом иммунодефицита человека в слизистом слое кишечника вегетировали представители грибковой флоры *Candida*. Отмечалось главенство *Candida albicans*, которая регистрировалась в 52.9% случаев у лиц детского возраста с концентрацией 5 (3; 6) lg КОЕ/г. Встречаемость вегетации non-*albicans* составила менее 6%.

На 3м этапе инфицирования вирусом иммунодефицита человека регистрировалась оптимизация численных показателей бифидобактерий. Данная флора высевалась во всех случаях, стоит отметить, что концентрация выросла до 9 (8; 10) lg КОЕ/г ($p=0,001$).

Встречаемость вегетации лактобактерий, классическими эшерихиями, энтерококками фекального типа на 3м этапе развития вируса иммунодефицита человека была в пределах 76.9-100% случаев. Численная концентрация данной флоры имела следующие значения: 7 (6; 8) lg, 8 (7; 9) lg и 7 (6; 8) lg соответственно. Стоит отметить, что даже при условии регистрации клебсиеллы и лактозаотрицательных эшерихи в 30.8% и 23.1% случаев соответственно, на данном этапе развития вируса иммунодефицита человека отмечалось выраженное уменьшение числа *E. coli hly+* в слизистом слое кишечника и была равна 15.4%. ($p=0,05$).

В сравнении со стадией роста, частота колонизации слизистой оболочки бактерии *E. faecium* выросла в 6 раз ($p=0,0001$), достигая уровня 6 (4; 7) lg КОЕ/г.

Что касается кокковой флоры, уровень и титры стафилококков снизились. *S. aureus* были обнаружены в кишечнике 38,5% детей с средним содержанием 3 (2; 4) lg КОЕ/г. Только у 30,8% детей обнаружены *S. xylosus* с титрами 4 (2; 5) lg КОЕ/г. Частота *S. lentus* и *S. epidermidis* была схожей и составила 23,1%. *S. intertnedius* были обнаружены у 15,4% детей, а *S. haemolyticus* у 7,7%.

Количественные уровни условно-патогенных стафилококков были в пределах 3-5 lg КОЕ/г.

В субклинической стадии ВИЧ-инфекции отмечено значительное снижение обнаружения грибов рода *Candida* до 30,8% ($p=0,001$). *C. albicans* колонизировали слизистую 23,1%, а не-альбиканские виды обнаружены у 7,7% детей с третьей стадией ВИЧ-инфекции. Их количественное содержание не превышало 3 (2; 4) lg КОЕ/г.

На четвертой стадии ВИЧ-инфекции отмечено снижение обнаружения представителей рода *Bifidobacterium* до 87,5%. Аналогичная частота обнаружения была и у лактобацилл. Уровень колонизации бифидобактериями оставался на уровне 9 (7; 10) lg КОЕ/г, в то время как у лактобацилл увеличился до 8 (7; 9) lg КОЕ/г. Все дети на этой стадии ВИЧ-инфекции имели в своем кишечном микробиоценозе *E. coli lac+* и *E. faecalis*. Количественный уровень типичных кишечных палочек составлял 9 (8; 11) lg КОЕ/г.

Частота колонизации слизистой оболочки *E. coli hly+* увеличилась вдвое на четвертой стадии ВИЧ-инфекции ($p<0,05$), с титрами в среднем 8 (6; 9) lg КОЕ/г. Такая же частота была у *E. coli lac-*, в то время как клебсиеллы в составе кишечного микробиоценоза не были обнаружены.

Лишь у 12,5% лиц детского возраста на четвертой стадии ВИЧ-инфекции из кишечника были выделены *S. aureus*, с низкими количественными уровнями 2 (1; 3) lg КОЕ/г. Такая же частота обнаружена у *S. intermedius*, в то время как *S. xylosus* и *S. epidermidis* были выделены из кишечника у 25% детей с титрами 5 (3; 6) lg КОЕ/г.

На четвертой стадии ВИЧ-инфекции наблюдался четырехкратный рост частоты колонизации грибами рода *Candida* ($p<0,001$). *C. albicans* были обнаружены в кишечнике в 50% случаев, а *C. dubliniensis* - в 25% случаев. Всего 12,5% случаев пришлось на *C. crusei* и *C. zylanooides*. Уровень *C. albicans* составил 5 (4; 6) lg КОЕ/г, а остальных микромицетов - 4 (2; 5) lg КОЕ/г. На этой же стадии ВИЧ-инфекции у 25% детей из кишечного микробиоценоза

были обнаружены представители рода *Actinomyces* со средней геометрической концентрацией $7 (4; 9) \lg \text{КОЕ/г}$.

На основании полученных результатов микробиологического исследования нами была установлена степень тяжести дисбиоза в зависимости от уровня прогресса вируса иммунодефицита человека, итоговая информация была изложена в таблице 3.2.

Таблица 3.2

Распределение детей с ВИЧ в зависимости от степени тяжести дисбиоза

Степень дисбиоза	Стадии ВИЧ (n=148)					
	2 стадия (n=17)		3 стадия (n=121)		4 стадия (n=10)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
I (n=14)	2	11,8	11	9,1	1	10,0
II (n=75)	6	35,3	64	52,9	5	50,0
III (n=28)	5	29,4	20	16,5	3	30,0
норма (n=31)	4	23,5	26	21,5	1	10,0

Как видно из представленных данных у детей с ВИЧ инфекцией в большей половине случаев регистрируется II и III степень дисбиоза. Изменения кишечной микрофлоры в целом протекало с уменьшением количества бактерий индигенного типа и повышением уровня УПФ.

На второй стадии ВИЧ-инфекции у лиц детского возраста отмечалась малая встречаемость вегетации лактобациллами и типичными кишечными палочками в слизистой кишечника. Энтеробактерии, стафилококки и грибы рода *Candida* часто присутствовали в кишечнике. Оценка количественного содержания микросимбионтов не выявила дефицита постоянной микрофлоры, такой как бифидобактерии, лактобациллы, и энтерококки. Это может указывать на изменения в биологических свойствах доминирующей микрофлоры, которая уже не способна контролировать рост и размножение факультативных микросимбионтов. Это открывает новые перспективы для исследований.

Условно-патогенные микроорганизмы с широким видовым разнообразием колонизировали слизистую с высокими количественными уровнями. Количество *E. coli* также превышало нормативные значения для данного возраста, что свидетельствует о нарушениях микроэкологии.

На третьем этапе развития ВИЧ-инфекции отмечается медленное ухудшение иммунной системы, но иногда можно зафиксировать повышение уровня Т-лимфоцитов из-за их перераспределения. По нашим данным, состояние микрофлоры в кишечнике также улучшается: у детей, у которых были наблюдаемы нарушения в 2 степени, их доля снизилась с 52,9% до 16,5%. Мы увидели восстановление уровня бифидобактерий, снижение числа стафилококков и грибов *Candida* в слизистой оболочке кишечника. Однако высокая частота обнаружения условно-патогенных энтеробактерий в содержимом кишечника сохраняется, что, возможно, следует рассматривать как важный индикатор состояния микрофлоры при ВИЧ-инфекции. Липополисахариды грамотрицательных бактерий играют роль в прогрессировании ВИЧ-инфекции и развитии сердечно-сосудистых заболеваний у инфицированных пациентов. [180, с.81–84; 99, с.1-9].

На последней, четвертой стадии ВИЧ-инфекции, у детей наблюдался дефицит бифидобактерий, что сопровождалось увеличением частоты колонизации эшерихий, демонстрирующих измененные свойства. Уровень эшерихий в среднем составлял 8 (6; 9) lg КОЕ/г, превышая норму для возраста. Обнаружено также превышение уровня типичной кишечной палочки. Характеризовалось увеличение частоты колонизации грибами *Candida* в 4 раза. Это подчеркивает, что изменения в составе кишечной микрофлоры уникальны на каждом этапе ВИЧ-инфекции и требуют специализированного вмешательства. Главная задача заключается в восстановлении уровня эндогенной микрофлоры, особенно бифидобактерий, и снижении содержания условно-патогенных энтеробактерий и грибов *Candida*.

§ 3.2. Клинические особенности пациентов с ВИЧ инфекцией и нарушениями микробного пейзажа кишечника.

Для изучения клинических особенностей течения ВИЧ у детей в зависимости от стадии дисбиоза нами проведен анализ клинических и лабораторных данных. В связи с чем были созданы 4 группы детей в зависимости от стадии дисбиоза. В результате обследования детей с ВИЧ нами было установлено, что 1 стадия дисбиоза кишечника регистрировалась у 14 детей (1 группа), 2 стадия у 75 детей (2 группа), 3 стадия – у 28 (3 группа) и 4 группа – дети с ВИЧ без нарушения микробиоцинозного пейзажа толстого кишечника.

При наличии дисбиоза наиболее чаще отмечалась 3 стадия ВИУ у детей. Однако хочется отметить, что достоверно реже 2 стадия ВИЧ регистрировалась при 2 степени дисбиоза (табл. 3.1)

Таблица 3.1.

Распределение детей в зависимости от стадии ВИЧ и степени дисбиоза

Стадии ВИЧ	Степень дисбиоза (n=148)							
	I (n=14)		II (n=75)		III (n=28)		норма (n=31)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
2 стадия (n=17)	2	14,3	6	8,0*	5	17,9	4	12,9
3 стадия (n=121)	11	78,6	64	85,3	20	71,4	26	83,9
4 стадия (n=10)	1	7,1*	5	6,7*	3	10,7*	1	3,2

Примечание: * - достоверность данных к показателям группы детей с нормальной флорой микробиоциноза.

4 стадия ВИЧ достоверно чаще регистрировалась при 3 степени дисбиоза (10,7%), тогда как при нормативных показателях микробиоциноза толстого

кишечника данная стадия ВИЧ отмечалась почти в 3 раза реже и составила – 3,2% ($P < 0,05$).

Как видно из представленных данных утяжеление степени дисбиоза имеет тенденцию к зависимости от тяжести клинического течения ВИЧ у детей.

Одним из ключевых моментов оценки функционирования организма ребенка является физическое развитие. Наиболее достоверным показателем в гармоничном развитии детей является индекс массы тела (ИМТ).

Изучение физического развития детей в зависимости от степени дисбиоза и стадии ВИЧ показало, что прогрессирование ВИЧ способствует развитию грубых нарушений физического развития. Относительно показателей отклонений от стандартов ВОЗ нами установлено, что среди детей с ВИЧ в 44,2% случаев (61 из 138 детей) встречаются нормальные показатели ИМТ (табл. 3.3).

Таблица 3.3

Процент обследованных детей с ВИЧ по соответствию их ИМТ к возрасту по стандартным отклонениям ВОЗ (n=148)

	Стадии ВИЧ (n=148)					
	2 стадия (n=17)		3 стадия (n=121)		4 стадия (n=10)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
CO3-	1	5,9	18	14,9*	2	20**
CO2-	3	17,6	34	28,1	4	40*
CO1-	2	11,8	21	17,4	2	20
Мед	7	41,2	33	27,3	2	20

CO1+	4	23,5	15	12,4*	0	0
CO2+	0	0	0	0	0	0
CO3+	0	0	0	0	0	0

Примечание: * - достоверность данных к группе детей со 2 стадией ВИЧ (* - $P < 0,05$); ** - достоверность данных к группе детей с 3 стадией ВИЧ (** - $P < 0,05$).

Физическое развитие ребенка и прогрессирование ВИЧ-инфекции взаимно влияют друг на друга. ВИЧ-инфекция влияет на пищеварение, питательный статус и обмен веществ ребенка, вызывая нарушения всасывания, усиленную потребность в питательных веществах и проблемы с метаболизмом. Это проявляется особенно ярко в контексте осложнений, таких как оппортунистические инфекции. В свою очередь, недостаток питательных веществ может усугубить прогрессирование ВИЧ-инфекции.

При изучении влияния степени дисбиоза на физическое развитие детей с ВИЧ, а в частности показателей ИМТ установлена зависимость данного показателя от утяжеления степени микробиоциноза, полученные данные представлены в таблице 3.4.

Таблица 3.4

Процент обследованных детей с ВИЧ по соответствию их ИМТ к возрасту по стандартным отклонениям ВОЗ в зависимости от степени дисбиоза (n=148)

	Степень дисбиоза (n=148)
--	---------------------------------

	I (n=14)		II (n=75)		III (n=28)		норма (n=31)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
СО3-	1	7,1*	10	13,3*	9	32,1**	1	3,2
СО2-	3	21,4	25	33,3*	7	25,0	6	19,4
СО1-	3	21,4	8	10,7*	5	17,9**	9	29,0
Мед	5	35,7	20	26,7	6	21,4	11	35,5
СО1+	2	14,3	12	16,0	1	3,6**	4	12,9
СО2+	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
СО3+	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0

Примечание: * - достоверность данных к группе детей с ВИЧ и нормальной микрофлорой кишечника (* - $P < 0,05$); ** - достоверность данных к группе детей с 2 стадией ВИЧ (** - $P < 0,05$).

Как видно из представленных данных у детей с ВИЧ с утяжелением степени дисбиоза увеличивается количество детей с грубыми нарушениями физического развития, а в частности повышается процент встречаемости показателей ИМТ в пределах СО3-, то есть тяжелая степень белково-энергетической недостаточности.

Этапы разделения дисбиоза отображали естественное развитие ВИЧ-инфекции, где по мере прогрессирования заболевания усиливались признаки истощения и питательной недостаточности. Это было подтверждено с помощью статистически значимых данных.

Это разделение по стадиям заболевания выявило, что некоторые состояния, такие как рецидивирующий афтозный стоматит, постоянная диарея, продолжительная лихорадка, оральная кандидоз, тяжелые бактериальные пневмонии и анемии, были обнаружены в 5,64; 2,18; 2,59; 12,14; 3,26 раза чаще соответственно у детей на IV стадии ВИЧ-инфекции, чем у детей на II стадии (таблица 3.5). Также отмечалось высокое распространение инфекции,

вызванной вирусом *Varicella Zoster*, которая встречалась в 21,76 раза чаще у детей на IV стадии.

Таблица 3.5

Клинические проявления заболевания в зависимости от стадии заболевания (%)

Признаки	Стадии ВИЧ (n=117)				Отношение шансов (95% ДИ)
	2 стадия (n=17)	3 стадия (n=121)	4 стадия (n=10)	p к 2 стадии	
Рецидивирующий афтозный стоматит	15,4±6,82	33,33±6,73	73,81±6,95	<0,001	5,64 (2,29-13,89)
Инфекция, вызванная <i>virus varicella zoster</i>	0,0±0,0	0,0±0,0	16,67±5,89	<0,01	21,76 (1,2-393,31)
Персистирующая диарея	23,1±7,21	29,41±6,51	47,62±7,89	≤0,05	2,18 (0,93-5,12)
Персистирующий оральный кандидоз	15,4±6,82	17,65±5,44	35,71±7,57	<0,05	2,59 (0,99-6,75)
Тяжелые рецидивирующие бактериальные пневмонии	46,2±5,25	88,24±4,6	100,0±0,0	<0,05	12,14 (0,66-222,12)
Необъяснимая анемия	0,0±0,0	9,8±4,25	26,19±6,95	≤0,05	3,26 (1,03-10,31)

Этот анализ показал, что у детей с высокой репликативной активностью ВИЧ наблюдается повышенная частота появления персистирующей диареи, тяжелого истощения и ВИЧ-ассоциированной кардиомиопатии (таблица 3.6).

Таблица 3.6

Клинические проявления заболевания в зависимости от репликативной активности ВИЧ

Признаки	ВН ≤ 100 000 коп/мл (n=32)	ВН > 100 000 коп/мл (n=116)	Р	Отношение шансов (95% ДИ)
Персистирующая диарея	38,1±11,13	76,0±8,9	<0,01	5,15 (1,44-18,38)
Тяжелое истощение	4,76±4,88	32,0±9,72	<0,05	9,41 (1,07-83,0)
ВИЧ-ассоциированная кардиомиопатия	9,52±6,73	44,0±10,34	<0,01	7,46 (1,42-39,13)

У 84,5% из 148 исследованных детей с ВИЧ отмечались клинические проявления умеренных нарушений работы желудочно-кишечного тракта. Эти проявления включали периодические боли в животе (2-3 раза в сутки), жидкий стул (от 2 до 5 раз в сутки), запоры (продолжительностью 3-4 суток), метеоризм и тошноту.

Симптому клинического типа отклонения биоценоза кишечника у лиц с ВИЧ-инфекцией представлены на диаграмме 3.1.

Среди 148 пациентов: 83 (56,1%) испытывали периодические боли в животе, 90 (60,8%) страдали от метеоризма, 122 (82,4%) имели жидкий стул, 18 (12,2%) сталкивались с запорами, 52 (35,1%) отмечали темный цвет кала, 72 (48,6%) сообщали о гнилостном запахе кала.

