

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ДЕТСКИЙ НАУЧНО-КЛИНИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ
ФЕДЕРАЛЬНОГО МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА»

На правах рукописи

ЕРМОЛЕНКО Константин Дмитриевич

**КАМПИЛОБАКТЕРИОЗ У ДЕТЕЙ:
ДИАГНОСТИКА, КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА И ПЕРСОНИФИЦИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ**

3.1.22. Инфекционные болезни

Диссертация
на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научный консультант:
Лобзин Юрий Владимирович
доктор медицинских наук,
профессор, академик РАН

Санкт–Петербург — 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	16
1.1 Микробиологическая характеристика кампилобактерий	17
1.2 Генетическая структура и факторы патогенности кампилобактерий	22
1.3 Эпидемиология кампилобактериоза у детей.....	29
1.4 Методы лабораторной диагностики кампилобактериоза	36
1.5 Особенности клинического течения кампилобактериоза в детском возрасте..	40
1.6 Влияние микробиоценоза кишечника и иммунного реагирования макроорганизма на течение кампилобактериоза	45
1.7 Современные подходы к терапии кампилобактериоза у детей.....	54
1.8 Возможность формирования осложнений, механизмы и структура неблагоприятных исходов кампилобактериоза	63
Глава 2. ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	70
2.1 Общая характеристика исследуемых групп и дизайн исследования.....	70
2.1.1 Клинические и лабораторные исследования и оценка исходов кампилобактериоза	71
2.1.2 Оценка эффективности различных схем лекарственной терапии кампилобактериоза	74
2.1.3 Оценка эффективности персонифицированной симбионтной терапии кампилобактериоза	76
2.1.4 Изучение частоты диагностирования кампилобактериоза в структуре острых кишечных инфекций с синдромом геморрагического колита у детей	78
2.1.5 Экспериментальные модели изучения кампилобактериоза	79
2.2 Иммунологические методы исследования	83
2.2.1 Иммунологические методы диагностики кампилобактериоза.....	83
2.2.2 Методы серотипирования <i>C. jejuni</i>	83
2.2.3 Изучение параметров иммунного ответа организма при кампилобактериозе	84
2.3 Культуральные методы исследований.....	85
2.3.1 Бактериологическая диагностика кампилобактериоза	85

2.3.2	Определение резистентности кампилобактерий к антибактериальным препаратам.....	86
2.4	Молекулярно-генетические методы	87
2.4.1	Оценка микробиоценоза кишечника.....	87
2.4.2	Генотипирование и анализ антибиотикорезистентности и вирулентности штаммов кампилобактерий.....	88
2.5	Технология персонифицированной аутопробиотической терапии	89
2.6	Методы статистической обработки результатов	90
Глава 3. ДИАГНОСТИКА И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КАМПИЛОБАКТЕРИЙ К ТЕРАПЕВТИЧЕСКИМ СРЕДСТВАМ		94
3.1	Сравнительная оценка диагностической эффективности методов идентификации кампилобактерий	94
3.2	Исследование чувствительности штаммов <i>Campylobacter</i> spp. к антибактериальным препаратам.....	106
3.3	Исследование антагонистической активности пробиотиков, аутопробиотиков при кампилобактериозе.....	111
3.4	Исследование антагонизма пробиотиков в отношении кампилобактерий <i>in vivo</i>	118
3.5	Изучение фенотипических и генотипических свойств штаммов кампилобактерий	122
Глава 4. КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КАМПИЛОБАКТЕРИОЗА		136
4.1	Клинико-эпидемиологическая характеристика	136
4.2	Изменения лабораторных показателей.....	149
4.3	Микробиоценоз кишечника	160
4.4	Особенности иммунного ответа	172
4.5	Клинико-лабораторные показатели кампилобактериоза в зависимости от этиологии заболевания	178
Глава 5. ТАКТИКА ТЕРАПИИ КАМПИЛОБАКТЕРИОЗА У ДЕТЕЙ		185
5.1	Сравнение эффективности различных схем лекарственной терапии.....	185
5.2	Факторы риска негладкого течения кампилобактериоза.....	191

5.3 Персонафицированная симбионтная терапия детей с негладким течением кампилобактериоза	197
Глава 6. ПРОГНОЗИРОВАНИЕ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ИСХОДОВ И ТАКТИКА ДИСПАНСЕРНОГО НАБЛЮДЕНИЯ ДЕТЕЙ.....	205
6.1 Результаты катамнестического наблюдения пациентов, перенесших кампилобактериоз.....	205
6.2 Прогнозирование функциональных расстройств органов пищеварения у детей после кампилобактериоза	213
6.3 Персонафицированная симбионтная терапия детей с функциональными расстройствами органов пищеварения после кампилобактериоза	225
ОБСУЖДЕНИЕ.....	232
ВЫВОДЫ	250
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	253
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	255
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	258

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Кампилобактериоз является одной из наиболее значимых и распространенных острых кишечных инфекций (ОКИ) [86]. При надлежащей диагностике данное заболевание выявляется у 5–22 % больных ОКИ [185]. Частота диагностики кампилобактериоза среди пациентов детского возраста значительно выше, чем у взрослых [38, 282]. Описаны пищевые и водные вспышки заболевания [112, 158], а также очаги внутрибольничного инфицирования новорожденных детей [235, 246]. Кампилобактерии входят в число возбудителей «диарей путешественников» [15, 296].

Уровень заболеваемости данной инфекцией в странах Западной Европы составляет 64,8 на 100 000 населения [164, 169]. Данные о заболеваемости кампилобактериозом в Российской Федерации разрозненны и не позволяют дать полную эпидемиологическую оценку ситуации [11, 185]. В настоящий момент происходит быстрое накопление данных, свидетельствующих о значительном распространении кампилобактериоза во многих регионах [8, 19, 20, 32]. По данным ряда исследований частота кампилобактериоза может достигать 12–33 % от общего числа ОКИ [24]. Низкая частота регистрации данного заболевания определяется в первую очередь ограничениями в использовании методов целенаправленного выявления кампилобактерий, не определяемых при рутинном обследовании [12, 24].

Имеющие значение в клинической практике виды кампилобактерий: *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter lariidis*, *Campylobacter fetus* — изучаются уже длительное время, однако лабораторная идентификация кампилобактерий по-прежнему представляет значительные трудности. Несмотря на разработку комплекса мер, повышающих вероятность выделения культур кампилобактерий, в диагностике наиболее часто применяются иммунологические

и молекулярно-генетические методы детекции, не позволяющие определять чувствительность возбудителя к лекарственным препаратам [221].

Объяснить многообразие клинических вариантов кампилобактериоза штаммовыми особенностями возбудителя или сочетанием определенных факторов вирулентности на сегодняшний день не представляется возможным [185]. В определении тяжести и клинического варианта течения кампилобактериоза важную роль наравне со свойствами самого возбудителя играют особенности макроорганизма и комменсальной микрофлоры кишечника, которые требуют дальнейшего изучения.

За последние несколько десятилетий регистрируется значительный рост устойчивости штаммов *Campylobacter* spp. к противомикробным препаратам, в первую очередь, к макролидам и фторхинолонам [67, 154, 239], что во многом обусловлено широким использованием данных антибиотиков в ветеринарии и медицине [205]. Это свидетельствует о необходимости как постоянного мониторинга антибиотикорезистентности кампилобактерий, так и поиска новых подходов к терапии. Возможными механизмами преодоления данных трудностей является не только рациональное назначение антибиотиков, но также активное применение пробиотиков и аутопробиотиков [255, 266, 271], обладающих антагонистическим действием по отношению к кампилобактериям [64, 122]. Выбор наиболее эффективного этиотропного препарата в комплексе с дифференцированным подходом к назначению средств патогенетической терапии при кампилобактериозе необходим для элиминации возбудителя и профилактики негладкого течения и затяжного бактериовыделения. Однако методика подбора персонализированной терапии с учетом чувствительности возбудителя и индивидуальных особенностей организма ребенка на данный момент не разработана.

Недостаточно изученной в настоящее время остается частота развития отдаленных неблагоприятных исходов кампилобактериоза: (воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), функциональные расстройства органов пищеварения (ФРОП), гепатит, гастрит, панкреатит, синдромы Гийена — Барре и

Миллера–Фишера и др.) [185, 216]. Требуется дальнейшего изучения комплекса факторов, предрасполагающих к формированию данных осложнений: в частности, нарушений микробиоценоза кишечника и иммунного реагирования, одновременно с учетом генотипа и факторов патогенности конкретного изолята возбудителя.

Все это подтверждает актуальность и своевременность изучения клинико-патогенетических особенностей кампилобактериоза у детей на основе применения современных лабораторных методов. Полученные знания позволят повысить эффективность терапевтических подходов и прогнозировать развитие постинфекционных неблагоприятных исходов при кампилобактериозе у детей, что имеет высокую медико-социальную значимость.

Степень разработанности темы исследования

Основанием для проведения диссертационного исследования послужила эпидемиологическая и клиническая значимость кампилобактериоза в структуре ОКИ у детей. Кампилобактериоз является ведущей нозологической формой бактериальных диарей в развитых странах мира, а также характеризуется высоким риском тяжелого течения и формирования острых и отсроченных осложнений. В связи с этим разработка стратегии диагностики и персонализированной терапии кампилобактериоза у детей на основании особенностей клинического течения кампилобактериоза и характеристик возбудителя приобретает большое научное и клинико-патогенетическое значение.

Цель работы: разработать методические подходы к диагностике и персонализированной терапии кампилобактериоза у детей с учетом клинико–патогенетической характеристики заболевания.

Задачи:

1. Определить информативность и оптимальный порядок применения методов диагностики кампилобактериоза у детей, позволяющий повысить частоту этиологической расшифровки.

2. Оценить способность антибактериальных препаратов, пробиотиков и аутопробиотиков ингибировать рост *Campylobacter* spp. в системе *in vitro* и при экспериментальном кампилобактериозе у лабораторных животных.
3. Выявить клиничко-лабораторные особенности кампилобактериоза у детей в зависимости от возраста, преморбидного фона, состояния микробиоценоза кишечника и генотипа возбудителя.
4. Сравнить эффективность применения антибиотиков, пробиотиков и аутопробиотиков при терапии кампилобактериоза у детей.
5. Изучить отдаленные исходы кампилобактериоза у детей с учетом роли факторов патогенности *Campylobacter* spp. и тяжести заболевания.
6. Разработать прогностические критерии развития постинфекционных заболеваний пищеварительной системы у реконвалесцентов кампилобактериоза.
7. Обосновать меры профилактики реконвалесцентного выделения возбудителя и постинфекционных заболеваний пищеварительной системы у реконвалесцентов кампилобактериоза.

Научная новизна исследования

Впервые у пациентов с геморрагическими колитами выявлены помимо *C. coli* и *C. jejuni*, редкие виды кампилобактерий: *C. hyoilei* (n=2; 3,23%), *C. upsaliensis* (n=4; 6,45%) и *C. hyointestinalis* (n=1; 1,61%).

Установлена частота кампилобактериоза ($42,1 \pm 3,3$ %) у детей с геморрагическими колитами.

Впервые предложена и апробирована методология подбора пробиотиков и аутопробиотиков, ингибирующих рост клинических изолятов *Campylobacter* spp. в системе *in vitro*, для терапии кампилобактериоза у детей.

Разработан алгоритм комплексной двухэтапной диагностики кампилобактериоза, использующий преимущества каждого метода в конкретных клинических условиях.

Впервые установлена высокая частота детекции штаммов кампилобактерий резистентных к фторхинолонам — $45,6 \pm 3,4\%$ и макролидам — $35,1 \pm 1,8\%$.

У 25,6±4,3 % изолятов кампилобактерий выявлена резистентность к не менее чем 3 антимикробным препаратам.

Выявлена высокая степень согласованности результатов фенотипического и генотипического анализа резистентности кампилобактерий к антибактериальным препаратам (88,3 %), что свидетельствует о возможности применения молекулярно-генетических методов для быстрой оценки потенциальной чувствительности возбудителя к антибиотикам.

Разработана модель прогнозирования негладкого течения кампилобактериоза, основанная на оценке наличия гемоколита, длительности и выраженности лихорадки, частоты стула и уровня С-реактивного белка (СРБ).

Впервые выявлены генотипы кампилобактерий (сочетание генов, кодирующих цитолетальный растягивающий токсин — *cdtA*, В, С и ключевой жгутиковый белок, обеспечивающий адгезию к эпителиоцитам, — *flgE*), наличие которых коррелирует с тяжелым течением заболевания и высоким риском осложнений.

Впервые установлена структура постинфекционных ФРОП у детей после кампилобактериоза, ранее описанная только у взрослых.

Разработана модель прогнозирования формирования ФРОП у детей, перенесших кампилобактериоз, включающая ряд прогностических параметров: тяжесть инфекции по шкале Кларка, назначение нескольких курсов антибактериальных препаратов, генотипом возбудителя *flgE+*, *cdtB+* и *cdtC+*, наличие гемоколита, высокий уровень зонулина на 14 сутки заболевания и возраст пациента менее 3 лет.

Впервые разработана персонафицированная терапия кампилобактериоза негладкого течения и постинфекционных ФРОП с использованием аутопробиотиков и пробиотиков.

Выявлены генотипы кампилобактерий (сочетание генов, кодирующих цитолетальный растягивающий токсин — *cdtA*, *cdtB*, *cdtC*, и ключевой жгутиковый белок, обеспечивающий адгезию к эпителиоцитам — *flgE*), характеризующиеся тяжелым течением заболевания и высоким риском осложнений.

На основе проведенного исследования разработана методика персонифицированной терапии негладкого течения кампилобактериоза и постинфекционный ФРОП, широкое внедрение которых позволит улучшить качество оказания медицинской помощи больным и снизить число осложнений.

Теоретическая и практическая значимость работы

Впервые представлены данные о наиболее распространенных в регионе генотипах и серотипах кампилобактерий, выделенных от детей. Полученные результаты позволяют уточнить представления о путях распространения кампилобактериоза. Расширение баз региональных данных о генотиповом составе кампилобактерий позволяет также повысить качество проведения эпидемиологических исследований различного типа.

Разработка комплексной диагностики кампилобактериоза с применением методов ПЦР (полимеразной цепной реакции) и флуоресцентного иммуноанализа (ФИА) позволила повысить на треть частоту детекции возбудителя у пациентов с гемоколитами.

На основании усовершенствованного капельного метода и метода двуслойного агара, разработана технология персонифицированного подбора антибиотиков, пробиотиков и аутопробиотиков с учетом чувствительности к ним изолята возбудителя.

Впервые выявлены значительные преимущества применения в качестве средства монотерапии кампилобактериоза пробиотиков и аутопробиотиков с целью предотвращения затяжных форм и длительного бактериовыделения.

Установлена ключевая роль в патогенезе кампилобактериоза у детей микробиоценоза кишечника, особенностей иммунного ответа и факторов патогенности микроорганизма (наличие кофакторов бактериальных токсинов и факторов адгезии), оценка которых позволяет прогнозировать характер течения заболевания.

Полученные данные могут быть использованы для принятия управленческих решений (руководителями федерального министерства здравоохранения и

региональных министерств, руководителями лечебно-профилактических учреждений, работающих с больными кампилобактериозом), для совершенствования качества оказания медицинской помощи.

Методология и методы исследования

Представляемая работа является смешанным клинико-экспериментальным исследованием, включающим элементы качественного и описательного количественного нерандомизированного исследования, основанного на сборе первичной информации. Объектом проведенного исследования являлись дети, поступавшие в отделение кишечных инфекций ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА для лечения кампилобактериоза. В исследовании также анализировались изоляты кампилобактерий, полученные у данных пациентов.

Предметом исследования явились проявления инфекционного процесса у детей с кампилобактериозом, а также экспериментальные модели кампилобактерной инфекции *in vivo* и *in vitro*. Область исследования включала изучение частоты и факторов риска развития, клинической манифестации предмета исследования, оценку эффективности различных схем терапии кампилобактериоза, изучение риска развития неблагоприятных исходов заболевания, разработку методологии диагностики, лечения и диспансерного наблюдения детей с кампилобактериозом.

В исследовании использованы общенаучные (наблюдение, сравнение, дедукция) и специальные методы исследования, используемые в медицине и статистике.

Документация и дизайн исследования утверждены на заседании Локального этического комитета при ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА Протокол №11 от 05.03.2019 г. В ходе проведенного исследования отзывов информированного согласия не регистрировалось.

Положения, выносимые на защиту

1. Разработанная модель диагностики позволяет идентифицировать 92,6 % случаев кампилобактериоза, значительно повышая точность исследования. Культуральный метод необходим для персонализированного подбора средств этиотропной терапии и углубленного эпидемиологического анализа за распространенностью кампилобактерий.
2. Тяжелое течение кампилобактериоза статистически достоверно чаще наблюдается при наличии ключевых факторов патогенности возбудителя: стержневого жгутикового белка FLGE, необходимого для эффективного связывания с энтероцитами, а также сочетания активной (CDTB) и вспомогательных (CDTA, CDTC) субъединиц цитолетального растягивающего токсина, обеспечивающего гибель энтероцитов и персистенцию кампилобактерий. Наиболее тяжелые формы заболевания наблюдаются у детей 1–3 лет с предшествующими кампилобактериозу курсами антибактериальной терапии.
3. Схемы лечения кампилобактериоза на основе пробиотиков и аутопробиотиков целесообразно применять всем пациентам при негладком течении кампилобактериоза, повторном бактериовыделении и для коррекции ФРОП, сформировавшихся после перенесенной инфекции, в связи с их высокой эффективностью и профилем безопасности.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов определяется достаточным числом наблюдений, строгим соблюдением критериев включения и исключения из исследования, использованием адекватных стандартных методик, применением современных методов обработки информации и статистического анализа.

Основные положения диссертационного исследования были представлены на 40 различных конференциях, форумах и конгрессах: XXII международной научной конференции «Фундаментальная наука и клиническая медицина — 2019» (Санкт-Петербург, 2019), XI, XIII и XIV Российских форумах «Педиатрия Санкт-

Петербурга: опыт, инновации, достижения» (Санкт-Петербург, 2019, 2021, 2022), 21, 22, 23 и 24 международных медицинских Славяно-Балтийских научных форумах «Санкт-Петербург — Гастро» (Санкт-Петербург, 2019, 2020, 2021, 2022), 6th International Conference on Nutrition & Growth K. D. (Valencia, Spain, 2019), 10th Probiotics, Prebiotics & New Foods, Nutraceuticals and Botanicals for Nutrition & Human and Microbiota Health (Rome, Italy, 2019), Российской научно-практической конференции «Управляемые и другие социально-значимые инфекции: диагностика, лечение и профилактика» (Санкт-Петербург, 2019), II International Conference “Food security: national and global drivers” (Samarkand, Uzbekistan, 2020), Международных конференциях «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика» (Санкт-Петербург, 2020, 2021, 2022), III и V Российских гастроэнтерологических конгрессах с международным участием «Гастроэнтерология России от рождения до старости» (Санкт-Петербург, 2020, 2023), International Conference On Beneficial Microbes “ICOBM-2021” (online, 2020), XXIV, XXV и XXVI Международных конференция «Кашкинские чтения» (Санкт-Петербург, 2020, 2021, 2022), VII научно-практической школе-конференции «Аллергология и клиническая иммунология» (Сочи, 2020), II, III и IV Международных научных конференциях «Микробиота человека и животных» (Санкт-Петербург, 2020, 2021, 2023), XIII и XIV Всероссийских форумах «Педиатрия Санкт-Петербурга: опыт, инновации, достижения» (Санкт-Петербург, 2020, 2021), 8th International Conference on Nutrition & Growth K. D. (Porto, Portugal, 2021), Всероссийских научно-практических конференциях с международным участием «Актуальные вопросы профилактики инфекционных и неинфекционных болезней: эпидемиологические, организационные и гигиенические аспекты» (Москва, 2019, 2022), II Научно-практической конференции «Педиатрия XXI века: новые парадигмы в современных реалиях» (Санкт-Петербург, 2022), XXV Съезде Научного общества гастроэнтерологов России (Санкт-Петербург, 2022), Съезде педиатров России — 2022 (Москва 2022), 12th World Congress of the World Society for Pediatric Infectious Diseases, WSPID 2022 (online, 2022), VIII Конгрессе Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням (Санкт-Петербург, 2022), XI

Общероссийской конференции «Flores Vitae. Педиатрия и неонатология», (Москва 2023), XV, XIV и XVI Всероссийских научно-практических конференциях «Воронцовские чтения» (Санкт-Петербург, 2021, 2022, 2023), VII Всероссийском форуме «Здоровье детей. Современная стратегия профилактики и терапии ведущих заболеваний» (Санкт-Петербург, 2023), Первом всероссийском конгрессе «Наследие профессора Н. П. Шабалова» (Санкт-Петербург, 2023), V Всероссийском медицинском конгрессе «Прибалтийская весна — 2023» (Калининград, 2023), XVI Научно-практической конференции «Актуальные вопросы инфекционной патологии Юга России» (Краснодар, 2023), III Ежегодной конференции по инфекционным болезням «Покровские чтения» (Москва 2023).

Основные научные результаты диссертации опубликованы в виде 29 статей в рецензируемых научных изданиях (из них 23 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ для опубликования результатов диссертационных работ на соискание ученой степени доктора медицинских наук) и 4 патентов.

Личный вклад автора в проведенное исследование заключался в планировании исследования, непосредственном участии в клиническом обследовании больных, организации проведения всех лабораторных исследований, самостоятельном выполнении экспериментальных исследований *in vivo* и *in vitro*. Автор лично сформировал базу данных, провел статистическую обработку данных и обобщил полученные результаты, написал научные статьи и тезисы для публикации, заявки на патент, диссертацию и автореферат.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования используются в работе клинических отделений ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА (г. Санкт-Петербург), городской инфекционной больницы № 30 им. С. П. Боткина (г. Санкт-Петербург), ГБУЗ НО «Инфекционная клиническая больница № 23» (г. Нижний Новгород), ГБУЗ НО «Нижегородская клиническая больница № 8» (г. Нижний Новгород) ГБУЗ ПО «Детская областная клиническая больница» (г. Псков), СПб ГБУЗ «Поликлиника №88» (г. Санкт-

Петербург). Основные материалы диссертационной работы введены в практику преподавания студентам и клиническим ординаторам СЗГМУ им. И. И. Мечникова.

Изданы методические рекомендации Министерства науки и высшего образования Российской Федерации «Аутопробиотическая поддержка в комплексной терапии детей с бактериальным носительством» под редакцией профессора, члена-корреспондента РАН А. Н. Суворова. (СПб., 2020. – 16 с.).

Получены патенты РФ на изобретения: «Способ лечения затяжного течения кишечной инфекции кампилобактериозной этиологии у детей раннего возраста» патент № 2022104660 от 21.02.2022, «Способ лечения функциональных заболеваний желудочно-кишечного тракта у детей» патент № 2021114955 от 25.05.2021, «Способ прогнозирования степени тяжести гемолитико-уремического синдрома у детей с инфекционными заболеваниями» патент № 2797122 С1 от 31.05.2023, оформлена заявка на патент №2072697220 от 23.12.2023. «Способ определения чувствительности кампилобактерий к пробиотикам и аутопробиотикам».

Структура и объем диссертации

Материалы исследования изложены на 297 страницах компьютерного набора, включают введение, обзор литературы, характеристику обследованных больных и описание методов исследования, 4 главы собственных наблюдений, обсуждение, выводы, практические рекомендации, список сокращений и обосзначений, список литературы. Работа иллюстрирована 51 таблицей и 51 рисунком. Библиографический указатель включает 326 источников (49 отечественных и 277 иностранных).

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Кампилобактериоз является одной из наиболее актуальных проблем детского возраста в связи с его широкой распространенностью, высокой частотой тяжелых форм и значительными рисками негладкого течения заболевания [11]. Данное заболевание является причиной 5 % летальных исходов ОКИ [185]. Частота регистрации данного заболевания при надлежащей диагностике составляет не менее 20 случаев на 100 тысяч населения в год [11, 49]. В США выявляется 2,4 миллиона случаев кампилобактериоза ежегодно [158]. Частота диагностики данного заболевания среди госпитализированных пациентов с ОКИ в странах Западной Европы составляет не менее 17 % [185]. В Российской Федерации по данным ряда исследований заболеваемость кампилобактериозом в различных регионах может достигать 12–33 % от общего числа ОКИ [8, 19, 20, 32]. На высоком уровне остается распространенность кампилобактерий среди птиц и домашнего скота [8, 49]. Это, наряду с имеющимися фрагментарными сообщениями о высочайшей распространенности носительства кампилобактерий в животноводческих хозяйствах [205, 305], свидетельствует о высокой значимости данной патологии в ветеринарии.

В настоящее время отмечена возрастающая роль кампилобактерий в развитии диарейных заболеваний у детей младше 5 лет. Именно у данной группы пациентов наиболее часто регистрируется затяжное и осложненное течение кампилобактериоза [27]. Характерной особенностью кампилобактериоза является наличие широкого спектра осложнений не только в острый период заболевания (острый гепатит, панкреатит, аппендицит, острое повреждение почки и др.), но и в течение длительного периода после перенесенной инфекции [11]. К осложнениям относятся: формирование ВЗК, ФРОП [178], миокардитов [118], аутоиммунных полирадикулопатий и реактивных артритов. По данным ряда исследований осложнения встречаются у 9–24 % детей [185].

Однако, данные о заболеваемости кампилобактериозом собираются фрагментарно из-за трудностей лабораторной диагностики заболевания и не дают

полного представления об истинных масштабах распространения данного заболевания [2, 96].

1.1 Микробиологическая характеристика кампилобактерий

Представители рода *Campylobacter* представляют собой неспорообразующие, мелкие, тонкие, спирально изогнутые грамтрицательные палочки. Размер кампилобактерии составляет 0,2–0,9 мкм в ширину и от 0,5 до 5,0 мкм в длину [325]. Название рода *Campylobacter* происходит от греческих слов *καμπύλος* («изогнутый») и *βακτήρια* («бактерия») и означает «кривая палка», что описывает типичную морфологию микроорганизма. Кампилобактерии были впервые описаны в 1886 году Т. Escherich, который заявил о появлении некультивируемых спиралевидных бактерий в мазках слизистой оболочки толстого кишечника у детей, умерших от «детской холеры» [130]. Однако установление значения микроорганизма в развитии заболеваний у человека и животных и выделение в отдельный род было осуществлено только в 1963 году М. Sebald и М. Véron. В ветеринарии этиологическая роль *Campylobacter* spp. была доказана гораздо раньше. Кампилобактериоз считался оппортунистической инфекцией человека вплоть до конца 1970-х годов. J. Butzler и М. Skirrow разработали метод культивирования этих микроорганизмов, положив начало активному исследованию свойств кампилобактерий [85, 292]. И только в начале 1990-х годов кампилобактерии признали одной из наиболее распространенных причин диарей бактериальной этиологии в промышленных регионах мира [90, 175, 234].

Род *Campylobacter* входит в состав типа *Proteobacteria*, класса *Epsilonproteobacteria*, порядка *Campylobacterales* и семейства *Campylobacteraceae*. Таксономия рода *Campylobacter* продолжает меняться из-за открытия новых видов или реклассификации ранее изученных [185]. В настоящий момент род *Campylobacter* насчитывает 45 видов и подвидов, выделенных от животных и человека (рисунок 1).