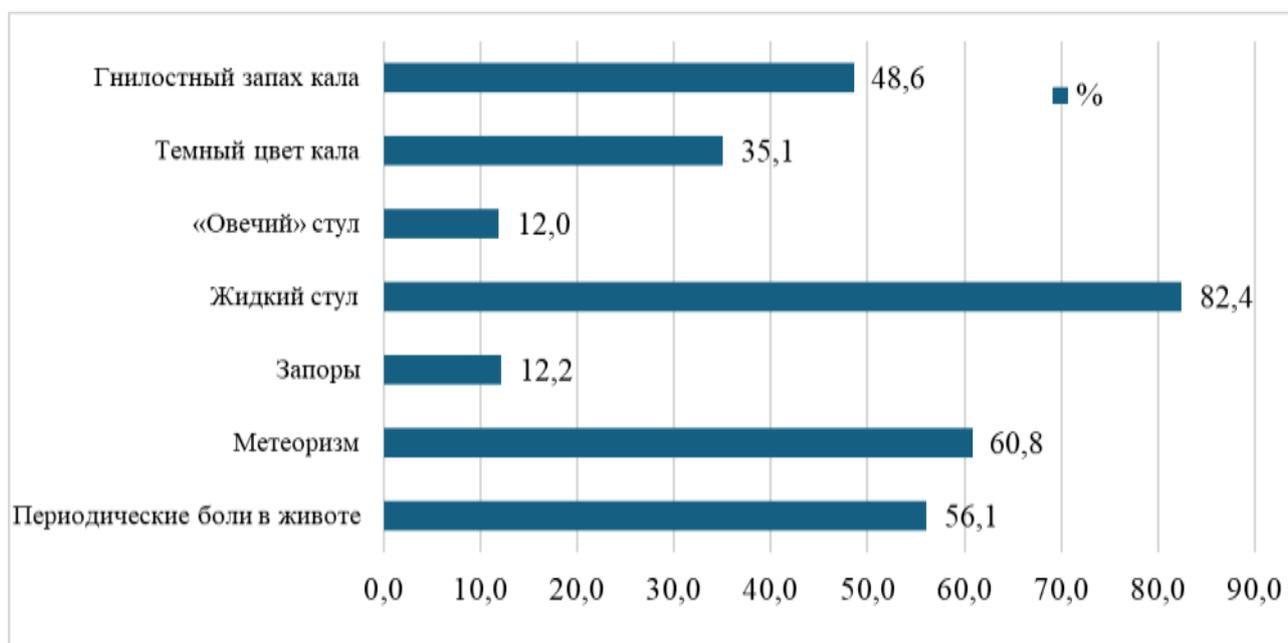


Рис. 3.1. Клинические симптомы нарушений микробного пейзажа кишечника у пациентов с ВИЧ-инфекцией (n=148)

У 91 детей с ВИЧ, а именно 61,5% иногда предъявляли жалобы на неоформленный кал в течении последних 12 месяцев.

Разделение на различные уровни дисбиоза отражает естественное развитие ВИЧ-инфекции, при котором признаки истощения и недостатка питания усиливаются по мере прогрессирования заболевания, что было подтверждено статистически. Отмечена зависимость уровня вирусной нагрузки от тяжести иммунодефицита – показатели вирусной нагрузки у детей с незначительным иммунодефицитом.

§ 3.3. Корреляционные взаимосвязи между степенью нарушения микробного пейзажа кишечника и параметрами клеточного иммунитета.

Среди факторов, влияющих на восстановление иммунитета, изменения в микробиоте кишечника являются одним из ключевых факторов (Yang et al., 2020). Нарушение регуляции кишечного микробиома было связано с восстановлением CD4⁺T-клеток (Lu et al., 2018), что является основным фактором, определяющим восстановление иммунитета после КАРТ (Kaufmann

et al., 2005; Brenchley et al., 2006b; Marchetti et al., 2008; Lu et al., 2018).
Недавние данные свидетельствуют о том, что снижение числа CD4⁺ Т-клеток в периферической крови связано с транслокацией микробов и увеличением количества *Enterobacteriaceae* (Moore and Keruly, 2007 ;Монако и др., 2016).

В данной подглаве нами были изучены корреляционные взаимосвязи между степенью нарушения микробного пейзажа кишечника с вирусной нагрузкой; между степенью нарушения микробного пейзажа кишечника с уровнем CD4⁺ клеток и иммунорегуляторным индексом у детей с ВИЧ инфекцией.

На дальнейшем этапе нами проведен анализ влияние вирусной нагрузки на тяжесть течения дисбиоза у детей с ВИЧ инфекцией. Так низкая репликация активности вируса установлена у 32 детей, что составило – 21,6%, тогда как высокая репликация вируса установлена в 78,4% случаях. При разделении детей по уровню вирусной нагрузки было выявлено, что высокая активность вируса оказывала негативное воздействие на уровень дисбиоза. Подробные данные представлены в таблице 3.7

Таблица 3.7

Показатели тяжести дисбиоза в зависимости от репликативной активности вируса (n=148)

Степень дисбиоза	≤100 000 коп/мл (n=32)		> 100 000 коп/мл (n=116)	
	Абс.	%	Абс.	%
I (n=14)	10	31,2	4	3,4**
II (n=75)	12	37,5	63	54,3*
III (n=28)	3	9,4	25	21,6**
Норма (n=31)	7	21,9	24	20,7

Примечание: * - достоверность между группами (* - P<0,05; ** - P<0,01)

Была отмечена тесная корреляция между уровнем вирусной нагрузки и показателями CD4+лимфоцитов у детей. У тех, у кого наблюдалась высокая активность вируса ВИЧ, доля CD4+лимфоцитов составляла $9,65 \pm 2,12$, в то время как у детей, контролируемых размножение вируса, этот показатель достигал уровня $24,27 \pm 3,93$. ($p \leq 0,01$) (табл. 3.8).

Таблица 3.8

Иммунологические параметры детей с ВИЧ в зависимости от репликативной активности ВИЧ

Показатели	Здоровые дети (n=18)	Вирусная нагрузка	
		До 100000 (n=32)	Выше 100000 (n=116)
CD4+, %	$32,71 \pm 0,69$	$22,88 \pm 1,16^{***}$	$19,67 \pm 1,09^{*** \wedge}$
CD4+, кл/мкл	$867,01 \pm 44,31$	$536,50 \pm 67,99^{***}$	$495,47 \pm 109,13^{**}$
CD8+, %	$24,21 \pm 0,60$	$28,00 \pm 1,13^{**}$	$32,33 \pm 1,50^{*** \wedge}$
CD8+, кл/мкл	$649,90 \pm 40,57$	$659,38 \pm 78,89$	$798,27 \pm 168,08$
ИРИ (CD4/CD8)	$1,37 \pm 0,04$	$0,82 \pm 0,03^{***}$	$0,61 \pm 0,04^{*** \wedge \wedge}$

Примечание: * - достоверность различий с контрольной группой, * - $p \leq 0,05$, ** - $p \leq 0,01$, *** - $p \leq 0,001$; ^ - достоверность различий между исследуемыми группами детей. ^ - $p \leq 0,05$, ^^ - $p \leq 0,01$, ^^ - $p \leq 0,001$.

Выявлена зависимость между уровнем вирусной нагрузки и степенью иммунодефицита у детей. Уровни вирусной нагрузки составляли: $1238234,46 \pm 1204174,62$ коп/мл у детей с незначительным иммунодефицитом, $13511365,4 \pm 12237342,43$ коп/мл у детей с умеренным ($p \leq 0,05$ по сравнению с незначительным), $558932,22 \pm 286875,68$ коп/мл у детей с выраженным, и $6974785,2 \pm 3568922,51$ коп/мл у детей с тяжелым иммунодефицитом ($p < 0,001$ по сравнению с незначительным и $p < 0,05$ по сравнению с выраженным).

Исследуя взаимоотношение уровня дисбаланса биоценоза кишечника и значений клеточного иммунитета, было определено, что 79,1% детей с ВИЧ-инфекции имели отклонения микрофлоры, стоит отметить, что показатели клеточного защитного механизма не имели отклонений (табл. 3.9).

Таблица 3.9

Иммунологические параметры детей с ВИЧ в зависимости от степени дисбиоза

Показатели	Степень дисбиоза (n=148)			
	норма (n=31)	1 степень (n=14)	2 степень (n=75)	3 степень (n=28)
CD4+, %	33,11±0,51	23,71±0,84***	21,18±0,84***^	19,67±1,09*** ^
CD4+, кл/мкл	869,56±21,31	597,86±96,38*	506,32±50,58***	495,47±109,13**
CD8+, %	23,98±0,48	27,29±0,52***	29,14±0,77***^	32,33±1,50*** ^
CD8+, кл/мкл	652,48±21,56	689,00±111,17	700,22±66,73	798,27±168,08
ИРИ (CD4/CD8)	1,35±0,03	0,87±0,02***	0,73±0,03***^^	0,61±0,04***^^^

П

примечание: * - достоверность различий с контрольной группой, * - $p \leq 0,05$, ** - $p \leq 0,01$, *** - $p \leq 0,001$; ^ - достоверность различий между исследуемыми группами детей. ^ - $p \leq 0,05$, ^^ - $p \leq 0,01$, ^^ - $p \leq 0,001$.

CD4-лимфоциты – важнейший показатель, определяющий степень иммуносупрессии, возможность присоединения вторичных и СПИД-индикаторных заболеваний. В результате нами установлено, что снижение Т-хелперов не зависило от степени дисбиоза, однако наибольший процент детей с низкими показателями CD4 регистрировался при 2 степени дисбиоза (рис. 3.2).

При анализе полученных данных в зависимости от степени иммунодефицита нами было установлено, что CD4-лимфоциты были понижены до степени умеренного иммунодефицита у детей с 2 и 3 степенью дисбиоза, что свидетельствовало о неприверженности лечению (табл. 3. 10).

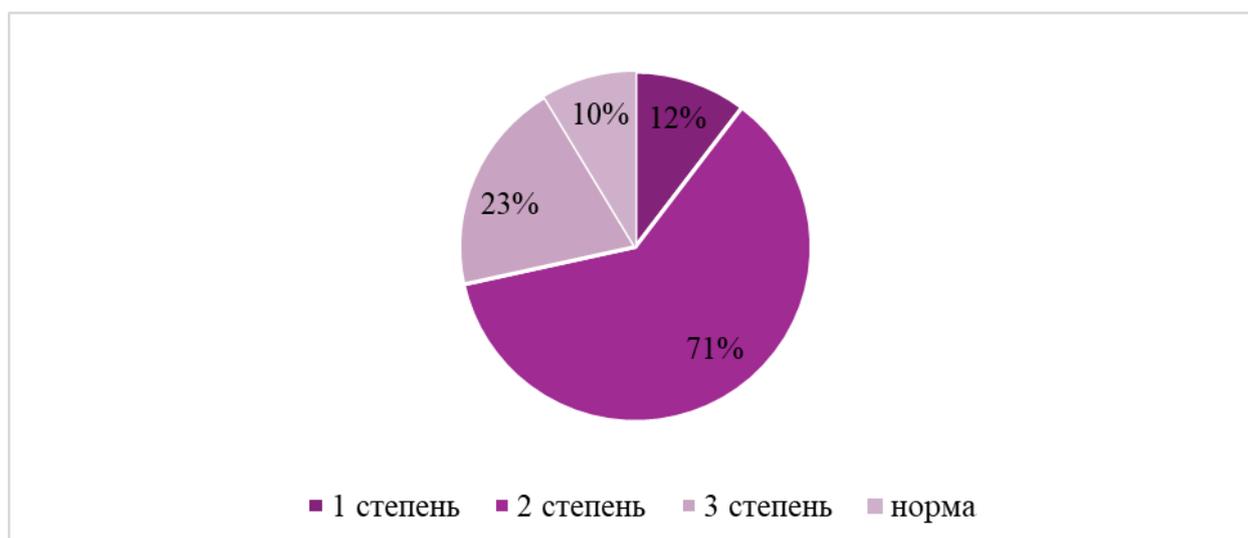


Рис. 3.2. Процент пациентов, имеющих снижение Т хелперов при разной степени нарушения микробного пейзажа кишечника (%)

У детей с 1 степенью дисбиоза в 57,1% случаев отмечалась незначительная иммуносупрессия, в 35,7% случаев – умеренная, а в 7,1% - выраженная, при 2 степени дисбиоза возрастало количество умеренной и выраженной иммуносупрессии (35,7% и 7,1% против 29,0% и 3,2% соответственно), тогда как встречаемость незначительной ее степени снижалась до 57,1% по сравнению с показателями в группе детей с ВИЧ без дисбиоза (67,7%).

Таблица 3.10

Тяжесть иммуносупрессии у детей с ВИЧ в зависимости от степени дисбиоза

Иммунодефицит	Степень дисбиоза (n=148)								
	I (n=14)		II (n=75)		III (n=28)		норма (n=31)		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	

Незначительный	8	57,1	32	42,7	0	0,0	21	67,7
Умеренный	5	35,7	29	38,7	12	42,9	9	29,0
Выраженный	1	7,1	9	12,0	10	35,7	1	3,2
Тяжелый	0	0,0	5	6,7	6	21,4	0	0,0

У детей с 3 степенью дисбиоза были выделены: умеренный иммунодефицит – 42,9% случаев (n=12), выраженный – 35,7% (n=10) и тяжелый – 21,4% (n=6). [уровень градации иммунодефицита представлен согласно. Классификации ВОЗ ВИЧ-ассоциированного иммунодефицита у детей].

Полученные данные достоверно отличались от данных в группе детей с ВИЧ без дисбиоза.

При выявлении причин формирования иммунодефицитного состояния нами отмечена низкая приверженность АРТ, о чем свидетельствовало сохранение высокой вирусной нагрузки (ВН) и пониженных показателей иммунного статуса. Часть пациентов с дисбиозом (41,0%, n=48) препараты принимали нерегулярно, нарушая режим, пропуская вечерний или утренний приемы, самостоятельно прекращая прием препаратов.

При изучении корреляционных взаимосвязей между степенью нарушения микробного пейзажа кишечника и вирусной нагрузкой были выявлены следующие закономерности, чем глубже были дисбиотические нарушения у данного контингента пациентов, тем выше была вирусная нагрузка, данная взаимосвязь определялась при помощи коэффициента К (рис. 3.3).

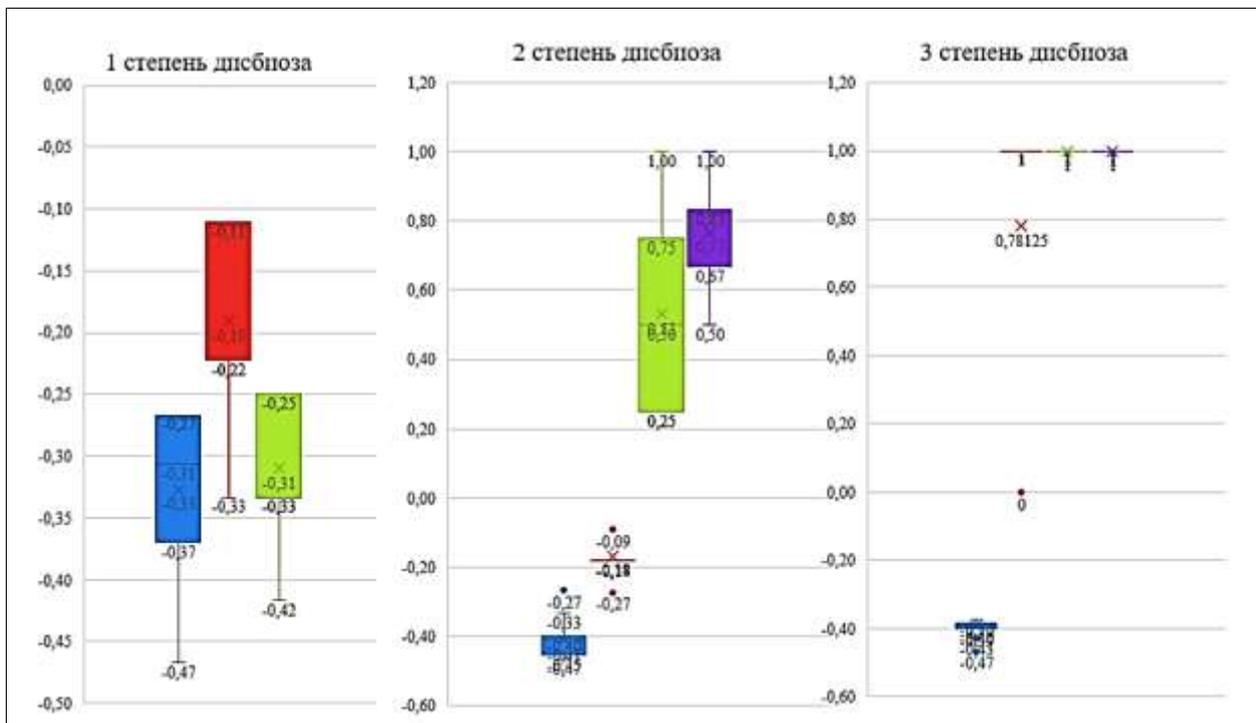


Рис. 3.3. Корреляционные взаимосвязи с показателями вирусной нагрузки у детей с ВИЧ в зависимости от степени дисбиоза.

Мы провели корреляционный анализ (рис. 3.4), который показал сильную и тесную связь уровня CD4-лимфоцитов со степенью дисбиоза: с 1 стадией ($r=-0,65$, $p<0,05$); с 2 стадией ($r=-0,81$, $p<0,05$); с 3 стадией ($r=-0,93$, $p<0,05$) и у детей без дисбиоза ($r=-0,55$, $p<0,05$).

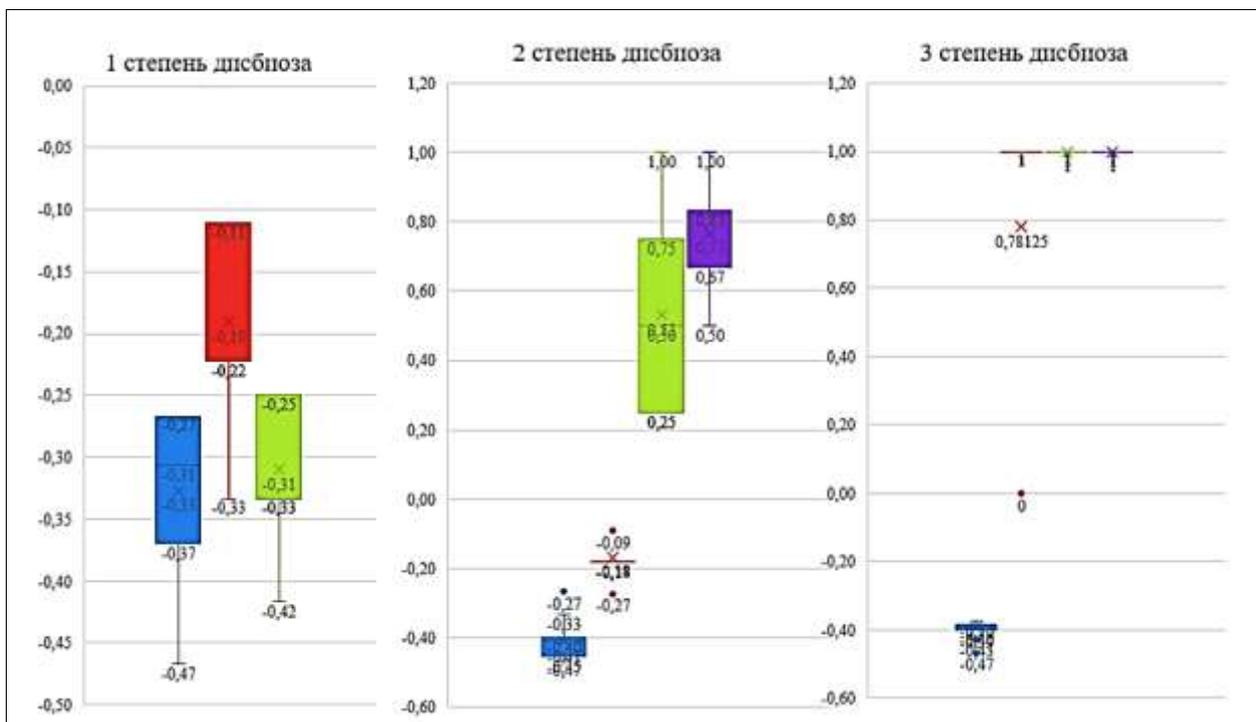


Рис. 3.4. Корреляционные взаимосвязи с показателями вирусной нагрузки у детей с ВИЧ в зависимости от степени дисбиоза.

Таким образом, низкое содержание CD4-лимфоцитов, высокие показатели вирусной нагрузки ассоциированы с большей выраженностью дисбиотических изменений микрофлоры кишечника у детей с ВИЧ.

§ 3.4. Роль *C. Difficile* в развитии нарушениями микробного пейзажа кишечника у детей с ВИЧ.

Согласно литературным данным, дисбаланс микроорганизмов в кишечнике может вызвать повышенный риск развития бактериальной суперинфекции и активации условно-патогенных энтеробактерий, приводя к развитию колитов и энтероколитов. Ученые В.Ф. Учайкин и А.А. Новокшенов (1999) подчеркивают, что до 20% случаев диарей и от 90% до 100% псевдомембранозных колитов могут быть связаны с инфекцией *Clostridium difficile*. [14, с.492-494.]. Виды *Clostridium* являются одними из наиболее описанных потребителей свободных аминокислот в качестве источников энергии. Этот патоген способен вызвать заболевания, которые при несвоевременной диагностике и лечении могут иметь тяжелые осложнения и в некоторых случаях заканчиваться летальным исходом. Установлено что иммуносупрессия является фактором риска, способствующим развитию тяжелых осложнений в виде *C. difficile*-ассоциированной диареи (CDI). Пациенты с ВИЧ получают противовирусную терапию препаратами, которые тесно ассоциированы с возникновением CDI. Часто они имеют сразу несколько факторов риска развития CDI. Кроме того, обе эти инфекции могут иметь сходные проявления, включая диарею и т.п. Имеющиеся на сегодняшний день данные свидетельствует о необходимости обследования больных с инфекцией ВИЧ (особенно протекающей с диареей) на наличие у них токсигенной *C. difficile*.

На базе клинической рекомендации «Клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике CDI» 2018 года, а также согласно рекомендациям, Американского и Европейского обществ микробиологов для проведения экспресс-диагностики в лаборатории проводят определение глутаматдегидрогеназы *C. Difficile* (ГДГ).

При изучении содержания ГДГ у детей с ВИЧ нами было установлено, что средние показатели у здоровых детей составляют $3,95 \pm 0,2$, тогда как у детей с ВИЧ они повышаются в 1,7 раз и составляют в среднем – $6,53 \pm 0,3$ ($P < 0,01$).

Качественный анализ содержания ГДГ фекалий показал, что у детей с ВИЧ в 83,8% случаях (124 из 148 больных) установлено превышение показателей референтных значений. Полученные данные представлены в таблице 3.11.

Таблица 3.11.

Качественный анализ ГДГ в фекалиях у детей с ВИЧ

Степень дисбиоза	Содержание ГДГ					
	2,3-5,6 (норма)		5,7-8,4 (повышение в 1,5 раза - умеренное)		8,5 и выше (высокие показатели)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
	Степень дисбиоза					
I (n=14)	11	78,6	3	21,4	0	0,0
II (n=75)	8	10,7	62	82,7	5	6,7
III (n=28)	0	0,0	18	64,3	10	35,7
норма (n=31)	31	100,0	0	0,0	0	0,0
Всего	50	33,8	83	56,1	15	10,1
	Стадии ВИЧ					

2 стадия (n=17)	10	58,8	7	41,2	0	0,0
3 стадия (n=121)	40	33,1	74	61,2	7	5,8
4 стадия (n=10)	0	0,0	2	20,0	8	80,0
Всего	50	33,8	83	56,1	15	10,1

Как видно из представленных данных содержание ГДГ в фекалиях у детей с ВИЧ зависело не только от стадии заболевания, но также и от степени дисбиоза. Так показатели ГДГ в пределах нормы отмечались в большинстве случаев при 1 и 2 степени дисбиоза (78,6% и 10,7% соответственно), тогда как при 3 степени дисбиоза ни в одном случае не было зарегистрировано нормативных значений данного показателя. Умеренное повышение ГДГ регистрировалось у 82,7% детей со 2 степенью дисбиоза и у 64,3% с 3 степенью дисбиоза. Наименьший процент умеренного повышения показателей ГДГ зарегистрировано было при 1 степени дисбиоза (21,4%).

При ВИЧ с 3 степенью дисбиоза у 35,7% детей отмечались показатели ГДК свыше 8,5, тогда как при 2 степени высокий уровень данных показателей регистрировался в 5,3 раза реже ($P < 0,05$).

Стадия ВИЧ также имела непосредственное влияние на развитие токсигенной *S. Difficile*, так при 4 стадии ВИЧ у 80,0% детей отмечаются высокие показатели ГДК их среднее значение составило $9,6 \pm 0,3$. При 2 и 3 стадиях ВИЧ в большинстве случаев регистрировалось умеренное содержание ГДГ (41,2% и 61,2% соответственно). Также хочется отметить, что при 2 стадии ВИЧ у детей в 58,8% случаях были отмечены нормативные показатели, тогда как при 4 стадии референсные значения не фиксировались.

Таким образом, факторами риска развитие токсигенной *S. Difficile* является утяжеление клинической стадии ВИЧ на фоне выраженной

иммунносупрессии и высокой вирусной нагрузкой. В связи с чем присоединение токсигенной *C. Difficile* будет способствовать утяжелению клинического течения ВИЧ и будет требовать индивидуального подхода к лечению таких больных с включением в комплекс лечения пробиотиков.

Выводы по главе III.

Отклонение оптимального состава микрофлоры кишечника свойственно лицам детского возраста с наличием вируса иммунодефицита человека на всех этапах его развития и не зависит от параллельно текущих патологий. У 79,1% больных детей происходит снижение удельного веса представителей индигенной микрофлоры, преимущественно бифидобактерий, и увеличение доли микроорганизмов с большим патогенным потенциалом.

Лица детского возраста с наличием вируса иммунодефицита человека на 2й и 4й стадии развития входят в группу риска по развитию инфекции оппортунистического типа как грибковой, так и бактериальной природы. Данное явление отмечается в силу повышенного содержания УПМ в просвете кишечника. Важно учитывать, что изменения в микрофлоре нарушений в ответ на иммунные изменения, вызванные ВИЧ, могут начаться раньше появления каких-либо клинических признаков. В связи с этим, вмешательство и коррекция состава микрофлоры необходимы еще до установления устойчивых патогенезов, которые выявлены на 2 и 4 стадиях заболевания

Факторами риска развитие токсигенной *C. Difficile* является утяжеление клинической стадии ВИЧ на фоне выраженной иммунносупрессии и высокой вирусной нагрузкой. В связи с чем присоединение токсигенной *C. Difficile* будет способствовать утяжелению клинического течения ВИЧ и будет требовать индивидуального подхода к лечению таких больных с включением в комплекс лечения пробиотиков.

Глава IV. ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕРАПИИ ВИЧ С НАРУШЕНИЯМИ МИКРОБНОГО ПЕЙЗАЖА КИШЕЧНИКА У ДЕТЕЙ

§ 4.1. Комплексный подход к терапии ВИЧ, с нарушениями микробного пейзажа кишечника у детей.

Антиретровирусная терапия (АРТ) эффективно останавливает деление ВИЧ, однако инфекция по-прежнему связана с хроническим воспалением и активацией иммунной системы, а также с увеличением частоты нарушений, включая метаболические и сердечно-сосудистые заболевания. Становится все более очевидным, что скопление триллионов бактерий, грибов и вирусов, которые колонизируют кишечник, кишечный микробиом, играет важную роль в формировании здоровья и болезней, включая заболевания, которые чаще возникают у людей, живущих с ВИЧ. Недавние открытия измененного или «дисбиотического» микробиома у ВИЧ-инфицированных подтверждают эту гипотезу.

Поскольку ВИЧ-инфекция приводит к массивному истощению CD4⁺ Т-клеток в лимфоидной ткани кишечника (GALT) и разрушению эпителиального барьера кишечника, вполне вероятно, что ВИЧ-инфекция и микробиом кишечника тесно связаны.

Интересно, что не всегда было обнаружено, что АРТ восстанавливает здоровый микробиом кишечника у ВИЧ-инфицированных субъектов, а сами препараты могут фактически способствовать дальнейшему развитию дисбиоза.

На дальнейшем этапе нами было проанализировано лечение детей с ВИЧ с учетом соблюдения диеты и назначения пробиотиков. Как указано выше, дисбиоз был установлен у 117 детей с ВИЧ, среди них у 14 детей дисбиоз 1 степени, у 75 – 2 степени и у 28 – 3 степени. Анализируя влияние длительности ВИЧ на развитие дисбиоза нами установлено, что у детей с 1 степенью дисбиоза длительность данной патологии составляла $4,8 \pm 0,3$ года, при 2 степени – $7,3 \pm 0,4$ года, тогда как при 3 степени – $11,6 \pm 0,5$ лет (рис. 4.1).

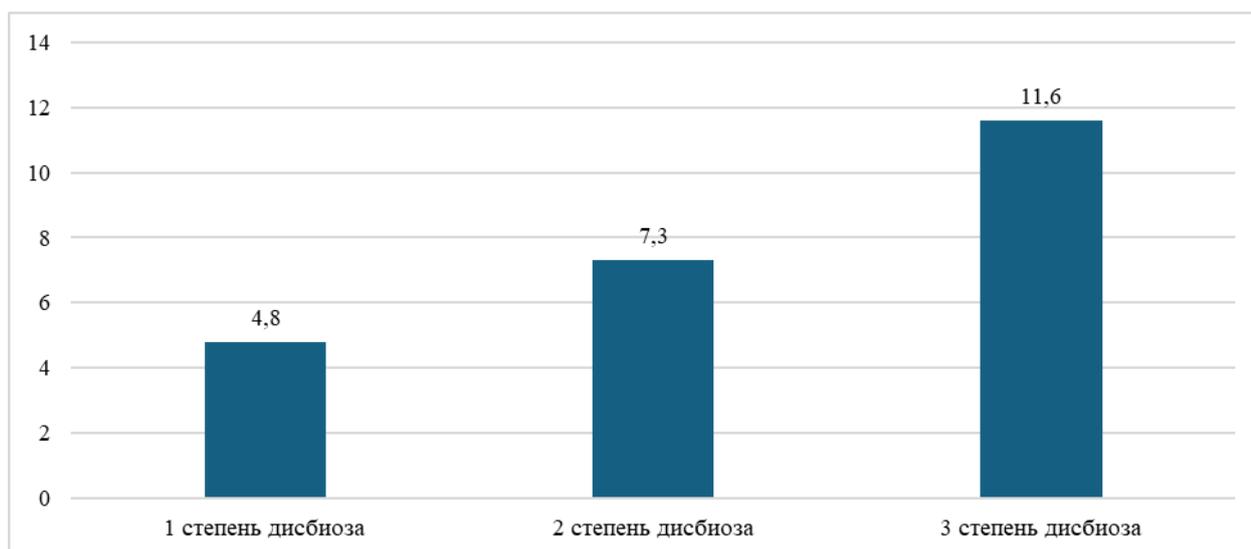


Рис. 4.1. Средние показатели длительности ВИЧ в зависимости от степени дисбиоза (лет)

Как видно из приведенных данных развитие дисбиозов зависит от длительности ВИЧ, то есть чем длительнее протекает заболевание тем тяжелее степень дисбиоза ($\chi^2=12,856$; $p<0,01$).

Таким образом, стадия ВИЧ является одним из основных факторов для развития микробиотических нарушений кишечника у детей. В связи с чем коррекция дисбиоза кишечника с помощью включения в комплексное лечение про-и/или пребиотиков может являться эффективным методов лечения ВИЧ у детей.

С учетом того, что в нашем исследовании все дети получали АРТ нами было проанализировано развитие дисбиоза в зависимости от длительности терапии (рис. 4.2).

В средне длительность АРТ варьировала от 1 года до 5-ти лет. Так при 1 степени дисбиоза длительность терапии составила $14,2\pm 0,1$ месяцев, при 2 степени – $21,3\pm 1,1$ месяцев, при 3 степени дисбиоза – $28,5\pm 1,2$ месяца.

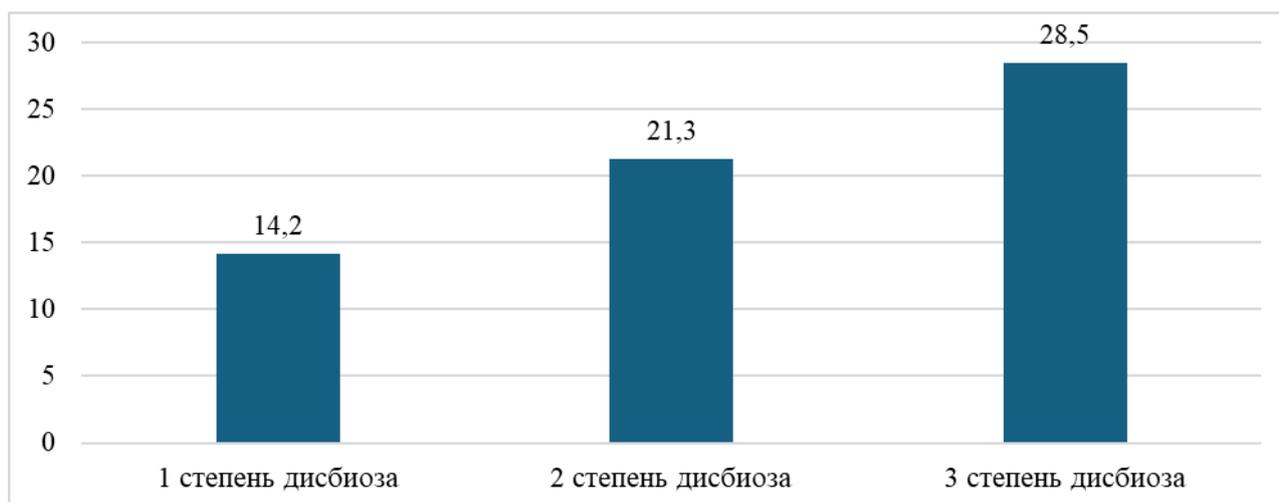


Рис. 4.2. Средние показатели длительности АРТ в зависимости от степени дисбиоза (мес.)

Также нами было проведен анализ назначения про- и/или пребиотиков, а также диеты с учетом правильного дробного питания с включением кисломолочных продуктов богатых пробиотиками.

В результате нами был установлен следующий факт - назначение про- и/или пребиотиков детям с нарушением микрофлоры кишечника регистрировалось в 60,7% случаях (71 из 117 детей). Правильное питание с включением кисломолочных продуктов богатых пробиотиками соблюдали в 56,4% (66 из 117 детей).

С целью установления влияния соблюдения приверженности к назначенным схемам комплексного лечения нами было установлено, что всем детям в комплексном лечении были назначены АРТ, пробиотики и диета.

В результате опроса родителей или опекунов нами установлено, что 60,7% детей (71 из 117 детей) соблюдали приверженность к терапии ВИЧ. При этом 78,6% детей (11 из 14 детей) с 1 степенью дисбиоза полностью соблюдали схему лечения, при 2 степени дисбиоза – 66,7% (50 из 75 детей), тогда как при 3 степени дисбиоза – 35,7% (10 из 28 детей).

Как видно из полученных результатов назначение адекватной комплексной терапии с включением про- и/или пребиотиков не всегда

способствует восстановлению микрофлоры кишечника. Это скорее всего связано с, что большинство пробиотиков содержат живые лиофилизированные молочнокислые бактерии: *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium infantis*, *Enterococcus faecium*, которые являются нормальной составляющей естественной микрофлоры кишечника. Однако, данные пробиотики не являются резистентными к кислой среде желудка, они разрушаются под воздействием желудочного сока.

В связи с вышеизложенным необходим поиск схем коррекции дисбиоза у детей с ВИЧ инфекцией.

§ 4.2. Анализ эффективности применения *Saccharomyces boulardii* при нарушениях микробного пейзажа кишечника у детей с ВИЧ инфекцией.

Клинические испытания по оценке воздействия некоторых пробиотиков (пищевых добавок, содержащих живые бактерии) на ВИЧ-инфицированных лиц дали положительные результаты. Пациенты с подавленной вирусной нагрузкой, получавшие АРТ, реагировали на ежедневное добавление пробиотиков снижением активации иммунных клеток, снижением уровней маркеров воспаления в сыворотке и уменьшением микробной транслокации). Кроме того, прием пребиотиков (пищевых добавок, содержащих питательные вещества, стимулирующие рост определенных кишечных бактерий) пациентами, ранее не получавшими АРВТ, приводил к уменьшению воспаления и активации CD4⁺ Т-клеток. Таким образом, направленная на микробиом терапия в виде про- и пребиотиков может быть эффективным способом уменьшения хронического воспаления и иммунной активации при ВИЧ-инфекции. Дополнительным применением пробиотиков может быть предотвращение роста воспалительных или патогенных бактерий, количество которых увеличивается при ВИЧ-инфекции. Например, есть доказательства того, что пробиотики могут снижать рост устойчивых к антибиотикам энтерококков у людей и мышей (Crouzet L, Rigottier-Gois L, Serror P., 2015).