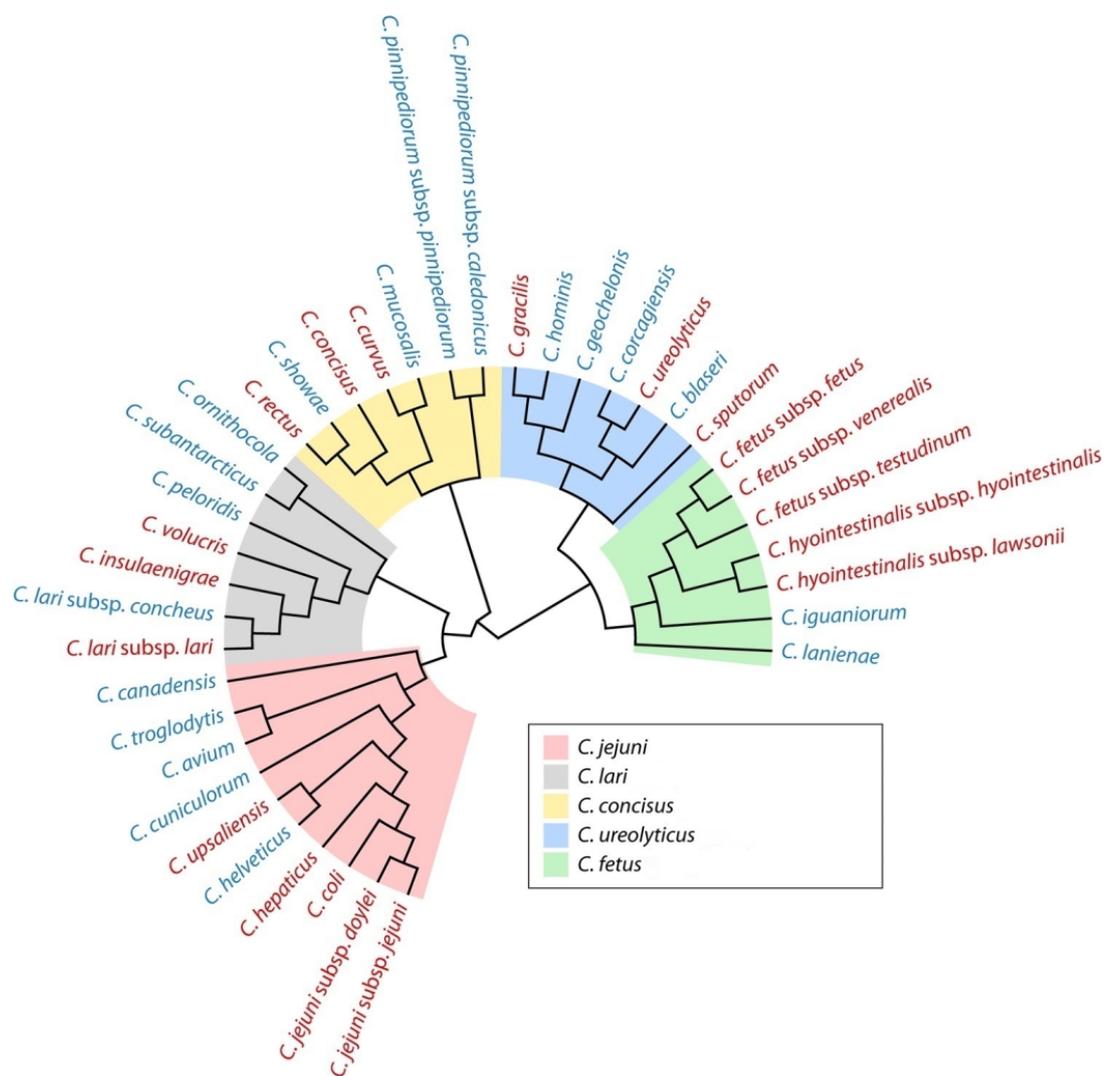


Рисунок 1 – Филогенетические взаимоотношения между различными видами *Campylobacter* spp. Заимствовано с изменениями из D. Costa et al. [130].

Наиболее распространенными видами, приводящими к диарейным заболеваниям у человека, являются *C. jejuni* и *C. coli*, реже *C. fetus*, *C. gracilis*, *C. helveticus*, *C. hepaticus*, *C. hyointestinalis*, *C. insulaenigrae*, *C. lari*, *C. sputorum*, *C. upsaliensis*, *C. ureolyticus*, *C. volucris* и другие [78]. Новорожденные, дети и люди с иммунодефицитными состояниями чаще подвержены воздействию более редких видов кампилобактерий (таблица 1) [96]. На примере таких пациентов исследовано течение генерализованных форм болезни [239]. Инфицирование пациентов с нормальным иммунным статусом протекает субклинически или в форме энтерита [128].

Таблица 1 – Значение «редких» видов кампилобактерий в развитии заболеваний у человека и животных

Виды <i>Campylobacter</i> spp.	Заболевания человека	Заболевания животных
<i>C. concisus</i>	Гастроэнтерит, абсцесс головного мозга, артритэзофагит	Не сообщается
<i>C. curvus</i>	Преждевременные роды, эмпиема, альвеолярный абсцесс, абсцесс печени, гастроэнтерит	Не сообщается
<i>C. fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	Гастроэнтерит, бактериемия, целлюлит, менингит, менингоэнцефалит, абсцесс головного мозга, перинатальные инфекции, эндокардит, тромбозфлебит, перикардит	Спорадические аборт (овцы и коровы)
<i>C. fetus</i> subsp. <i>venerealis</i>	Вагиноз	Не сообщается
<i>C. fetus</i> subsp. <i>testudinum</i>	Бактеремия, субдуральная гематома	Диарея (собаки)
<i>C. gracilis</i>	Бактеремия, эмпиема, абсцесс головного мозга, пародонтит	Диарея (собаки, кошки)
<i>C. helveticus</i>	Диарея	Пятнистая болезнь печени (курица)
<i>C. hepaticus</i>	Не сообщается	Пролиферативный илеит (свинья)
<i>C. hyointestinalis</i> subsp. <i>hyointestinalis</i>	Гастроэнтерит	Не сообщается
<i>C. insulaenigrae</i>	Гастроэнтерит, бактериемия	Не сообщается
<i>C. lari</i> subsp. <i>lari</i>	Гастроэнтерит, бактериемия	Диарея (собаки)
<i>C. mucosalis</i>	Гастроэнтерит	Абсцессы (ластоногие)
<i>C. pinnipediorum</i> subsp. <i>pinnipediorum</i>	Не сообщается	Абсцессы (ластоногие)
<i>C. pinnipediorum</i> subsp. <i>caledonicus</i>	Не сообщается	Не сообщается
<i>C. rectus</i>	Гастроэнтерит, пародонтоз, бактериемия, абсцесс полости рта, костный абсцесс, эмпиема грудной клетки	Диарея (собаки)
<i>C. showae</i>	Болезнь Крона, язвенный колит, абсцесс	Понос (собаки), аборт (овца)
<i>C. sputorum</i>	Гастроэнтерит, абсцессы, бактериемия	Не сообщается
<i>C. upsaliensis</i>	Гастроэнтерит, аборт, бактериемия, абсцесс молочной железы	Не сообщается
<i>C. ureolyticus</i>	Гастроэнтерит, оральные и перианальные абсцессы	Не сообщается
<i>C. volucris</i>	бактериемия	Не сообщается

Campylobacter spp. являются требовательными к культивированию микроорганизмами. Для их роста требуется атмосфера, содержащая 10 % CO₂ и 5 % O₂ (микроаэрофилы), термофильные условия с узким диапазоном температур от 30 до 46 °С (оптимальная температура роста 40–42 °С). При неоптимальных для культивирования условиях эти микроорганизмы способны образовывать жизнеспособные, но некультивируемые клетки [100]. Вне пищеварительного тракта в условиях высокой концентрации O₂ микроорганизм быстро погибает, из-за чего бактериологическая диагностика кампилобактериоза затруднена [199], особенно при нарушениях сбора и перевозки биоматериала и правил культивирования микроорганизма [254].

Идеальными условиями для роста *Campylobacter* spp. является микроаэрофильная среда, состоящая из 3–10 % CO₂, 3–15 % O₂ и 85 % N₂ [98]. Все кампилобактерии наиболее эффективно развиваются при температуре 37 °С и не могут развиваться при температуре ниже 30 °С. Термофильные кампилобактерии, включая *C. lari*, *C. coli*, *C. upsaliensis* и *C. jejuni*, сохраняют жизнеспособность при температуре до 42 °С. Идеальный уровень pH для развития *Campylobacter* spp. составляет 5,5–8,0, а при значении pH более 9 и ниже 5 происходит быстрая гибель микроорганизма [89].

Campylobacter spp. не могут ферментировать или окислять сахара для получения энергии. Это компенсируется способностью встраивать в свой метаболизм аминокислоты и промежуточные соединения цикла трикарбоновых кислот [121, 267]. Особенностью данных микроорганизмов служит также возможность восстанавливать селенит. Все термофильные кампилобактерии являются оксидазоположительными и индолотрицательными. При уреазном тесте термофильные кампилобактерии дают отрицательный результат, за исключением *C. lari*. Все термофильные кампилобактерии также являются каталазоположительными, за исключением *C. upsaliensis* [98]. Видовая идентификация кампилобактерий затруднена высокими требованиями микроорганизма к развитию и условиям для проявления метаболической неактивности. Биохимические методы дают возможность типировать штаммы *C.*

jejuni, *C. coli* и *C. lari* с помощью тестов гидролиза гиппурата натрия и ДНК, а также выделения H₂S [254]. Также можно определить антибиотикорезистентность и температуру, оптимальную для развития, как признаки, характеризующие фенотипы разных видов [325].

Выделяют термофильные кампилобактерии, к которым относятся наиболее значимые при патологии человека виды — *C. jejuni* и *C. coli*. Данные микроорганизмы, в отличие от других бактерий рода *Campylobacter*, способны расти и развиваться при высоких температурах (42 °С). Рост и развитие группы *C. fetus* и анаэробов возможны при более низких температурах (25–37 °С) и без доступа кислорода.

Термостабильный О-антиген и термолабильный Н-антиген формируют основную антигенную структуру кампилобактерий [325]. Анализ липополисахаридного О-антигена (схема по Penner) позволяет выделить среди кампилобактерий 60 серогрупп [260]. Серотипирование по Н-антигену, предложенное Lior, дает возможность распознать среди термофильных кампилобактерий более 100 серотипов [56]. Фаготипирование позволяет выделять более 57 штаммов *C. jejuni* и *C. coli* [48]. При значительных количествах инфицированных больных серотипирование и фаготипирование дают возможность использовать референс-штаммы преобладающих в данной местности серотипов для эпидемиологического анализа.

C. jejuni обладает видоспецифичной устойчивостью к некоторым антимикробным препаратам, в частности, к большей части β-лактамов (включая цефалоспорины и аминопенициллины), за счет выработки широкого спектра β-лактамаз. Большинство кампилобактерий резистентны также и в отношении триметаприма и рифампицина [302]. Но резистентность к этим препаратам также имеет видовой, а не родовой характер. Это позволяет применять вышеперечисленные антибиотики как селективные добавки при культивировании, для подавления роста редко встречающихся видов кампилобактерий [90, 234].

1.2 Генетическая структура и факторы патогенности кампилобактерий

Campylobacter spp. характеризуются небольшим размером генома, не превышающим 1,6–1,7 млн. пар нуклеотидов (рисунок 2). Ограничение разнообразия собственных синтезируемых белков определяет требовательность кампилобактерий к условиям культивирования и ограниченные возможности по метаболизму ряда энергетических субстратов [301].

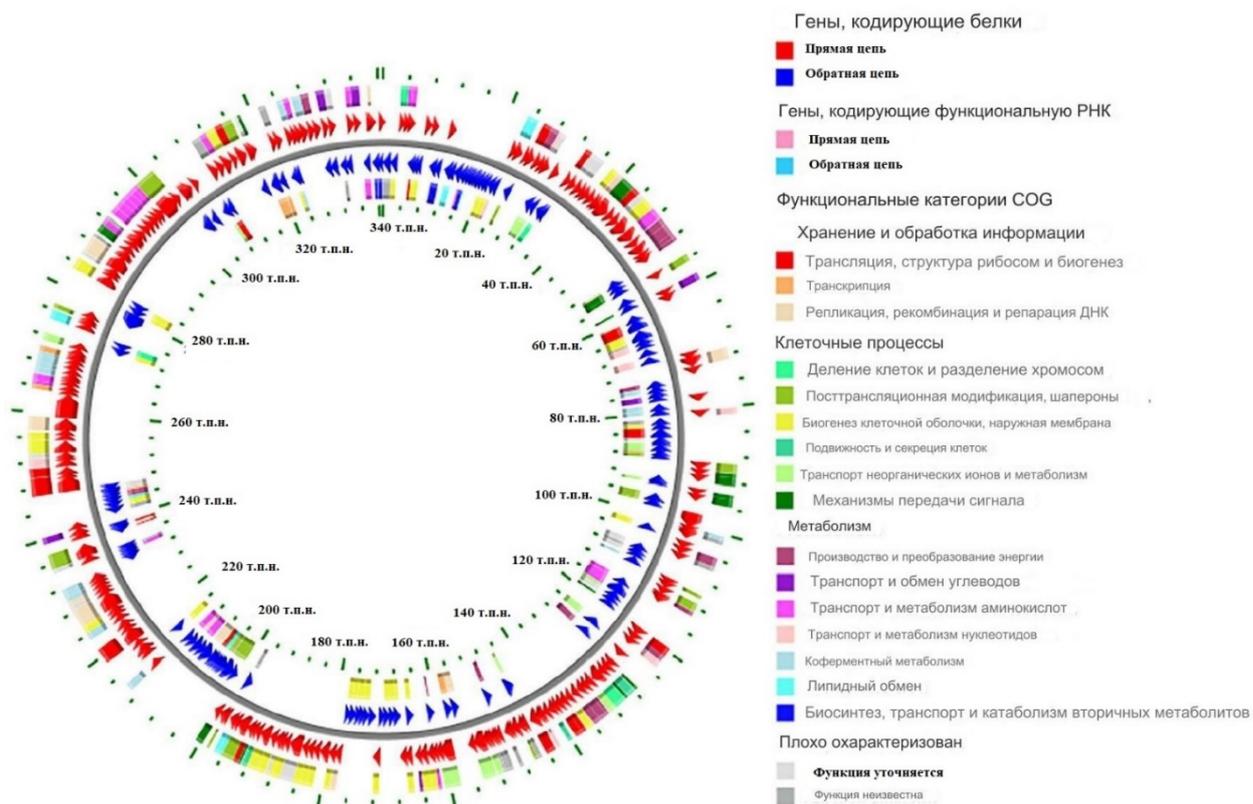


Рисунок 2 – Схематическое изображение последовательности генома *C. jejuni* MM26-781 с кластерами функциональных категорий генов. Заимствовано с изменениями из J. Aksomaitiene et al. [147].

Большое значение в выживании кампилобактерий играют плазмиды — экстрахромосомные компоненты генома, которые по данным исследований, обеспечивают внутривидовую передачу резистентности кампилобактерий к антибиотикам [100].

Геном типового штамма №11168 *C. jejuni* Национальной коллекции типовых культур (Великобритания) был полностью расшифрован в 2000 г. J. Parkhill и

коллегами [304]. В настоящее время известна функция большинства генов кампилобактерий. Однако стоит также отметить, что для всех *Campylobacter* spp. характерна выраженная способность к изменчивости, реализуемая посредством гипервариабельных участков генома, способствующая адаптации к различным враждебным условиям среды обитания [101]. Внутри этих гипервариабельных генов возникают многочисленные фенотипические вариации, определяющие разнообразие штаммов *Campylobacter* spp., значительно усиливающиеся при смене хозяина-носителя [181]. Более того, при секвенировании изолятов, выделенных у человека и животных, было доказано, что только часть геновариантов кампилобактерий, встречающихся у животных, также выявляется и у человека. Это приводит к штаммовзависимой патогенности и специфической колонизационной способности различных штаммов *Campylobacter* spp. [224]. Для кампилобактерий характерен феномен «фазовых вариаций» — формирование обратимых изменений фенотипа, возникающих без мутаций, в результате случайных ошибок во время репликации ДНК. Это позволяет бактериям формировать несколько фенотипов и субпопуляций, повышающих выживаемость [111].

Многие из этих фазововариабельных локусов участвуют в модификации капсульных полисахаридов или липоолигосахаридов (ЛОС) [113]. Это приводит к образованию разнообразных поверхностных структур, благодаря которым *Campylobacter* spp. могут уходить от иммунной системы хозяина или от распознавания бактериофагами.

После преодоления барьера кишечной микробиоты, расположенного на слое кишечного муцина и внутри него, кампилобактерии должны пройти эпителиальный барьер слизистой оболочки. Несмотря на то что до настоящего времени известны не все факторы, ассоциированные с вирулентностью кампилобактерий, полученные результаты привели к разработке модели, которая пытается объяснить роль ассоциированных детерминант вирулентности, участвующих в патогенезе инфекции *C. jejuni* на данном этапе. Этими стадиями являются: подвижность и хемотаксис, адгезия, транслокация и инвазия эпителиальных клеток кишечника, продукция токсинов, выживание в

эпителиальных клетках, иммунный ответ и воспаление в кишечном эпителии [307, 309].

Инфицирующая доза при кампилобактериозе составляет от 350 до 10 000 клеток и часто коррелирует с тяжестью инфекционного процесса в начале заболевания [78, 82].

После употребления загрязненной воды или пищи, содержащей *Campylobacter* spp., возбудитель должен пройти через кислую среду желудка и щелочную среду верхних отделов тонкой кишки [199]. Низкая кислотность желудка у детей младшего возраста позволяет *Campylobacter* spp. с большей легкостью преодолевать данный защитный барьер, подвергая данную группу пациентов высокому риску развития кампилобактериоза [282].

После попадания возбудителя в тонкую кишку осуществляется этап хемотаксиса и адгезии. В работах Lopes et al. была продемонстрирована связь между наличием факторов патогенности, обеспечивающих данные свойства у изолята, и тяжестью кампилобактериоза у человека [320]. Для эффективной колонизации слизистой оболочки кампилобактериям необходимы белки, обеспечивающие хемотаксис. Это флагеллины, собирающие жгутики, — FLAA и FLAB, регуляторный белок хемотаксиса CHEY. Жгутики способствуют подвижности, а CHEY является хемотаксическим рецептором [123].

После осуществления адгезии и инвазии, активируется синтез продуктов периплазматического бифункционального адгезина/ABC-транспортера аспартат/глутамат-связывающего белка PEV1A, кадгерина F — фибронектин-связывающего белка внешней мембраны CADF, поверхностного липопротеина JLPA, парализованного белка жгутика PFLA, кампилобактер-инвазионных антигенов CIAВ, CIAC, CIAI, а также синтез белков, участвующих в линеаризации обратных связей, и псевдодаминовой и легионаминовой кислот [240, 309].

Заражение гистологически проявляется в изъязвлении слизистой оболочки кишки и появлении крови и слизи в стуле пациентов. При проведении гистологического исследования обнаруживается картина эрозивного колита, и наиболее существенные эрозии наблюдаются в толстой кишке, в ее дистальных

отделах [320]. В некоторых случаях в биоматериале, полученном в результате биопсии, наблюдали эозинофильный белок, свидетельствующий о присоединении аллергической реакции и ее значимой роли в развитии повреждений кишки при кампилобактериозе [208].

Активным образом идет изучение особенностей взаимодействия кампилобактерий с клетками слизистой кишечника. Основная зона воспаления и повреждения тканей при кампилобактериозе располагается в толстой кишке. Однако в работах L. Ни было продемонстрировано, что *Campylobacter* spp. также могут проникать и через М-клетки эпителиального барьера подвздошной кишки [200]. Большая часть исследователей считает невозможным размножение кампилобактерий внутри эпителия, вследствие быстрого разрушения и слущивания эпителиальных клеток под действием возбудителя [163]. Доказано, что кампилобактерии способны проникать как через клетки эпителия [217], так и межэпителиально [237] в составе фагосомоподобных вакуолей в собственную пластинку слизистой оболочки. Когда кампилобактерии внедряются в подэпителиальный слой, начинается воспаление и инфильтрация фагоцитами стенки кишки [88]. Элиминация возбудителя обусловлена привлечением макрофагов, процессированием и презентацией антигена, выработкой достаточного титра специфических антител и последующим связыванием в иммунные комплексы, облегчающих элиминацию возбудителя с применением системы комплемента. Нарушения работы данной системы, приводит к сохранению жизнеспособности микроорганизма в составе фагосом макрофагов до 6–7 дней. Это делает возможным длительное выживание кампилобактерий в кишечнике человека при нарушениях каких-либо звеньев иммунного ответа. Однако конкретные элементы нарушений иммунного ответа, определяющие данный феномен, еще до конца не установлены.

Известно, что одним из ключевых факторов патогенности кампилобактерий, способствующих персистенции возбудителя и его выживанию после прикрепления к эпителиоцитам, является образование токсинов. *Campylobacter* spp. секретирует большое количество токсинов. Основным среди них является цитолетальный

растягивающий токсин (Cytotoxic Distending Toxin, CDT), кодируемый трехгенным опероном (*cdtABC*). Структура CDT представлена тремя белками близкими по молекулярной массе: *cdtB* (29 кДа), CDTC (21 кДа) и CDTA (30 кДа). CDT это трехкомпонентный токсин AB₂, в котором токсичная субъединица CDTB ферментативно активна, а CDTC и CDTA включают субъединицу B, участвующую в связывании с рецептором клеточной мембраны и в интернализации CDTB [78, 82]. Интернализация субъединицы CDTB происходит после ее перемещения в цитоплазму клетки-хозяина в ядре эпителиоцита [89]. Кроме того, CDTB свойственна нуклеазная активность, стимулирующая повреждение ДНК. Под действием CDT происходит разрыв двойной цепи ДНК. Вследствие этого останавливается клеточный цикл в процессе митоза G₂/M, а это оказывает влияние на деление клеток и может спровоцировать растяжение клетки и ее апоптоз [182, 321].

Возможным механизмом появления диарейного состояния у больных кампилобактериозом является повреждение слизистой оболочки кишечника в результате воздействия CDT. Считается, что этот токсин останавливает трансформацию клеток крипт в ворсинчатые клетки эпителия [103]. Интерлейкин-8 (IL-8), который стимулирует у нейтрофилов хемотаксис и активацию, дающую выброс ферментов лизосом [185, 209].

Другой механизм развития диареи, ассоциированной с CDT, это задержка всасывания жидкости и запуск гиперсекреции, возникающие вследствие воспаления. В место интраэпителиального проникновения бактерии происходит возрастание концентрации цАМФ, простагландина E₃ и лейкотриена B₄, способствующих массивному выведению жидкости в составе каловых масс [204].

Помимо CDT, описана возможность некоторых *Campylobacter* spp. синтезировать гепатотоксин, порообразующего гемолизин, шигаподобный токсин, холероподобного энтеротоксина и ряд других токсинов [78]. Под воздействием ЛОС, обладающего всеми свойствами ЛОС грамотрицательных бактерий, происходит активация иммунотропных клеток и продукция ими цитокинов [62]. В литературе встречается описание энтеротоксинов кампилобактерий, которые по

структуре похожи на холерный токсин и термолабильный токсин *E. coli* [108]. Кампилобактерии, обладающие способностью синтезировать энтеротоксины, чаще циркулируют на территории развивающихся стран средней Азии, Африки и Южной Америки [185]. Для жителей этих регионов более характерна клиническая картина «невоспалительной» водянистой диареи и образование антител к энтеротоксину [176]. Но более масштабные исследования не подтверждают версию о том, что продуцирование холероподобного энтеротоксина обязательно связано со штаммами, приводящими к возникновению водянистого стула [90].

Важнейшим фактором, сдерживающим развитие инфекционного процесса при кампилобактериозе, является блокирование захвата железа из трансферрина сыворотки человека и лактоферрина слизистой оболочки. Механизмы захвата железа играют ключевое значение для патогенеза и персистенции *Campylobacter* spp., а также для эффективной колонизации слизистой оболочки кишечника [127]. Захват железа осуществляется через множество рецепторов на клеточной мембране, регуляторов и белков-переносчиков [78, 82, 127]. Кампилобактерии не могут продуцировать сидерофоры, но способны использовать энтерохелин, феррихром и сидерофоры, секретируемые другими микроорганизмами [279]. Наличие сложных механизмов захвата железа у *Campylobacter* spp. создает для них конкурентное преимущество, обеспечивающее быстрый рост микроорганизма и обеспечивающее антагонистическое действие в отношении представителей нормального микробиоценоза [78].

На этапе взаимодействия с клетками иммунной системы происходит рост экспрессии генов SODB (супероксиддисмутаза), КАТА (каталаза) и АНРС (алкилгидропероксидредуктаза), способствующих защите от супероксидного и перекисного стресса соответственно [62, 309]. Наконец, экспрессируются гены GROES (кохаперонин), GROEL (шаперон), DNAJ (шаперон), DNAK (шаперон) и CLPB (АТФ-зависимая протеаза), которые играют важную роль в обеспечении термотолерантности [125, 309].

Было показано, что *C. jejuni* способен переходить на альтернативный путь окисления («фумаратное дыхание»), чтобы выживать в период инвазии в организме человека [276].

Некоторые исследователи полагают спорными штаммовые отличия кампилобактерий в их воздействии на клетки кишечника. Так было показано, что одни и те же штаммы способны провоцировать в разных регионах мира и у разных людей как водянистую, так и инвазивную диарею [211, 269, 282]. По данным А. В. Горелова продуцирование термолабильного токсина наблюдается у порядка 75 % штаммов термофильных кампилобактерий, шигаподобного токсина — у 56 %, а одномоментное создание нескольких токсинов одним и тем же штаммом установлено в 31 % случаев [11]. Но даже если обнаружен полный спектр факторов патогенности среди клинических изолятов, сохраняется вариабельность тяжести инфекционного процесса [11].

Остаются недостаточно исследованными случаи «диареи путешественников», вызванной кампилобактериями. Было показано, что у людей из развитых стран при посещении регионов, где распространено «холероподобное» течение кампилобактериоза, картина заболевания остается характерной региону их постоянного проживания, то есть протекает с диареей инвазивного типа [296]. У жителей развивающихся стран из-за скученности и неблагоприятных бытовых условий заражение происходит в очень раннем возрасте. В среднем в данных регионах люди инфицируются кампилобактериозом не менее пяти раз за жизнь. Исследования, выполненные в Таиланде, продемонстрировали возрастание секреторных иммуноглобулинов А (IgA) по мере увеличения возраста детей, характеризующееся существенным превышением уровня сывороточных антител к *C. jejuni*, по сравнению с детьми тех же возрастов из Северной Америки [242, 312]. Вторичное инфицирование добровольцев аналогичным штаммом кампилобактерий продемонстрировало иммунный ответ достаточный для предотвращения заболевания, но не предотвращения колонизации кишечника кампилобактериями.

Поверхностные ЛОС клеточной стенки *C. jejuni* способны играть триггерную роль в появлении после перенесенного кампилобактериоза аутоиммунной патологии [56]. Структура этих ЛОС во много сходна со строением ганглиозидов плазматической мембраны синапсов нейронов. Вырабатываемые в ответ на инфицирование кампилобактериями антитела имеют высокую тропность к ганглиозидам GM1, GDI и GQ1b. Связывание с данными белками приводит к разбалансировке работы синапсов и нарушению синаптической передачи импульса в терминальных моторных нейронах [39, 150]. Подобная антигенная мимикрия более свойственна нескольким серотипам кампилобактерий (0:21, 0:41, 0:56), однако преобладающие серотипы (0:19, 0:2, 0:4, 0:36, 0:41) подобной триггерной способностью не обладают [236]. После перенесенного кампилобактериоза возможно развитие аутоиммунных состояний, к которым предрасполагает выявление генов *hlaB35*, *hlaDQB1*03*, *hlaDR3* (ассоциируется с поражением нервной системы) и *hlaB27* (ассоциируется с возникновением артритов) [114].

1.3 Эпидемиология кампилобактериоза у детей

В настоящее время кампилобактериоз является самым распространенным в мире бактериальным зоонозом пищевого происхождения [158]. В период с 2009 по 2018 год наблюдалась повсеместная тенденция к значительному увеличению количества случаев кампилобактериоза, согласно данным отчета Европейского агентства по безопасности пищевых продуктов и Европейского центра профилактики и контроля заболеваний [185]. Исследователи отмечают повышение частоты выявления *Campylobacter* spp. и у людей, и у животных.

Мировая пандемия, вызванная SARS-CoV2 не привела к снижению заболеваемости кампилобактериозом в большинстве стран мира. В ряде регионов данная инфекция утвердилась в качестве ведущей причины диарейных заболеваний у людей всех возрастов (таблица 2).