Saccharomyces boulardii — это несоставная часть обычной микрофлоры кишечника человека. Однако, когда он используется в качестве пробиотика, он взаимодействует с кишечной микрофлорой, чтобы восстановить баланс короткоцепочечных жирных кислот, снизить уровень бактериальных токсинов и действовать как временная нормализующая микрофлора до восстановления естественной микрофлоры организма. Кроме того, *S. boulardii* обладает иммуностимулирующими свойствами и способствует снижению воспаления в кишечнике.

S. boulardii обладает несколькими различными механизмами действия, которые могут быть разделены на три основные категории: действие внутри кишечного просвета, трофическое воздействие и сигнальное противовоспалительное действие, связанное со слизью. В кишечном просвете *S. boulardii* может воздействовать на патогенные токсины, мешать прикреплению патогенных микроорганизмов, взаимодействовать с нормальной микробиотой и способствовать восстановлению уровня короткоцепочечных жирных кислот. Также *S. boulardii* может действовать как иммунорегулятор как внутри кишечного просвета, так и в организме в целом. *S. boulardii* может оказывать воздействие на развитие заболеваний в кишечнике через несколько механизмов, включая блокирование мест прикрепления токсинов, действие в роли "приманки" для патогенных токсинов и даже прямое разрушение патогенных токсинов. Например, исследователи выявили наличие сериновой протеазы массой 54 кДа, продуцируемой *S. boulardii*, которая способна непосредственно разрушать токсины А и В *S. difficile*.

Исследования, проведенные Vuts и его соавторами, выявили, что фосфатаза массой 63 кДа, продуцируемая *S. boulardii*, способна разрушать эндотоксины, выделяемые патогенной кишечной палочкой. Несколько исследователей показали, что *S. boulardii* способен уменьшать действие холерного токсина, и это может быть связано с белком массой 120 кДа, продуцируемым *S. boulardii*. Кроме того, *S. boulardii* может непосредственно

подавлять рост различных патогенных микроорганизмов, таких как *Candida albicans*, *Salmonella typhimurum*, *Yersinia enterocolitium*, и бактерия *Aeromonas*, которая выделяет гемолизин. *S. boulardii* также способен воздействовать на кишечную стенку, улучшая сцепление между эпителиальными клетками кишечника, что способствует сохранению целостности и функции кишечного барьера. В одном из исследований, проведенных Wu и соавторами, было показано, что *S. boulardii* снижает гиперплазию крипт и повреждение эпителиальных клеток кишечника у мышей с колитом, вызванным *Citrobacter rodentium*, после 7-дневного курса лечения. Другое исследование, проведенное Garcia Vilela и соавторами, обнаружило уменьшение проницаемости кишечника у пациентов с болезнью Крона, которые получали *S. boulardii* в течение 4 месяцев, в сравнении с пациентами, получавшими плацебо.

Это подход к проведению лечения в стационаре включал регулярное обследование пациентов в начале и через 7-10 дней после госпитализации. Они проходили специальные тесты, используя биологический материал, такой как кровь и фекалии, для дальнейшего исследования. Пациентам также рекомендовали следовать диете, ограничивать стрессовые ситуации и уделять больше времени отдыху, сну и пребыванию на свежем воздухе. Это позволяло отслеживать изменения и эффективность лечения во времени.

Это исследование включало две группы пациентов, одну из которых составляли 60 человек, получавших специфическую антиретровирусную терапию в сочетании с препаратами, содержащими *Saccharomyces Boulardii*. В этой группе изучали состояние микробного пейзажа толстого кишечника, стадии ВИЧ-инфекции и уровень клеточного иммунитета, особенно влияние препаратов с *Saccharomyces Boulardii* на показатели микробного пейзажа и иммунных клеток (CD4+, CD8+). В качестве группы сравнения выступали 57 пациентов, получавших только специфическую антиретровирусную терапию. Исследовалось воздействие курса препаратов с *Saccharomyces Boulardii* на микробиоценоз кишечника, иммунные клетки и уровень вирусной нагрузки у

пациентов этой группы. Обе группы пациентов были сравнимы по таким параметрам, как пол, возраст, стадия ВИЧ-инфекции, способы передачи инфекции и социальный статус. Учитывалась также степень нарушения микробного пейзажа кишечника у всех участников исследования.

После осуществления курса лечения энтеролом у исследуемых выявлена статистически важное снижение клинической картины дисбиоза (табл. 4.1).

Таблица 4.1

Динамика клинических симптомов нарушений микробного пейзажа кишечника у пациентов с ВИЧ-инфекцией при лечении энтеролом

Клинические показатели	До лечения	После лечения			Достоверность различий (P)
		Нормализация	Улучшение	Без положительной динамики	
Периодические боли в животе	29	23 (79,3%)	5 (17,4%)	1 (3,3%)	<0,01
Метеоризм	23	11(47,8%)	10(43,5%)	2(8,7%)	<0,05
Запоры	18	8(44,4%)	7(38,9%)	3(16,7%)	>0,05
Жидкий стул	19	13(68,4%)	5(26,3%)	1(5,3%)	<0,05
«Овечий» стул	16	7(43,7%)	7(43,7%)	2(12,6)	>0,05
Темный цвет кала	17	10(5,9%)	6(35,3%)	1(5,8%)	<0,05
Гнилостный запах кала	16	9(56,3%)	7(43,7%)	0	<0,05

В результате исследования, у 23 из 29 пациентов прекратились боли в животе, а у 5 из них они стали значительно меньше ($p<0,01$). У 21 человека вздутие живота и частое отхождение газов прекратились или стали меньше беспокоить ($p<0,05$), за исключением двух пациентов, у которых явления метеоризма сохранялись. В конце наблюдения жидкий стул остался только у одного из 19 пациентов ($p<0,01$).

После завершения приема пробиотика у 10 пациентов полностью прекратилось проявление патологических симптомов, связанных с темным цветом кала, и у 9 из них исчез гнилостный запах кала. Значительное улучшение этих симптомов отмечено у 6 и 7 пациентов соответственно

($p < 0,05$). Также замечена тенденция к снижению числа людей, страдающих запорами и имеющих "овечий" стул, но из-за ограниченного размера выборки эти данные не имеют статистической значимости ($p > 0,05$).

Показатели копрологического исследования представлены в таблице 4.2

Таблица 4.2

Динамика показателей копрограммы под влиянием терапии Энтеролом %

Копрологические признаки	Группа контроля (n=57)		Основная группа (n=60)	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Жидкий	9 (52%)	3 (17,6%)	22 (62,8%)	2 (5,7%)
Жидко-кашецеобразный	8 (47%)	2 (11,7%)	13 (37%)	2 (5,7%)
Слизь, лейкоциты	17 (100%)	5 (29,4%)	35 (100%)	4 (11,4%)
Эритроциты	12 (70,5%)	0	18 (51%)	0 (0%)
Непереваренная клетчатка	17 (100%)	13 (76,4%)	33 (94,2%)	2 (5,7%)
Остатки жировой пищи (омыленные жиры)	12 (70,5%)	10 (58%)	29 (82,8%)	8 (22,8%)
Внутри клеточный крахмал	16 (94,1%)	13 (76,4%)	34 (97%)	28 (80%)
Остатки белковой пищи (непереваренные мышечные волокна)	15 (88,2%)	8 (47%)	35 (100%)	18 (51%)

Как видно из представленных данных в основной группе отмечается более выраженное восстановление показателей копрологии по сравнению с группой сравнения.

Использование пробиотика привело к полному исчезновению дисбиоза у 8 пациентов (13,3%) согласно бактериологическим данным. У 48 больных было замечено улучшение состава микрофлоры толстого кишечника ($p < 0,01$). Количество бифидобактерий восстановилось до уровня 107 КОЕ/г у 34 пациентов (56,6%), у еще 7 пациентов оно выросло ($p < 0,001$). Содержание лактозоположительных эшерихий нормализовалось у 40 пациентов ($p < 0,01$). Процент лактозонегативных кишечных палочек статистически значимо

снижился ($p < 0,05$). Гемолитические кишечные палочки в разведении 103-104 были выявлены только у 2 пациентов ($p < 0,01$).

В результате применения пробиотика отмечено значительное снижение частоты обнаружения условно-патогенной микрофлоры ($p < 0,001$). Особенно высокая эффективность препарата проявилась при клебсиеллезных и кандидозных формах дисбиоза.

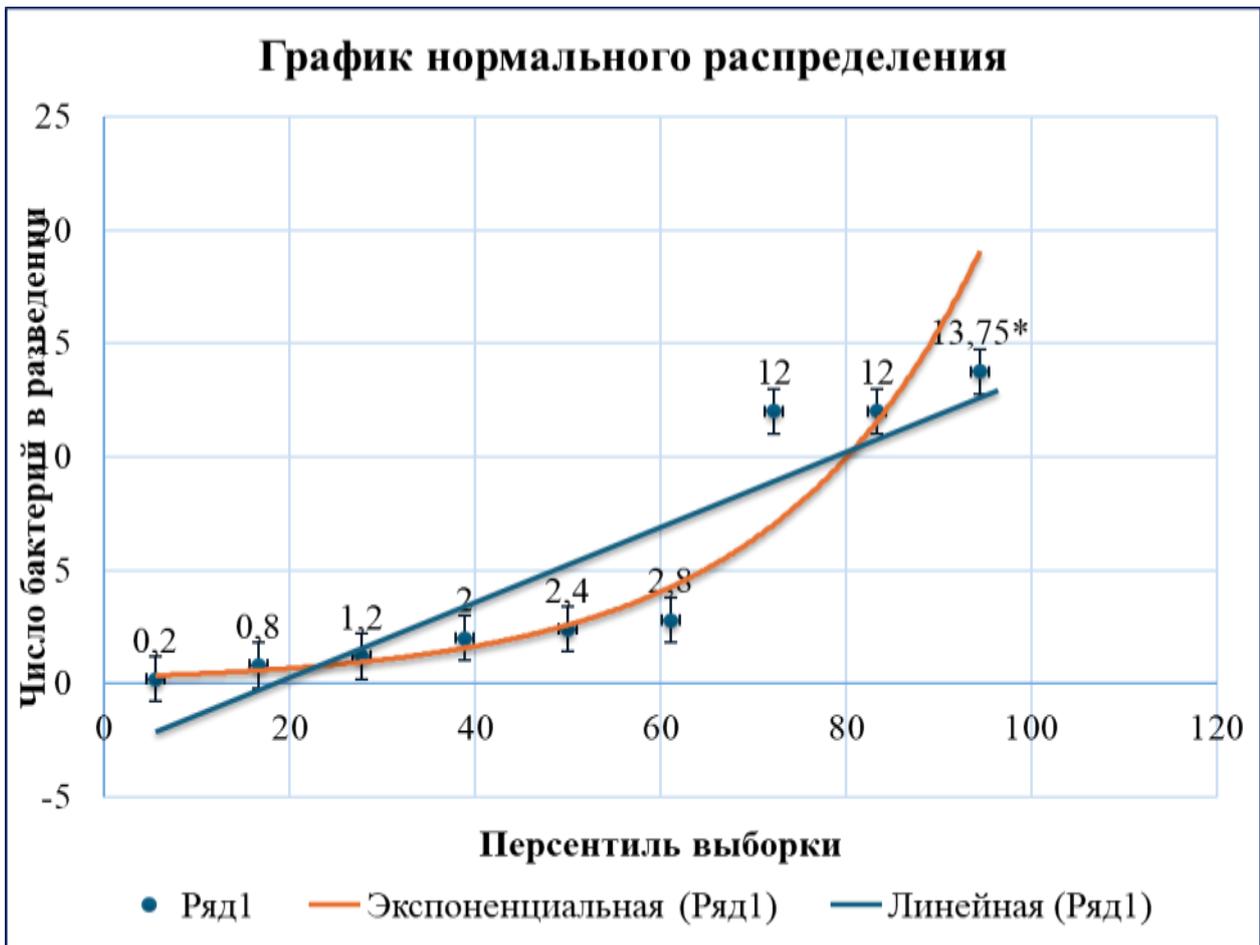
Таблица 4.3

Микробный пейзаж толстого кишечника у больных ВИЧ-инфекцией при лечении энтеролом

Бактерии рода	Время исследова- ния	Число лиц (%), в кишечнике которых обнаружены бактерии в разведении:				
		10-102	103-104	105- 106	107	>107
ЭТЭ	До леч.	17(28,3%)	19(31,6%)	5(8,3%)	18(30%)	1(1,6%)
	После леч.	0	2(3,3%)	14(23,3%)	40(66,6%)	4(6,6%)
ЭПЭ	До леч.	1(1,6%)	1(1,6%)	3(5%)	1(1,6%)	0
	После леч.	1(1,6%)	4(6,6%)	1(1,6%)	0	0
ЭГЭ	До леч.	2(3,3%)	4(6,6%)	0	2(3,3%)	4(6,6%)
	После леч.	2(3,3%)	0	0	0	0
Lacto- bacterium	До леч.	2(3,3%)	21(35%)	32(53,3%)	5(8,3%)	0
	После леч.	0	0	22(36,6%)	36(60%)	2(3,3%)

Bifido- bacterium	До леч.	7(11,6%)	20(33,3%)	29(48,3%)	3(5%)	1(1,6%)
	После леч.	0	0	19(31,6%)	34(56,6%)	7(11,6%)
Staphilo- coccus aureus	До леч.	1(1,6%)	0	0	0	0
	После леч.	0	0	0	0	0
Streptococci	До леч.	1(1,6%)	2(3,3%)	5 (8,3%)	0	2(3,3%)
	После леч.	1(1,6%)	1(1,6%)	0	0	0
Клебсиелла	До леч.	1(1,6%)	1(1,6%)	2 (3,3%)	0	0
	После леч.	1(1,6%)	1(1,6%)	0	0	0
Грибы Candida	До леч.	5(8,3%)	9(15%)	0	0	0
	После леч.	0	0	0	0	0

Только у трех (5%) больных после коррекции пробиотиком показатели количественного и качественного состава микрофлоры толстого кишечника существенно не улучшились (рис. 4.3).



Примечание: * - Регрессионная статистика	
Множественный R	0,983141786
R-квадрат	0,966567772
Нормированный R-квадрат	0,841567772
Наблюдения	9

Рис. 4.3. Экспоненциальный (переменный) и Линейный (прогнозируемый) регрессионный анализ микробного пейзажа толстого кишечника у больных ВИЧ-инфекцией при лечении энтеролом

Степень дисбиоза кишечника у больных ВИЧ-инфекцией после курса пробиотика приведена на рисунке 4.3.

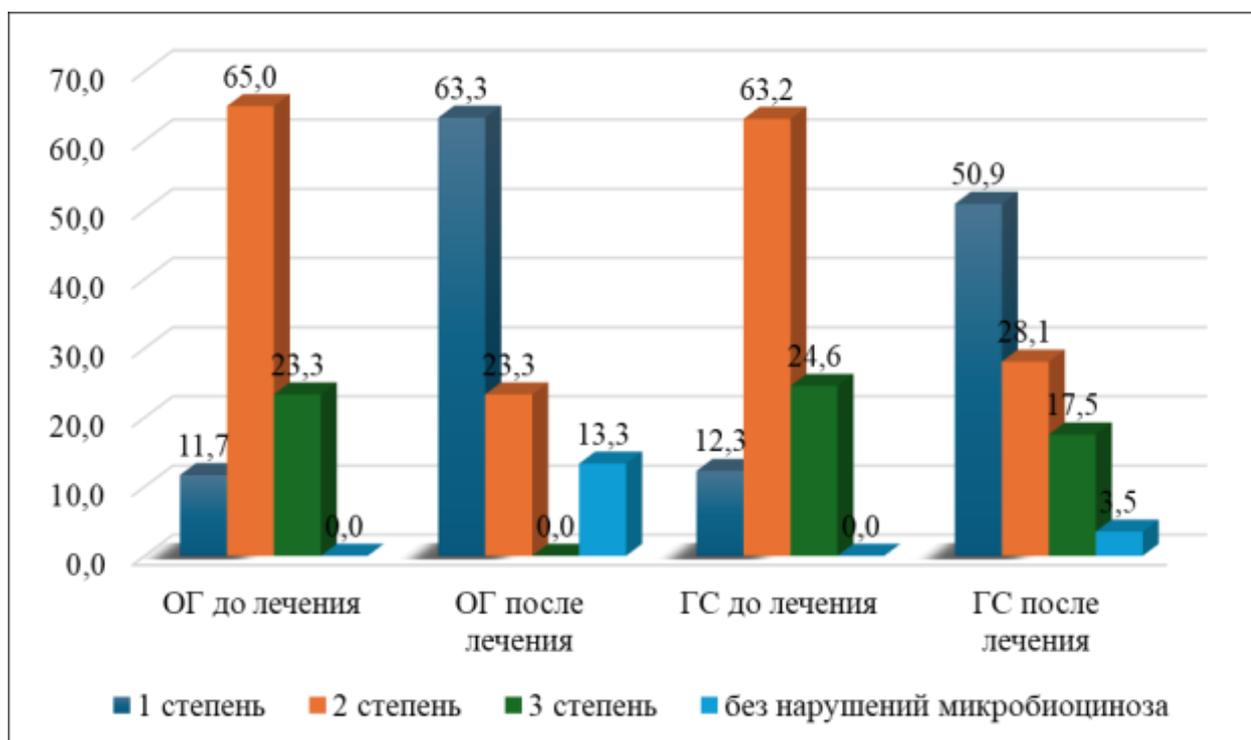


Рис. 4.3. Динамика показателей степени дисбиоза у детей с ВИЧ в зависимости от схем лечения

Как видно из представленных данных у детей с ВИЧ в основной группе отмечается достоверное снижение степени дисбиоза кишечника и увеличения частоты встречаемости детей без нарушений кишечной микрофлоры в 3,8 раз по отношению к группе сравнения ($P < 0,01$).

Данные по изменению количества CD4 + Т-клеток после лечения в основной группе по сравнению с группой сравнения, представлены в таблице 4.4.

Как видно из представленных данных у детей с ВИЧ в основной группе наблюдается достоверное повышение показателей CD4+ через 3 месяца после курса комплексной терапии с включением препарата энтерол ($P < 0,05$). В группе сравнения установлена тенденция повышения данного показателя после лечения через 3 месяца. Также свое влияние имело назначение энтерола на показатели вирусной нагрузки, которые через 3 месяца после лечения

достоверно снижались. Однако в группе сравнения ВН снижалась, однако достоверных различий от исходных данных не установлено.

Таблица 4.4

Динамика показателей клеточного иммунитета у больных ВИЧ-инфекцией, находившихся на различных схемах комплексного лечения

Параметры	Основная группа		Группа сравнения		Достоверность данных между группами после лечения, р
	до лечения	После лечения	до лечения	После лечения	
Количество CD4+ клеток	397±51,6	568±57,5*	402±49,9	500±55,5	<0,05
Вирусная нагрузка	70108±11938	43205±5425*	69208±10441	59355±68520	<0,05

Примечание: * - достоверность данных в группах до и после лечения (P<0,05)

Уменьшение длительности основных клинических симптомов у пациентов в основной группе привело к сокращению средней продолжительности болезни до 5,3±0,8 дня, в то время как в группе сравнения она составила 7,4±0,8 дня. (табл. 4.5).

Таблица 4.5

Динамика основных клинических проявлений под влиянием терапии

Показатели	Сроки нормализации (в днях)	
	основная группа n=60	контрольная группа n=57
Улучшение общее состояние больных	3,6±0,43	7,0±0,6*
Восстановление характера стула	5,7±0,4	8,6±0,9*
Нормализация копрологических показателей	5,8±0,03	9,6±0,7*

Таким образом, итоговая информация говорит о том, что «Энтерол» имеет позитивное влияние уменьшая силу синдрома диареи, а также оптимизируя критерии копрологического типа.

При применении пробиотика Энтерол не регистрировались негативные побочные реакции.

В заключении итоги проведенной научной работы доказывают, что прием энтерола у лиц детского возраста обеспечивает более позитивное течение патологии в силу уменьшения период оптимизации стула, и снижением встречаемости отягощений и их продолжительности.

Выводы по главе IV:

Развитию дисбиоза у детей с ВИЧ способствуют такие факторы как длительности ВИЧ, то есть чем длительнее протекает заболевание тем тяжелее степень дисбиоза ($\chi^2=12,856$; $p<0,01$) и длительность АРТ ($\chi^2=11,686$; $p<0,01$).

В результате нами был установлен следующий факт - назначение про-и/или пребиотиков детям с нарушением микрофлоры кишечника регистрировалось в 60,7% случаях (71 из 117 детей). Правильное питание с включением кисло-молочных продуктов богатых пробиотиками соблюдали в 56,4% (66 из 117 детей). В результате опроса родителей или опекунов нами установлено, что 60,7% детей (71 из 117 детей) соблюдали приверженность к терапии ВИЧ. При этом 78,6% детей (11 из 14 детей) с 1 степенью дисбиоза полностью соблюдали схему лечения, при 2 степени дисбиоза – 66,7% (50 из 75

детей), тогда как при 3 степени дисбиоз – 35,7% (10 из 28 детей). Как видно из полученных результатов назначение адекватной комплексной терапии с включением про- и/или пребиотиков не всегда способствует восстановлению микрофлоры кишечника. Это скорее всего связано с, что большинство пробиотиков содержат живые лиофилизированные молочнокислые бактерии: *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium infantis*, *Enterococcus faecium*, которые являются нормальной составляющей естественной микрофлоры кишечника. Однако, данные пробиотики не являются резистентными к кислой среде желудка, они разрушаются под воздействием желудочного сока. В связи с чем коррекция дисбиоза кишечника с помощью включения в комплексное лечение про-и/или пребиотиков может являться эффективным методов лечения ВИЧ у детей. В заключении итоги проведенной научной работы доказывают, что прием энтерола у лиц детского возраста обеспечивает более позитивное течение патологии в силу уменьшения период оптимизации стула, и снижением встречаемости отягощений и их продолжительности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для выполнения нашего проспективного исследования мы провели комплексное наблюдение 117 детей с III-IVA стадией ВИЧ-инфекции. Эти пациенты находились на лечении в специализированной клинике инфекционных заболеваний при Республиканском центре по борьбе со СПИДом в течение 2-4 лет с момента выявления заболевания. Диагноз ВИЧ-инфекции подтверждался на основе анализа эпидемиологических данных, клинических симптомов и тестов на наличие специфических антител к ВИЧ в результатах ИФА и ИБ. Предшествующее началу исследования информированное согласие на участие в нем было получено от родителей или опекунов пациентов. Все включенные участники проходили исследование в соответствии с Хельсинкской декларацией биомедицинской этики; устное согласие было получено после надлежащей ориентации участников в отношении целей исследования, конфиденциальности данных и влияния исследования. Исследователи подчеркнули, что участие в исследовании было полностью добровольным и полностью конфиденциальным.

Критерии включения в исследование: дети с ВИЧ-инфекцией III и IVA стадий, возраст до 18 лет, диарейный синдром, получение специфической антиретровирусной терапии.

Критериями исключения явились: отказ родителей или опекунов пациентов от участия на любом этапе исследования, наличие патологий кишечной инфекции на протяжении 3 месяцев, туберкулез, возраст до 1,5 лет (18 месяцев), несоблюдение приверженности к АРВ терапии, острые соматические заболевания и хронические соматические заболевания в стадии декомпенсации.

В ходе проведения обследования использовались базовые и специальные виды исследования классической диагностики и терапии лиц с наличием вируса иммунодефицита человека:

1. Общеклинические;
2. Клинико-лабораторные методы;

3. Бактериологическое исследование кала по методу Грачевой;
4. ИФА фекалий: определение глутамат дегидрогеназы;
5. Иммунологические методы исследования: показатели клеточного иммунитета CD4+, CD8+, ИРИ.

Для анализа состояния пациентов с ВИЧ-инфекцией мы использовали иммунологические методы, включая измерение количества CD4+ и CD8+ лимфоцитов в крови. Это проводилось с помощью проточной цитофлуориметрии на проточном цитофлюориметре Navios (Beckman Coulter, США) с использованием одноплатформенной технологии. Также мы определяли вирусную нагрузку РНК ВИЧ-1 при помощи тест-системы Kit HIV-1CAP/CT ROCH, обладающей чувствительностью 20-1,0E8 копий/мл крови. Помимо этого, мы проводили биохимические исследования, анализы крови и мочи для получения дополнительной информации о состоянии здоровья пациентов.

Это подход к проведению лечения в стационаре включал регулярное обследование пациентов в начале и через 7-10 дней после госпитализации. Они проходили специальные тесты, используя биологический материал, такой как кровь и фекалии, для дальнейшего исследования. Пациентам также рекомендовали следовать диете, ограничивать стрессовые ситуации и уделять больше времени отдыху, сну и пребыванию на свежем воздухе. Это позволяло отслеживать изменения и эффективность лечения во времени.

Это исследование включало две группы пациентов, одну из которых составляли 60 человек, получавших специфическую антиретровирусную терапию в сочетании с препаратами, содержащими *Saccharomyces Boulardii*. В этой группе изучали состояние микробного пейзажа толстого кишечника, стадии ВИЧ-инфекции и уровень клеточного иммунитета, особенно влияние препаратов с *Saccharomyces Boulardii* на показатели микробного пейзажа и иммунных клеток (CD4+, CD8+). В качестве группы сравнения выступали 57 пациентов, получавших только специфическую антиретровирусную терапию.

Исследовалось воздействие курса препаратов с *Saccharomyces Boulardii* на микробиоценоз кишечника, иммунные клетки и уровень вирусной нагрузки у пациентов этой группы. Обе группы пациентов были сравнимы по таким параметрам, как пол, возраст, стадия ВИЧ-инфекции, способы передачи инфекции и социальный статус. Учитывалась также степень нарушения микробного пейзажа кишечника у всех участников исследования.

После осуществления курса лечения энтеролом у исследуемых выявлена статистически важное снижение клинической картины дисбиоза. Было обследовано 117 пациентов с нарушениями микробного пейзажа кишечника и ВИЧ-инфекцией, средний возраст больных - $9,2 \pm 1,6$ лет. При распределении по возрастному составу согласно градации детского возраста по ВОЗ 76 (64,9%) составили дети младшего школьного возраста, 15 (12,8%) подросткового возраста, 15 (12,8%) дошкольного возраста и 11 (9,4%) пациенты раннего детского возраста. На рисунке 2.2 представлено разделение пациентов по гендерному признаку, из 117 пациентов – 89 (76,1%) мальчики и 28 (23,9%) девочки. Данный дисбаланс по гендерному признаку наблюдался на момент исследования и не связан с течением основного заболевания.

При сборе эпид. анамнеза и опросе у родителей или опекунов пациентов было выявлено следующее, 82(70,1%) указывают на парентеральный путь передачи ВИЧ инфекции и связывают инфицирование с ранее перенесенными операциями, посещениями стоматолога и другими парентеральными вмешательствами, у 8 (6,8%) пациентов у матерей подтвержден ВИЧ положительный статус и считают, что инфицирование произошло во время родов, у 27 (23%) пути передачи ВИЧ инфекции неизвестны.

При изучении степеней нарушения микробного пейзажа кишечника контингент пациентов распределился следующим образом, микробный пейзаж кишечника был нарушен у всех (117) пациентов и это подтверждено лабораторно, лен у всех больных, из них дисбиотические нарушения 1 степени отмечались - у 14(12%) пациентов, 2 степени - у 75 (64,1%), 3 степени - у 28 (23,9%).

На третьей стадии ВИЧ-инфекции мы проанализировали состояние 95 (81,1%) пациентов. Время с момента установления диагноза ВИЧ-инфекции до нашего обследования в среднем составило $3,6 \pm 0,64$ года. У большинства пациентов клинические симптомы проявились, ведущие к госпитализации через 3-14 дней после их появления. Самыми распространенными симптомами были лихорадка (97,1%), слабость (88,2%), снижение аппетита (61,8%), боли в животе (58,8%), тошнота (38,2%) и рвота (32,4%). У пациентов с третьей стадией ВИЧ-инфекции клиническая картина характеризовалась интоксикационным и диспептическим синдромами, у трети больных наблюдались респираторные проявления. Геморрагические симптомы были выявлены у 5 (14,7%) пациентов, при этом у 2 (5,9%) из них отмечались признаки желудочно-кишечного кровотечения.

У большинства пациентов, страдающих третьей стадией ВИЧ-инфекции, наблюдались следующие клинические диагнозы: хронический вирусный гепатит С (76,5%), хронический гастродуоденит (73,5%), хронический панкреатит (55,9%), анемия (50%), энцефалопатия смешанного происхождения (50%), энтеропатия (41,2%), хронический алкоголизм (41,2%), неопределенная пневмония (38,2%), кардиомиопатия (35,3%), полинейропатия (35,3%) и хронический бронхит (29,4%). Цирроз печени смешанной этиологии был выявлен у 20,6% пациентов, при этом у 17,6% развился асцит, а у 5,9% - острая печеночная энцефалопатия (ОПЭ).

Более половины пациентов (61,8%) периодически сталкивались с жидким стулом в последний год. У 44,1% пациентов стул имел жидкую консистенцию, у 38,2% - кашицеобразную, у 4,2% - был жидким, и у такого же процента были проблемы с запорами. Как показывают данные таблицы, основная часть обследованных имела проблемы с функционированием желудочно-кишечного тракта.

У группы данных пациентов были обнаружены случаи оппортунистических заболеваний в единичных проявлениях: у 3 (8,8%)

пациентов выявили Herpes simplex, у одного (2,9%) был диагностирован ангулярный хейлит, а у 2 (5,9%) пациентов была выявлена цитомегаловирусная инфекция (ЦМВ) - активная форма у одного и реактивная хроническая форма у другого. Лимфоаденопатия была обнаружена у 6 (17,6%) пациентов: у 3 (8,8%) из них отмечали периферическое увеличение лимфоузлов, у 2 (5,9%) - увеличение внутригрудных лимфоузлов (ВГЛУ), и у одного (2,9%) пациента - внутрибрюшных лимфоузлов (ВБЛУ).

Нехватка микрофлоры облигатного типа возмещалось повышением числа УПФ.

В 13.3% случаев, что составляет 8 человек отмечалось наличием стрептококков, стоит отметить, что в 3.3% случаев, что составляет 2 человека с концентрацией свыше $>10^7$ КОЕ/г. В 1.6% случаев, что равно 1 исследуемому отмечалось наличием золотистого стафилококка (10^{**} КОЕ/г). В 6.6% случаев, что составляет 4 случая отмечалось наличием патологического обсеменения клебсиеллами толстого кишечника ($10-10^0$ КОЕ/г). В 23.3% случаев, что составляет 14 человек отмечалось наличием Candida (10^2-10^4 КОЕ/г). Численная недостаточность базовой флоры оптимальной микрофлоры кишечника становилось причиной повышения числа УПФ. В 16.6% случаев, что составляет 10 человек, отмечалось повышение числа энтерококков, клебсиеллы и Candida.

В силу наличия численного отклонения оптимального состава микрофлоры кишечника отмечалось наличием выраженных перемен в качественном компоненте биоценоза, которым проявлялся уменьшением ферментативной экспрессии кишечной палочки, переменами в культурального типа, повышение числа УПФ. В каждом пятом случае, что равняется 12 человек отмечалось наличием эшерихии с гемолитической экспрессией, в 50% случаев данный бактерии имели высокие удельные значения и равнялись 10^7 и $>10^7$ КОЕ/г. В 5% случаев, что составляет 3 человека отмечалось наличием лактозно отрицательных эшерихии в числе 10^5 КОЕ/г со слабо проявляющимся ферментативным эффектом.

По итог, у лиц с наличием вируса иммунодефицита человека отмечалось наличием дисбаланса микрофлоры кишечника с уменьшение микрофлоры облигатного типа, отмечалась также перемена ее качественного состава и усиленным повышением числа УПФ.

Данное научное исследование выявило, что у большей части пациентов с III и IV-A стадиями ВИЧ-инфекции наблюдалось нарушение состава кишечной микрофлоры. Однако у части пациентов параметры клеточного иммунитета оставались в пределах нормы. У тех, кто находился на III стадии ВИЧ, у 22 пациентов (42,3%) количество CD4+ клеток оставалось на нормальном уровне, но у большинства из них отмечалось увеличение CD8+ клеток. Из 52 пациентов у 43 (82,6%) иммунорегуляторный индекс (CD4+/CD8+) был снижен. На IV-A стадии у большинства из 13 пациентов количество CD4+ клеток уменьшилось (76,9%), а количество CD8+ клеток увеличилось у 12 из 13 пациентов (92,3%).

В результате исследования, у 23 из 29 пациентов прекратились боли в животе, а у 5 из них они стали значительно меньше ($p < 0,01$). У 21 человека вздутие живота и частое отхождение газов прекратились или стали меньше беспокоить ($p < 0,05$), за исключением двух пациентов, у которых явления метеоризма сохранялись. В конце наблюдения жидкий стул остался только у одного из 19 пациентов ($p < 0,01$).

После завершения приема пробиотика у 10 пациентов полностью прекратилось проявление патологических симптомов, связанных с темным цветом кала, и у 9 из них исчез гнилостный запах кала. Значительное улучшение этих симптомов отмечено у 6 и 7 пациентов соответственно ($p < 0,05$). Также замечена тенденция к снижению числа людей, страдающих запорами и имеющих "овечий" стул, но из-за ограниченного размера выборки эти данные не имеют статистической значимости ($p > 0,05$).

При применении пробиотиков не регистрировались отягощения. Использование пробиотика привело к полному исчезновению дисбиоза у 8 пациентов (13,3%) согласно бактериологическим данным. У 48 больных было

замечено улучшение состава микрофлоры толстого кишечника ($p < 0,01$). Количество бифидобактерий восстановилось до уровня 107 КОЕ/г у 34 пациентов (56,6%), у еще 7 пациентов оно выросло ($p < 0,001$). Содержание лактозоположительных эшерихий нормализовалось у 40 пациентов ($p < 0,01$). Процент лактозонегативных кишечных палочек статистически значимо снизился ($p < 0,05$). Гемолитические кишечные палочки в разведении 10³-10⁴ были выявлены только у 2 пациентов ($p < 0,01$).

В результате применения пробиотика отмечено значительное снижение частоты обнаружения условно-патогенной микрофлоры ($p < 0,001$). Особенно высокая эффективность препарата проявилась при клебсиеллезных и кандидозных формах дисбиоза.

Только у трех (5%) пациентов не было существенного улучшения показателей количественного и качественного состава микрофлоры толстого кишечника после приема пробиотика.

Анализ состояния микробиоценоза толстого кишечника после окончания приема пробиотика показал наличие дисбактериоза у 52 из 60 пациентов с ВИЧ-инфекцией: у 42 (70%) – дисбактериоз 1 степени, у 6 (10%) – 2 степени и у 4 (6,6%) – 3 степени; у 8 (13,4%) пациентов был обнаружен нормомикробиоценоз.

Чтобы оценить влияние пробиотика на иммунитет, мы изучили динамику количества CD4⁺ клеток и индекса репродуктивной иммунности (ИРИ) в разные сроки после завершения курса приема пробиотика. Сразу после лечения параметры клеточного иммунитета были изучены у всех 60 пациентов, по прошествии 3 месяцев – у 52 человек, по прошествии полу года – у 48 и по прошествии 10 месяцев – у 30.

Из 48 пациентов, которые проходили наблюдение на протяжении полу года с момента завершения курса приема пробиотика, уровень CD4⁺ клеток значительно возрос после лечения и оставался стабильным через 3 месяца. Однако, к 6 месяцам после применения пробиотика он снизился до начального

уровня (до начала курса). Индекс репродуктивной иммунности (ИРИ) в процессе коррекции оставался статистически неизменным.