Таблица 2 – Заболеваемость кампилобактериозом в период 2017–2020 гг. в странах с развитой системой надзора [186]

Страна	Год	Заболеваемость на 100 000 населения	Количество случаев *
1	2	3	4
Сингапур	2018	7,6	427
	2017	8,8	495
Европа	2020	40,4	120946
	2019	59,7	220682
	2018	64,1	246571
	2017	66,4	246194
Австрия	2020	60,7	5406
	2019	74,2	6573
	2018	90,7	7999
	2017	82,1	7204
Бельгия	2020	48,6	5595
	2019	64,0	7337
	2018	70,9	8086
	2017	76,2	8649
Чехия	2020	163,8	17517
	2019	215,0	22894
	2018	215,8	22895
	2017	230,0	24326
Финляндия	2020	37,5	2074
	2019	79,4	4382
	2018	92,5	5099
	2017	77,9	4289
Франция	2020	58,8	7920
	2019	57,5	7712
	2018	56,0	7491
	2017	49,1	6579
Германия	2020	55,8	46379
	2019	73,8	61254
	2018	81,6	67585
	2017	83,8	69178
Венгрия	2020	45,7	4461
	2019	65,5	6400
	2018	72,8	7117
	2017	79,7	7807
Польша	2020	1,1	414
	2019	1,9	715
	2018	1,9	719
	2017	2,3	874
Швеция	2020	33,3	3435
	2019	65,4	6693
	2018	80,4	8132
	2017	106,1	10608

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4
США	2020	14,4	7208
	2019	19,5	9731
	2018	19,5	9723
	2017	19,2	9421

Примечание – * – количество случаев указано на основании исследования ограниченной популяции с экстраполяцией на все население страны.

В многочисленных исследованиях, проведенных в США и других развитых странах, сообщалось, что *Campylobacter* spp. вызывают диарейные заболевания в 2–7 раз чаще, чем патогенные представители родов *Salmonella*, *Escherichia* или *Shigella* [59]. Чаще всего болеют люди определенных возрастных групп: дети младшего возраста (от года до 7 лет), молодые люди (20–40 лет) и пожилые люди (старше 75 лет) [78]. К другой группе людей с высоким риском инфицирования кампилобактериями относятся люди с ослабленным иммунитетом, больные гемоглобинопатиями и страдающие воспалительными заболеваниями кишечника [178].

Во всем мире за последние 10 лет наблюдается значительное увеличение частоты регистрации кампилобактериоза. На всех континентах возбудитель обеспечивает не только единичную заболеваемость, но и массовое инфицирование [162]. Кампилобактерии провоцируют «диарею путешественников», находясь на третьем месте по частоте среди возбудителей данной патологии, пропуская вперед только диареегенные штаммы *E. coli* и энтеротропные вирусы [159].

Наиболее высокая заболеваемость кампилобактериозом регистрируется в Европе, Австралии и Северной Америке [185]. Несмотря на то что эпидемиологические данные из Азии, Ближнего Востока и Африки фрагментарны и нуждаются в дополнении и систематизации, результаты позволяют установить, что заболевание в этих регионах также является одной из ведущих причин госпитализации детей с диарейными заболеваниями [145, 197, 233]. Отмечено, что в Скандинавских странах [117], Новой Зеландии [161], Канаде и США значительно выросло количество вспышек кампилобактериоза, связанных с инфицированием

питьевой воды [158]. В качестве возможного объяснения данного феномена, исследователи рассматривают микробное загрязнение пресноводных экосистем со стороны сельскохозяйственных предприятий [51].

Заболееваемость кампилобактериозом в России на протяжении последних лет также сохраняет тенденцию к умеренному росту. В государственных докладах «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации» за 2016 и 2017 годы отсутствует точная информация об уровне заболеваемости кампилобактериозом в нашей стране. Однако отмечено, что в 2018 г. уровень заболеваемости кампилобактериозом составлял 1,98 на 100 тыс. населения, что обусловлено внедрением более эффективных методов лабораторной диагностики данного заболевания. В 2019 г. уровень заболеваемости увеличился до 2,50 на 100 тыс. населения. По данным референс-центра по мониторингу ОКИ высокая эффективность диагностики кампилобактериоза отмечалась в Ростовской, Ленинградской, Томской и Свердловской областях, а также в Санкт-Петербурге. Отмечено, что в 2020 г. уровень заболеваемости кампилобактериозом в нашей стране составил 1,4 на 100 тыс. населения. Высокая эффективность диагностики кампилобактериоза отмечалась в Москве, Санкт-Петербурге, Свердловской области и Краснодарском крае.

Кампилобактериозом болеют люди всех возрастных категорий, но чаще всего заболевание диагностируется у детей от 1 года до 5 лет, второй пик инфицирования отмечен у детей более старшего возраста и у молодежи. У взрослых эта болезнь чаще встречается среди людей, профессии которых связаны с птицеводческой и животноводческой деятельностью [13, 19, 27, 32].

Кампилобактериоз — это типичный зооантропоноз с фекально-оральным механизмом инфицирования [49]. Животные являются резервуаром и основным источником инфицирования. Кампилобактерии можно обнаружить в составе микробиоценоза кишечника многих животных. К ним относятся как крупные сельскохозяйственные животные (овцы, свиньи, коровы), так и домашние животные (собаки, кошки, хомяки), а также птицы — как домашние, так и дикие [11]. Здоровые домашние реже выступают как источник инфицирования человека,

но в некоторых случаях могут быть потенциально опасны [84]. Также в распространении кампилобактериоза участвуют 1 % здоровых людей, являющихся бактерионосителями, и 10–15% выздоравливающих больных, которые выделяют бактерии вплоть до нескольких недель [8]. Бессимптомное выделение бактерий у детей коррелирует с социально-гигиеническим уровнем бытовых условий населения. Дети из бедных районов в развивающихся странах в 14,9 % случаев бессимптомно выделяют бактерии, при том, что дети из Нидерландов обнаруживают бессимптомное носительство лишь в 0,5 % случаев [314].

Кампилобактериоз обладает ярко выраженной сезонностью с взрывным подъемом инфицирования в летний период и до начала осени [283]. Небольшой всплеск заболеваемости имеет место и зимой, чаще всего он затрагивает детей младше 5 лет [299]. Причины зимнего повышения заболеваемости на данный момент недостаточно изучены. Возможно, одной из них является увеличение контаминации пищевых продуктов в условиях скученного содержания в помещениях сельскохозяйственных животных и птицы [141].

Подавляющее большинство заражений *Campylobacter* spp. носят спорадический характер. Многие животные (свиньи, овцы, крупный рогатый скот, кошки, собаки) и птицы могут являться переносчиками кампилобактерий и выступают в качестве природного резервуара, что усложняет выявление первоначального источника инфекции. Воздействие на человека может происходить при прямом контакте с животными, пищевыми продуктами (например, сырым или недоваренным мясом и непастеризованным молоком) или природными резервуарами (например, природными водоемами) [185].

Эпидемиологические свойства кампилобактерий способствуют высокому уровню инфицирования данным возбудителем в странах с развитым санитарно-гигиеническим устройством быта домохозяйств [49]. Инфекция в основном передается пищевым путем, вследствие употребления зараженных продуктов животного происхождения, в которых кампилобактерии могут и сохраняться, и интенсивно размножаться (в мясе птиц, свиней, крупного рогатого скота и в сыром молоке) [13]. Кампилобактерии от 1 до 5 недель могут сохранять жизнеспособность

в мясных продуктах, молоке, в сточных водах, хотя эти микроорганизмы чувствительны и к нагреванию, и к высушиванию, и к воздействию дезинфицирующих средств. Инфицирование мяса происходит постмортально во время убоя, когда оно загрязняется содержимым кишечника, а также во время последующей обработки и транспортировки мясопродуктов, при приготовлении полуфабрикатов и даже при контакте приготовленных блюд с не обработанными термически [185]. Некипяченое молоко часто становится причиной отдельных случаев инфицирования и локальных всплесков заболеваемости [96]. Яйцо домашней птицы не играет существенной роли в инфицировании человека ввиду того, что имеет место небольшая вероятность вертикального инфицирования у птиц [95]. Водный путь заражения, наоборот, зачастую возможен: известно о значимых подъемах заболеваемости в США, Великобритании, Швеции, связанных с использованием в пищу и хозяйственной деятельности загрязненных кампилобактериями поверхностных вод [314].

Контактно-бытовой способ инфицирования представлен лишь отдельными случаями заражения детей, которые тесно общались с заболевшими людьми или с зараженными животными. Лица, постоянно контактирующие с животными в рамках своей профессиональной деятельности, особенно ухаживающие за заболевшими животными или оказывающие ветеринарное сопровождение отелов, также находятся в зоне риска по инфицированию [185].

Кампилобактериоз чаще всего вызывается употреблением в пищу зараженной птицы, говядины или свинины. К домашней птице относятся бройлеры, куры, индейки, утки и страусы, из которых в мясной промышленности используются в основном цыплята-бройлеры. *Campylobacter* spp. колонизируют слизистую оболочку слепой кишки и крипт клоаки инфицированных кур, но могут также присутствовать в селезенке, крови и печени. При этом количество бактерий на 1 грамм куриных фекалий может достигать 10^{10} . Столь массивная колонизация, однако, не вызывает инфекционный процесс и не приводит к развитию симптомов заболевания [80].

У жвачных животных присутствие *Campylobacter* spp. в пищеварительном тракте обычно также протекает бессимптомно, но может быть причиной выкидышей во время беременности. Помимо кишечника, *Campylobacter* spp. могут присутствовать на поверхности копыт и в щетине. Свиньи считаются основным резервуаром *C. coli* (90 % штаммов, выделенных от свиней), в отличие от других зарегистрированных групп животных, которые в основном инфицированы *C. jejuni* [81].

Campylobacter spp. выделяют из различных продуктов из свинины, включая гамбургеры, жареную свинину и колбасу. Фактором передачи кампилобактериоза также может быть свиная кость (например, корейка) и субпродукты (печень, сердце, почки и кишки) [208].

Патогенные кампилобактерии не размножаются вне пищеварительного тракта теплокровных животных, но могут выживать до нескольких недель в пищевых продуктах, особенно хранящихся при низких температурах. С другой стороны, *Campylobacter* spp. не устойчивы к замораживанию и высыханию [208].

Не только животные и пищевые продукты животного происхождения имеют значение при передаче кампилобактериоза, но и овощи, фрукты и сырая вода из пресноводных водоемов. Загрязнение овощей может быть результатом прямого или косвенного контакта с фекалиями скота. *Campylobacter* spp., выделенные из овощей и фруктов, могут оставаться на их поверхности от 1 до 8 дней [81]. Заражение редко бывает первичным (в поле, в результате внесения навозных удобрений или использования загрязненной поливной воды), а чаще вторично — на кухнях (как домашних, так и коммерческих) [208].

Отличия в заболеваемости и количестве зарегистрированных случаев в разных странах, а также регионах в пределах одной страны, возникают также и в связи с различиями в стандартах протоколов биоконтроля и чувствительности методов обнаружения и охвата изучаемого профиля случаев [234, 305, 322].

1.4 Методы лабораторной диагностики кампилобактериоза

Для диагностики кампилобактериоза применяют несколько групп методов: микробиологический, молекулярно-генетический и серологические [139, 172]. Фекалии являются основным биологическим материалом, служащим для диагностики данного заболевания. При развитии генерализованных форм кампилобактериоза идентификация возбудителя также возможна при исследовании крови, ликвора, околоплодных вод и синовиальной жидкости [137, 139].

Наиболее традиционный метод диагностики кампилобактериоза — это выделение чистой культуры возбудителя [41]. На сегодняшний день единой стандартной техники культивирования *Campylobacter* spp. не существует, а используемые методы различаются в зависимости от исследовательских учреждений [90]. Серьезным ограничением применения культурального метода является трудность выделения микроорганизма. Кампилобактерии размножаются медленнее, чем большинство облигатных представителей микробиоценоза кишечника. Кампилобактериям также требуется создание строгих микроаэрофильных условий. Чтобы получить информативные результаты, нужно провести исследование в начальном периоде болезни, лучше всего — до применения антибактериальных лекарственных препаратов. Кампилобактерии очень чувствительны к продуктам метаболизма микрофлоры кишечника и к атмосферным условиям. Ввиду этого необходимо минимизировать время транспортировки биоматериала до лаборатории. В ситуациях, когда быстрая доставка материала на анализ невозможна, необходимо создание транспортной среды, позволяющей замедлять развитие бактерий-сапрофитов, а также поддерживать жизнеспособность даже в незначительной концентрации кампилобактерий, особенно если микробиологический анализ делается после начала приема антибиотиков или в разгаре болезни [151]. Транспортировка биоматериала может осуществляться в одной из следующих питательных сред: тиогликолевом бульоне, мясопептонном бульоне, среде Cary-Blair, среде Эймса (Amies), а также в средах с

добавлением крови и селективной смеси. Для результативного культивирования кампилобактерий необходимы специальные условия, отличающиеся от способов выделения возбудителей других кишечных инфекций. Необходимы герметичная емкость (анаэро- или микроанаэро-стат); специальная газовая смесь; использование питательных сред с высоким содержанием аминного азота, содержащих или не содержащих селективные добавки [196].

В оптимальной газовой смеси создаются микроаэрофильные условия, она содержит 85 % азота, 10 % CO₂ и всего 5 % кислорода (атмосфера «сгоревшей свечи»). Для выделения видов кампилобактерий *C. hyointestinalis*, *C. sputonim*, *C. mucosalis*, *C. curvus* и *C. rectus* требуется 6 % водорода. Инкубация проводится в течение 48–72 часов при температуре 42 °С. Для различения *C. coli* от *C. jejuni* наиболее часто применяется тест на гидролиз гипсурата [308]. Бактериоскопия для оценки морфологических признаков препарата, окрашенного фуксином, азур-эозином или кристаллическим фиолетовым, широко применяется в современной практике [84]. При использовании микробиологического метода на основании биологических свойств осуществляется идентификация и дифференциация кампилобактерий.

Стоит признать, что даже при соблюдении всех требований надлежащей лабораторной диагностики, не менее 30 % проб, идентифицированных как положительные другими методами, ошибочно расцениваются культуральным методом как отрицательные [94].

Последние годы все отчетливее формируется тенденция доминирования в диагностике методов, не зависящих от выделения культур кампилобактерий [55]. Исторически более ранним направлением альтернативной, некультуральной диагностики кампилобактериоза были биохимические тесты. Однако, в настоящий момент основой диагностики кампилобактериоза все активнее становятся методики, основанные на выявлении генетического материала или антигенов кампилобактерий. Значительный вклад в установление истинных цифр заболеваемости кампилобактериозом внесла ПЦР. Данный метод позволяет с

высокой степенью детекции идентифицировать два наиболее клинически значимых вида кампилобактерий: *C. coli* и *C. jejuni*.

Метод ПЦР состоит в детекции специфического участка ДНК кампилобактерий, когда многократно амплифицируется определенный участок из 15–25 оснований с известной последовательностью. Молекулы ДНК обнаруживаются после электрофореза и окрашивания бромистым этидием при УФ-облучении. Весь процесс анализа длится не дольше, чем несколько часов. Данный способ характеризуется очень высокой чувствительностью, которая дает возможность выделить молекулы ДНК кампилобактерии в биоматериале больного, даже если анализ делается с очень малым количестве генетического материала.

Для диагностики кампилобактериоза чаще всего применяются различные генные последовательности, в частности праймеры, помогающие обнаружить участки генов 16S или 23S субъединиц рибосом одного вида или группы видов кампилобактерий.

К сожалению, ограничения ПЦР, связанные со информации о возбудителе и невозможностью дальнейшего его изучения, не позволяют на сегодняшний день применять этот метод для надзора за устойчивостью к противомикробным препаратам и в эпидемиологических целях [179]. Данные ограничения лишь частично были преодолены за счет включения в тест системы последовательностей для идентификации ряда генов резистентности (*hipO* и *mapA* для *C. jejuni* и *glyA* и *seiE* для *C. coli*).

Для экспресс-диагностики кампилобактериоза в условиях первичного звена здравоохранения применяются иммунохроматографические (ИХ) тесты. Ограничениями данного метода является относительно высокая частота ложноположительных результатов и невозможность окончательного установления диагноза. Повысить специфичность и чувствительность метода до 40–80 % можно, применяя специфические флюоресцирующие сыворотки и используя реакцию коаггутинации на стекле [132, 208]. Иммуноферментный анализ (ИФА) и реакция иммунофлуоресценции позволяют обнаружить кампилобактерии в фекалиях пациента. Эффективность этих методов доходит до 70–95 % в зависимости от вида

антигенов, используемых в исследовании. Использование таких методик становится актуальным в перспективе введения в эксплуатацию автоматизированных станций, использующих технологии биочипов [220].

Серологическая диагностика значима при проведении эпидемиологических исследований и определении связи между различными поздними иммуноопосредованными осложнениями кампилобактериоза и перенесенным заболеванием [120, 204, 264]. Парные сыворотки при анализе в динамике позволяют дифференцировать острый инфекционный процесс и носительство антител после ранее перенесенного заболевания. В клинической диагностике роль серологических методов в настоящий момент незначительна. Традиционные методы обнаружения антител (реакция агглютинации, реакция связывания комплемента, реакция непрямой гемагглютинации) недостаточно чувствительны, низкоспецифичны и в ряде случаев нуждаются в предварительном выделении аутоштамма кампилобактерии [82]. В единичных исследованиях серологические методы продолжают применяться для исключения триггерной роли кампилобактерий у пациентов с реактивными артритами и синдромом Гийена — Барре [319].

Одной из фундаментальных проблем, приводящих к снижению выявляемости кампилобактериоза, является низкая настороженность как врачей, так и организаторов здравоохранения на предмет данного заболевания. Микроорганизм не идентифицируется при наиболее часто применяемых «рутинных» лабораторных исследованиях (посев на дизгруппу) и попадает в группу острых кишечных инфекций неуточненной этиологии. Невысокая летальность и возможность достижения умеренного положительного эффекта у большинства пациентов на фоне эмпирической патогенетической терапии создает ощущение «мнимого благополучия» в отношении данной ситуации. При этом необходимо отметить, что особенностью *C. coli* и *C. jejuni* является резистентность ко многим стартовым препаратам эмпирической терапии (нитрофураны, цефалоспорины) и высокая частота отдаленных осложнений, что свидетельствует о необходимости смены парадигмы и изменения алгоритмов диагностики острых

кишечных инфекций, в том числе за счет дальнейшего внедрения методов идентификации кампилобактерий в практическом здравоохранении.

1.5 Особенности клинического течения кампилобактериоза в детском возрасте

Ведущими в клинической картине кампилобактериоза являются поражения желудочно-кишечного тракта [11]. Кампилобактерии обладают многими факторами вирулентности, что приводит к разнообразию клинических проявлений в остром периоде заболевания и риску острой и отсроченных осложнений.

Кампилобактериоз не имеет патогномоничных признаков, способствовавших бы долабораторному установлению предварительного диагноза [21]. При легких формах заболевания клиническая картина сходна с проявлениями гастроэнтерита, вызванного возбудителями другой бактериальной и вирусной этиологии [97]. Разнообразие патогенетических факторов кампилобактерий создает возможность протекания болезни в виде и инвазивной, и секреторной диареи [8]. Проявление клинических симптомов кампилобактериоза различается от региона к региону. В европейских странах и Северной Америке, где высокий уровень санитарно-бытовой культуры населения, чаще встречается инвазивная диарея. Население африканских и азиатских стран, а также Южной Америки чаще отмечает водянистый характер диареи, сопровождающейся обезвоживанием, что напоминает клиническую картину холеры [261]. Причина подобных различий в клинической картине заболевания пока остается не до конца ясна, а попытки связать данный феномен с штаммовыми особенностями возбудителя [185] не увенчались успехом.

Типичный для европейского региона и России вариант с развитием инвазивной диареи по описанию авторов близок к течению дизентерии [28]. В клинической картине доминируют синдром энтероколита (многократный жидкий стул с примесью слизи и крови) и абдоминальный болевой синдром. Выраженность болей в животе может имитировать острую хирургическую патологию (острый

аппендицит, аднексит). Сочетание двух данных синдромов может требовать исключения дебюта воспалительных заболеваний кишечника, дивертикулита или инвагинации.

В нашей стране проведено несколько крупных исследований, посвященных описанию клинических симптомов кампилобактериоза. В частности, особенности кампилобактериоза у детей описаны в работах А. В. Горелова, О. В. Тихомировой, Л. Н. Тарасенко и других [2, 11, 41].

По данным множества авторов, кампилобактериоз начинается в двух вариантах клинической картины. Порядка 80 % заболевших демонстрируют острую симптоматику болезни на первые сутки. В некоторых случаях наблюдается подострое развитие заболевания, начинающееся с болей в животе и легких признаков интоксикации, а на 2–3 сутки появляются диарея, рвота и ярко выраженная лихорадка [2, 11, 41]. Интересным феноменом, описанным в метаанализе М. Green, является преобладание кампилобактериоза у пациентов мужского пола [187].

Существуют значительные возрастные различия в течении кампилобактериоза у детей. У детей первого года жизни доминируют кишечные симптомы (гемоколит) на фоне беспокойства и нормальной температуры тела с умеренными проявлениями дегидратации. Дети старше года наиболее часто переносят кампилобактериоз с клиникой острого гастроэнтерита: имеет место многократная рвота и явления интоксикации (пациенты испытывают головную боль, снижение аппетита, слабость, повышение температуры до фебрильных значений). Также для этого возраста характерны приступообразные боли в животе. У двух третей детей на второй день присоединяется диарея. До трети детей в этой возрастной группе испытывают преимущественно симптомы поражения желудочно-кишечного тракта. У них наблюдается частый жидкий стул с прожилками крови и слизью, похожий на клинические признаки кампилобактериоза у детей более раннего возраста, на фоне нормальной или субфебрильной температуры тела. У 60 % заболевших наблюдается гепатомегалия,

также в некоторых случаях увеличивается селезенка, что, однако, более характерно для генерализованных форм кампилобактериоза.

У новорожденных течение заболевания обладает рядом отличительных особенностей. Чаще чем в других возрастных группах наблюдается генерализация инфекции, с образованием вторичных септических очагов и развитием ДВС-синдрома [102].

Заражение инфекцией новорожденного чаще происходит контактным путем при прохождении родовых путей матери, болеющих кампилобактериозом или через предметы ухода и руки медперсонала [282, 306]. Заболевание может протекать как в легкой, так и в тяжелой и септической форме [107]. У детей на 1–3 сутки с момента заражения появляются симптомы энтероколита, нередко гемоколита при нормальной или субфебрильной температуре. Этим развитие инфекции чаще всего и исчерпывается.

Наиболее часто в практическом здравоохранении применяют классификацию, разработанную Н. В. Воротынцевой и А. В. Гореловым. Авторы подразделяют типичные случаи заболевания по течению болезни на генерализованное и локализованные (гастроинтестинальные), которые в свою очередь делятся по основным признакам клинической картины: тяжести, остроте процесса и характеру течения (таблица 3) [11].

Таблица 3 – Классификация кампилобактериоза по Н. В. Воротынцевой и А. В. Горелову

Классификационный критерий	Значения
1	2
Тип	Типичная: - локализованная (гастроинтестинальная) - генерализованная (септицемия, септикопиемия) Атипичная: • стертая • бессимптомная • бактерионосительство (хроническое, реконвалесцентное, транзиторное)

Продолжение таблицы 3

1	2
Вариант	1) гастроэнтеритический; 3) мезаденит; 2) энтероколитический; 4) аппендицит.
Тяжесть	Легкая, среднетяжелая, тяжелая
Форма	Острая (до 1 мес.), затяжная (до 3 мес.), хроническая (более 3 мес.)
Течение	Гладкое; Негладкое: – с осложнениями (ранними и поздними) – с рецидивами

Кампилобактериоз локализованного типа у детей первого месяца жизни наиболее часто имеет благоприятное течение [107]. Доказано, что вскармливание младенцев грудным молоком сокращает длительность и снижает выраженность клинических симптомов локализованной формы кампилобактериоза [201]. Кампилобактериоз генерализованного протекает с менингитом или абсцессами внутренних органов на фоне или без диареи и имеет высокую вероятность летального исхода [228].

У большей части детей диарея длится не более 1–2 недель [11, 282]. Взрослые пациенты без отягощенного преморбидного фона чаще переносят гастроэнтеритический локализованный вариант кампилобактериоза [81]. Без воздействия антибактериальных препаратов кампилобактерии обнаруживаются в биоматериале больных до шестых суток со дня инфицирования. Пациенты, имеющие сопутствующие патологии желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), могут выделять бактерии до двух недель. Исследователями доказано, что длительность выделения бактерий без этиотропной терапии тем больше, чем младше ребенок. Обычно бактериовыделение длится от 7 до 16 дней, но в 4 % случаев у детей оно может продолжаться более, чем 6 недель [250].

В очагах инфекции при целенаправленных исследованиях, а также у людей, контактирующих с животными с подтвержденным носительством кампилобактерий, могут выявляться бессимптомные формы кампилобактериоза [250]. В литературе есть сведения о повторном бессимптомном инфицировании кампилобактериями взрослых жителей азиатских и африканских стран [185].

Вероятно, такое течение болезни вызвано присутствием секреторных антител, которые защищают от развития клинически форм заболевания, но не от инфицирования кишечного эпителия [259].

Тяжесть кампилобактериоза определяется степенью выраженности и длительностью сохранения поражений ЖКТ, явлений интоксикации и степенью обезвоживания [9]. Классификация кампилобактериоза по степени тяжести является одним из важных показателей при определении тактики лечения данного заболевания (таблица 4).

Таблица 4 – Классификация кампилобактериоза по степени тяжести [113, 189]

Признак	Легкая степень тяжести	Средняя степень тяжести	Тяжелая степень тяжести
Выраженность и длительность интоксикации	Отсутствует или легкая выраженность, 1–3 дня	Умеренной выраженности, 3–4 дня	Ярко выражена, более 6–8 дней
Выраженность и продолжительность лихорадки	Повышение температуры до 38 °С, длительность до 1–3 дней	Повышение температуры более 38,5 °С, длительность 3–4 дня	Повышение температуры более 39,5 °С, длительность более 5–7 дней
Поражение ЖКТ	Жидкий стул 1–3 дня; кратность диареи 2–5 раз, тошнота, рвота 1–2 раза	Жидкий стул 3–7 дня; кратность диареи 5–12 раз, тошнота, рвота повторная	Жидкий стул более 7 дней; кратность диареи более 12 раз, тошнота, рвота многократная
Степень выраженности синдрома дегидратации	Отсутствует	I, I–II степени	II–III степени
Степень увеличения печени, селезенки	Отсутствует	Увеличение печени 1,0–1,5 см; селезенки — 0,5 см ниже края реберной дуги	Увеличение печени более 2,0 см; селезенки — более 1,0 см ниже края реберной дуги
Обратное развитие симптомов	К концу 1-й недели	Клинические симптомы сохраняются 1–2 недели	Клинические симптомы сохраняются более 2–3 недель
Осложнения	Нет	Возможны	Имеются

Копроцитограмма и гемограмма при кампилобактериозе не имеют специфических патогномоничных для данного заболевания отличий от других бактериальных ОКИ. У 60–80 % детей наблюдается нейтрофильный лейкоцитоз, у 60 % — ускорение СОЭ до 15–40 мм/ч, и у 65–80 % детей увеличивается число моноцитов при выздоровлении, и этим характеризуются фазы болезни и степень дисфункции кишечника [21, 27, 32]. При тяжелом и среднетяжелом течении болезни, как и при любой ОКИ, отмечаются нарушения водно-солевого обмена, требующие соответствующей коррекции путем парентеральной и пероральной регидратации.

Кампилобактериоз в хронической форме характерен для людей с иммунодефицитарными состояниями. К примеру, ВИЧ-инфицированные пациенты в стадии вторичных заболеваний имеют в 40 раз более высокие риски формирования затяжного бактерионосительства, чем в среднем по популяции [120]. Симптомов острой фазы болезни у пациентов с иммуносупрессией может не быть. В большинстве случаев наблюдается затяжной волнообразный субфебрилитет и скудные диспепсические явления (тошнота, кашицеобразный стул, боли в животе умеренной силы), имеется высокая вероятность генерализации процесса, с формированием внекишечных очагов инфекции.

Кампилобактериоз может иметь рецидивирующее течение. По данным С. García-Sánchez, 12–15 % больных кампилобактериозом на 10-23-й день повторно демонстрируют симптомы болезни, у трети из них рецидив протекает тяжелее первого эпизода, с частым развитием гемоколита [180]. Причины затяжного выделения бактерий, а также появления тяжелых и рецидивирующих форм кампилобактериоза требуют дальнейшего изучения.

1.6 Влияние микробиоценоза кишечника и иммунного реагирования макроорганизма на течение кампилобактериоза

По данным ряда авторов, попадание даже 500 патогенных кампилобактерий в пищеварительный тракт ребенка достаточно для того, чтобы запустить

инфекционный процесс. Однако длительность, тяжесть и исход инфекционного процесса зависят не только от попадания возбудителя, но и целого ряда факторов антиинфекционной защиты организма. К ним относится как воздействие иммунной системы человека (и в частности иммунных клеток ЖКТ), так и сдерживающие факторы комменсальной микрофлоры кишечника [232]. Совместное воздействие двух этих факторов формирует феномен колонизационной резистентности — комплекса механизмов, обеспечивающих защиту от доступа патогенов к эпителию желудка и кишечника и последующего их проникновения в организм [35]. Устойчивость слизистых оболочек к микробной колонизации обеспечивается совокупностью специфических и неспецифических свойств, например ингибиторов микробной адгезии и нормальной микрофлоры, биоцидных продуктов секретов, муцина, а также наличия антител [35].

Механизмы врожденного и адаптивного иммунитета в ЖКТ активно участвуют в поддержании количественного и качественного состава просветной микробиоты, обрабатывают сигнальные молекулы, поступающие из просвета кишечника, и запускают определенные защитные механизмы, обеспечивая постоянный гомеостаз ЖКТ. Микробиоценоз кишечника представлен значительным разнообразием микроорганизмов, включающих бактерии, грибы, простейшие, вирусы и продукты их метаболизма [87, 134, 163, 222].

В последние годы были опубликованы многочисленные исследования кишечного микробиома человека и животных и его существенного влияния на здоровье [23, 316]. Микробиота играет важнейшую роль в эффективном переваривании продуктов питания и поддержании иммунного гомеостаза [37]. Более того, микробиота также играет важную роль в защите от патогенных бактерий, и в частности от кампилобактерий, создавая условия, препятствующие колонизации *Campylobacter* spp. [191].

Облигатные представители микробиоценоза кишечника способствуют прямой и непрямой колонизационной устойчивости, поглощая питательные вещества, необходимые для патогенных микроорганизмов, и создавая такие продукты бактериального метаболизма (бактериоцины, короткоцепочечные

жирные кислоты), которые могут ингибировать рост патогенов [230]. Более того, выделение ряда молекулярных субстанций способно регулировать иммунный ответ пациента [192], стимулируя или наоборот подавляя локальное воспаление. На лабораторных животных было показано, что ряд микроорганизмов способны конкурировать за сайт связывания на эпителиоцитах, значительно снижая возможности колонизации кишки кампилобактериями [231]. Так, в недавно опубликованном исследовании Massacci et al. 2019 сообщается, что добавление *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* может положительно влиять на микробиоценоз кишечника с последующим повышением колонизационной резистентности к *Campylobacter* spp. [140].

Состав кишечной микробиоты при кампилобактериозе во многом определяет степень выраженности патогенетические процессы в желудочно-кишечном тракте ребенка. Нарушения микробиоценоза усугубляют расстройства переваривания пищи, моторики, влияют на снижение защитных свойств эпителия кишечника и нарушениям нормального иммунного ответа — как местного, так и системного [115]. Кроме того, *Campylobacter* spp. способны к конкурентной борьбе за сайты связывания с другими облигатными представителями микробиоценоза кишечника, приводящей к выраженным дисбиотическим изменениям микробиоты [191].

Микробиоценоз кишечника играет важную роль в переваривании пищи, выработке ряда метаболитов и энергии в кишечном тракте. В ходе метаболизма микробиоты образуется ряд ключевых нутриентов, такие как короткоцепочечные жирные кислоты, желчные кислоты, витамины и аминокислоты. Этот процесс также приводит к образованию ряда продуктов, которые могут сдерживать рост некоторых микроорганизмов и помогать отдельным патогенам (в частности *C. jejuni*) колонизировать кишечник человека и осуществлять инвазию в эпителиальные клетки. Так, доминирующие в толстой кишке человека бактерии типов *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia* и *Proteobacteria* способны анаэробно расщеплять полисахариды, олигосахариды, белки, пептиды и гликопротеины с образованием короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) — главным образом ацетата, формиата, лактата, бутирата, пропионата, валерата,

капроата и сукцината [131]. В условиях достаточной доступности углерода основными образующимися КЦЖК являются ацетат и формиат, тогда как в ситуациях с низкой доступностью углерода основными образующимися КЦЖК являются лактат и ацетат [225]. Ранее было показано, что *S. jejuni* преимущественно метаболизируют ацетат и лактат в качестве источников углерода [229]. Кроме того, данные КЦЖК способствуют колонизации *S. jejuni* в кишечнике человека [315].

В работах Р. Malik-Kale было показано, что *S. jejuni* использует конечные продукты кишечной микробиотической биотрансформации солей желчных кислот, которые действуют как индукционные сигналы для синтеза и секреции некоторых факторов патогенности *S. jejuni*, в частности белки жгутика и ключевые системы секреции токсинов [226].

Неабсорбированные желчные соли транспортируются в толстый кишечник, где под действием гидролаз анаэробных бактерий родов *Lactobacillus*, *Eubacterium*, *Bacteroides*, *Clostridium* и *Escherichia* путем деконъюгации и окисления гидроксильных групп преобразуются в неконъюгированные свободные желчные кислоты [198]. Такое преобразование влияет на снижение токсичности желчных солей и способствует тому, что углерод, азот и сера, необходимые в процессе биосинтетических клеточных реакций активно высвобождаются [276]. Также было показано, что в присутствии избыточного количества неконъюгированных свободных желчных кислот кампилобактерии активно экспрессируют на поверхности клетки «антигены инвазии» (Cia), которые играют ключевую роль в инвазии эпителиальных клеток и выживании внутри них [109].

Метаболизм желчных солей кишечной микробиотой также приводит к образованию фумарата. Было показано, что экспрессируемая кампилобактериями метилменахинолфумаратредуктаза способна использовать фумарат в качестве акцептора электронов в условиях низкого содержания кислорода [285], что способствует колонизации микроаэрофильных сред со скудным субстратом [310]. При нарушении соотношения типов бактерий в микробиоте кишечника происходит изменение метаболических условий, в том числе способствующих инфицированию

кампилобактериями. В исследовании S. Rouhani среди детей первого года жизни в Перу было показано, что тяжесть кампилобактериоза в данной группе коррелирует с концентрацией ряда ключевых метаболических антагонистов данных микроорганизмов: *Ruminococcus gnavus*, *Dialister* spp., *Coriobacteriaceae*, *Succinivibrio* spp., *Catenibacterium* spp. и других [191]. Тем не менее значение большинства метаболитов, продуцируемых кишечной микробиотой, в патогенезе кампилобактериоза остается недостаточно изученным.

Заметную роль, наряду с особенностями возбудителя, в течении кампилобактериоза, играют свойства макроорганизма [90, 147]. Тяжелые и генерализованные формы заболевания развиваются вследствие несостоятельности неспецифической резистентности организма больного и подавления иммунитета [80]. При первичном инфицировании человека одним из ключевых факторов прогноза течения инфекционного процесса является состоятельности барьеров макроорганизма. Это доказывают различия минимальной инфицирующей дозы в группе здоровых детей и среди детей с иммунодефицитом или новорожденных [83].

Изменение состава кишечной микробиоты делает эпителиальные клетки кишечника уязвимыми для инвазии *Campylobacter* spp., что приводит к активации как врожденной, так и адаптивной иммунной системы. Однако, первоначальный контакт между макро- и микроорганизмом происходит именно на слизистой оболочке кишечника [230]. В ответ на адгезию и инвазию в эпителий кишки *Campylobacter* spp., а также продукцию *CDT* индуцируется секреция IL-8 [108]. Ответ IL-8 является триггером воспаления слизистой оболочки, характеризующегося инфильтрацией нейтрофилов и активацией макрофагов, а также пролиферацией Т- и В-лимфоцитов. Помимо миграции иммунных клеток, иммунопатологические особенности, наблюдаемые при биопсии толстой кишки пациентов с кампилобактериозом, включают микроабсцессы и очаговые эрозии и язвы [59]. По количеству клеток иммунной системы и уровню содержания иммуноглобулинов ЖКТ превосходит любой другой орган организма человека [140].

Местные реакции в желудочно-кишечном тракте играют ключевую роль в снижении риска затяжного течения и генерализованных форм кампилобактериоза. В данных реакциях играют роль клеточно-опосредованные формы иммунного ответа, так и продукция секреторных иммуноглобулинов [110].

Ключевым элементом формирования эффективного иммунного ответа в ответ на попадание *Campylobacter* spp. является связывание бактериальной клеточной стенки и, в частности, ЛОС с Toll-подобными рецепторами (TLR). Наибольшее значение здесь имеют TLR 4 типа. Другие TLR (TLR-2 и TLR-5) играют лишь вспомогательную роль. Это было подтверждено на моделях нокаутных по ЛОС мышей, и указывает на то, что флагеллин и липопроотеины кампилобактерий не имеют самостоятельного значения для запуска реакций иммунной системы [214]. Вследствие взаимодействия ЛОС кампилобактерий и TLR-4 происходит активация ядерного фактора κB (NF- κB), который стимулирует выработку цитокинов, опосредующих созревание дендритных клеток в антигенпрезентирующие, а впоследствии ими формируются В- и Т-клеточный иммунный ответ. Параллельно происходит активация мезентериальных прогениторных фагоцитарных клеток, моноцитов и нейтрофилов, осуществляющих прямую элиминацию кампилобактерий [168, 196, 197].

М. Zilbauer было показано, что в случаях своевременной активации эффекторных клеток дополнительный сдерживающий эффект оказывают человеческие β -дефензины, повреждающие клеточную мембрану кампилобактерий [210].

На сегодняшний день недостаточно изученными остаются взаимодействия ЛОС с АПК. Было показано, что сиализирование ЛОС усиливает воспалительную реакцию (таблица 5) и предопределяет более тяжелое течение кампилобактериоза с риском формирования аутоиммунных осложнений [290]. Предполагается, что причиной утяжеления течения является избыточная активация TLR-4 с последующим избыточным иммунным ответом [157]. Последующая активация иммунной системы имеет высокие риски формирования язвенного колита и аутоиммунных полирадикулопатий [290].

Таблица 5 – Роль ключевых цитокинов в иммунном ответе при кампилобактериозе

Цитокины	Выполняемая функция	Ссылки
Хемокины семейства CC: макрофагальный белок воспаления -1α , макрофагальный белок воспаления -1β , RANTES (хемокин, выделяемый Т- клетками при активации) моноцитарный хемотаксический белок -1	Хемоаттрактанты для моноцитов и Т-лимфоцитов.	[106]
Хемокины семейства CXC: <i>GRO-α</i> и <i>GRO-γ</i> (онкоген, регулирующий <i>рост -α, -γ</i>), IP-10 (интерферон индуцибельный протеин 10) и MIG (монокин индуцированный ИФН γ)	<i>GRO-α</i> и <i>GRO-γ</i> осуществляют «приманивание» нейтрофилов к очагам воспаления. IP-10 и MIG способствуют хемотаксису моноцитов и активированных Т-лимфоцитов.	[106, 278]
Интерлейкины: IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-17F, IL- 17, IL-22, IL-23	Эти хемоаттрактанты и активаторы иммунных клеток инициируют ответ Th1 и Th17. IL-5 и IL-6 активируют STAT3. IL-22 поддерживает функцию эпителиальных клеток и активацию макрофагов.	[105, 106, 135, 214, 289]
Интерферон-гамма (ИФН- γ)	Активатор макрофагов и индуктором экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости II класса	[105, 106, 289]
Фактор некроза опухоли-альфа (<i>ФНО-α</i>)	Играет важную роль в продукции IL-1 и IL-6	[106, 200]
Ядерный преобразователь сигналов каппа-легкой цепи (<i>NF-κB</i>) Активатор транскрипции 3 (STAT3)	Стимулирует выработку хемокинов, ограничивает воспалительную реакцию организма в кишечнике	[106, 199, 200]

В многочисленных исследованиях доказана ключевая роль барьерной функции слизистых оболочек при сдерживании бактериальных патогенов. Ключевым инструментом подобного сдерживания является высокий уровень секреции иммуноглобулинов класса А, которые являются основой «мукозального», местного иммунитета [130]. Иммуноглобулины класса А, предотвращают прикрепление бактерий к клеткам эпителия и предупреждают попадание чужеродных антигенов в организм. Антиадгезивный эффект IgA выражается в ингибировании бактериальной нейраминидазы [110] и в маннозоспецифическом

взаимодействии между терминальным участком тяжелой цепи молекулы IgA и фимбриями 1 типа [81].

Специфические IgA — это основное звено обеспечивающее функционирование фагоцитирующих клеток и в антителозависимой клеточной цитотоксичности [85]. Fc-фрагмент молекулы IgA может связываться с CD8+ эффекторными лимфоцитами, провоцируя усиление цитотоксический эффект в отношении патогенных бактерий [208, 83].

Эксперименты на мышах показали модулирующее влияние различных экзогенных цитокинов на течение кампилобактериоза: введение интерлейкина-6 и интерлейкина-5 (медиаторов макрофагов и CD4/Th2) приводило к ускоренной элиминации возбудителя, за счет повышения уровня секретируемых и сывороточных иммуноглобулинов класса А по сравнению с животными из контрольной группы [156].

Эффективный гуморальный ответ при кампилобактериозе приводит к быстрой элиминации патогена из организма. Косвенным подтверждение данного тезиса является увеличение продолжительности бактерионосительства до 6-12 месяцев у больных агаммаглобулинемией [99]. В исследовании M. Gauci было также показано, что низкий уровень IgA повышает риск генерализованных форм кампилобактериоза у детей [128].

Антитела к *Campylobacter* spp. выявляются с первой недели заболевания. К 10 дню болезни титр IgM достигает максимального значения, после чего сравнительно быстро падает. Обнаружить титры IgG можно уже в первую неделю болезни, максимума они достигают на второй-третьей неделе и после этого на высоком уровне сохраняются более года. Динамика изменения количества антител IgA в начальной фазе болезни сопоставима с нарастанием IgG, но в конце третьей недели их количество резко уменьшается. По сравнению с другими инфекциями, при кампилобактериозе титры IgM ниже, а количество титров IgG быстро нарастает, что усложняет дифференцирование острых фаз болезни от рецидивов [88, 120, 210]. Наличие сывороточных специфических антител — это фактор, который предупреждает манифестацию клинической картины болезни при

повторном заражении кампилобактериозом, но не исключает бактериовыделения [88].

T-клеточные адаптивные реакции, которые индуцированы *C. jejuni* в кишечнике, исследовались с помощью зараженных *ex vivo* эксплантатов толстой кишки человека [53]. В этом биоматериале *C. jejuni* по результатам адгезии и инвазии достиг субэпителиальных компартментов. Бактерии, напрямую контактировавшие с нейтрофилами, макрофагами и дендритными клетками, инициировали Th1-иммунный ответ, сопровождающийся высвобождением IFN- γ , IL-1 β , IL-12 и IL-6 [53]. В этих инфицированных искусственно биоптатах повышенные уровни IL-12 и IL-23 указывали на активизацию и созревание дендритных клеток, что впоследствии спровоцировало реакцию разных популяций клеток Th17. Увеличенная концентрация Th17, Th1 в биоптатах, инфицированных *ex vivo*, значимо коррелирует с высокими концентрациями IL-22 и IL-17, которые в конечном итоге обеспечивают элиминацию патогенного микроорганизма, продуцируя дефензин в эпителии [53].

Стоит, однако, признать, что эффективный иммунный ответ при кампилобактериозе по всей видимости должен носить смешанный Th1/Th2 характер. Это объясняется вероятной способностью кампилобактерий к внутриклеточному персистированию в макрофагах, требующего активации клеточных факторов иммунной защиты [227]. Более того, функционирование макрофагов в большей степени зависит от степени активности цитокинов, активируемых при иммунном ответе по Th1-типу [61, 190]. Это доказывается замедленной элиминацией *C. jejuni* у внутрибрюшинно инфицированных мышей с нарушением функции макрофагов. Стоит, однако, отметить, что изучению уровней популяций В- и Т- лимфоцитов, как и функции макрофагального звена иммунного ответа у детей при кампилобактериозе, уделялось недостаточно внимания.

1.7 Современные подходы к терапии кампилобактериоза у детей

Подбор оптимальной схемы лечения кампилобактериоза зависит от клинической картины, тяжести заболевания и преморбидного фона пациента. По данным российских [9], а также американских [207] и европейских [166] клинических рекомендаций, лечение кампилобактериоза основано на комплексном применении средств этиотропной, патогенетической и симптоматической терапии.

Патогенетическое лечение заключается в комбинации методов дезинтоксикационной, диетотерапии, применение ферментов, сорбентов и пробиотиков. Симптоматическая терапия включает в себя использование спазмолитиков, жаропонижающих средств и кровоостанавливающих препаратов.

Этиотропная антибактериальная терапия проводится только по показаниям инвазивных форм болезни средней и тяжелой степени, а также при ослаблении иммунитета [28]. Препаратами выбора являются макролиды (азитромицин, кларитромицин), аминогликозиды, хлорамфеникол и тетрациклины. Стоит отметить, что из всех вышеперечисленных групп препаратов, макролиды являются наиболее эффективными. К препаратам резерва для лечения тяжелых форм кампилобактериоза относятся карбапенемы и пенициллины, комбинированные с ингибиторами β -лактамаз. Фторхинолоны в педиатрической практике практически не применяются в связи с высоким риском побочных реакций [178]. Длительность этиотропной терапии зависит от формы заболевания, поэтому рекомендуемая продолжительность приема антибактериальных препаратов при локализованных формах составляет 3–5 дней, при генерализованных формах длительность лечения — не менее 14 дней. Стоит отметить, что отечественные клинические рекомендации в вопросах этиотропной терапии кампилобактериоза значительно расходятся с европейскими и общемировыми (таблица 6).

Таблица 6 – Сравнительная характеристика отечественных и зарубежных клинических рекомендаций лечения кампилобактериоза

Международное непатентованное наименование	Клинические рекомендации РФ	Европейские клинические рекомендации	Клинические рекомендации США
J01FA – «Макролиды»			
Азитромицин	+	+	+
Кларитромицин	+	–	–
J01FA – «Макролиды»			
Эритромицин	+	–	–
Спирамицин	+	–	–
Джозамицин	+	–	–
Мидекамицин	+	–	–
J01DH – «Карбапенемы»			
Меропенем	+	–	–
Имипенем+Циластатин	+	–	–
J01GB – «Прочие аминогликозиды»			
Амикацин	+	–	–
Нетилмицин	+	–	–
A07AX – «Прочие кишечные противомикробные препараты»			
Нифуроксазид	+	–	–
J01BA – «Амфениколы»			
Хлорамфеникол	+	–	–
J01AA – «Тетрациклины»			
Тетрациклин	+	–	+
Доксициклин	–	+	+
G01AX – «Прочие антисептики и противомикробные препараты для лечения гинекологических заболеваний»			
Фуразолидон	+	–	–
Нифурател	+	–	–
J01MA – «Фторхинолоны»			
Ципрофлоксацин	–	+	+
J01EE – «Сульфаниламиды в комбинации с триметопримом (включая его производные)»			
Ко-тримоксазол	–	–	+

Ряд лекарственных препаратов (нитрофураны, аминогликозиды), допускаемых к применению в РФ, не показали высокой эффективности в исследованиях зарубежных авторов. Необходимость их применения при кампилобактериозе нуждается в уточнении и возможном пересмотре.

При приеме антибактериальных препаратов также возможно развитие лекарственной устойчивости (таблица 7). *Campylobacter* spp. обладают природной резистентностью к ряду β -лактамных антибиотиков. Отмечается рост приобретенной резистентности к большинству применяемых для терапии антибактериальных препаратов.

Таблица 7 – Механизмы устойчивости *Campylobacter* spp. к противомикробным препаратам

Классы антибиотиков	Механизмы резистентности
Аминогликозиды	Модификация ферментами, расщепляющими аминогликозиды (AphA, AadE, Aad9, Sat, Hph, AacA4, Aac3, Aph(2"))
β -лактамы	Ферментативная инактивация β -лактамазами (пенициллиназа, Bla OXA-61) Снижение проницаемости мембраны Отток через транспортер CmeABC
Фторхинолоны	Модификация GyrA (T86I, T86K, T86A, T86V, D90N, D90Y, A70T, также в комбинации, например, gT 86I/P104S, T86I/D90N) Отток через транспортер CmeABC
Макролиды	Точечные мутации в генах 23S рНК Мутации рибосомальных белков L4/L22 Метилирование метилтрансферазой Erm(B) рНК Отток через транспортер CmeABC Снижение проницаемости мембраны
Тетрациклины	Рибосомальная защита путем связывания TetO или детерминант мозаичной устойчивости Отток через транспортеры CmeABC и CmeG
Различные антибиотики	Системы оттока CmeABC, Re-и CmeDEF (формирование множественной лекарственной резистентности) CfrC (рНК-метилтрансфераза) Геномные острова множественной лекарственной устойчивости

Одна из причин высокой резистентности к данным лекарственным средствам является то, что их используют не только в медицине, но и в ветеринарии с целью уменьшить вероятность инфицирования животных и уровень контаминации продукции животноводства. Резистентность *Campylobacter* spp. к макролидам встречается не настолько часто, как резистентность ко фторхинолонам. Несмотря на это и в развитых, и в развивающихся странах наблюдается рост частоты выявления резистентных к макролидам изолятов *C. jejuni* и *C. coli*, что определяет необходимость поиска альтернативных средств лечения.

Вместо постепенно теряющих эффективность в лечении инфекционных патологий антибиотиков многие ученые рассматривают пробиотики и их производные [243].

Пробиотики — апатогенные для человека бактерии, обладающие антагонистической активностью в отношении патогенных и условно патогенных бактерий и обеспечивающие восстановление нормальной микрофлоры, приводящее к восстановлению функций органов и систем организма [167, 168]. В их состав могут входить различные микроорганизмы, такие как *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Saccharomyces boulardii* и другие.

Они выпускаются в виде различных лекарственных форм, а также содержатся в различных ферментированных продуктах. Пробиотические продукты могут содержать один штамм микроорганизмов или смесь из нескольких штаммов [189]. В терапевтических целях у детей также могут применяться пребиотики (селективно ферментированные ингредиенты, которые образуются при специфичных изменениях в составе или активности желудочно-кишечной микробиоты, и таким образом оказывают положительный эффект на состояние здоровья хозяина) или синбиотики (продукты, содержащие как пробиотики, так и пребиотики, оказывающие позитивное влияние на состояние здоровья) [83].

Пробиотические препараты должны соответствовать определенным требованиям [297] и обладать определенными характеристиками. Микроорганизмы должны быть непатогенными и кислотоустойчивыми (либо выпускаться в виде кислотоустойчивых капсул). При попадании в организм они должны размножаться в кишечнике, колонизировать кишечный эпителий и стабилизировать баланс кишечной микробиоты. Критически важным свойством является безопасность пробиотиков: их апатогенность, отсутствие возможности переноса генов резистентности при сохранении возможности проявлять заявленные свойства [326].

Существуют несколько механизмов действия пробиотиков: конкурентная борьба за сайты и питательные субстраты, продуцирование противомикробных

субстанций, стимулирование иммунного ответа на патогенные бактерии, укрепляющее воздействие на цитоскелет [227, 272, 273].

Наиболее часто используемые пробиотики включают в себя молочнокислые бактерии, такие как *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp. и *Enterococcus* spp. В последние годы появились пробиотики на основе фекалибактерий, аккермансий, бактероидов и рекомбинантных пробиотических штаммов [218, 281]. Пробиотики «нового поколения», помимо лигандрецепторного взаимодействия между отдельными представителями микробиоты и клетками самого организма, обладают возможностью постоянного взаимодействия с организмом хозяина за счет сигнальных механизмов на тонком молекулярном уровне, и это взаимодействие сейчас находится в стадии изучения и сбора информации [291]. Данные механизмы рассматриваются в качестве перспективного направления персонализированной медицины при лечении ряда аутоиммунных заболеваний.

Пробиотические микроорганизмы вырабатывают ряд субстанций (в первую очередь молочная, уксусная, пропионовую и др. кислоты), которые снижают pH кишечника и подавляют рост патогенных и условно-патогенных бактерий [111]. Другим механизмом является продукция перекиси водорода, органических кислот и бактериоцинов, токсичных для патогенных микроорганизмов. Пробиотики также противодействуют колонизации патогенными микроорганизмами ЖКТ, конкурентно блокируя их адгезию к сайтам связывания на эпителии. Микроорганизмы рода *Lactobacillus* spp. способны укреплять барьер слизистой оболочки кишечника, стабилизируя плотные контакты между эпителиальными клетками и снижая проницаемость кишечника [131]. Еще одним механизмом действия пробиотиков является активация различных звеньев иммунной системы. Исследования на животных показали, что некоторые пробиотические штаммы способны стимулировать фагоцитарную активность лимфоцитов и макрофагов. Пробиотики также повышают уровень секреторного иммуноглобулина А слизистой оболочки кишечника и стимулируют выработку провоспалительных цитокинов мононуклеарными клетками [243]. В то же время, некоторые пробиотические средства обладают способностью подавлять

избыточный иммунный ответ, что особенно важно при иммунопатологических процессах (аутоиммунных и аллергических реакциях) [326].

Также пробиотики действуют на пищеварительную систему, влияя на активность ферментов, моторику, проницаемость кишечника. Они вмешиваются во все метаболические процессы организма, как правило способствуя поддержанию гемостаза.

Исходя из вышеперечисленных особенностей действия пробиотических микроорганизмов, их можно использовать в терапии различных заболеваний, в частности, при кампилобактериозе. Антагонистическая активность пробиотиков в отношении *Campylobacter* spp. исследуется в системе *in vitro* и *in vivo*.

В системе *in vitro* пробиотические штаммы показали различное действие на *Campylobacter* spp. (таблица 8).

Таблица 8 – Антикампиллобактерная активность пробиотических штаммов в системе *in vitro*

№	Пробиотический штамм	Эффект	Ссылка
1	2	3	4
1	<i>Lactobacillus</i> spp.	Антагонистическое действие в отношении <i>C. coli</i> и <i>C. jejuni</i>	[101]
	<i>Bifidobacterium</i> spp.		
	<i>Escherichia coli</i> Nissle 1917		
2	<i>Lactobacillus</i> spp.	Антагонистическое действие в отношении <i>C. coli</i> и <i>C. jejuni</i> при pH<4,3	[132]
	<i>Bifidobacterium</i> spp.	Нет антагонистического воздействия в отношении <i>C. coli</i> и <i>C. jejuni</i>	
	<i>Enterococcus faecium</i> NCIMB 10415	Нет антагонистического воздействия в отношении <i>C. coli</i> и <i>C. jejuni</i>	
3	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> N8, N9, ZL5	Антагонистическое действие в отношении <i>C. jejuni</i> . Кроме того, эти четыре штамма могли сильно противодействовать адгезии и инвазии <i>C. jejuni</i> к клеткам HT-29 и демонстрировали хорошую переносимость с искусственными желудочными соками и соками тонкого кишечника	[190]
	<i>Lactobacillus casei</i> ZL4		
4	<i>Lactobacillus plantarum</i> 0407 и <i>Bifidobacterium bifidum</i> Bb12	Антагонистическое действие в отношении <i>C. jejuni</i>	[133]
5	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	Антагонистическое действие в отношении <i>C. jejuni</i>	[298]

Продолжение таблицы 8

1	2	3	4
6	<i>Lactobacillus crispatus</i>	Антагонистическое действие в отношении <i>C. jejuni</i> <i>L. crispatus</i> был наиболее активен по сравнению с <i>L. acidophilus</i> , <i>L. gallinarum</i> и <i>L. helveticus</i> .	[136]
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>		
	<i>Lactobacillus gallinarum</i>		
	<i>Lactobacillus plantarum</i>		
	<i>Lactobacillus helveticus</i>		
7	<i>Escherichia coli</i> , продуцирующие колицины	Нет антагонистического воздействия в отношении <i>C. coli</i> и <i>C. jejuni</i>	[269]
	Пятьдесят шесть штаммов <i>Enterococcus spp.</i>	Нет антагонистического воздействия в отношении <i>C. coli</i> и <i>C. jejuni</i>	
	<i>Bacteroides spp.</i>	Нет антагонистического воздействия в отношении <i>C. coli</i> и <i>C. jejuni</i>	
	<i>Lactobacillus spp.</i>	Антагонистическое действие в отношении 10 штаммов <i>C. coli</i> и <i>C. jejuni</i>	
8	<i>Lactobacillus salivarius</i> SMXD51	Штаммоспецифическое антагонистическое действие в отношении <i>C. jejuni</i>	[79]
9	<i>Lactobacillus plantarum</i> LP1, LP3, LP5, LP7	Антагонистическое действие в отношении <i>C. coli</i> <i>C. coli</i> DSPV 541 и NCTC 11 366 были наиболее восприимчивы к действию пробиотиков по сравнению с <i>C. coli</i> DSPV 458, <i>C. coli</i> DSPV 570 и <i>C. coli</i> DSPV 567	[99]

Согласно исследованиям, представленным в таблице 8, наиболее часто оценивалось антагонистическое действие пробиотических бактерий рода *Lactobacillus*. Данные микроорганизмы проявляли наибольшее ингибирующее действие в отношении *C. coli* и *C. jejuni*. В представленных исследованиях были предложены различные механизмы, с помощью которых лактобациллы осуществляют такое действие. Эти механизмы связаны с синтезом высоких уровней органических кислот, перекиси водорода и бактериоцинов.