Уменьшение длительности основных клинических симптомов у пациентов в основной группе привело к сокращению средней продолжительности болезни до $5,3 \pm 0,8$ дня, в то время как в группе сравнения она составила $7,4 \pm 0,8$ дня.

Чем позже был прекращен прием препарата, тем более выраженными оказались дисбиотические нарушения микрофлоры кишечника, что было установлено в последующих наших исследованиях.

Таким образом, итоговая информация говорит о том, что «Энтерол» имеет позитивное влияние уменьшая силу синдрома диареи, а также оптимизируя критерии копрологического типа.

При применении пробиотика Энтерол не регистрировались негативные побочные реакции.

В заключении итоги проведенной научной работы доказывают, что прием энтерола у лиц детского возраста обеспечивает более позитивное течение патологии в силу уменьшения период оптимизации стула, и снижением встречаемости отягощений и их продолжительности.

ВЫВОДЫ

1. Отклонение оптимального состава микрофлоры кишечника свойственно лицам детского возраста с наличием вируса иммунодефицита человека на всех этапах его развития и не зависит от параллельно текущих патологий. У 79,1% больных детей происходит снижение удельного веса представителей эндогенной микрофлоры, преимущественно бифидобактерий, и увеличение доли микроорганизмов с большим патогенным потенциалом. Лица детского возраста с наличием вируса иммунодефицита человека на 2й и 4й стадии развития входят в группу риска по развитию инфекции оппортунистического типа как грибковой, так и бактериальной природы. Данное явление отмечается в силу повышенного содержания УПМ в просвете кишечника. Важно учитывать, что изменения в микрофлоре нарушений в ответ на иммунные изменения, вызванные ВИЧ, могут начаться раньше появления каких-либо клинических признаков. В связи с этим, вмешательство и коррекция состава микрофлоры необходимы еще до установления устойчивых патогенезов, которые выявлены на 2 и 4 стадиях заболевания.

2. Низкое содержание CD4-лимфоцитов, высокие показатели вирусной нагрузки ассоциированы с большей выраженностью дисбиотических изменений микрофлоры кишечника у детей с ВИЧ. Корреляционный анализ показал сильную и тесную связь уровня CD4-лимфоцитов со степенью дисбиоза: с 1 стадией ($r=-0,65$, $p<0,05$); с 2 стадией ($r=-0,81$, $p<0,05$); с 3 стадией ($r=-0,93$, $p<0,05$) и у детей без дисбиоза ($r=-0,55$, $p<0,05$).

3. Качественный анализ содержания ГДГ фекалий показал, что у детей с ВИЧ в 83,8% случаях (124 из 148 больных) установлено превышение показателей референтных значений, которое зависело от стадии заболевания. Так при 4 стадии ВИЧ у 80,0% детей отмечаются высокие показатели ГДК их среднее значение составило $9,6\pm 0,3$. При 2 и 3 стадиях ВИЧ в большинстве случаев регистрировалось умеренное содержание ГДГ (41,2% и 61,2%

соответственно). Также хочется отметить, что при 2 стадии ВИЧ у детей в 58,8% случаях были отмечены нормативные показатели, тогда как при 4 стадии референсные значения не фиксировались.

4. Факторами риска развитие токсигенной *C. Difficile* является утяжеление клинической стадии ВИЧ на фоне выраженной иммуносупрессии и высокой вирусной нагрузкой. В связи с чем присоединение токсигенной *C. Difficile* будет способствовать утяжелению клинического течения ВИЧ и будет требовать индивидуального подхода к лечению таких больных с включением в комплекс лечения пробиотиков.

5. Коррекция комплексной терапии с применением пробиотика Энтерол обеспечивает более оптимальное протекание патологии по клиническим характеристикам у детей (83,7%), снижая и выраженность диарейного синдрома (91,6%), и нормализуя копрологические показатели и уменьшению частоты осложнений (73,2%) по сравнению с группой сравнения. Энтерол также способствовал статистически достоверному снижению вирусной нагрузки.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ
ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдуллаходжаева М.С. Клинико-морфологическая характеристика ВИЧ/ СПИДа: материалы Международной практической конференции: "Современные проблемы аллергологии, иммунологии и геномных технологий" (18-19 сентября 2015 г.) / М. С. Абдуллаходжаева, Б. Х. Бабанов // Журнал теоретической и клинической медицины. - Ташкент, 2015. - N4. - С. 161-163.
2. Акимкин В.Г., Дисбиоз кишечника как фактор риска заболевания нозокомиальным сальмонеллезом. //Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. М.: 1997, № 3. С. 105-106.
3. Арискина М.А., Бронхиальная астма и дисбиоз кишечника. (Клинико-бактериологические и биохимические аспекты). Диссертация кандидата медицинских наук. Самара. 1999, 173 с.
4. Атабеков Н. С. Защита населения от заболевания ВИЧ/ СПИД в Республике Узбекистан: научное издание / Н. С. Атабеков // Организация и управление здравоохранением. - Ташкент, 2015. - Том 61 N7. - С. 42-48.
5. Атабеков Н. С. О выявляемости ВИЧ-инфекций в Узбекистане: материалы Международной практической конференции: "Современные проблемы аллергологии, иммунологии и геномных технологий" (18-19 сентября 2015 г.) / Н. С. Атабеков, Б. Д. Маткаримов // Журнал теоретической и клинической медицины. - Ташкент, 2015. - N4. - С. 163-165.
6. Атахажиев М. С. ОИВ инфекциясининг болаларда айрим клиник кечиш таснифи: научное издание / М. С. Атахажиев // Бюллетень ассоциации врачей Узбекистана. - Тошкент, 2016. - Том 83 N2. - С. 65-68.
7. Байжанов А. К. Эпидемиологическая ситуация по ВИЧ- инфекции в Республике Узбекистан: научное издание / А. К. Байжанов, Г. Х.

Ражабов // Медицинский журнал Узбекистана. - Тошкент, 2016. - N4. - С. 61-64.

8. Баранов А.А., Щербакова Э.Г., Дорофейчук В.Г. и др. Лизоцимосодержащие биосистемы для профилактики и лечения социально значимых болезней детского возраста. //Российский педиатрический журнал. 2000, № 4. С. 9-14.
9. Беклемешев Н.Д. Иммунология и иммунорегуляция. (При инфекциях, инвазиях и аллергиях). //М.: Медицина -1986. 126 с.
10. Белявская В. А., Касперова Т. А. Экспериментальное определение безопасности бактерий, полученных с помощью генной инженерии, с использованием интерферон-продуцирующего изменённого штамма *Bacillus subtilis*. //Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2001, № 2. С. 16-20.
11. Бюл Е.А., Куваева И.Б. Дисбиозы кишечника и их клиническое значение //Клиническая медицина - 1986.-П.-С. 37-44.
12. Бигон М., Харпер Дж., Таусенд К. Экология особи, популяции и сообщества. М.: 1989, т.1, 667с.
13. Билибин А. Ф. Дисбиоз и аутоинфекция и их значения в патологии человека и клинике // Клиническая медицина-1970.-Т.- 48. №. т 0.7-12.
14. Бондаренко В.М., Учайкин В.Ф., Мурашова А.О., и др. Дисбиоз: современные возможности профилактики и лечения. М.: АО "Партнер". 1994, 22 с.
15. Бондаренко В.М. Динамика формирования инфекционного очага в кишечнике //Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1998, №8. С.23—27.
16. Брондз Б.Д., Т-лимфоциты и их рецепторы в иммунологическом распознавании. / М.: Наука. -1987. - 470 с.
17. Бухарин О.В., Персистенция бактерий. М.: Медицина; Екатеринбург: УрО РАН.1999.-365с.

18. Бухарин О.В., Персистенция патогенных бактерий. М.: медицина, 1999, 366 с.
19. Бычкова С.В., Клиническая оценка пробиотика "Хилак форте" у недоношенных новорожденных в отделении реанимации. //Материалы Всероссийской научно-практической конференции "Перинатальная анестезиология, интенсивная терапия матери, плода и новорожденного". Сборник научных трудов. Екатеринбург. 1999, С. 295-299.
20. Верткин А.Л., Венгеров Ю.Я., Машарова А.А. и др. Дисбиоз кишечника. Методические рекомендации. М.: 1998, 33 с.
21. Верткин А.Л., Дисбиоз кишечника: патогенез и фармакотерапия. //Международный медицинский журнал. 1998, № 4. С. 27-29.
22. Воробьев А.А., Пак С.Г. Дисбиозы у детей. Учебное пособие для врачей и студентов. М.: КМК Лтд. 1998. 64 с.
23. Гильмутдинова Ф.Г., Третьяков А.А., Вальшев А.В. Дисбиоз у больных с хирургической патологией желчевыводящих путей. //Актуальные вопросы хирургии. Сборник научных работ фак. хирург, клиники, посвящ. 100-летию со дня рождения проф. Корабельникова И. Д. Челябинск, 1996. С. 36-40.
24. Говапо В.И. Иммунологические взаимоотношения организма и опухоли //Вопросы онкологии - 1975.- Т. 21. №. С. 93-102.
25. Гончарова Г.И., Дорофейчук В.Г., Смолянская А.З., Соколова К.Я. Микробная экология кишечника в норме и при патологии // Антибиотики. -1989.- № 6.- С. 462-465.
26. Гончарова Г.И., Семенова Л.П., Лянная А.М. и др. Бифидофлора человека, ее нормализующие и защитные функции // Антибиотики и медицинская биотехнология. М.: 1988.- № 3.- С. 179-183.
27. Гончарова Г.И., Соколова К.Я., Смолянская А.З., Дорофейчук В.Г. Микроэкология кишечника в норме и при патологии // Колонизационная резистентность и химиотерапевтические и

- антибактериальные препараты. Всесоюзный семинар. М.: 1988.- Ч.1.- С. 12-13.
28. Горская Е.М. Гнотобиологические исследования в определении колонизационной резистентности кишечника. //Антибиотики и химиотерапия. 1989, т. 34, № 3. С. 601-606.
 29. Грачева Н.М., Гаврилов А.Ф., Аваков А.А., Соловьева А.И. Новый отечественный препарат споробактерин в лечении больных острыми кишечными инфекциями и его влияние на состояние микрофлоры кишечника. //Медицинские аспекты микробной экологии. М.: 1994, вып. 7/8. Ч. 2. С. 214-216.
 30. Грачева Н.М., Гаврилов А.Ф., Поспелова В.В. и др. Новые биологические бактериальные препараты в лечении больных острыми кишечными инфекциями и их влияние на микрофлору кишечника. //В кн.: Актуальные вопросы инфекционной патологии. Сборник научных трудов межобластной научно-практической конференции. Иваново, 1994. С. 167-170.
 31. Грачева Н.М., Гончарова Г.И., Аваков А.А. и др. Применение бактериальных биологических препаратов в практике лечения больных кишечными инфекциями. Диагностика и лечение дисбиоза кишечника: метод, рекомендации. М., 1986, 28 с.
 32. Грачева Н.М., Ющук И.Д., Чупринина Р.П. и др. Дисбиозы кишечника, причины возникновения, диагностика, применение бактериальных биологических препаратов (Пособие для врачей и студентов). М.: 1999.-41-45 с.
 33. Григорьев П.Я., Яковенко Э.И. Нарушение нормального состава кишечной микрофлоры, клиническое значение и вопросы терапии. Методическое пособие Федерального гастроэнтерологического центра при МЗ Российской Федерации. М.: Комп. "Ферросан Интернейшнл А/С". 2000, 15 с.

34. Демина Г.А., Королева В.А. Анализ изменения в микрофлоре кишечника при исследованиях на дисбиоз за 1991-1995 годы. //Труды научно- практической конференции, посвященной 50-летию Федерального управления медико-биологических и экстремальных проблем при Минздраве Российской Федерации. М.: 1998. С. 340-342.
35. Довгополок Е. С. Эпидемическая ситуация по ВИЧ-инфекции в Сибирском федеральном округе в 2014 году: научное издание / Е. С. Довгополок, Л. В. Пузырева [и др.] // Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунобиологии. - М., 2016. - №2. - С. 37-41. - Библиогр.: 14 назв.
36. Евстифеева О.В. Глюкокортикоидная регуляция иммунитета и ее роль в лечении перитонита. Автореферат диссертации кандидата медицинских наук.- М.: 1996.
37. Егишян Р.Е. Дисбиоз тонкой кишки. //Нижегородский медицинский журнал. 1995, № 2-3. С. 104-111.
38. Есипов В.К., Полякова В.С., Есипов Д.В., Хотян А.Р. Патогенетические основы рациональной терапии распространенного перитонита. //Журнал: Анналы травматологии и ортопедии. Самара, 2001, № 2. С. 53-56.
39. Есипов Д.В., Кудашев С.Г. Коррекция синдрома энтеральной недостаточности при острой кишечной непроходимости. //Актуальные проблемы военной и практической медицины. Сборник трудов III научно-практической конференции врачей Приволжско-Уральского военного округа. Оренбург, 2002. С. 179-181.
40. Захаренко. С.М. Заболевания, ассоциированные с *Clostridium difficile* / С.М. Захаренко, С.В. Пономарев // Лечение и профилактика. — 2012. — Т. 3. № 4. — С. 82 — 89.
41. Захарова Ю. В. Характеристика структуры и биологических свойств стафилококков, выделенных от детей с ВИЧ-инфекцией : научное

- издание / Ю. В. Захарова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - М., 2014. - N5. - С. 3-7. - Библиогр.: 9 назв.
42. Иммуноферментная и ПЦР - диагностика ВИЧ - инфекции. Каталог «Вектор- Бест». М.: 2004.
 43. Истомина А.В. Кисломолочный бифидумбактерин: опыт применения, эффективность. //Народная медицина России: теория и практика. 1999. №3. С. 8-9.
 44. Йегер Л. Клиническая иммунология и аллергология, (в трех томах). 2-е издание, М.: -Медицина. -1992. -с. 17 - 140.
 45. Кадышев В.А. Профилактика синдрома гиперколонизации кишечника у новорожденных детей. Автореферат диссертации канд. мед. наук, Оренбург. 1999, 25 с.
 46. Калашникова С.А. Функциональная система "лизоцим-антилизоцим" в формировании микробиоценоза кишечника человека. Автореферат диссертации кандидата медицинских наук. Волгоград. 1999, 23 с.
 47. Калниязова И. Б. Эпидемиологические особенности распространения ВИЧ-инфекции среди трудовых мигрантов Республики Каракалпакстан: научное издание / И. Б. Калниязова, О. М. Митазаев [и др.] // Медицинский журнал Узбекистана. - Ташкент, 2015. - N2. - С. 104-106. - Библиогр.: 6 назв.
 48. Карасева Г.Н. Кишечный дисбиоз в патогенезе гастроэнтерологических заболеваний у детей и его коррекция. Диссертация кандидата медицинских наук. Горький. 1986, 189 с.
 49. Келина Т.Н., Мальцев С.В., Федоров Р.В. Дисбиоз кишечника и нарушение иммунного гомеостаза у часто и длительно болеющих детей. //Проблемы иммунологии и аллергии в детской гастроэнтерологии. Республиканский сборник научных работ под ред. А. И. Волкова. Нижний Новгород, 1991. С. 174-180.

50. Клемпарская И.Н., Трофимова Л.Я. Изменение микрофлоры кишечника у реконвалесцентов сальмонеллеза //Всесоюзный сборник научных работ. Куйбышев, 1979. С.72-73.
51. Копанев Ю.А., Кузьменко Л.Г. Особенности применения препаратов для микробиологической коррекции дисбиоза кишечника у детей. //Лечащий врач. 2000. N 5-6. С. 50-51.
52. Корвякова Е.Р. Дисбиоз кишечника после бактериальных инфекций и способы его коррекции: Автореф. дис. докт. мед. наук. - СПб., 2000. - 44с.
53. Корнева Т.К. Дисбиоз кишечника у проктологических больных: микробиологические аспекты. //Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии. 1999, т. 8, № 3. С. 55-60.
54. Коршунов В.М., Ефимов Б.А., Пикина А.П. Характеристика биологических препаратов и пищевых добавок для функционального питания и коррекции микрофлоры кишечника. //Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2000, № 3. С. 86-91.
55. Коршунов В.М., Пинегин Б.В. Новые подходы к проблеме регуляции микрофлоры кишечника // Вестн. АМН СССР. 1985.№10. С.66-73.
56. Коршунов В.М., Поташник Л.В., Ефимов Б.А., Коршунова О.В., Смянов В.В., К. Гуг, R. Frei. Качественный состав нормальной микрофлоры кишечника у лиц различных возрастных групп //Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 2001.- № 2. - С. 57-61.
57. Кравченко А.В., Юрин О.Г., Шахгильдян В.И. Показатели иммунитета у больных ВИЧ-инфекцией на разных стадиях заболевания // Эпидемиология и инфекционные болезни.- 1999.- № 3.- С. 50-54.
58. Красноголовец В.Н. Дисбиоз кишечника.- М.: медицина.-1989.- 207с.

59. Куваева И.Б. Характеристика функционального состояния микрoэкологической системы у детей в норме и при патологии // Сборник научных трудов. Теоретические и клинические аспекты науки о питании.-1985.- Т. 6.- С. 132-147.
60. Куваева И.Б., Ладодо КС. Микрoэкологические и иммунные нарушения у детей. М.: медицина, 1991.- 240 с.
61. Кузнецова Г.Г., 2002 год; Кузнецова, Г.Г. Об оценке состояния микробиоценоза толстой кишки. Материалы международной научно-практической конференции с междунар участием. -М., 2002. -С. 30 -31.
62. Кукулянский А.А., Соколовская А.Д., Гнатенко Т.В. Влияние антибиотиков на микрофлору кишечника у детей от 2 до 6 лет. //В сборнике: Материалы Научно-практической конференции, посвященные 10-летию Минского диагностического центра. Минск, 1999. С. 50-51.
63. Лебедева М.Н., Гончарова Г.И., Лизько Н.Н. Современные аспекты нормы и патологии кишечной микрофлоры // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. М.: 1974,- № 9.- С. 36- 41.
64. Ленцнер А.А., Ленцнер Х.П. Актуальные проблемы микрoэкологии человека // В сборнике: Аутофлора человека в норме и патологии и ее коррекция.- Горький, 1988.- С. 10 - 14.
65. Лизько Н. Н. Дисбиозы экстремальных состояний // Антибиотики и медицинская биотехнология. М.: 1987,- № 3.- С.184-186.
66. Лизько Н.Н., Шилов В.М. Современные представления о составе кишечной микрофлоры у здоровых взрослых людей //Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. М.: 1979.- № 2.-С. 36-41.
67. Линева З.Е. Дисбиоз кишечника и методы его коррекции у больных туберкулезом легких. Диссертация доктора медицинских наук, Якутск, 1995, 192 с.