При исследовании колонизации кишечника в системе *in vivo* (таблица 9) также было отмечено эффективное действие пробиотиков против кампилобактерий.

Таблица 9 – Антикампилобактерная активность пробиотических штаммов в системе *in vivo*

№	Пробиотические штаммы	Животные	Эффект	Ссылка
1	<i>Lactobacillus salivarius</i> SMXD51	Цыплята-бройлеры	Снижение колонизации <i>C. jejuni</i>	[111]
2	<i>Lactobacillus crispatus</i>	Цыплята	Снижение колонизации <i>C. jejuni</i> <i>L. crispatus</i> наиболее эффективно снижал колонизацию кампилобактериями	[130]
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>			
	<i>Lactobacillus helveticus</i>			
	<i>Lactobacillus gallinarum</i>			
3	<i>Enterococcus faecium</i> 10415	Поросята	Не снижал колонизацию <i>C. coli</i>	[132]
4	<i>Lactobacillus paracasei</i> JR	Куры	Снижали колонизацию и инвазию <i>C. jejuni</i> Наиболее сильный ингибирующий эффект обнаружен при комбинации пробиотиков	[243]
	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> 15b			
	<i>Lactobacillus lactis</i> Y			
	<i>Lactobacillus lactis</i> FOa			

Куры были наиболее представленной моделью для изучения антагонистического влияния пробиотиков на кампилобактерии. *Lactobacillus* spp. были также наиболее часто изучаемыми пробиотическими организмами в системе *in vivo*. Антикампилобактерный эффект достигался за счет снижения колонизации и инвазии ЖКТ у кур. Среди пробиотических штаммов *L. crispatus* показал наибольшую эффективность. Также выраженный ингибирующий эффект был при применении комбинации разных видов лактобацилл.

Тем не менее, несмотря на то что отсутствуют исследования влияния пробиотических штаммов на колонизацию кампилобактериями ЖКТ мышей, кажется наиболее рациональным использование гуманизированных мышей для изучения антагонистической активности пробиотиков. Действительно, существуют несколько моделей колонизации ЖКТ мышей кампилобактериями [101], однако, работ по изучению эффективности пробиотиков на данной модели не было обнаружено.

Исследование пробиотиков в системах *in vitro* и *in vivo* не дает полной картины о наличии побочных эффектов и индивидуальной переносимости пробиотических препаратов. Существует риск возникновения побочных действий

пробиотиков, несмотря на их эффективность. Из наиболее распространенных побочных эффектов можно отметить метеоризм и вздутие живота [74]. Даже в случае удачного выбора пробиотика его эффект может быть нивелирован из-за невозможности пробиотических бактерий длительное время сохраняться в кишечнике. Доказана кратковременность нахождения и размножения пробиотических штаммов в желудочно-кишечном тракте человека из-за конфронтации с иммунной системой организма и компонентами микробиоты желудочно-кишечного тракта [177]. Существенно ограничена невозможность использования пробиотиков у новорожденных и детей грудного возраста, пациентов, имеющих тяжелые формы иммунодефицитарных состояний, после трансплантации органов, на фоне тяжелых инфекционных заболеваний [213]. В качестве альтернативы пробиотикам может выступать использование аутопробиотиков.

Аутопробиотики — представители собственной индигенной микробиоты, введенные обратно в организм пациента с целью восстановления микробиоценоза. Впервые использовать собственные штаммы микробиоты для профилактики дисбактериоза после приема антибиотиков и лечения кишечных инфекций, было предложено В. М. Коршуновым с соавторами в 1987 году [29]. Б. А. Шендеровым и М. А. Манвеловой в 1999 году был предложен сам термин и способ получения аутопробиотика, содержащего живые бифидобактерии и лактобациллы, выжившими после селекции обработкой сыворотками пациентов для исключения выделения «транзиторных бактерий» [46]. Б. А. Шендеровым также была сформулирована концепция использования аутофлоры пациентов и необходимость создания криобанков микробиоты для дальнейшего использования при терапии с помощью аутопробиотиков [47]. В дальнейшем в период с 2003 по 2018 гг. был разработан целый ряд аутопробиотиков, в каждом из них имелось два основных недостатка: неизвестный конечный состав аутопробиотического продукта, включающего различный набор бактериальных штаммов, и в связи с этим невозможность оценки безопасности созданного аутопробиотика для пациента.

В предложенных протоколах отсутствовал этап определения видовой принадлежности штаммов, отобранных в качестве аутопробиотиков. Это приводило к невозможности контролировать качество предлагаемого продукта, а также не учитывало важность видовых характеристик лактобацилл и бифидобактерий, которые имеют значение для прогнозирования их роли при обнаружении в различных экологических нишах. Эти недостатки были устранены при разработке нового поколения аутопробиотиков. Особенность данной группы аутопробиотиков состояло в генетическом анализе отбираемых бактериальных клонов, видовой идентификации штаммов, исследование на наличие генов патогенности, исключающие возможность возникновения побочных эффектов, а также биобанкирование отобранных аутопробиотических штаммов для повторного применения.

В настоящий момент данные препараты применяются для профилактики постинфекционного синдрома раздраженной кишки, болезни Паркинсона и хеликобактериозов. Однако для лечения острых инфекционных заболеваний ЖКТ у детей аутопробиотики ранее не применялись.

1.8 Возможность формирования осложнений, механизмы и структура неблагоприятных исходов кампилобактериоза

Возможные варианты течения кампилобактериоза, а также осложнения, наблюдаемые на фоне данной инфекции, находятся под пристальным вниманием ученых последние 30 лет. Осложнения кампилобактериоза условно подразделяются на ранние и поздние. Наиболее частые осложнения в острой фазе болезни это реактивный панкреатит и гепатит [57]. У 65 % детей умеренная дисфункция поджелудочной железы наблюдается на 5–16 день болезни. Она не имеет значимого воздействия на клиническую картину, характеризуясь повышением активности α -амилазы сыворотки крови, а также изменениями в копрограмме и по данным ультразвуковой диагностики [21, 32]. У 10–19 % детей кампилобактериоз сопровождается «безжелтушным» реактивным гепатитом. Это

осложнение чаще всего обнаруживается на 1–3 неделе болезни и выражается в умеренном повышении уровня сывороточных трансаминаз в 2–3, реже 5–8 раз [194]. При кампилобактериозе реактивный панкреатит и реактивный протекают благоприятно. Описаны также возможность развития массивного кишечного кровотечения при массивном формировании язв на слизистой оболочке толстой кишки и острый аппендицит с перфорацией аппендикса и последующим гнойным перитонитом, острый холецистит и мезаденит [8, 13, 20, 27, 41].

При кампилобактериозе возможно также развитие гемолитико-уремического синдрома. Однако частота развития данного осложнения реже, чем при кишечных инфекциях, вызванных другими патогенами [293].

Новорожденные, дети с белково-энергетической недостаточностью и различными иммунодефицитарными состояниями имеют высокие риски вторично генерализованных форм кампилобактериоза [282]. Бактериемия, по данным исследователей, при кампилобактериозе может наблюдаться и у иммунокомпетентных детей. Однако для данной группы не характерно формирование вторичных очагов инфекции [185].

Список кампилобактерий, с которыми связывают септическое течение кампилобактериоза, несколько шире. В крови больных генерализованными формами данной инфекции обнаруживают *C. fetus* (54 %), *C. jejuni* (29,3 %) и *C. coli* (9,7 %), *C. laridis* и *C. upsaliensis* (0,8–1,5 %) [91, 92]. 80 % случаев генерализованных форм кампилобактериоза предшествует кишечная дисфункция. Также важную роль играют ятрогенные факторы: катетеризация центральных сосудов или оперативные вмешательства [252]. Причиной септицемии новорожденных чаще всего выступает перинатальный контакт.

Иногда кампилобактериоз приводит к внутриутробной смерти плода или к преждевременным родам, сопровождающимся кампилобактерным сепсисом в первые сутки [282, 244]. В литературе описана нозокомиальная вспышка кампилобактериоза 11 детей, ассоциированная с *C. jejuni* и протекающая с развитием менингита [246].

Клиническая картина диссеминированных форм характеризуется сочетанием общеинфекционной симптоматики (затяжная лихорадка, прогрессирующее увеличение тяжести заболевания и истощения пациента) и симптомов очагового поражения тех или иных органов мишеней: менингита, перикардита, эндокардита, пневмонии, септических артритов и остеомиелита, а также формированием абсцессов в паренхиматозных органах [185].

Поздние осложнения течения кампилобактериоза могут проявляться и через несколько месяцев с начала болезни. Ранее главную роль в отсроченных осложнениях кампилобактериоза отводили аутоиммунным механизмам, провоцировавшим поражения различных органов. В работах последних лет существенная роль уделяется также и микробиоценозу кишечника, факторам патогенности возбудителя, а также нарушениям взаимодействия оси «микробиота — кишечник — головной мозг» [249].

Синдромы Гийена — Барре и Миллера — Фишера, являющиеся аутоиммунными полинейропатиями, рассматриваются в качестве наиболее тяжелых поздних осложнений кампилобактериоза. Данная патология занимает ведущее место среди болезней периферической нервной системы у жителей Европы и Северной Америки, что, по всей видимости, связано с генетическими особенностями представителей этих популяций, предрасполагающими к аутоиммунной полирадикулопатии [60, 110]. Клиническая картина синдрома Гийена — Барре проявляется нарастающими за несколько дней или недель двигательными нарушениями, арефлексией и слабо выраженными нарушениями чувствительности, носящими полиневритический характер («перчатки», «носки»). Синдром Миллера — Фишера также является достаточно редким поздним осложнением кампилобактериоза, представляя из себя непаралитический вариант синдрома Гийена — Барре, при котором у пациентов наблюдаются офтальмоплегия, атаксия и арефлексия.

Заболеваемость синдромом Гийена — Барре по данным CDC (Centers for Disease Control and Prevention, центров по контролю и профилактике заболеваний) составляет 1–2 человека на 100 000 населения [262]. Заболевание чаще выявляется

у пациентов мужского пола [286]. Частота регистрации увеличивается с возрастом пациента [138]. По данным ВОЗ, *C. jejuni* являются триггером каждого третьего случая синдрома Гийена — Барре [323]. Синдром Гийена — Барре, возникающий после инфекции *C. jejuni*, обычно представляет собой более тяжелое заболевание, связанное с обширным повреждением аксонов, большей вероятностью необходимости искусственной вентиляции легких и повышенным риском необратимых неврологических повреждений [171].

Стоит, однако, признать, что риск развития синдрома Гийена — Барре после инфицирования *C. jejuni* с учетом недостаточной диагностики кампилобактериоза оценить достаточно трудно. По данным J. Finsterer на 1000 случаев заражения *C. jejuni* отмечается развитие не более 1 случая синдрома Гийена — Барре [171]. Риск развития синдрома Гийена — Барре увеличивается при заражении определенными серотипами *Campylobacter*. Разные серотипы кампилобактерий имеют существенные различия по возможности формирования синдрома Гийена — Барре. Так, в США развитие данного осложнения наиболее часто связывают с серотипом O:19 по Пеннеру, а в Южной Африке с серотипом O:41 [171].

Было показано, что тяжесть кампилобактериоза не коррелирует с повышенным риском развития синдрома Гийена — Барре [190]. Учитывая сроки манифестации неврологической симптоматики синдрома Гийена — Барре, после инфекции *C. jejuni* (через 1–3 недели после начала диарейного заболевания), вероятно, ключевым фактором являются патологические механизмы иммунного реагирования. Молекулярная мимикрия между гликолипидами периферических нервов или белками миелина и структурами липополисахаридов некоторых штаммов *Campylobacter* spp., вероятно, играет роль в патогенезе кампилобактер-индуцированного синдрома Гийена — Барре [39].

Другие постинфекционные осложнения инфекции включают увеит, гемолитическую анемию, энцефалопатию [282], асептические артриты, кардиты, нефриты и узловатую эритему [249].

Реактивный артрит зачастую проявляет себя как моноартрит на 2–8 неделе от начала болезни. Артрит поражает крупные суставы — коленные и локтевые. В

некоторых случаях патология может затрагивать несколько суставов. Реактивный артрит наблюдается в среднем у 9 из 1000 пациентов с кампилобактериозом [59]. Возможно развитие синдрома Рейтера как позднее осложнение кампилобактериоза [244]. Течение посткампилобактерного реактивного артрита благоприятное, однако у 10–20 % людей симптомы могут сохраняться более 6 месяцев и требовать длительного лечения. Было также показано, что применение антибактериальных препаратов как в острый период кампилобактериоза, так и при развитии артрита, не влияло на вероятность формирования осложнения и уменьшение его клинических проявлений [146]. Лица с антигеном гистосовместимости *hlaB27* более склонны к развитию реактивного артрита после заражения *Campylobacter* spp. [88].

По данным единичных исследований, прослеживается связь между лимфопролиферативными болезнями тонкой кишки (в частности, «болезни альфа-цепей») и ранее перенесенным кампилобактериозом [203].

На протяжении многих лет ведутся серьезные дебаты о роли кампилобактериоза в развитии воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК). Было высказано предположение, что у генетически предрасположенных людей кампилобактерии на фоне нарушения барьерных свойств кишечного эпителия могут запускать, а затем стимулировать нарушение регуляции иммунного ответа, приводя к хроническому воспалению кишечника [185, 216]. По данным недавнего метаанализа, включившего 519 пациентов с ВЗК и 1133 пациента из контрольной группы, было показано, что риск развития ВЗК после заражения *Campylobacter* spp. увеличился почти в три раза [256].

Связь между кишечными инфекциями и последующим формированием функциональных расстройств желудочно-кишечного тракта (ФРОП) была установлена и подтверждена в большом количестве исследований [178]. Однако, имеется недостаточное количество исследований, способных количественно оценить риск развития ФРОП при инфекции, вызванной конкретным возбудителем, особенно среди детей. Крупное ретроспективное когортное исследование в США, посвященное посткампилобактерным ФРОП, выявило

статистически значимую связь между кампилобактериозом у военнослужащих и риском развития данной патологии: инфекция повышала относительный риск формирования данной патологии в 1,8–6,7 раз [303]. Рядом авторов предполагается, что запуск ФРОП происходит в результате сложного взаимодействия между микробиотой кишечника, иммунной и автономной нервной системой (так называемая ось «кишечник — мозг») [265]. Данная группа осложнений является наименее изученной и требует дальнейшего пристального внимания.

Заключение

На сегодняшний день кампилобактерии являются одними из наиболее значимых бактериальных патогенов в этиологии ОКИ у детей во всех странах мира. Актуальность изучения кампилобактериоза определяется многообразием клинических проявлений заболевания, высокой вероятностью формирования острых и отсроченных осложнений, риском затяжного течения и повторного бактериовыделения в отсутствие применения адекватной терапии.

Диагностика кампилобактериоза, несмотря на расширение возможностей применения молекулярно-генетических методов идентификации возбудителя, остается несовершенной. Необходимы дальнейшие исследования по сопоставлению чувствительности и специфичности различных методов лабораторной диагностики, а также условий их наиболее эффективного применения.

Малоизученными остаются механизмы формирования отдаленных осложнений кампилобактериоза, требующие комплексной оценки иммунитета, микробиоценоза кишечника и факторов патогенности *Campylobacter* spp.

Клинико-лабораторная характеристика кампилобактериоза у детей нуждается в дальнейшем обновлении актуальными данными. Недостаточно изученным остается значение фенотипических и генотипических особенностей возбудителя, а также микробиоценоза кишечника и иммунного ответа на клиническое течение кампилобактериоза.

В условиях растущей резистентности кампилобактерий к антибактериальным препаратам актуальным является поиск новых средств лекарственной терапии, уменьшающих длительность и выраженность симптомов заболевания и снижающих риски осложнений. Особенно важно изучить специфические и неспецифические факторы колонизационной резистентности у детей, позволяющие дать прогноз течения болезни и разработать методы комплексной терапии кампилобактериоза и его осложнений.

Глава 2. ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Общая характеристика исследуемых групп и дизайн исследования

Настоящее исследование проведено в ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России (г. Санкт–Петербург) в период с 2018–2023 гг. и включало несколько этапов.

Дизайн исследования представлен в таблице 10. Выполнение работы было одобрено независимым этическим комитетом при ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России, как не противоречащее этическим нормам. Обязательным было получение информированного согласия законных представителей пациента на участие.

Таблица 10 – Описание дизайна и объекта исследования

Объект исследования, время проведения	Дизайн исследования
1. Клинические и лабораторные особенности и отдаленные исходы кампилобактериоза	
203 пациента с кампилобактериозом, 2019–2022 гг.	Одноцентровое «случай — контроль», катаральное наблюдение
2. Изучение эффективности различных схем терапии кампилобактериоза у детей	
87 пациентов с кампилобактериозом, 2019–2021 гг.	Одноцентровое исследование методом «случай — контроль»
3. Персонализированная симбионтная терапия детей с негладким течением кампилобактериоза	
34 пациента с негладким течением кампилобактериоза, 2019–2022 гг.	Одноцентровое исследование методом «случай — контроль»
4. Персонализированная симбионтная терапия детей с ФРОП после кампилобактериоза	
40 детей с ФРОП, перенесшие кампилобактериоз, 2018–2022 гг.	Одноцентровое исследование методом «случай — контроль»
5. Изучение частоты диагностирования кампилобактериоза в структуре острых кишечных инфекций с синдромом геморрагического колита у детей	
400 пациентов с геморрагическим колитом, 2019–2022 гг.	Одноцентровое ретроспективное исследование
6. Изучение антагонистической активности пробиотиков и аутопробиотиков в отношении кампилобактерий <i>in vitro</i>	
43 штамма <i>Campylobacter</i> spp. из коллекции бактериальных культур лаборатории ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА + 12 пробиотиков и 23 штамма аутопробиотиков, 2018–2020 гг.	Экспериментальное контролируемое нерандомизированное исследование <i>in vitro</i>
7. Оценка эффективности пробиотиков и аутопробиотиков на экспериментальной модели кампилобактериоза у мышей	
100 мышей + культура <i>S. jejuni</i> 508 из коллекции бактериальных культур лаборатории ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА	Экспериментальное контролируемое нерандомизированное исследование <i>in vivo</i>

2.1.1 Клинические и лабораторные исследования и оценка исходов кампилобактериоза

Настоящее исследование было выполнено в период 2018–2022 гг. в отделении кишечных инфекций и клинико-диагностическом медицинском центре ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России.

Исследование проведено как одноцентровое по типу «случай — контроль». Отбор больных для исследований осуществлялся методом случайной выборки (простой случайный отбор).

Критерии включения больных в исследование:

1. Возраст пациента от 28 дней до 17 лет.
2. Лабораторно подтвержденный кампилобактериоз.
2. Отсутствие органической и патологии органов пищеварения или ФРОП в анамнезе.
3. Отсутствие эпизодов ОКИ в течение предшествующих 12 месяцев.

Критерии исключения больных из исследования:

1. Несоблюдение протокола исследования.
2. Тяжелые и среднетяжелые формы ОКИ в период катамнестического наблюдения.

Диагноз кампилобактериоз устанавливался у пациентов с клиническими признаками ОКИ (острое начало заболевания с симптомами гастроэнтерита (рвота, диарея, лихорадка), наличие семейного эпидемиологического контакта или случаев ОКИ в детском коллективе), на основании выявления *Campylobacter* spp. бактериологическим методом (посев на кампилобактериоз) и / или ДНК возбудителя методом ПЦР-РВ [9]. У всех пациентов дополнительно проводилось исключение других этиологических агентов ОКИ бактериологическим, серологическими и молекулярно-генетическими методами. Пациенты с сочетанными формами ОКИ в исследование не включались. Лабораторное подтверждение диагноза осуществляли в клинико–диагностической лаборатории

ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России (заведующая — к. м. н. Э. А. Мартенс).

Объем проведенных лабораторных и инструментальных исследований представлен в таблице 11.

Таблица 11 – Объем проведенных лабораторных и инструментальных исследований

Группа методов	Описание	Количество исследований		
		1 сутки	7 сутки	21 сутки
Рутинные клинические и лабораторные методы	Клинический анализ крови	203	203	–
	Биохимический анализ крови	203	203	–
	Общий анализ мочи	203	203	–
	Копрограмма	203	203	76
Микробиологические методы	Посев на кампилобактериоз	203	203	–
	Посев фекалий на дизентерийную группу	203	–	–
	Посев кала на условно–патогенные микроорганизмы	127	–	–
Молекулярно–генетические методы	Оценка микробиоценоза кишечника методом ПЦР-РВ Колонофлор–16	203	203	203
	Профилирование микробиоты кишечника с помощью 16S рРНК-секвенирования	203	-	203
Специализированные иммунологические тесты в кале	Фекальный кальпротектин	203	203	90
	Фекальный зонулин	203	203	90
Иммунологические методы исследования	Определение уровня IgA, IgG, IgM	45	45	–
	Определение уровня цитокинов	45	45	–
	Фенотипирование лимфоцитов	45	45	–
	Флуоресцентный иммуноанализ	203	–	–
	Иммунохроматографическое исследование кала	203	–	–
Инструментальные методы диагностики	ЭКГ	203	–	–
	УЗИ органов брюшной полости	98	–	–

Лабораторное обследование проводили в 1 и 7 дни госпитализации, в соответствии с протоколом оказания медицинской помощи детям при кампилобактериозе [9]. При наличии необходимости более точной оценки

динамики инфекционного процесса допускалась промежуточная дополнительная оценка лабораторных показателей.

Клиническая лабораторная диагностика осуществлялась в клинико–диагностической лаборатории ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России и включала клинический анализ крови, общий анализ мочи, копрологическое исследование, биохимическое исследование крови (определение уровня мочевины, креатинина, трансаминаз, амилазы, С-реактивного белка, глюкозы, основных электролитов в сыворотке крови).

В соответствии с медицинским стандартом обследования все дети проходили электрокардиографическое исследование. По показаниям выполняли УЗИ органов брюшной полости и почек.

Все пациенты в условиях стационара получали стандартную комплексную терапию, включающую лечебное питание, оральную регидратацию, инфузионную терапию глюкозо-солевыми растворами, применение энтеросорбентов, пробиотиков, пребиотиков и ферментных препаратов [9]. Антибактериальные препараты назначали при наличии показаний [28].

При необходимости пациенты консультировались профильными специалистами (окулист, хирург, отоларинголог, невролог) для исключения сопутствующих заболеваний или коррекции терапии с учетом наличия данных состояний.

Оценка типа, тяжести, течения и варианта кампилобактериоза проводилась в соответствии с классификацией заболевания, предложенной Н. В. Воротынцевой и А. В. Гореловым [28].

При оценке тяжести болезни учитывались выраженность повышения температуры, болей в животе, частота стула, рвоты, общему состоянию пациента, длительность сохранения и рецидивы указанных симптомов.

Основными критериями клинического выздоровления служили нормализация частоты и консистенции стула, отсутствие рвоты, лихорадки и болей в животе. Лабораторными критериями выздоровления являлись нормализация клинико-биохимических показателей крови, отсутствие воспалительных

изменений в копрограмме и отрицательные результаты посева кала на специализированные среды для диагностики кампилобактериоза.

После выписки из стационара пациенты продолжали находиться под врачебным наблюдением в катамнезе в течение 1 года. При нарушениях состояния ребенка пациент или его представитель могли связаться с курирующим врачом и сообщить о появлении симптомов. Обязательная оценка состояния осуществлялась в 5 контрольных точках исследования: 0, 90, 180, 270 и 365 дней. Интерпретация жалоб пациентов осуществлялась на основании Римских критериев диагностики ФРОП IV пересмотра [178] и клинических рекомендаций общества детских гастроэнтерологов, гепатологов и нутрициологов [7]. Учитывали появление жалоб на боли в животе, диспепсические явления со стороны верхнего (отрыжка, тошнота и рвота) и нижнего (метеоризм, флатуленция, запоры и диарея) отделов ЖКТ, изменения аппетита, общего самочувствия во время наблюдения. Проводилась оценка и исключение симптомов тревоги («красные флаги»): замедление роста и развития ребенка, необъяснимая потеря массы тела, повторные эпизоды рвоты, постоянная рвота, рвота с кровью, дисфагия, наличия ночной симптоматики (пробуждение ребенка ночью от болей или рвоты), необъяснимая лихорадка, артриты; выявление объемного образования или вентральной грыжи в брюшной полости [25]. Обнаружение «красных флагов» свидетельствовало в пользу органической патологии органов пищеварения и требовало дальнейшего обследования пациента. Для оценки консистенции фекалий применялась графическая таблица классификации по Бристольской шкале. При оценке болевого абдоминального синдрома также применялась графическая 10-балльная шкала.

2.1.2 Оценка эффективности различных схем лекарственной терапии кампилобактериоза

Эффективность различных схем лекарственной терапии кампилобактериоза была оценена у 87 пациентов из основной группы исследования в возрасте 1–3 лет.

Дополнительными критериями включения в исследование служили:

1. Возраст от 12 до 36 месяцев.
2. Клинически и лабораторно подтвержденный кампилобактериоз.

Критериями невключения в исследование служили:

1. Самостоятельно начатая до поступления в стационар терапия антибактериальными препаратами.
2. Несоблюдение протокола исследования.

Назначение антибактериальных препаратов осуществлялось на основании практических рекомендаций по антибактериальной терапии, разработанных НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора [28]. Критерием выбора лекарственного препарата были клинические и лабораторные параметры при поступлении: выраженность интоксикационного синдрома, дегидратации, параметров системного воспаления, наличие крови в стуле, наличие коморбидной патологии. Выбор стартового препарата осуществлялся до установления этиологического диагноза.

На основании выбранной врачами схемы лечения пациенты были разделены на три группы. Пациенты группы 1 — применяли пробиотик, содержащий 10^9 КОЕ *Lactobacillus GG* (LGG) и 10^9 КОЕ *Bifidobacterium lactis* BB-12 и не получали антибактериальный препарат. Пациенты группы 2 указанный пробиотик и азитромицин (в дозировке 10 мг/кг/сутки *per os*). Пациенты группы 3, помимо пробиотика, в первые 2–3 дня лечения получали цефтриаксон (в дозировке 50 мг/кг/сутки внутримышечно или внутривенно) с последующим коррекцией и заменой на азитромицин (в дозировке 10 мг/кг/сутки *per os*).

Несмотря на низкую эффективность применения цефтриаксона при кампилобактериозе, пациенты группы 3 были включены в исследование для отражения стереотипной ситуации, когда из-за отсутствия установленного этиологического диагноза у пациента с признаками бактериального энтероколита начинается эмпирическая антимикробная терапия препаратами широкого спектра действия.

В случае появления «симптомов тревоги» (увеличение количества примеси крови в стуле, длительная стойкая лихорадка, ухудшение общего состояния

ребенка) у пациентов 1 группы, допускалась смена схемы лечения: к терапии мог быть добавлен азитромицин (в дозировке 10 мг/кг/сутки *per os*).

2.1.3 Оценка эффективности персонифицированной симбионтной терапии кампилобактериоза

Персонифицированная симбионтная терапия детей с негладким течением кампилобактериоза

Персонифицированная симбионтная терапия заключалась в пероральном применении средств, содержащих культуру аутопробиотиков. Аутопробиотики — это функциональные продукты на основе индигенных непатогенных выделенных из кишечника или других биотопов человека бактерий, выращенных на питательных средах и введенных в организм, из которого они были выделены в количестве и способом, сопоставимыми с пробиотическими бактериями [5].