68. Лобзин Ю.В., Жданов КВ. ВИЧ-инфекция / Руководство по инфекционным болезням. Ред. Лобзин Ю.В., Казанцев А.П. — СПб: Комета, 1996. - С.563-586.
69. Лобзин Ю.В., Корвякова Е.Р., Гордова Т.Н. Изменения иммунологических показателей в периоде отдаленной реконвалесценции после бактериальных инфекций // Тез. Докл. VI Росс.- Итал. науч. конф. «Инфекционные болезни: Диагностика, лечение, профилактика». СПб., 2000.-С. 139-140.
70. Лобзин Ю.В., Макарова В.Г., Корвякова Е.Р., Захаренко С.М. Дисбиоз кишечника: клиника, диагностика, лечение. Руководство для врачей. СПб, 2003.
71. Лобзин, Ю.В. Современные представления об инфекции *Clostridium difficile* / Ю.В. Лобзин. С.М. Захаренко. Г.А. Иванов // Клин, микроб, антимикроб. химиотер. — 2002. - Т. 4. №3. - С. 200-232;
72. Лопатина Т.К., Бляхер М.С., Николаенко В.Н. и др. Иммуномоделирующее действие эубиотиков при разных видах патологических состояний, сопровождающихся дисбиозом // Дисбиозы и эубиотики. М.: 1996.- С. 21.
73. Лопатина Т.К., Бляхер М.С., Николаенко В.Н. и др. Иммуномоделирующее действие препаратов-эубиотиков // Вестник РАМН.-М.: 1997.- № 3.- С. 30-34.
74. Лыкова Е.А. Микробиологические и иммунобиологические нарушения и обоснование применения пробиотиков при инфекционной патологии у детей. Автореферат диссертации доктора медицинских наук. М.: 2000, 44.
75. Лыкова Е.А., Мурашова А. О., Бондаренко В.М. и др. Нарушения микрофлоры кишечника и иммунитета у детей с аллергическими дерматитами и их коррекция. //Российский педиатрический журнал. 2000, № 2. С. 20-24.

76. Мазанкова Л.Н., Ваулина О.В. Новые лекарственные средства для коррекции дисбиотических нарушений. // Дет. доктор. 2000. № 3. С. 51-53.
77. Мазанкова Л.Н., Запруднов А.М. Микроэкология кишечника у детей в норме и при патологии. Российские медицинские вести. 1996, № 1, С. 34-43.
78. Малов, В.А. Роль *Clostridium difficile* в патологии человека / В.А. Малов, В.М. Бондаренко, С.Г. Пак // Журн. микробиол. 1996. №1. С. 91 -96.
79. Маркелов Ю. М. Эпидемиология, выявление и проблемы контроля коинфекции ВИЧ и туберкулеза в Республике Карелия: научное издание / Ю. М. Маркелов, Е. В. Пахомова // Российский медицинский журнал. - М., 2016. - Том XXII N6. - С. 305-310. - Библиогр.: 12 назв.
80. Марковская А.А., Захарова Ю.В., Леванова Л.А.// Проблемы медицинской микологии. - СПб., 2012. - Том 14 N2. - С. 108-109.
81. Матвеев С.А., Мазайшвили К.В. Дисбиоз кишечника у кардиохирургических больных. //Актуальные проблемы сердечно-сосудистой, легочной и абдоминальной хирургии. Сборник трудов научной конференции, посвященной 95-летию со дня рождения акад. РАМН Ф. Г. Углова. СПб, 1999, С. 96.
82. Маянский А.Н. Дисбиоз: иллюзии и реальность. //Нижегородский медицинский журнал. 1999, № 3. С. 80-90.
83. Михайлова Н.Р. Микробный биоценоз кишечника у больных ВИЧ-инфекцией и способ его коррекции, Автореферат диссертации кандидата медицинских наук, Оренбург – 2008.
84. Неъматова Н. Ў. ОИВ-инфекцияси эпидемиологиясининг ижтимоий мухитга оид омиллари : научное издание / Н. Ў. Неъматова, Н. С. Саидкасимова // Инфекция, иммунитет и фармакология. - Ташкент, 2017. - спец. выпуск. Часть 1. - С. 147-151.

85. Низамова С. А. Распространение и эпидемиологические критерии диагностики ВИЧ-инфекции в Узбекистане : научное издание / С. А. Низамова, И. А. Касимова // Инфекция, иммунитет и фармакология. - Ташкент, 2016. - N4. - С. 129-132.
86. Покровский В.В., Ермак Т.Н., Беляева В.В., Юрин О.Г. ВИЧ-инфекция: клиника, диагностика и лечение.-М.: издательский дом «ГЭОТАР- МЕД», 2003.
87. Покровский В.В., Юрин О.Г., Беляева В.В. Клиническая диагностика ВИЧ — инфекции. Практическое руководство. М.: 2002.
88. Самибаева У. Х. Клинико-эпидемиологическая характеристика больных с ВИЧ/ СПИД оппортунистическими инфекциями : научное издание / У. Х. Самибаева, С. К. Расулов, М. П. Кудратова, Ш. М. Набиева // Инфекция, иммунитет и фармакология. - Ташкент, 2015. - N5. - С. 257-262.
89. Худайкулова Г.К. Показатели физического и психического развития у детей с перинатальным путем инфицирования ВИЧ // Материалы международной научно- практической конференции «Актуальные вопросы профилактики передачи ВИЧ-инфекции от матери ребенку». Россия, Санкт-Петербург, 2016. - С. 205 - 208.
90. Юлдашев К. Х. ВИЧ-инфекция: что это такое история - эпидемиология, симптомы болезни: научное издание / К. Х. Юлдашев // Бюллетень ассоциации врачей Узбекистана. Ташкент, 2016. - N1. - С. 103-108.
91. Abange WB, Martin C, Nanfack AJ, Yatchou LG, Nusbacher N, Nguedia CA, et al. Alteration of the gut fecal microbiome in children living with HIV on antiretroviral therapy in Yaounde, Cameroon. *Sci Rep.* 2021;11(1):7666 pmid:33828220.
92. Antiretroviral therapy for HIV infection in infants and children in resource-limited settings: towards universal access. Recommendations for a public health approach. Geneva, World Health Organization, 2006.

93. Araujo-Perez F., McCoy AN., Okechukwu C et al. Differences in microbial signatures between rectal mucosal biopsies and rectal swabs. *Gut Microbes*. 2012, 3 (6): 530-535.
94. Atarashi K, Tanoue T, Oshima K, Suda W, Nagano Y, Nishikawa H, et al. Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. *Nature*. 2013;500(7461):232–6. pmid:23842501.
95. Barbut, F.; Petit, J.C. Epidemiology of Clostridium difficile-associated infections. *Clin. Microbiol. Infect.* 2021, 7, 405–410.
96. Bassetti M, Villa G, Pecori D, Arzese A, Wilcox M. Epidemiology, diagnosis and treatment of Clostridium difficile infection. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2012; 10: 1405-1423. pmid:23253319.
97. Beighton D., Al-Haboubi M., Mantzourani M et al. Oral bifidobacteria : Caries-associated bacteria in older adults. *J. Dental Research*. 2010, 9 (89): 970-974.
98. Bi X, Ishizaki A, Nguyen LV, Matsuda K, Pham HV, Phan CT, et al. Impact of HIV Infection and Anti-Retroviral Therapy on the Immune Profile of and Microbial Translocation in HIV-Infected Children in Vietnam. *Int J Mol Sci.* 2016;17(8).
99. Bondue P., Delcenserie V. Genome of Bifidobacteria and carbohydrate metabolism. *Korean J. Korean Journal for Food Science of Animal Resources*. 2015; 35(1): 1–9 doi: 10.5851/ kosfa.2015.35.1.1.
100. Bourke CD, Gough EK, Pimundu G, Shonhai A, Berejena C, Terry L, et al. Cotrimoxazole reduces systemic inflammation in HIV infection by altering the gut microbiome and immune activation. *Sci Transl Med.* 2019;11(486). pmid:30944164.
101. Brenchley JM, Paiardini M, Knox KS, Asher AI, Cervasi B, Asher TE, et al. Differential Th17 CD4 T-cell depletion in pathogenic and nonpathogenic lentiviral infections. *Blood*. 2008;112(7):2826–35. pmid:18664624.

102. Burgener A., McGowan I., Klatt N.R. HIV and mucosal barrier interactions: consequences for transmission and pathogenesis. *Current Opinion in Immunology*. 2015, 36: 22-30.
103. Burnham CA, Carroll KC. Diagnosis of *Clostridium difficile* infection: an ongoing conundrum for clinicians and for clinical laboratories. *Clin Microbiol Rev*. 2013; 26: 604-630. pmid:23824374.
104. Candela M., Guidotti M., Fabbri A. et al. Human intestinal microbiota: cross-talk with the host and its potential role in colorectal cancer. *Critical Reviews in Microbiology*. 2010, 1: 1-14.
105. Cecchinato V., Trindade CJ., Laurens A. et al. Altered balance between Th17 and Th1 cells at mucosal sites predicts AIDS progression in simian immunodeficiency virus-infected macaques. *Mucosal Immunology*. 2008, 1 (4): 279-288.
106. Chang, J.Y.; Antonopoulos, D.A.; Kalra, A.; Tonelli, A.; Khalife, W.T.; Schmidt, T.M.; Young, V.B. Decreased diversity of the fecal microbiome in recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *J. Infect. Dis*. 2018, 197, 435–438.
107. Cheng J-W, Xiao M, Kudinha T, Xu Z-P, Sun L-Y, Hou X, et al. (2015) The Role of Glutamate Dehydrogenase (GDH) Testing Assay in the Diagnosis of *Clostridium difficile* Infections: A High Sensitive Screening Test and an Essential Step in the Proposed Laboratory Diagnosis Workflow for Developing Countries like China. *PLoS ONE* 10(12): e0144604. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144604>.
108. *Clostridium difficile*, *Methods in Molecular Biology* / P. Mullany, A.P. Roberts (eds.) // Springer Science + Business Media. LLC. - 2010. - 646 p.
109. Crobach MJ, Dekkers OM, Wilcox MH, Kuijper EJ. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): data review and recommendations for diagnosing *Clostridium difficile*-infection (CDI). *Clin Microbiol Infect*. 2009; 15: 1053-1066. pmid: 19929972.

110. Culbreath K, Ager E, Nemeyer RJ, Kerr A, Gilligan PH. Evolution of testing algorithms at a university hospital for detection of *Clostridium difficile* infections. *J Clin Microbiol.* 2012; 50: 3073-3076. pmid:22718938.
111. Derrien M, Alvarez AS, de Vos WM. The Gut Microbiota in the First Decade of Life. *Trends Microbiol.* 2019;27(12):997–1010. pmid:31474424.
112. Dillon SM, Lee EJ, Kotter CV, Austin GL, Dong Z, Hecht DK, et al. An altered intestinal mucosal microbiome in HIV-1 infection is associated with mucosal and systemic immune activation and endotoxemia. *Mucosal Immunol.* 2014;7(4):983–94. pmid:24399150.
113. Dillona S.M., Daniel N. Franka D.N., Wilsona C.C. The gut microbiome and HIV-pathogenesis: a two-way street. *AIDS.* 2016, 30: 2737-2751.
114. Dinh D., Volpe G., Duffalo C. et al. Intestinal microbiota, microbial translocation and systemic inflammation in chronic HIV infection. *J. Infection Diseases.* 2015, 211: 19-27.
115. Dubberke, E.R.; Olsen, M.A. Burden of *Clostridium difficile* on the healthcare system. *Clin. Infect. Dis.* 2012, 55, S88–S92.
116. Dubourg G. Impact of HIV on the human gut microbiota: challenges and perspectives. *Human Microbiome J.* 2016, 2: 3-9.
117. Dubourg G. Microbiome of HIV-infected people. *Microbial Pathogenesis.* 2017, 106: 85-93.
118. Eastwood K, Else P, Charlett A, Wilcox M. Comparison of nine commercially available *Clostridium difficile* toxin detection assays, a real-time PCR assay for *C. difficile* tcdB, and a glutamate dehydrogenase detection assay to cytotoxin testing and cytotoxigenic culture methods. *J Clin Microbiol.* 2009; 47: 3211-3217. pmid:19710274.
119. Eberhardt K. A., Sarfo F.S., Dompok A. *Helicobacter pylori* coinfection is associated with decreased markers of immune activation in ART-naive HIV-positive and in HIV-negative individuals in Ghana. *Clinical Infectious Diseases.* 2015, 10 (61):1615-1623.

120. Flint HJ, Scott KP, Louis P, Duncan SH. The role of the gut microbiota in nutrition and health. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2012;9(10):577–89. pmid:22945443.
121. Flygel TT, Sovershaeva E, Classen-Weitz S, Hjerde E, Mwaikono KS, Odland JO, et al. Composition of gut microbiota of children and adolescents with perinatal HIV infection taking antiretroviral therapy in Zimbabwe. *J Infect Dis.* 2019.
122. Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, Endo TA, Nakato G, Takahashi D, et al. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature.* 2013;504(7480):446–50. pmid:24226770.
123. Furuya-Kanamori, L.; Marquess, J.; Yakob, L.; Riley, T.V.; Paterson, D.L.; Foster, N.F.; Huber, C.A.; Clements, A.C. Asymptomatic *Clostridium difficile* colonization: epidemiology and clinical implications. *BMC Infect. Dis.* 2015, 15, 516.
124. Goedert. J.J. Effects of HIV, immune deficiency, and confounding on the distal gut microbiota. *EBioMedicine.* 2016, 5: 14-15.
125. González-Hernández LA, Ruiz-Briseño MDR, Sánchez-Reyes K, Alvarez-Zavala M, Vega-Magaña N, López-Iñiguez A, et al. Alterations in bacterial communities, SCFA and biomarkers in an elderly HIV-positive and HIV-negative population in western Mexico. *BMC Infect Dis.* 2019;19(1):234. pmid:30845929.
126. Gough EK, Bourke CD, Berejena C, Shonhai A, Bwakura-Dangarembizi M, Prendergast AJ, et al. Strain-level analysis of gut-resident pro-inflammatory viridans group Streptococci suppressed by long-term cotrimoxazole prophylaxis among HIV-positive children in Zimbabwe. *Gut Microbes.* 2020;11(4):1104–15. pmid:32024435.
127. Griffiths D, Fawley W, Kachrimanidou M, Bowden R, Crook DW, Fung R, et al. Multilocus sequence typing of *Clostridium difficile*. *J Clin Microbiol.* 2010; 48: 770-778. pmid:20042623.

128. Harmsen HJ, Raangs GC, He T, Degener JE, Welling GW. Extensive set of 16S rRNA-based probes for detection of bacteria in human feces. *Appl Environ Microbiol.* 2002;68(6):2982–90. pmid:12039758.
129. Hasegawa S, Goto S, Tsuji H, Okuno T, Asahara T, Nomoto K, et al. Intestinal Dysbiosis and Lowered Serum Lipopolysaccharide-Binding Protein in Parkinson's Disease. *PLoS One.* 2015;10(11):e0142164. pmid:26539989.
130. Hensley-McBain T., Zevin A., Manuzak J. et al. Effects of fecal microbial transplantation on microbiome and immunity in simian immunodeficiency virus-infected macaques. *J. Virology.* 2016, 10 (90): 4981-4989.
131. Hunt PW, Martin JN, Sinclair E, Brecht B, Hagos E, Lampiris H, et al. T cell activation is associated with lower CD4+ T cell gains in human immunodeficiency virus-infected patients with sustained viral suppression during antiretroviral therapy. *J Infect Dis.* 2003;187(10):1534–43. pmid:12721933.
132. Hunt PW. Th17, gut, and HIV: therapeutic implications. *Curr Opin HIV AIDS.* 2010;5(2):189–93. pmid:20543599.
133. Imahashi M, Ode H, Kobayashi A, Nemoto M, Matsuda M, Hashiba C, et al. Impact of long-term antiretroviral therapy on gut and oral microbiotas in HIV-1-infected patients. *Sci Rep.* 2021;11(1):960. pmid:33441754.
134. Ishizaki A, Bi X, Nguyen LV, Matsuda K, Pham HV, Phan CTT, et al. Effects of Short-Term Probiotic Ingestion on Immune Profiles and Microbial Translocation among HIV-1-Infected Vietnamese Children. *Int J Mol Sci.* 2017;18(10). pmid:29048352.
135. Ivan Vujkovic-Cvijin, Richard M Dunham, Shoko Iwai, Michael C Maher, Rebecca G Albright, Mara J Broadhurst, Ryan D Hernandez, Michael M Lederman, Yong Huang, Ma Somsouk, Steven G Deeks, Peter W Hunt, Susan V Lynch, Joseph M McCune Dysbiosis of the gut microbiota is associated with HIV disease progression and tryptophan catabolism *Sci*

136. Jarrad, A.M.; Karoli, T.; Blaskovich, M.A.; Lyras, D.; Cooper, M.A. Clostridium difficile drug pipeline: Challenges in discovery and development of new agents. *J. Med. Chem.* 2015, 58, 5164–5185.
137. Jenabian M., El-Far M., Vyboh K. et al. Immunosuppressive tryptophan catabolism and gut mucosal dysfunction following early HIV infection. *J. Infection Disease.* 2015, 3 (212): 355- 366.
138. Kamada N, Nunez G. Regulation of the immune system by the resident intestinal bacteria. *Gastroenterology.* 2014;146(6):1477–88. pmid:24503128.
139. Kamada N, Seo SU, Chen GY, Núñez G. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. *Nat Rev Immunol.* 2013;13(5):321–35. pmid:23618829.
140. Kaur US, Shet A, Rajnala N, Gopalan BP, Moar P, D H, et al. High Abundance of genus Prevotella in the gut of perinatally HIV-infected children is associated with IP-10 levels despite therapy. *Sci Rep.* 2018;8(1):17679. pmid:30518941.
141. Kim H, Kim WH, Kim M. Jeong SH, Lee K. Evaluation of a rapid membrane enzyme immunoassay for the simultaneous detection of glutamate dehydrogenase and toxin for the diagnosis of Clostridium difficile infection. *Ann Lab Med.* 2014; 34: 235-239. pmid:24790912.
142. Kinter A, McNally J, Riggin L, Jackson R, Roby G, Fauci AS. Suppression of HIV-specific T cell activity by lymph node CD25+ regulatory T cells from HIV-infected individuals. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(9):3390–5. pmid:17360656.
143. Kiu R, Hall LJ. An update on the human and animal enteric pathogen Clostridium perfringens. *Emerg Microbes Infect.* 2018;7(1):141. pmid:30082713.

144. Koenig JE, Spor A, Scalfone N, Fricker AD, Stombaugh J, Knight R, et al. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108 Suppl 1:4578–85. pmid:20668239.
145. Kurakawa T, Kubota H, Tsuji H, Matsuda K, Asahara T, Takahashi T, et al. Development of a sensitive rRNA-targeted reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction for detection of *Vibrio cholerae/mimicus*, *V. parahaemolyticus/alginolyticus* and *Campylobacter jejuni/coli*. *Microbiol Immunol*. 2012;56(1):10–20. pmid:22146006.
146. Kutikhin A.G., Yuzhalin A.E., Brusina E.B. Infectious agents and cancer. Germany: Springer, 2013.
147. Kyne, L.; Warny, M.; Qamar, A.; Kelly, C.P. Asymptomatic carriage of *Clostridium difficile* and serum levels of IgG antibody against toxin A. *N. Engl. J. Med*. 2010, 342, 390–397.
148. Kyosiimire-Lugemwa J, Anywaine Z, Abaasa A, Levin J, Gombe B, Musinguzi K, et al. Effect of Stopping Cotrimoxazole Preventive Therapy on Microbial Translocation and Inflammatory Markers Among Human Immunodeficiency Virus-Infected Ugandan Adults on Antiretroviral Therapy: The COSTOP Trial Immunology Substudy. *J Infect Dis*. 2020;222(3):381–90. pmid:31714954.
149. Lalande V, Barrault L, Wadel S, Eckert C, Petit JC, Barbut F. Evaluation of a loop-mediated isothermal amplification assay for diagnosis of *Clostridium difficile* infections. *J Clin Microbiol*. 2011; 49: 2714-2716. pmid:21525213.
150. Lessa, F.C.; Mu, Y.; Bamberg, W.M.; Beldavs, Z.G.; Dumyati, G.K.; Dunn, J.R.; Farley, M.M.; Holzbauer, S.M.; Meek, J.I.; Phipps, E.C.; et al. Burden of *Clostridium difficile* infection in the United States. *N. Engl. J. Med*. 2015, 372, 825–834.
151. Ley RE, Peterson DA, Gordon JI. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell*. 2006;124(4):837–48. pmid:16497592.

152. Linda Chia-Hui Yu, Jin-Town Wang, Shu-Chen Wei, and Yen-Hsuan Ni
Host-microbial interactions and regulation of intestinal epithelial barrier
function: From physiology to pathology *World J Gastrointest Pathophysiol.*
2012 Feb 15; 3(1): 27–43. Published online 2012 Feb 15. doi: 10.4291/wjgp.
v3. i1.27.
153. Littman D.R., Rudensky AY. Th17 and regulatory T cells in mediating and
restraining inflammation. *Cell.* 2010, 6 (140): 845-858.
154. Lozupone C. A., Rhodes M., Neff C. et al. HIV-induced alteration in gut
microbiota: driving factors, consequences and effects of antiretroviral
therapy. *Gut Microbes.* 2014, 4 (5): 562- 570.
155. Lozupone C.A., Li M., Campbell T.B. et al. Alterations in the gut microbiota
associated with HIV-1 infection. *Cell Host and Microbe.* 2013, 14: 329-339.
156. Lyytikäinen, O. Hospitalizations and deaths associated with *Clostridium*
difficile infection. Finland. 1996 — 2004 / O. Lyytikäinen [et al.] // *Emerg.*
Infect. Dis. — 2009. — V. 15. - P. 761 -765.
157. Ma W., Zhang L., Zeng P. et al. An analysis of human microbe-disease
associations. *Briefings in Bioinformatics.* 2017, 18 (1): 85-97.
158. Machiavelli A, Duarte RTD, Pires MMS, Zárata-Bladés CR, Pinto AR. The
impact of in utero HIV exposure on gut microbiota, inflammation, and
microbial translocation. *Gut Microbes.* 2019;10(5):599–614.
pmid:30657007.
159. Maecker HT, McCoy JP, Nussenblatt R. Standardizing
immunophenotyping for the Human Immunology Project. *Nat Rev*
Immunol. 2012;12(3):191–200. pmid:22343568.
160. Manner I., Baekken M., Klave D. et al. Markers of microbial translocation
predict hypertension in HIV-infected individuals. *HIV Medicine.* 2013, 6
(14): 354-361.
161. Mariat D, Firmesse O, Levenez F, Guimaraes V, Sokol H, Dore J, et al. The
Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age.
BMC Microbiol. 2009; 9:123. pmid:19508720.

162. Maslowski KM, Mackay CR. Diet, gut microbiota and immune responses. *Nat Immunol.* 2011;12(1):5–9. pmid:21169997.
163. Matsuda K, Tsuji H, Asahara T, Matsumoto K, Takada T, Nomoto K. Establishment of an analytical system for the human fecal microbiota, based on reverse transcription-quantitative PCR targeting of multicopy rRNA molecules. *Appl Environ Microbiol.* 2009;75(7):1961–9. pmid:19201979.
164. Matsuda K, Tsuji H, Asahara T, Takahashi T, Kubota H, Nagata S, et al. Sensitive quantification of *Clostridium difficile* cells by reverse transcription-quantitative PCR targeting rRNA molecules. *Appl Environ Microbiol.* 2012;78(15):5111–8. pmid:22582062.
165. Matsuki T, Watanabe K, Fujimoto J, Takada T, Tanaka R. Use of 16S rRNA gene-targeted group-specific primers for real-time PCR analysis of predominant bacteria in human feces. *Appl Environ Microbiol.* 2004;70(12):7220–8. pmid:15574920.
166. McHardy I.H., Li X., Tong M. et al. HIV infection is associated with compositional and functional shifts in the rectal mucosal microbiota. *Microbiome.* 2013, 1 (1): 26.
167. McHardy IH, Li X, Tong M, Ruegger P, Jacobs J, Borneman J, et al. HIV Infection is associated with compositional and functional shifts in the rectal mucosal microbiota. *Microbiome.* 2013;1(1):26. pmid:24451087.
168. Mehandru S, Poles MA, Tenner-Racz K, Horowitz A, Hurley A, Hogan C, et al. Primary HIV-1 infection is associated with preferential depletion of CD4+ T lymphocytes from effector sites in the gastrointestinal tract. *J Exp Med.* 2004;200(6):761–70. pmid:15365095.
169. Miller LS, Cho JS. Immunity against *Staphylococcus aureus* cutaneous infections. *Nature Reviews Immunology.* 2011;11(8):505–518. pmid:21720387.
170. Mody L.R., Smith S.M., Dever L.L. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a VA medical center: clustering of cases, association with

antibiotic usage, and impact on HIV-infected patients. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001; 22:42-5.

171. Monaco C.L., Gootenberg D.B., Zhao G. et al. Altered virome and bacterial microbiome in Human immunodeficiency virus-associated acquired immunodeficiency syndrome. *Cell Host and Microbe*. 2016, 19: 311-322.
172. Monteiro CRAV, do Carmo MS, Melo BO, Alves MS, Dos Santos CI, Monteiro SG, et al. In Vitro Antimicrobial Activity and Probiotic Potential of. *Nutrients*. 2019;11(2). pmid:30795551.
173. Mudd J.C., Brenchley J.M. Gut mucosal barrier dysfunction, microbial dysbiosis, and their role in HIV-1 disease progression. *J. Infectious Diseases*. 2016, 214 (suppl 2): 58-66.
174. Munier A., V.de Lastours, Porcher R. et al. Risk factors for invasive pneumococcal disease in HIV-infected adults in France in the highly active antiretroviral therapy era. *International J. Sexually-Transmitted Diseases and AIDS*. 2014, 14 (25): 1022-1028. 109.
175. Nguyen DT, Van Hoorde K, Cnockaert M, De Brandt E, Aerts M, Binh Thanh L, et al. A description of the lactic acid bacteria microbiota associated with the production of traditional fermented vegetables in Vietnam. *Int J Food Microbiol*. 2013;163(1):19–27. pmid:23500611.
176. Noguera-Julian M., Rocafort M., Guillén Y. et al. Gut microbiota linked to sexual preference and HIV infection. *EBioMedicine*. 2016, 5:135-146.
177. Novak-Weekley SM, Marlowe EM, Miller JM, Cumpio J, Nomura JH, Vance PH, et al. Clostridium difficile testing in the clinical laboratory by use of multiple testing algorithms. *J Clin Microbiol*. 2010; 48: 889-893. pmid:20071552.
178. Nowak P., Troseid M., Avershina E. et al. Gut microbiota diversity predicts immune status in HIV-1 infection. *AIDS*. 2015, 18 (29): 2409-2418.
179. Ozaki, E.; Kato, H.; Kita, H.; Karasawa, T.; Maegawa, T.; Koino, Y.; Matsumoto, K.; Takada, T.; Nomoto, K.; Tanaka, R.; et al. Clostridium difficile colonization in healthy adults: transient colonization and

- correlation with enterococcal colonization. *J. Med. Microbiol.* 2014, 53, 167–172.
180. Patel A. R., Shaha N.P., Prajapatia J.B. Immunomodulatory effects of probiotics in the treatment of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Biomedicine and Preventive Nutrition.* 2014; 4(1): 81–84 doi: 10.1016/j.bionut.2013.04.003.
181. Pérez-Cobas, A.E.; Moya, A.; Gosalbes, M.J.; Latorre, A. Colonization resistance of the gut microbiota against *Clostridium difficile*. *Antibiotics* 2015, 4, 337–357.
182. Perez-Santiago J., Gianella S., Massanella M. et al. Gut Lactobacillales are associated with higher CD4 and less microbial translocation during HIV infection. *AIDS.* 2013, 12 (27): 1921- 1931.
183. Persson S, Torpdahl M, Olsen KE. New multiplex PCR method for the detection of *Clostridium difficile* toxin A (tcdA) and toxin B {tcdB) and the binary toxin (cdtA'cdtB) genes applied to a Danish strain collection. *Clin Microbiol Infect.* 2008; 14: 1057-1064. pmid: 19040478.
184. Pinto-Cardoso S, Klatt NR, Reyes-Terán G. Impact of antiretroviral drugs on the microbiome: unknown answers to important questions. *Curr Opin HIV AIDS.* 2018;13(1):53–60. pmid:29028667.
185. Poutanen, S.M.; Simor, A.E. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults. *Can. Med. Assoc. J.* 2014, 171, 51–58.
186. Preziosi M.J., Kandel S.M., Guiney D.G. et al. Microbiological analysis of nontyphoidal *Salmonella* strains causing distinct syndromes of bacteremia or enteritidis in HIV/AIDS patients in San Diego, California. *J. Clinical Microbiology.* 2012, 11 (50): 3598-3603.
187. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature.* 2010;464(7285):59–65. pmid:20203603.
188. Ringel-Kulka T, Cheng J, Ringel Y, Salojarvi J, Carroll I, Palva A, et al. Intestinal microbiota in healthy U.S. young children and adults—a high

- throughput microarray analysis. *PLoS One*. 2013;8(5):e64315. pmid:23717595.
189. Sakaguchi S, Saito M, Tsuji H, Asahara T, Takata O, Fujimura J, et al. Bacterial rRNA-targeted reverse transcription-PCR used to identify pathogens responsible for fever with neutropenia. *J Clin Microbiol*. 2010;48(5):1624–8. pmid:20351213.
 190. Sandler N.G., Douek D.C. Microbial translocation in HIV infection: causes, consequences and treatment opportunities. *Nature Reviews Microbiology*. 2012, 9 (10): 655-666.
 191. Schmidt ML, Gilligan PH. Clostridium difficile testing algorithms: what is practical and feasible? *Anaerobe*. 2009 Dec;15(6):270-3. doi: 10.1016/j.anaerobe.2009.10.005. Epub 2009 Oct 22. PMID: 19853666.
 192. Sengupta S, Siliciano RF. Targeting the Latent Reservoir for HIV-1. *Immunity*. 2018;48(5):872–95. pmid:29768175.
 193. Serrano-Villar S, Rojo D, Martínez-Martínez M, Deusch S, Vázquez-Castellanos JF, Bargiela R, et al. Gut Bacteria Metabolism Impacts Immune Recovery in HIV-infected Individuals. *EBioMedicine*. 2016; 8:203–16. pmid:27428431.
 194. Singh RK, Chang HW, Yan D, Lee KM, Ucmak D, Wong K, et al. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *J Transl Med*. 2017;15(1):73. pmid:28388917.
 195. Sinha A., Ma Y., Scherzer R. et al. Association of gut microbiota dependent metabolites and atherosclerosis in HIV. *J. American College of Cardiology*. 2016, 67 (13): 2240.
 196. Soler. P. Rates of Clostridium difficile infection in patients discharged from Spanish hospitals. 1997 — 2005 in *The Netherlands* / P. Soler. F. Nogareda. R. Cano // *Clin. Infect. Dis.* — 2007. - V.45. - P. 695-703.
 197. Stewart CJ, Ajami NJ, O’Brien JL, Hutchinson DS, Smith DP, Wong MC, et al. Temporal development of the gut microbiome in early childhood from the TEDDY study. *Nature*. 2018;562(7728):583–8. pmid:30356187.

198. Stiksrud S., Nowak P., Nwosu F.C. et al. Reduced levels of D-dimer and changes in gut microbiota composition after probiotic intervention in HIV-infected individuals on stable ART. *J. Acquired Immune Deficiency Syndromes*. 2015, 4 (70): 329-337.
199. Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, Ananthakrishnan AN, Curry SR, Gilligan PH, et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *Am J Gastroenterol*. 2013; 108: 478-498. pmid:23439232.
200. Surono IS, Widiyanti D, Kusumo PD, Venema K. Gut microbiota profile of Indonesian stunted children and children with normal nutritional status. *PLoS One*. 2021;16 (1):e0245399. pmid:33497390
201. Team R. R:A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing Vienna, Austria; 2018. <https://www.r-project.org>.
202. Telesford KM, Yan W, Ochoa-Reparaz J, Pant A, Kircher C, Christy MA, et al. A commensal symbiotic factor derived from *Bacteroides fragilis* promotes human CD39(+)Foxp3(+) T cells and Treg function. *Gut Microbes*. 2015;6(4):234–42. pmid:26230152.
203. Theriot, C.M.; Young, V.B. Interactions between the gastrointestinal microbiome and *Clostridium difficile*. *Annu. Rev. Microbiol*. 2015, 69, 445–461.
204. Ticehurst JR, Aird DZ, Dam LM, Borek AP, Hargrove JT, Carroll KC. Effective detection of toxigenic *Clostridium difficile* by a two-step algorithm including tests for antigen and cytotoxin. *J Clin Microbiol*. 2006. 44: 1145-1149. pmid:16517916
205. Tsuji H, Matsuda K, Nomoto K. Counting the Countless: Bacterial Quantification by Targeting rRNA Molecules to Explore the Human Gut Microbiota in Health and Disease. *Front Microbiol*. 2018; 9:1417. pmid:30008707.

206. Vázquez-Castellanos JF, Serrano-Villar S, Latorre A, Artacho A, Ferrús ML, Madrid N, et al. Altered metabolism of gut microbiota contributes to chronic immune activation in HIV-infected individuals. *Mucosal Immunol.* 2015;8(4):760–72. pmid:25407519.
207. Veazey RS, DeMaria M, Chalifoux LV, Shvetz DE, Pauley DR, Knight HL, et al. Gastrointestinal tract as a major site of CD4+ T cell depletion and viral replication in SIV infection. *Science.* 1998;280(5362):427–31. pmid:9545219.
208. Villanueva-Millan MJ, Perez-Matute P, Recio-Fernandez E, Lezana Rosales JM, Oteo JA. Differential effects of antiretrovirals on microbial translocation and gut microbiota composition of HIV-infected patients. *J Int AIDS Soc.* 2017;20(1):21526. pmid:28362071.
209. Yang L., Poles M., Fisch G.S. et al. HIV-induced immunosuppression is associated with colonization of the proximal gut by environmental bacteria. *AIDS.* 2016, 1 (30): 19-29.
210. Yatsunencko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature.* 2012;486(7402):222–7 pmid:22699611.
211. Yu G., Fadrosch D., Ma B. et al. Anal microbiota profiles in HIV-positive and HIV-negative MSM. *AIDS.* 2014, 5 (28): 753-760.
212. Zheng D, Liwinski T, Elinav E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Res.* 2020;30(6):492–506. pmid:32433595.
213. Zhou Y, Ou Z, Tang X, Zhou Y, Xu H, Wang X, et al. Alterations in the gut microbiota of patients with acquired immune deficiency syndrome. *J Cell Mol Med.* 2018;22(4):2263–71. pmid:29411528.
214. Zilberberg. M.D. Clostridium difficile Infections among Hospitalized Children, United States. 1997 — 2006 / M.D. Zilberberg. G.S. Tillotson. L.C. McDonald // *Emerg. Infect. Dis.* — April 2010. - V. 16. № 4. - P. 604 – 609.

215. Zilberman-Schapira G., Zmora N., Itav N. S. et al. The gut microbiome in human immunodeficiency virus infection. *BMC Medicine*. 2016, 1 (14): 83.