Критериями включения пациентов в исследование явились:

1. Возраст от 3–36 месяцев.
2. Наличие на 7 сутки с момента поступления в стационар не менее 1 из следующих признаков негладкого течения кампилобактериоза:

- Выделения культуры *Campylobacter* spp.;
- Сохранение диареи;
- Сохранение примеси крови в стуле;
- Воспалительные изменения в копрограмме;
- Боли в животе.

Критерии исключения:

1. Несоблюдение протокола исследования.
2. Отказ родителей / законных представителей от участия ребенка в исследовании.

Пациентам группы А получали аутопробиотик, основанный на индигенном штамме *E. faecium* пациенты группы П — пробиотический штамм *E. faecium* L3 и

рекомендованное диетическое питание, соответствующее возрасту и периоду реконвалесценции от кишечной инфекции.

Пробиотики и аутопробиотики применяли в виде жидкой формы (представляющей собой закваску, содержащую 10^8 КОЕ живых бактерий в 1 мл). И пробиотик, и аутопробиотик принимали между приемами пищи в течение 10 дней. Дети от 3 до 12 месяцев — по 5 мл 2 раза в день для детей. Дети 12–36 месяцев по 10 мл 2 раза в день. Жидкие формы пробиотических штаммов для пациентов готовили на базе ФГБНУ ИЭМ.

Результаты лечебного использования аутопробиотических и пробиотических штаммов у наблюдаемых пациентов оценивали на основании динамики клинических проявлений, данных копрологического исследования и изучения микробиоценоз кишечника методом ПЦР-РВ. Оценка проб фекалий осуществляли в отделе молекулярной микробиологии ФГБНУ ИЭМ (руководитель — д. м. н., профессор, член-корреспондент РАН А. Н. Суворов).

Персонафицированная симбионтная терапия детей с функциональными расстройствами органов пищеварения после кампилобактериоза

При формировании в период катарального наблюдения ФРОП для их коррекции также применялась терапия аутопробиотиками.

Критериями включения пациентов в исследование явились:

1. Возраст от 12 месяцев до 17 лет.
2. Клинически подтвержденное ФРОП.

Критерии исключения:

1. Наличие «симптомов тревоги».
2. Несоблюдение протокола исследования.
3. Отказ родителей / законных представителей от участия ребенка в исследовании.

Пациентам с лечебной целью назначали аутопробиотик (*E. faecium*) или пробиотический штамм *E. faecium* L3. Пробиотики и аутопробиотики применяли в

виде жидкой формы (представляющей собой закваску, содержащую 10^8 КОЕ живых бактерий в 1 мл). И пробиотик, и аутопробиотик принимали между приемами пищи в течение 14 дней. Дети от 3 до 12 месяцев — по 5 мл 2 раза в день для детей. Дети 12–36 месяцев по 10 мл 2 раза в день. У детей старше 3 лет применяли драже, содержащую 10^8 КОЕ живых бактерий в 1 мг. Жидкие формы пробиотиков и аутопробиотиков для пациентов готовили на базе ФГБНУ ИЭМ.

Результаты лечебного использования аутопробиотических и пробиотических штаммов у наблюдаемых пациентов оценивали по схожим параметрам, что и при коррекции негладких форм кампилобактериоза.

2.1.4 Изучение частоты диагностирования кампилобактериоза в структуре острых кишечных инфекций с синдромом геморрагического колита у детей

В период с января 2020 по декабрь 2022 года в отделении кишечных инфекции клиники ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА проведено проспективное одноцентровое исследование 400 пациентов в возрасте от 1 года до 17 лет (средний возраст $5,8 \pm 2,5$ лет), поступивших с диагнозом «острый энтероколит» и наличием макроскопической примеси крови в стуле.

Установление этиологии у всех пациентов осуществляли с применением четырех методов: ПЦР, посева кала (на дизентерийную группу, кампилобактериоз и условно-патогенную флору), ФИА и ИХ исследование кала.

2.1.5 Экспериментальные модели изучения кампилобактериоза

Исследование антагонистической активности пробиотиков и аутопробиотиков в отношении кампилобактерий *in vitro*

Исследование проведено на базе ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА» и ФБУН ИЭМ в период с января по март 2022 г. Штаммы *Campylobacter* spp. были получены из коллекции культур ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА. Коллекция включала в себя штаммы кампилобактерий, которые были выделены из фекалий детей с подтвержденным кампилобактериозом. *Campylobacter* spp. из флаконов для криоконсервации на бусах Cryobank (Mast Group Ltd., Великобритания) были посеяны на кровяной агар (Pronadisa Conda, Испания) с селективной добавкой (CCDA, SR0155E Oxoid, Великобритания), после чего культивировались в условиях с содержанием 5 % кислорода в течение 48 часов при 37 °С.

Идентификация *Campylobacter* spp. осуществлялась при помощи MALDI-TOF масс-спектрометрии. Через 2 дня производился смыв с чашки Петри 1 мл тиогликолевым бульоном (Pronadisa Conda, Испания). На колумбийский агар (Condalab, Испания), содержащий 10 % сыворотки крови плодов коровы (ООО «БиолоТ», Россия), наносили 100 мкл бактериальной суспензии кампилобактерий в концентрации 10^9 КОЕ/мл и растирали шпателем для создания равномерного газона. Концентрацию *Campylobacter* spp. оценивали с помощью стандартов мутности МакФарланда (McFarland Standard) (Becton Dickinson, США) пробирках 0.5, 1, 2, 3, 4 и 5 ед. ($1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл).

В качестве пробиотических штаммов использовались *Bifidobacterium longum* PXN 30, *Enterococcus faecium* L3, *Lactobacillus acidophilus*, *Sacharomyces boulardii*, *Limosilactobacillus reuteri* (*L. reuteri*) DSM 17938, *Lacticaseibacillus rhamnosus* (*L. rhamnosus*) GG, *Lactobacillus plantarum* 8R-A3, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12) в концентрации 10^8 КОЕ/мл.

В качестве аутопробиотиков были использованы штаммы *Enterococcus faecium* в концентрации 10^8 КОЕ/мл, выделенные у пациентов из того же материала,

что и *Campylobacter* spp. Аутопробиотические энтерококки были получены от детей с подтвержденным кампилобактериозом, согласно зарегистрированному патенту [29].

С целью увеличения бактериальной массы аутопробиотические штаммы были культивированы на L-агаре (Luria-Bertani, США) при 37 °С в течение 24 часов. Затем единичную колонию пересекали в 1 мл L-бульона (Luria-Bertani, США) и культивировали в течение суток при тех же условиях. На следующий день на L-агар производили посев десятикратных разведений бактериальной суспензии и культивировали при 37 °С в течение 24 часов. Через сутки оценивали концентрацию энтерококков в первичной бактериальной суспензии и приготавливали конечную суспензию с итоговым содержанием 10^8 КОЕ/мл аутопробиотических энтерококков. Для оценки качества посева и идентификации выросших культур использовали метод масс-спектрометрии.

Приготовленные пробиотические суспензии капали по 5 мкл на агар с индикаторными культурами. В качестве положительного контроля использовали диск с азитромицином, а в качестве отрицательного контроля использовали 5 мкл стерильного физиологического раствора.

Культивирование бактерий осуществлялось при 37 °С в течение 48 часов в стандартных для *Campylobacter* spp. микроаэрофильных условиях, полученных с помощью системы для создания анаэробной, микроаэрофильной и капнофильной атмосферы Anoxomat™ (ООО «ИЛС», Россия).

Через 48 часов производилась оценка результатов. Определяли зоны задержки роста кампилобактерий, для этого измеряли наибольший и наименьший радиус от капли пробиотических культур до газона кампилобактерий и считали среднее значение (таблица 12).

Таблица 12 – Интерпретация размеров зон торможения роста

Диаметр зоны торможения роста (в мм)	Чувствительность <i>Campylobacter</i> spp.	Цветовое отображение
≤ 10	нечувствительны	
10 — 15	слабо чувствительны	
15 — 20	чувствительны	
≥ 20 — 25	высокочувствительны	

Оценка эффективности пробиотиков и аутопробиотиков на экспериментальной модели кампилобактериоза у мышей

Эффективности применения пробиотиков и антибиотиков при лечении кампилобактериоза оценивали на биологической модели кампилобактериоза у взрослых мышей. В качестве прототипа использовали модель кампилобактериоза, разработанную N. Giallourou [53].

Самцы аутбредных (беспородных) белых мышей самцов в возрасте от 8 до 10 недель весом 30–40 граммов были приобретены в лабораторном питомнике Российской академии наук (Рапполово, Ленинградская область, Россия). Их содержали в отдельных клетках для каждой группы при постоянных условиях: температура (18–22 °С), 12-часовой цикл свет/темнота, уровень шума не более 85 дБ, влажность 50–60 %. Им был предоставлен свободный доступ к воде и стандартному корму (полный рацион для лабораторных крыс и мышей, ГОСТ Р 50258–92, гранулы 14 мм в диаметре, Россия). Исследование проведено в строгом соответствии с принципами гуманного обращения с животными [189].

Была использована культура *C. jejuni* 508, полученная из коллекции бактериальных культур ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА. Изолят был выбран с учетом данных секвенирования, так как обладал полным спектром оцениваемых факторов вирулентности *C. jejuni*.

C. jejuni 508, использованный для инокуляций, заседали на несколько чашек Петри с колумбийским агаром (Condalab, Испания) с добавлением 10 % сыворотки крови плодов коровы (ООО «БиолоТ», Россия) и культивировали при 42 °С в микроаэрофильной среде в течение 48 часов. Через 2 дня производился смыв с

чашек Петри 2 мл тиогликолевого бульона (Pronadisa Conda, Испания) и собирался в пробирку для введения. Концентрация бактериальной суспензии кампилобактерий была доведена 10^{10} КОЕ/мл, которую определяли путем серийного разведения и посева на колумбийский агар с добавкой бараньих эритроцитов (10 %). Культуру кампилобактерий идентифицировали, оценивая ее культуральные характеристики, морфологию и тинкториальные свойства, используя иммунохроматографический тест для выявления антигенов *Campylobacter* spp. и MALDI-ToF масс-спектрометрию.

В качестве пробиотических штаммов использовался лиофилизат, содержащий *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* в концентрации 10^8 КОЕ/мл, и молочнокислая закваска, содержащая *Enterococcus faecium* L3 в концентрации 10^8 КОЕ/мл.

Для проведения эксперимента мыши были разделены на 5 групп по 20 животных в каждой (таблица 13):

Таблица 13 – Исследуемые группы

Группа	Патоген	Лекарственные средства
К+	<i>Per os C. jejuni</i> 508. 10^{10} КОЕ/мл	Фосфатный буфер
П1	<i>Per os C. jejuni</i> 508. 10^{10} КОЕ/мл	200 мкл <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>Lactis</i>
П2	<i>Per os C. jejuni</i> 508. 10^{10} КОЕ/мл	200 мкл <i>Enterococcus faecium</i> L3
А	<i>Per os C. jejuni</i> 508. 10^{10} КОЕ/мл	200 мкл азитромицин
К-	-	Фосфатный буфер

Состав фосфатного буфера: 8,00 г/л NaCl, 0,20 г/л KCl, 1,44 г/л Na₂HPO₄, 0,24 г/л KH₂PO₄ (pH 7,4). Длительность эксперимента составляла 7 дней. Каждый день мышам вводили *per os* через желудочный зонд 200 мкл пробиотиков (группы П1 и П2) и 200 мкл фосфатного буфера (группы К+ и К-). На второй день мышей из групп К+, П1, П2 и А перорально заражали через желудочный зонд суспензией, содержащей *C. jejuni* 508 в концентрации 10^{10} КОЕ. Мыши из группы К- во второй день получили 200 мкл фосфатного буфера вместо суспензии кампилобактерий.

Эффективность применяемых средств оценивали на основании клинических признаков (наличие взъерошенной шерсти, измененной позы, снижение аппетита, наличие диареи изменение поведения). Помимо этого, ежедневно производили контроль веса мышей. На 7 день эксперимента у мышей собирали пробы фекалий для оценки персистенции возбудителя. Культивирование кампилобактерий осуществляли в микроаэрофильных условиях на стандартной питательной среде.

2.2 Иммунологические методы исследования

2.2.1 Иммунологические методы диагностики кампилобактериоза

Для идентификации возбудителя использовали иммунофлюоресцентный и иммунохроматографический методы, используя тест системы MariPoc (Arcdia, Финляндия) и «РЭД *Campylobacter*» (ООО «РЭД», Россия).

Ни ФИА, ни ИХ не были частью диагностического лабораторного алгоритма во время исследования, не включены в актуальные клинические рекомендации. Их применение в настоящий момент с условием быстрого получения результатов исследования (10–30 минут) позволяет врачу предположить течение кампилобактериоза, но не является достаточным основанием для подтверждения этиологического диагноза. Взятие материала у всех пациентов осуществлялось в первые сутки с момента поступления в стационар.

2.2.2 Методы серотипирования *C. jejuni*

Серотипирование *C. jejuni* основывалось на выявлении термостабильного антигена (ТА) методом пассивной гемагглютинации (схема Пеннера).

Серотипирование *C. jejuni* (n=32) проводили с использованием коммерчески доступного набора антисывороток Mast Assure Antiserum *Campylobacter* (Mast Group, Германия), основанного на термостабильных ТА-серогруппах Пеннера и содержащего 25 абсорбированных антисывороток против следующих наиболее

распространенных ТА-серотипов: (1, 44), 2, 3, (4, 13, 16, 43, 50), 5, (6, 7), 8, 10, 11, 12, 15, 18, 19, 21, (23, 36, 53), 27, 31, 32, 37, 38, 41, 45, 52, 55, 57. Экстракты ТА-антигена готовили оригинальным методом кипячения Пеннера. Бактерии собирали с чашек с кровяным агаром и суспендировали в физиологическом растворе, готовя суспензии с использованием стандарта мутности (McFarland). Термостабильные антигены экстрагировали путем кипячения и фиксировали на свежеприготовленных бараньих эритроцитах. Сенсибилизированные эритроциты затем смешивали с антисывороткой в микротитровальных планшетах и исследовали на спонтанную агглютинацию.

Контрольную сыворотку, включенную в набор, использовали для выявления любой неспецифической реакции. Отсутствие положительной реакции характеризовалось как «не типировано».

2.2.3 Изучение параметров иммунного ответа организма при кампилобактериозе

Исследование иммунного статуса проводилось на 1 и 7 день госпитализации.

Иммунологическое исследование включало:

- 1) изучение лейкограммы с определением уровня основных субпопуляций лейкоцитов;
- 2) определение концентрации сывороточных иммуноглобулинов классов IgA, IgM, IgG;
- 3) определение концентрации сывороточных цитокинов IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8;
- 4) исследования фекального кальпротектина, зонулина.

Исследование лейкограммы крови осуществляли стандартным методом. Фенотипирование лимфоцитов проводили в лимфоцитотоксическом тесте с использованием моноклональных антител серии ICO (НПЦ «Медбиоспектр»

Москва): анти-CD3, анти-CD4, анти-CD8, анти-CD16, анти-CD20, анти-CD25, анти-CD5, сравнивая их с референсными значениями.

Оценка концентрации сывороточных иммуноглобулинов классов IgA, IgM, IgG, а также цитокинов IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7 проводилась методом твердофазного ИФА («Вектор-Бест-Балтика», Россия).

Исследования фекального кальпротектина осуществлялось с помощью сэндвич-варианта твердофазного ИФА (R-Biopharm AG, Германия). Определение фекального зонулина — методом энзим-связанного иммуносорбентного анализа (Immunlognostik AG, Германия).

Изучение параметров иммунного статуса больных проводили в отделе молекулярной микробиологии ФГБУ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАН.

2.3 Культуральные методы исследований

2.3.1 Бактериологическая диагностика кампилобактериоза

Культуральные методы исследования включали посев кала на специфические питательные среды для избирательного роста бактерий сальмонеллезно-дизентерийной группы и кампилобактерии. Культивирование кампилобактерий осуществляли в микроаэрофильных условиях на питательной среде для культивирования кампилобактерий «Кампилобакагар» (ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, г. Оболенск).

Видовую идентификацию проводили методом матрично-ассоциированной лазерной десорбции/ионизации — времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI–Tof) с применением системы Microflex LT и программного обеспечения MALDI Biotyper v.30 (Bruker Daltonics, Германия). Значения Score $\geq 2,2$ использовали в качестве критерия надежной идентификации. Морфологические, ферментативные свойства и антигенную характеристику изучали, согласно действующим методическим указаниям. Исследование проводилось в клинико-диагностической

лаборатории ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России (заведующая — к. м. н. Э. А. Мартенс).

2.3.2 Определение резистентности кампилобактерий к антибактериальным препаратам

Определение чувствительности культур *C. jejuni* и *C. coli* к антибактериальным препаратам определяли диско-диффузионным методом в чашках Петри на агаре Мюллера — Хинтон с использованием дисков с антибиотиками (Oxoid, Великобритания), в соответствии с методикой Европейского комитета по тестированию антимикробной чувствительности (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing — EUCAST) [165].

Инкубация осуществлялась в микроаэрофильных условиях при температуре 41 ± 1 °C в течение 24 часов. Изоляты с недостаточным ростом после 24-часовой инкубации были повторно инкубированы.

В работе были использованы диски с антибиотиками: эритромицином (15 мкг), кларитромицином (15 мкг), азитромицином (15 мкг), ципрофлоксацином (5 мкг), тетрациклином (30 мкг), доксициклином (30 мкг). Зоны задержки роста определяли после 48-часовой инкубации. Результаты интерпретировали путем сопоставления величин зон ингибиции роста культур с референсными значениями рекомендованными EUCAST (таблица 14). Положительный контроль осуществляли с применением эталонной культуры *C. jejuni* ATCC 33560.

Таблица 14 – Критерии чувствительности штаммов *C. jejuni* и *C. coli* к антибактериальным препаратам, рекомендуемым EUCAST [165]

Антибактериальный препарат	Диаметр зоны ингибирования, мм				Порог чувствительности, мг/л	
	<i>C. jejuni</i>		<i>C. coli</i>		<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>
	S \geq	R<	S \geq	R<	R.	R.
1	2	3	4	5	6	7
Ципрофлоксацин	26	26	26	26	0.001	0.5
Эритромицин	24	24	20	20	4	8

Продолжение таблицы 14

1	2	3	4	5	6	7
Азитромицин	24	24	20	20	4	8
Кларитромицин	24	24	20	20	4	8
Тетрациклин	30	30	30	30	2	2
Доксициклин	30	30	30	30	2	2

Примечание – S – чувствительные; R – резистентные.

Определение резистентности кампилобактерий к антибактериальным препаратам проводилось в клинико-диагностической лаборатории ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России.

2.4 Молекулярно-генетические методы

2.4.1 Оценка микробиоценоза кишечника

Оценку микробиоценоза кишечника методом ПЦР-РВ осуществляли трехкратно: при поступлении в стационар, на 7 и 21 дни болезни.

Исследование образцов фекалий проводили методом ПЦР-РВ в отделе молекулярной микробиологии ФГБНУ ИЭМ. Выделение ДНК из фекалий осуществляли с помощью набора «ДНК–Экспресс» (ООО «Литех», Россия). Применялся набор праймеров «Колонофлор–16» (ООО «АльфаЛаб», Россия), служащий для выявления общей бактериальной массы, *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Bacteroides fragilis* group, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxitoca/pneumoniae*, *Proteus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. и *Candida* spp. Полученные данные были представлены как количество колониеобразующих единиц (КОЕ) каждого микроорганизма в 1 г фекалий в десятичных логарифмах (lg КОЕ/мл).

Исследование микробиоты кишечника было также проведено методом 16S рРНК-секвенирования при поступлении и на 21 сутки.

Кал перед проведением исследования подвергался замораживанию при температуре $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Изучение композиции микробиоценоза осуществляли с применением ампликонного секвенирование маркерного варибельного участка V3–V4 бактериальных генов 16S рРНК.

ДНК была выделена с помощью наборов DNeasy PowerLyzer Microbial Kit (Qiagen, Нидерланды). Ампликонные библиотеки 16S рРНК были созданы с использованием ПЦР с универсальными праймерами на регион V3–V4. Применяли системы праймеров 515 F (5' - GTGBCAGCMGCCGCGGТАА - 3') и Pro-mod-805 R (5'–GACTACNVGGGTMTCTAATCC - 3') [76]. Секвенирование было проведено на приборе MiSeq (Illumina, США).

Были получены прочтения длиной 150 пн с каждого конца ампликона. Целевое покрытие составило 10000 прочтений на образец. Оценка α -разнообразия была проведена по мере разнообразия Шеннона. Число прочтений каждого микробного вида, рода и семейства было подсчитаны путем суммирования прочтений, отнесенных к ASV (ампликонным вариантам секвенирования), принадлежащих к соответствующему таксону. Исследование проводили в отделе молекулярной микробиологии ФГБУ НИИ экспериментальной медицины СЗО РАН.

2.4.2 Генотипирование и анализ антибиотикорезистентности и вирулентности штаммов кампилобактерий

Для молекулярно-генетических исследований выделение ДНК осуществляли из изолированных колоний кампилобактерий, выращенных на колумбийском агаре с бараньей кровью в течение 18–24 час, набором QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen). Концентрацию ДНК измеряли флуориметрически на приборе Qubit 4.0 с использованием красителя рiсo488 (ООО «Люмипроб РУС», Россия). Секвенирование осуществляли на приборе DNBSEQ–G50 (MGI, Китай) с длиной

прочтений 2×100. Библиотеку для образца EI0592 готовили с помощью набора DNA Prep (Illumina, США). Секвенирование выполняли на приборе NextSeq–550 (Illumina, США) с длиной прочтений 2×150.

Поиск генетических факторов устойчивости к антибиотикам проводили в программе AMRFinder. Для мультилокусного типирования последовательностей геномов (кГМЛСТ, cgMLST, Core Genome Multilocus Sequence Typing) применяли программу cgMLST Finder 1.2. Сиквенс тип определяли из контигов каждого генома с использованием программного обеспечения Seemann T. MLST v2.19.0. Исследование проводили в лаборатории кишечных инфекций ФБУН НИИ ЭиМ им. Пастера (заведующая лабораторией — д. м. н. Л. А. Кафтырева).

2.5 Технология персонифицированной аутопробиотической терапии

Для персонифицированной терапии применялись аутопробиотики на основе аутопробиотических энтерококков. Для выделения аутопробиотических энтерококков было необходимо не менее 1 г фекалий. В стерильных условиях к 1 г материала добавляли 9 мл стерильного фосфатного буфера (раствор NaCl 0,9 % с добавлением фосфатов натрия двух и однозамещенных, смешанных в пропорции, необходимой для создания pH 7,4).

Суспензию фекалий высевали в количестве 100 мкл на селективную среду для энтерококков (среда НИЦФ, Санкт-Петербург). Культивировали в течение 24–48 часов при температуре 37 °С. На основании выявлений колоний с розовым ободком и бордовым центром (характерные для видов *Enterococcus faecium* или *E. hirae*), проводили ориентировочную идентификацию энтерококков до вида. Выделенную культуру отсевали на новую чашку Петри с плотной азидной средой для накопления чистой культуры. Чистые культуры направляли на генетический анализ.

Для подготовки аутопробиотиков отбирали клоны *E. faecium*, не содержащие генов патогенности и резистентности. Выбранную чистую культуру микроорганизма без генов патогенности и резистентности высевали на 10 мл 5 %

бульона из соевых белковых изолятов (стерилизованное автоклавированием при 120 °С в течение 20 минут) и инкубировали в течение 24–48 часов при 37 °С. Затем, полученные 10 мл закваски используют как посевной материал для получения большего объема закваски. Для этого засеивали 10 мл закваски на 1 литр, прогретого при 37 °С стерильного 5 % бульона из соевых белковых изолятов. После получения закваски продукт хранили до использования при 4 °С не более 14 дней.

2.6 Методы статистической обработки результатов

Статистическая обработка данных исследования осуществлялась с помощью языка программирования R с программными средствами, программ Statistica for Windows версии 13.3. (StatSoft, США).

Для описания количественных показателей, имеющих нормальное распределение, данные объединялись в вариационные ряды, для которых проводился расчет средних арифметических величин и стандартного отклонения. При отображении совокупности количественных показателей с распределением, отличающимся от нормального, значения описывались при помощи медианы и нижнего и верхнего квартилей $Me [Q1; Q3]$.

Для характеристики качественных данных указывались значения процентных долей и границ 95 % доверительного интервала, рассчитанного методом Вилсона. Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению, для этого использовался критерий Шапиро — Уилка.

Для выявления связи между качественными переменными применяли отношение шансов (Odds Ratio) — отношение шансов события в одной группе к шансам события в другой группе, или отношение шансов того, что событие произойдет к шансам того, что событие не произойдет. Расчет OR (воздействия фактора риска) осуществлялся с помощью четырехпольных таблиц сопряженности с расчетом стандартного отклонения и доверительного интервала по стандартной методике [6].

Интерпретация величины отношения шансов осуществляется следующим образом: если отношение шансов равно 1, то шанс для первой группы равен шансу для второй группы (отсутствие различий между сравниваемыми группами); если отношение шансов больше 1, то шанс для первой группы больше шанса для второй группы; если отношение шансов меньше 1, то шанс для первой группы меньше шанса для второй группы.

При сравнении средних величин совокупностях количественных данных с нормальным распределением — рассчитывался t-критерий Стьюдента, без признаков нормального распределения — U-критерий Манна — Уитни.

При сравнении нескольких выборок количественных данных, имеющих распределение, отличное от нормального, использовался критерий Краскела — Уоллиса.

Для проверки различий между двумя сравниваемыми парными выборками нами применялся W-критерий Уилкоксона. При сравнении более двух зависимых совокупностей использовался непараметрический критерий Фридмана.

Сравнение качественных данных в группах проводилось при помощи критерия χ^2 Пирсона. В тех случаях, когда число ожидаемых наблюдений в любой из ячеек четырехпольной таблицы было менее 10, для оценки уровня значимости различий использовался точный критерий Фишера.

Разработку модели прогнозирования развития неблагоприятных исходов кампилобактериоза и негладкого течения заболевания осуществляли с помощью дискриминантного анализа, на основании определения признаков, влияющих на отнесение конкретного больного к одной из классификационных групп и последующего прогнозирования вероятности развития того или иного исхода.

Для проверки значимости воздействия более двух факторов на группы, в случае если исход выражался дихотомической переменной, использовался критерий Q Кохрена. Для сравнения относительных показателей, характеризующих связанные совокупности (до и после лечения), использовался тест Макнемара.

Построение прогностической модели риска определенного исхода выполнялось при помощи метода множественной бинарной логистической регрессии. Отбор независимых переменных производился методом пошаговой прямой селекции с использованием в качестве критерия исключения статистики Вальда. Статистическая значимость полученной модели определялась с помощью критерия χ^2 .

Мерой определенности, указывающей на ту часть дисперсии, которая может быть объяснена с помощью логистической регрессии, в нашем исследовании служил показатель R^2 .

Качество оценки методов диагностики оценивалось исходя из значений точности, чувствительности, специфичности и площади под ROC-кривой, а также 95% доверительным интервалом (ДИ). 95 %-ный доверительный интервал рассчитывался методом Бутстреп.

Пороговое значение было выбрано в соответствии с (максимизацией чувствительности и специфичности) индексом Юдена для определения соответствующей чувствительности и специфичности. Тест Делонга [136] использовался для статистического сравнения AUC между построенными моделями.

С целью изучения взаимосвязи между явлениями, представленными дихотомическими переменными использовался непараметрический метод — расчет коэффициента корреляции Мэтьюса. Этот метод оценки качества рекомендуют применять для несбалансированных выборок. Интерпретация полученных значений корреляции производится по шкале Чеддока (таблица 15).

Таблица 15 – Шкала Чеддока

Значения коэффициента корреляции r	Характеристика тесноты корреляционной связи
1	2
менее 0,1	связь отсутствует

Продолжение таблицы 15

1	2
0,1–0,3	слабая
0,3–0,5	умеренная
0,5–0,7	заметная
0,7–0,9	высокая
0,9–0,99	высокая

С целью оценки внутренней согласованности результатов теста использовалась статистика каппа Коэна. Статистика каппа Коэна предназначена для сравнения меток, сделанных разными людьми-аннотаторами. Показатель каппа представляет собой число от -1 до 1. Баллы выше 0,8 обычно считаются хорошим совпадением; ноль или ниже означает отсутствие согласия (практически случайные метки).

Для формирования алгоритма диагностики применялся метод дерева решений — это контролируемый метод обучения, который рекурсивно разбивает набор данных на основе функции, которая оптимально разделяет данные на два подмножества. При каждом разделении алгоритм выбирает признак, который максимизирует прирост информации, который рассчитывается с использованием энтропии. Полученную древовидную структуру можно использовать для задач классификации путем присвоения метки каждому конечному узлу на основе класса большинства в этом узле. Точность и сложность дерева решений можно оценить с помощью таких показателей, как, точность, чувствительность, специфичность, ROC-AUC, а также количество узлов, глубина и используемые переменные. Различия показателей считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$. Графики и диаграммы построены в программах Statistica for Windows, Excel и GraphPadPrism.

Глава 3. ДИАГНОСТИКА И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КАМПИЛОБАКТЕРИЙ К ТЕРАПЕВТИЧЕСКИМ СРЕДСТВАМ

3.1 Сравнительная оценка диагностической эффективности методов идентификации кампилобактерий

Диагностика кампилобактериоза является важнейшей частью стратегии профилактики и контроля за данным заболеванием. Клиническая картина данного заболевания, имеет много общего с проявлениями других кишечных инфекций (эшерихиозов, сальмонеллеза и шигеллезов) [44], что определяет необходимость применения эффективных методов его лабораторной диагностики.

В данном исследовании проведена оценка диагностической ценности основных методов, рекомендованных в нашей стране [34] для подтверждения этиологии кампилобактериоза. С этой целью оценивались иммунологические (ИХ и ФИА), культуральный и молекулярно-генетический (ПЦР-РВ) методы.

Исследование было осуществлено в два этапа. На первом этапе для разработки алгоритма диагностики и оценки эффективности лабораторных методов было проведено предварительное исследование проб фекалий детей, включаемых в основную исследуемую группу (230 детей). На втором этапе на основании анализа 400 проб фекалий детей с геморрагическими проявлениями в стуле (гемоколиты) была проведена апробация диагностической модели и оценка ее эффективности.

Оценка эффективности лабораторных методов идентификации и разработка алгоритма диагностики кампилобактериоза у детей

Были проанализированы пробы фекалий 230 детей, 123 мальчиков (53,5 %) и 107 девочек (46,5 %). Анализировался биологический материал пациентов с клиникой острого гастроэнтерита и положительными результатами минимум одного из оцениваемых тестов. Выявление положительного результата ИХ и отрицательных результатов ПЦР, ФИА и посева диагноз «кампилобактериоз»

расценивался как ложноположительный. Подобное сочетание наблюдалось у 11 (4,8 %) детей (рисунок 3).

Положительный результат был получен в 202 (92,2 %) пробах при проведении ПЦР, в 182 (83,1 %) – при проведении ФИА и в 58 (26,5 %) по данным посева. У 143 (62,2 %) детей были получены положительные результаты ИХ-тестов.

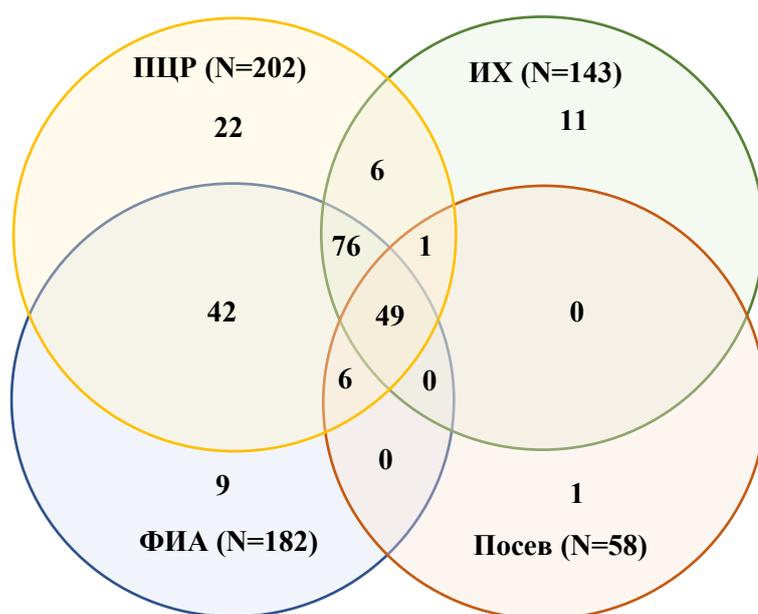


Рисунок 3 – Результаты детекции *Campylobacter* spp. различными методами (N=230)

Примечание – ФИА – флуоресцентный иммуноанализ, ПЦР – полимеразная цепная реакция. В скобках после названия метода указано количество положительных тестов. В местах пересечений указано количество положительных результатов с применением различных методов.

Только у 49 пациентов (21,30 %) *Campylobacter* spp. были выявлены всеми использованными методами. Высокую степень соответствия показали результаты ПЦР и ФИА, они были одновременно положительны у 173 (75,22 %) пациентов с кампилобактериозом. Не было выявлено статистически значимой корреляции результатов диагностики методом ИХ и ФИА (0,122 [0,014; 0,239], $p=0,064$). Более

того, результаты диагностики ИХ-методом (рисунок 4) отрицательно коррелировали с данными, полученными при посеве ($R_m = -0,215$ [-0,332; -0,099], $p = 0,001$) и ПЦР ($-0,202$ [-0,267; -0,124], $p = 0,002$), что свидетельствует о противоположных результатах диагностики. Следует подчеркнуть, что в большинстве случаев при подтверждении диагноза другими методами, результат ИХ исследований его не подтверждал ($R_m = -0,156$ [-0,195; -0,112], $p = 0,018$). Наиболее сильная корреляционная связь была установлена между установленным кампилобактериозом и положительными результатами ПЦР ($R_m = 0,602$ [0,466; 0,721], $p < 0,001$) и ФИА ($R_m = 0,436$ [0,332; 0,532], $p < 0,001$).

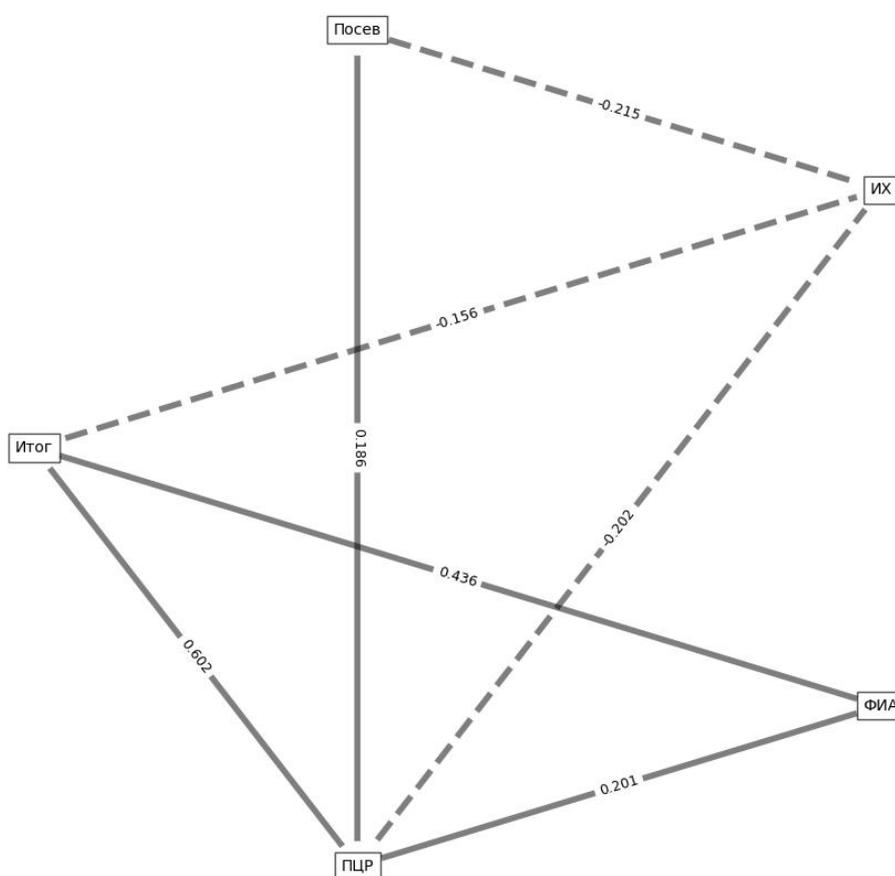


Рисунок 4 – Сила корреляционной связи между результатами детекции *Campylobacter* spp. с помощью ПЦР, культурального метода, флуоресцентного иммуноанализа и иммунохроматографии

Примечание – ПЦР – полимеразная цепная реакция, ФИА – флуоресцентный иммуноанализ, ИХ – иммунохроматография. Итог – диагноз, подтвержденный диагностики несколькими методами.

Кроме того, были проанализированы факторы, приводящие к повышению вероятности установления этиологии гемоколитов, с учетом возраста пациентов, периода заболевания, степени тяжести, а также условий сбора и хранения материала (рисунок 5). Вероятность идентификации кампилобактерий возрастала у пациентов с тяжелыми формами заболевания. Статистически значимый рост вероятности отмечался при применении ФИА (OR=3,2 [2,5; 3,9], p=0,003) и посева (OR=3,4 [3,1; 3,7], p=0,001).

Хранение материала значительно снижало вероятность выделения кампилобактерий культуральным методом (OR=0,5 [0,2; 0,8], p=0,03) и при помощи ИХ (OR=0,4 [0,1; 0,7], p=0,04). Применение антибактериальных препаратов оказывало значимое воздействие на вероятность идентификации возбудителя всеми методами, кроме ФИА. Вероятность выделения зависела от времени приема антибиотиков. Так, при применении антибактериальных препаратов в период от 6 до 2 недель до развития кампилобактериоза, вероятность выделения культуры *Campylobacter* spp. методом посева повышалась (OR=2,9 [2,1; 3,7], p=0,003). Применение антибактериальных препаратов в период 12–72 часов, непосредственно предшествующих взятию материала, наоборот, статистически значимо (OR=0,6 [0,4; 0,8], p=0,001) снижало вероятность выделения кампилобактерий данным методом. Стоит также отметить, что на вероятность выделения рассматриваемого возбудителя оказывала влияние группа антибактериальных препаратов (вероятность снижалась в ряду нитрофураны — OR=0,9, цефалоспорины — OR=0,7, макролиды — OR=0,3) и длительность антибиотикотерапии. Была выявлена умеренная обратная связь длительности приема и вероятности выделения кампилобактерий (r=-0,356 [-0,449; -0,212], p=0,03). Наиболее информативным оказалось исследование проб фекалий в первые 24 часа с момента начала заболевания (OR=5,6 [5,4; 5,8], p=0,001). Начиная с 3 суток на фоне терапии выделение культуры происходило со значительно более низкой вероятностью (OR=0,4 [0,2; 0,6], p=0,013). Стоит также отметить, что наиболее часто культуральный метод был эффективен у детей младшей возрастной группы.

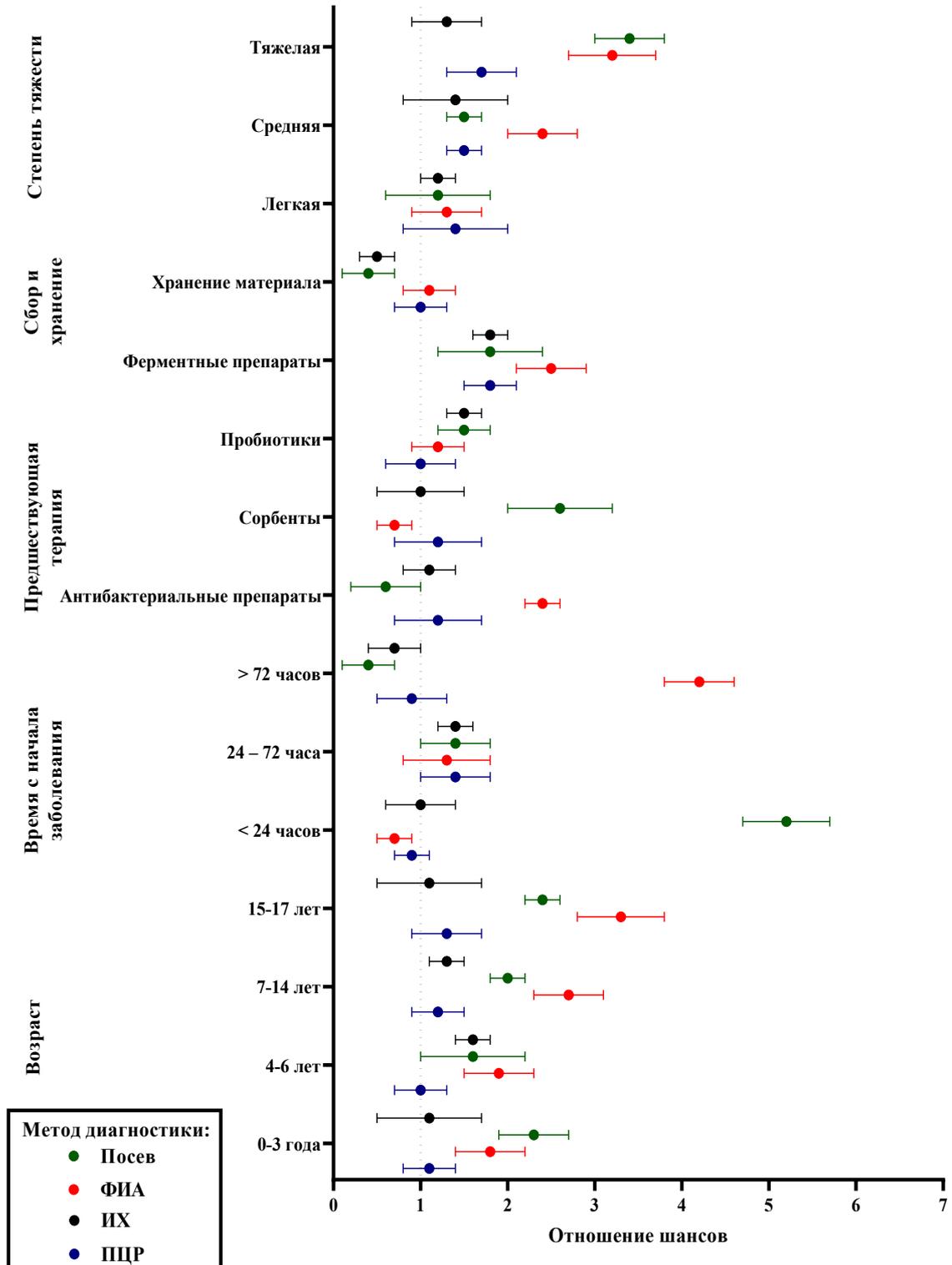


Рисунок 5 – Отношение шансов идентификации *Campylobacter* spp. различными методами (N=230)

Высокая вероятность идентификации возбудителя методом ФИА наблюдалась при поступлении пациента на поздних сроках заболевания (OR=6,2)

[5,8; 6,6], $p < 0,001$), но снижалась на фоне применения сорбентов (OR=0,7 [0,5; 0,9], $p < 0,001$).

ПЦР позволяла добиться идентификации в наибольшем количестве случаев (N=202). Несколько неожиданно низкая вероятность выделения ДНК возбудителя отмечалась в первые сутки с момента начала заболевания (OR=0,7 [0,4; 1,0], $p = 0,03$). Вероятно, преимущество культурального метода на этом этапе определяется возможностью сохранения роста микроорганизма на питательных средах, в то время как количество детектируемой ДНК в исследуемых образцах еще не достаточно для их идентификации методом ПЦР, который в данном случае оказался недостаточно чувствительным.

Значение времени транспортировка материала подтверждалось увеличением процента обнаружения возбудителя при быстрой доставке материала. При хранении материала менее 1 часа в холодильнике частота выделения культуры составила 32,56 % (n=42), а при хранении материала снижалась до 15,84 % (n=16; $p = 0,024$).

Для повышения эффективности диагностики кампилобактериоза и выбора оптимальной последовательности применения методов лабораторной диагностики был применен алгоритм дерева решений (рисунок 6).

метода ФИА. Если результат положительный, то диагностируется кампилобактериоз. Если результат отрицательный, то с точностью 90,9 % диагностируется отсутствие кампилобактериоза.

Нами получена математическая модель, которая характеризуется высокой точностью (92,6 % [89,6; 95,2] %), чувствительностью (92,2% [89,2; 95,0] %) и специфичностью 100,0 % [100,0; 100,0] %. В ходе исследования было определено значение точки отсечения постановки диагноза «кампилобактериоз», которое составило 0,93. Полученная регрессионная модель характеризуется как «модель отличного качества» (> 90%), так как ROC-AUC (Area Under Curve Receiver Operating Characteristic, площадь под кривой рабочей характеристики данных) составила 0,96.

Частота диагностирования кампилобактериоза у пациентов с гемоколитами

Разработанная модель, одновременно с иммунологическими (ИХ и ФИА), культуральным и молекулярно-генетическим (ПЦР-РВ) методами диагностики кампилобактериоза, была оценена на тестовой выборке из 400 детей с геморрагическими колитами. В исследование было включено 212 (53,0 %) мальчиков и 188 (47,0 %) девочек в возрасте от 1 года до 17 лет (средний возраст $3,7 \pm 1,1$ лет), поступивших с диагнозом «острый энтероколит» и наличием макроскопической примеси крови в стуле.

При использовании всех методов диагностики удалось выявить этиологию гемоколита у 164 (41,0 %) пациентов (таблица 16). Ведущим этиологическим агентом геморрагических колитов явились кампилобактерии (n=69; 17,25 %). Другие возбудители в виде моноинфекции бактериальной или вирусной природы (за исключением сальмонеллеза) были обнаружены не более чем в 3,00 % случаев, соответственно. Выявление сальмонелл, по данным ПЦР, наблюдалось у 58 детей (14,5 %) а методом бактериального посева — у 38 (9,5 %).

Таблица 16 – Частота выявления патогенных вирусов и бактерий при гемоколитах у детей (N=400)

Возбудитель	ПЦР (N=400)		Посев (N=400)		ФИА (N=400)		Всего		p	Попарное сравнение
	N	%	N	%	N	%	N	%		
<i>Salmonella</i> spp.	58	14,5%	38	9,5%	–	–	49	12,25%	-	p_{1,2}=0,029
<i>Shigella</i> spp.	2	0,5%	1	0,25%	–	–	2	0,5%	-	p _{1,2} =0,561
<i>E. coli</i> [*]	9	2,25%	2	0,5%	–	–	9	2,25%	-	p _{1,2} =0,091
<i>Campylobacter</i> spp.	46	11,5%	15	3,75%	62	15,5%	69	17,25%	p<0,001	p_{1,2}=0,007 p_{1,3}=0,101 p_{2,3}<0,001
<i>Yersinia enterocolitica</i>	4	1,0%	1	0,25%	–	–	4	1,0%	-	p _{1,2} =0,171
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	3	0,75%	–	–	–	–	3	0,75%	-	–
<i>Clostridioides difficile</i> [∞]	1	0,25%	–	–	6	1,5%	6	1,5%	-	p _{1,2} =0,061
Ротавирусы группы А	7	1,75%	–	–	8	1,75%	8	2,0%	-	p _{1,3} =0,792
Норовирусы II генотипа	4	1,0%	–	–	5	1,25%	5	1,25%	-	p _{1,3} =0,743
Всего расшифровано	134	33,5%	57	14,25%	81	20,25%	164	41,0%	p<0,001	p_{1,2}=0,007 p_{1,3}=0,101 p_{2,3}<0,001
Энтероколит неуточненной этиологии	266	66,5%	343	85,75%	319	79,75%	236	59,0%	p<0,001	p_{1,2}<0,001 p_{1,3}=0,003 p_{2,3}=0,043

Примечания

1 ФИА – флуоресцентный иммуноанализ, ПЦР – полимеразная цепная реакция.

2 * – В столбце «Посев» объединены результаты культуральных исследований на среды для диагностики кампилобактерий, на сальмонеллезно-дизентерийную группу.

3 ° – детекция *E. coli* методом ПЦР-РВ была проведена у 345 пациентов.

4 ∞ – детекция генов токсинов А и В *Clostridioides difficile* была проведена у 73 пациентов.

Метод ПЦР, наиболее активно применяемый в рутинной практике, приводил к недооценке истинной частоты выявления *Campylobacter* spp. у пациентов с гемоколитами. Применение ФИА позволило дополнительно выявить

кампилобактерии у 21 пациента (5,25 %) с отрицательными результатами ПЦР (рисунок 7). У 7 из них (19,4 %) были идентифицированы редкие виды кампилобактерий: *C. hyoilei* (n=2; 5,6 %), *C. upsaliensis* (n=4; 11,1 %) и *C. hyointestinalis* (n=1; 2,8 %).

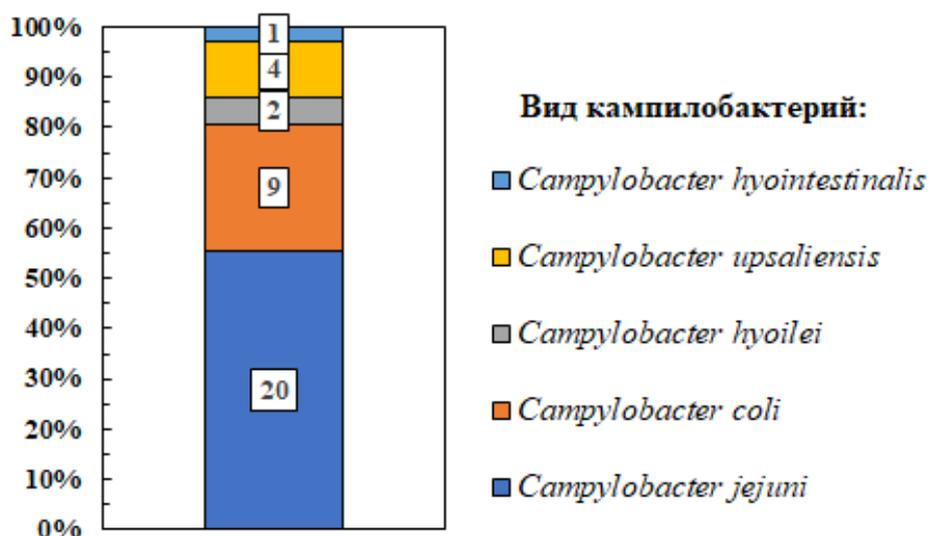


Рисунок 7 – Частота выявления различных видов *Campylobacter* spp. при гемоколитах у детей (N=36)

Другие бактериальные возбудители убывали по частоте идентификации (всеми доступными методами лабораторной диагностики) в ряду: диареегенные *E. coli* (n=9; 2,25 %), *Yersinia enterocolitica* (n=4; 1,0 %), *Yersinia pseudotuberculosis* (n=3; 0,75 %), *Shigella* spp. (n=3; 0,75 %). У 8 пациентов с эшерихиозом (2,0 %) методом ПЦР были выявлены энтероинвазивные *E. coli*, у 1 пациента (0,25 %) обнаружены энтеротоксигенные *E. coli*. Токсины *Clostridioides difficile* методом ФИА были выявлены у 6 детей (n=6; 1,5 %), у одного из них диагноз был подтвержден также методом ПЦР.

Диареегенные вирусы были выявлены у 13 (3,25 %) пациентов. У 10 (2,5 %) детей выявление вирусных патогенов сочеталось с идентификацией другого возбудителя бактериальной этиологии. Среди гемоколитов сочетанной этиологии наиболее часто диагностировали кампилобактериоз в сочетании с вирусными возбудителями (n=6; 1,5 %).

Также были проанализированы чувствительность и специфичность методов детекции кампилобактерий (таблица 17). Модель комплексной диагностики показала наиболее высокие показатели эффективности.

Таблица 17 – Метрики оценки качества методов детекции кампилобактерий

Мера оценки	Модель	ПЦР	ФИА	Посев	ИХ
ROC-AUC	97,7% [96,1; 100,0]%	96,1% [94,6; 97,5]%	91,6% [89,5; 93,5]%	63,2% [61,0; 65,7]%	32,9% [30,1; 35,6]%
Точность	97,5% [96,4; 100,0]%	92,6% [89,6; 95,2]%	83,9% [80,0; 87,8]%	30,0% [25,2; 34,8]%	62,6% [57,0; 68,3]%
Чувствительность	96,4% [93,3; 100,0]%	92,2% [89,2; 95,0]%	83,1% [79,0; 87,1]%	26,5% [22,1; 31,4]%	65,8% [60,2; 71,2]%
Специфичность	95,3% [92,5; 100,0]%	88,5% [87,0; 90,0]%	82,0% [77,6; 86,1]%	95,3% [93,1; 97,5]%	64,4% [58,7; 70,0]%
Каппа-Козна		0,532	0,320	0,033	-0,091

Примечание – ПЦР – полимеразная цепная реакция, ФИА – флуоресцентный иммуноанализ, ИХ – иммунохроматография.

При анализе точности диагностики кампилобактериоза по метрике ROC-AUC были установлены статистически значимые различия между методами детекции кампилобактерий и комплексной моделью диагностики (таблица 18).

Таблица 18 – Уровень статистической значимости различий точности по ROC-AUC методов диагностики кампилобактериоза

	Модель диагностики	ПЦР	ФИА	Посев	ИХ
Модель диагностики		p=0,03	p<0,001*	p<0,001*	p<0,001*
ПЦР	p=0,03		p<0,001*	p<0,001*	p<0,001*
ФИА	p<0,001*	p<0,001*		p=0,832	p<0,001*
Посев	p<0,001*	p<0,001*	p=0,832		p<0,001*
ИХ	p<0,001*	p<0,001*	p<0,001*	p<0,001*	

Примечание – ПЦР – полимеразная цепная реакция, ФИА – флуоресцентный иммуноанализ, ИХ – иммунохроматография.

Наиболее высокая точность диагностики наблюдалась при применении комплексной модели. Точность ПЦР была статистически значимо ниже

применяемой комплексной модели диагностики ($p=0,03$), однако превосходила все другие методы диагностики (ФИА, посев и ИХ; $p<0,001$).

Математическая модель на тестовой выборке позволяла диагностировать кампилобактериоз с точностью 97,5 %, чувствительностью 96,4 % и специфичностью 95,3 %. ROC-AUC составила 97,7 % и превосходила все другие методы диагностики (рисунок 8). Полученная регрессионная модель «отличного качества» ($> 90 %$), т. к. ROC-AUC составляет на обучающей выборке 0,99.

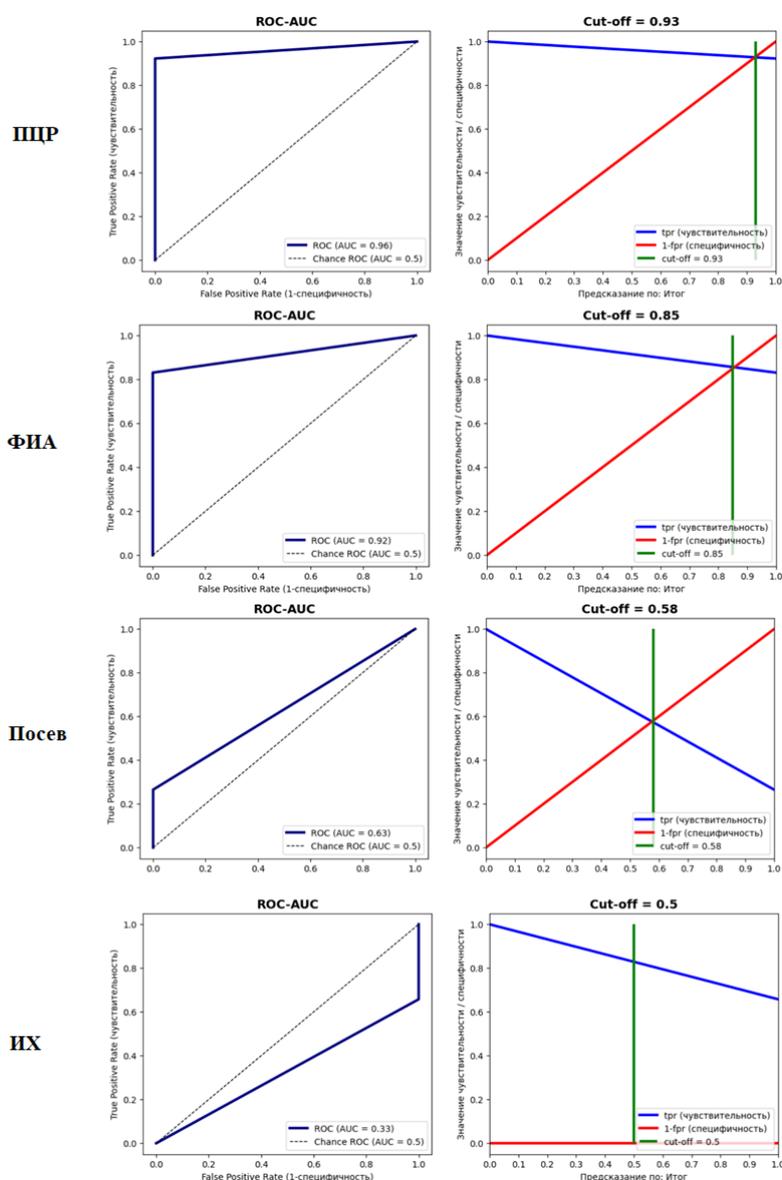


Рисунок 8 – Результаты ROC анализа методов детекции *Campylobacter* spp.

Примечание – ПЦР – полимеразная цепная реакция, ФИА – иммунофлуоресцентный анализ, ИХ – иммунохроматография.

Таким образом, ни один метод лабораторной идентификации самостоятельно не является достаточным для точной диагностики кампилобактериоза, приводя при изолированном применении к снижению частоты обнаружения возбудителя на 16–87 %. Чувствительность диагностики кампилобактериоза составила методом ПЦР составляет — 92,2 %, ФИА — 83,1 %, посева — 26,5 %; специфичность составила: методом посева — 99,5 %, ФИА — 93,1 %, ПЦР — 92,2 %. Наиболее высокую точность диагностики в первые 24 часа имеет культуральный метод (92,4 %), после 72 часов — ФИА (89,7 %). На основе алгоритма дерева решений разработана модель, заключающаяся в последовательном применении ПЦР и ФИА, позволяющая с чувствительностью 96,4 % и специфичностью 95,3 % диагностировать кампилобактериоз у детей. Применение данного алгоритма диагностики позволяет идентифицировать 92,6 % случаев кампилобактериоза. Следует подчеркнуть, что культуральный метод сохраняет свою значимость, так как только он делает возможным персонифицированный подбор средств этиотропной терапии и углубленный эпидемиологический анализ на предмет распространенности определенных генотипов кампилобактерий.

3.2 Исследование чувствительности штаммов *Campylobacter* spp. к антибактериальным препаратам

Одним из наиболее актуальных вопросов при лечении бактериальных кишечных инфекций в практической медицине является выбор оптимального средства этиотропной терапии. По данным метаанализа, включившего 11 исследований, применение антибактериальных препаратов при кампилобактериозе у детей способно снизить продолжительность диареи на 1,3 дня [282]. Данные последних лет отмечают повышение устойчивости кампилобактерий к антимикробным воздействиям и быстрое распространение резистентных штаммов в пищевых продуктах и окружающей среде [275]. Недавние исследования, проведенные в Таиланде и Ирландии, продемонстрировали высокие темпы роста резистентности к антибиотикам группы макролидов [71, 81, 155]. Отмечается

стремительное возрастание резистентности кампилобактерий к фторхинолонам. В исследованиях испанских и венгерских ученых была установлена частота выделения резистентных к фторхинолонам штаммов возбудителя на уровне 50–60 % [67, 70]. Существенное влияние на рост резистентности к антибиотикам оказывает и широкое применение данных препаратов в животноводстве и ветеринарии [145].

В Российской Федерации уровень резистентности кампилобактерий рассматривался в отдельных исследованиях, преимущественно у животных [4] и требует дальнейшего пристального изучения. Для определения актуального уровня резистентности кампилобактерий среди детей в г. Санкт-Петербурге было проведено исследование 57 штаммов кампилобактерий: 37 (64,9 %) — *C. jejuni* и 20 (35,1 %) — *C. coli*, выделенных у детей, находившихся на стационарном лечении в ДНКЦИБ ФМБА.

Результаты определения резистентности *Campylobacter* spp. к антибактериальным препаратам представлены на рисунках 9 и 10.

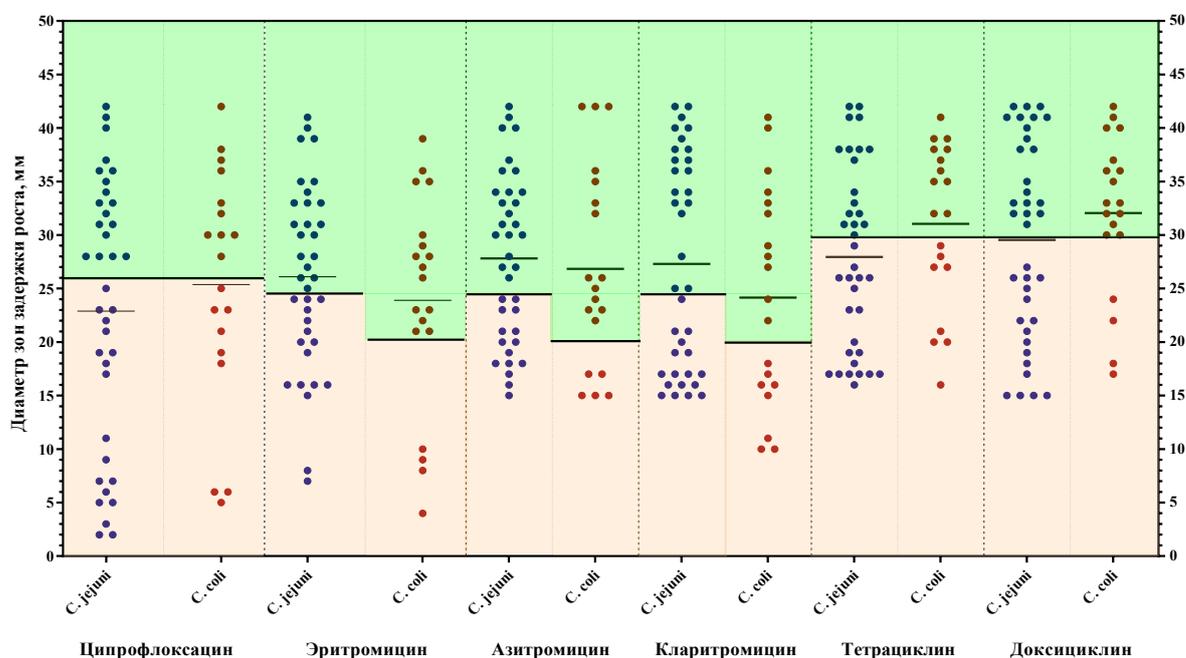


Рисунок 9 – Диаметр зон задержки роста при оценке чувствительности штаммов *Campylobacter* spp. к воздействию различных лекарственных средств

(N=57)

Примечание – зеленым цветом на графике выделена зона, интерпретируемая

как сохранение чувствительности к препарату, розовым – зона резистентности.

По результатам определения чувствительности к антибактериальным препаратам большинство штаммов были нечувствительны к ципрофлоксацину ($n=28$; 50,88 %). Это подтверждает ранее полученные данные, свидетельствующие о высокой распространенности резистентности к данной группе антибиотиков [70, 295]. Предшествующие публикации демонстрировали более низкие цифры резистентности к данной группе препаратов на уровне 18–25 %. Более того, рассматриваемая группа пациентов по данным сбора анамнеза не получала антибактериальные препараты группы фторхинолонов, что исключает элемент селекции штаммов на фоне проводимого лечения. Частота выявления резистентных изолятов к фторхинолонам в проведенном исследовании может свидетельствовать о дальнейшем росте резистентности и высоких рисках потенциальной потери данной группы лекарственных препаратов как высокоэффективных этиотропных препаратов при лечении кампилобактериоза у пациентов взрослого возраста.

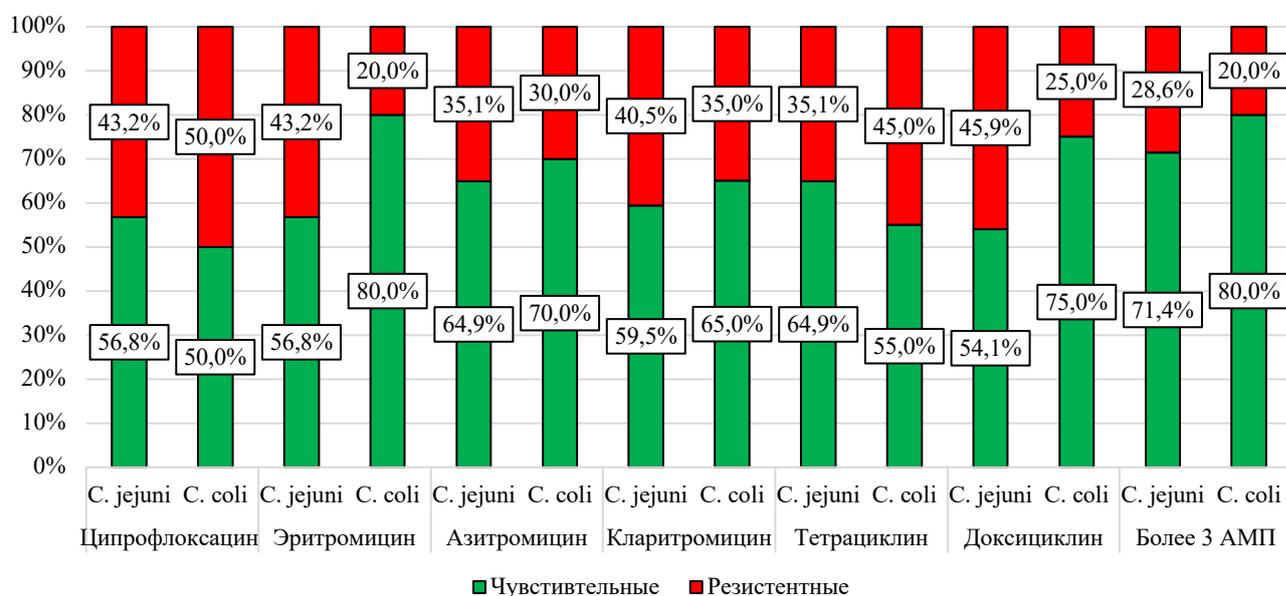


Рисунок 10 – Частота обнаружения антибиотикорезистентных штаммов *C. jejuni* и *C. coli* (N=57)

Примечание – АМП – антимикробный препарат.

Наиболее широко применяемые при лечении кампилобактериоза в педиатрической практике — антибиотики группы макролидов оказывали достаточное воздействие на большинство изолятов *Campylobacter* spp. Наиболее высокая чувствительность отмечается к азитромицину, к которому чувствительны были 70 % *C. coli* (n=14) и 64,9 % *C. jejuni* (n=24). Несколько на более низком уровне была чувствительность к другим представителям данной группы препаратов: эритромицину (64,9 %) и кларитромицину (61,4 %). Таким образом, резистентность к макролидам выявлялась у каждого третьего изолята *C. jejuni* и *C. coli*. Особого внимания заслуживает частое выявление сочетания резистентности к фторхинолонам и макролидам, регистрируемое у 15 штаммов (26,3 %) *Campylobacter* spp. Резистентность к макролидам, ранее рассматривалась как исключительно редкий феномен [154]. Выявление A. Gibreel мутации в пептидил-кодирующей последовательности V домена гена 23S рРНК [184] служит вероятным объяснением высокой (15,9–24,5 % изолятов) частоты резистентности кампилобактерий к эритромицину в Европе [4] и результатов, полученных в ходе данного исследования.

Рассматриваемая в качестве альтернативы макролидам и фторхинолонам, группа тетрациклинов сохраняла свою эффективность в отношении 61,4 % клинических изолятов. Несомненным положительным фактором служило то, что чувствительность к тетрациклинам сохранялась у большинства штаммов (12 из 15), проявляющих резистентность к макролидам и фторхинолонам.

Множественная резистентность возбудителей кампилобактериоза является предметом особого внимания. Имеются данные о наличии у кампилобактерий молекулярных механизмов, позволяющих снижать эффективность большинства антибактериальных препаратов. Так, в исследовании преобладали изоляты, устойчивые к действию четырех и более антибактериальных препаратов (таблица 19). 22,8 % штаммов обладали мультирезистентностью к 4–7 антибиотикам различных групп. 4 культуры (3 — *C. jejuni* и 1 — *C. coli*) были резистентны ко всем исследуемым группам антибактериальных препаратов.

Таблица 19 – Профили резистентности к антибиотикам выделенных штаммов *C. jejuni* и *C. coli* (N=57)

Фенотип лекарственной устойчивости	Группы антибактериальных препаратов	N	%
Тетрациклин (TE), ципрофлоксацин (CIP), доксициклин (DO)	Фторхинолоны и тетрациклины	3	5,3%
CIP, эритромицин (ERI), кларитромицин (CLA)	Фторхинолоны, макролиды	5	8,8%
CIP, ERI, CLA, азитромицин (AZ)	Фторхинолоны, макролиды	2	3,5%
CIP, TE, ERI, CLA, AZ	Фторхинолоны, макролиды, тетрациклины	3	5,3%
CIP, TE, DO, ERI, CLA	Фторхинолоны, макролиды, тетрациклины	1	1,8%
Все тестированные антимикробные препараты		4	7,0%
Всего		18	31,6%

При анализе фенотипов лекарственной устойчивости кампилобактерий, включающих до 6 детерминант, удалось установить 6 спектров антибиотикорезистентности. Наиболее часто выявлялись фенотипы «ERI, CIP, CLA» (8,8%), «CIP, TE, ERI, CLA, AZ» и «CIP, TE, DO» (по 5,3 %). 4 изолята (7,0 %) *Campylobacter* spp. были резистентны ко всем определяемым лекарственным препаратам. Феномен мультирезистентности требует пристального внимания из-за имеющихся данных о увеличении количества изолятов, обладающих данными свойствами, в обширном материале различных географических зон [40]. Т. Luangtongkum с соавторами доказали, что специфической особенностью *Campylobacter* spp. является наличие положительной корреляции между резистентностью к антибактериальным препаратам и прогрессивно возрастающей вирулентностью данного микроорганизма [65].

Растущая частота выявления резистентных изолятов кампилобактерий к наиболее эффективным антибактериальным препаратам определяется повсеместным применением данных средств как в медицине, так и ветеринарии, и животноводстве. Дополнительным механизмом, повышающим темпы роста резистентности, является передача генов между различными представителями рода *Campylobacter* spp. [152]. Имеются данные, свидетельствующие о высоком риске

выявления резистентных к фторхинолонам штаммов *Campylobacter* spp. после посещения Азиатского региона [277].

Таким образом, по сравнению с данными 2000–2010 годов отмечается тенденция к дальнейшему росту числа штаммов кампилобактерий, резистентных к антибиотикам. Уровень резистентности у изолятов, выделенных у детей в данном исследовании, находится на значительно более низком уровне, чем у животных и птиц. По данным отечественных и европейских авторов в ветеринарии уровень резистентности *Campylobacter* spp. к фторхинолонам и даже макролидам может превышать 80–85 % [4, 268]. Результаты, полученные в данной работе, согласуются с более ранними сообщениями о высокой распространенности во всем мире кампилобактерий, устойчивых к лекарственным препаратам [282]. Частота выявления резистентных к макролидам и фторхинолонам сопоставима с данными европейских авторов [66].

Особенностью данного исследования оказалось частое выявление изолятов обладающих фенотипической резистентностью ко всем исследуемым антибактериальным препаратам. Выделение подобных изолятов у детей ранее описывалось только в 2 работах пакистанских и кенийских авторов [239, 313]. Это свидетельствует о необходимости поиска новых направлений этиотропной терапии кампилобактериоза и совершенствования методов диагностики и определения чувствительности кампилобактерий к антибактериальным препаратам.

3.3 Исследование антагонистической активности пробиотиков, аутопробиотиков при кампилобактериозе

Рост устойчивости кампилобактерий к антимикробным препаратам, а также риск развития побочных эффектов на фоне их применения делает актуальной проблему поиска новых методов лечения кампилобактериоза. В качестве альтернативы антибактериальной терапии рассматриваются пробиотики и аутопробиотики. Однако выраженность их антагонистического действия на кампилобактерии изучена недостаточно.

Для оценки выраженности антагонистического действия пробиотиков и аутопробиотиков на кампилобактерии были оценены зоны ингибирования роста. Антагонистическую активность оценивали с помощью метода двухслойного агара. Исследование эффекта пробиотических культур в концентрации 10^8 КОЕ/мл при нанесении на поверхность плотной среды, на которой могли расти кампилобактерии и антагонисты, позволило провести сравнительное исследование эффективности пробиотиков.

Результаты количественной оценки антагонизма пробиотических и аутопробиотических штаммов в отношении *Campylobacter* spp. (рисунки 11 и 12).

Штаммы кампилобактерий показали различную чувствительность к пробиотическими культурам (рисунок 12, рисунок 13).

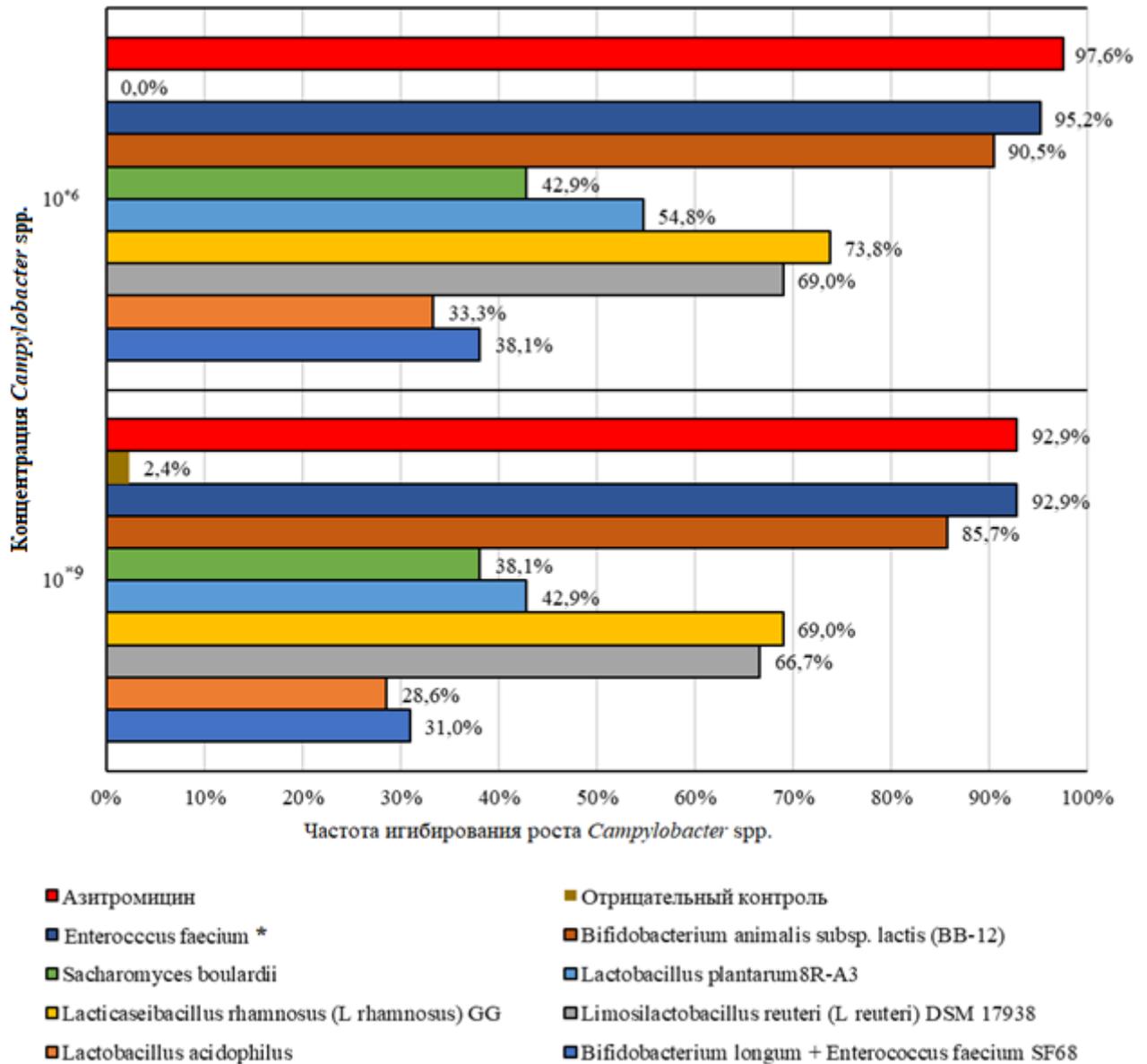


Рисунок 12 – Количество штаммов кампилобактерий, на которые подействовал тот или иной пробиотик (N=42)

Примечание – * представлены суммарные данные по применению различных изолятов аутопробиотиков.

Наибольшую активность в отношении подавления роста *Campylobacter* spp. в концентрации 10⁹ и 10⁶ КОЕ показали штаммы *Bifidobacterium animalis* subsp.

Lactis BB-12 — 36 (85,71 %) и 38 (90,48 %) выделенных кампилобактерий и аутопробиотические штаммы *Enterococcus faecium* — 35 (92,9 %) и 37 (95,2 %). Высокая антикампилобактерная активность *E. faecium* может быть объяснена наличием у данного микроорганизма выраженного потенциала по продукции бактериоцинов, обладающих мощным бактерицидным действием [148].

Достаточно высокие антикампилобактерные эффекты показали: *Lacticaseibacillus rhamnosus* (*L. rhamnosus*) GG блокировали рост 29 (69,05 %) и 31 (73,81 %) штаммов и *Limosilactobacillus reuteri* (*L. reuteri*) DSM 17938, соответственно 28 (66,67 %) и 29 (69,05 %). *Lactobacillus acidophilus* значимо не отличались от пробиотических штаммов *Bifidobacterium longum* + *Enterococcus faecium* SF68 по эффективности влияния на рост кампилобактерий ($p=0,27$).

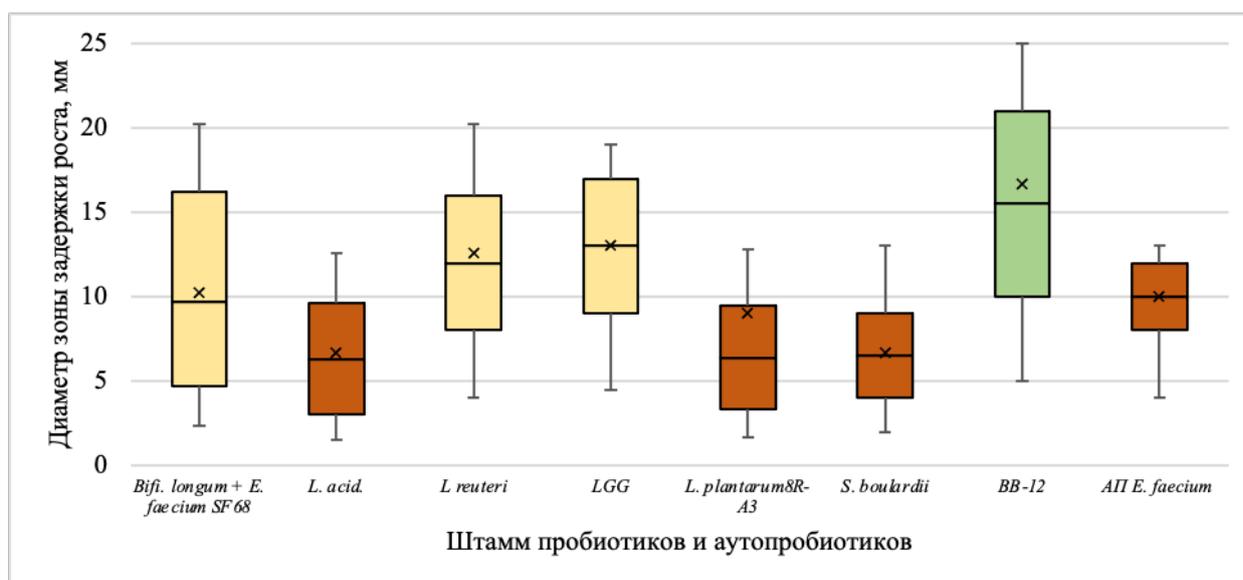


Рисунок 13 – Антагонистическая активность пробиотиков и аутопробиотиков (диаметр зоны задержки роста)

Примечания

1^x – среднее значение.

2 Представлены суммарные данные по применению различных изолятов аутопробиотиков.

При анализе зон задержки роста было показано, что наибольшим антагонизмом в отношении кампилобактерий обладал пробиотический штамм *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12. Вторым по выраженности антагонистического эффекта был штамм *Limosilactobacillus reuteri* DSM 17938. Пробиотический штамм *Lactobacillus acidophilus* характеризовался наименьшей антагонистической активностью из всех представленных.

Согласно представленным данным, наблюдалось большое различие между медианой и средним значением, что свидетельствует об отсутствии нормального распределения.

Поэтому в дальнейшем для поиска статистически значимых различий был использован непараметрический критерий Манна — Уитни (таблица 20).

Таблица 20 – Попарные р-значения U-критерия Манна — Уитни при сравнении антагонистической активности пробиотических и аутопробиотических штаммов

	L. ac.	LGG	BB-12	АП E.f.	Пол. Контр.	Азитр.	Bif.l.+ E.f.	L. reu.	L.pl.	S.b.
L. ac.		0,009	0,001	0,001	0,13	0,001	1,0	0,012	1,0	1,0
LGG	0,009		0,06	1,0	0,001	0,001	0,008	1,0	0,006	0,001
BB-12	0,001	0,06		0,001	0,001	0,71	0,001	1,0	0,467	0,003
АП E.f.	0,001	1,0	0,001		0,001	0,001	0,001	1,0	0,001	0,001
Пол.контр	0,013	0,001	0,001	0,001		0,001	0,001	0,001	0,001	0,32
Азитр.	0,001	0,001	0,71	0,001	0,001		0,001	0,005	0,001	0,001
Bif.l.+ E.f.	1,0	0,008	0,001	0,001	0,001	0,001		0,743	1,0	1,0
L. reu.	0,012	1,0	1,0	1,0	0,001	0,005	0,743		0,563	0,005
L.pl.	1,0	0,006	0,467	0,001	0,001	0,001	1,0	0,563		1,0
S.b.	1,0	0,001	0,003	0,001	0,32	0,001	1,0	0,005	1,0	

Примечания

L. ac. — *Lactobacillus acidophilus*

LGG — *Lacticaseibacillus rhamnosus* (*L. rhamnosus*) GG

BB-12 — *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*

АП E. f. — Аутопробиотик *Enterococcus faecium*

Пол. контр. — Положительный контроль

Азитр. — Азитромицин

Bif. l.+ E. f. — *Bifidobacterium longum* + *Enterococcus faecium* SF68

L. reu. — *Limosilactobacillus reuteri* (*L. reuteri*) DSM 17938

L. pl. — *Lactobacillus plantarum* 8R-A3

S.b. — *Sacharomyces boulardii*

При анализе уровня статистических отличий было установлено, что ингибирующие эффекты *Lactobacillus acidophilus* и *Sacharomyces boulardii* не отличались значимо от результатов роста без добавления ингибирующих веществ (положительный контроль), что свидетельствует о низкой способности данных пробиотических штаммов ингибировать рост *Campylobacter* spp. Необходимо также отметить, что антикампилобактерный эффект пробиотического штамма *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12) при сравнении с ингибирующим эффектом азитромицина не имел статистически значимых различий ($p=0,71$), что позволяет говорить о возможной сопоставимости их эффектов.

Помимо прямого антагонистического действия на патоген, пробиотики способны усиливать иммунный ответ, благотворно влиять на пищеварение и состав микробиоценоза кишечника, препятствовать транслокации, размножению возбудителей, его адгезии и колонизации эпителия и увеличения его проницаемости и повреждения [96, 175]. Эти эффекты пробиотиков не могли быть оценены в исследовании *in vitro*. Возможный учет данных факторов, несомненно, сказывался бы на повышении оценки антикампилобактерной активности пробиотиков.

В отличие от других исследований, которые также посвящены изучению антагонистической активности пробиотических штаммов в системе *in vitro* проведено комплексное исследование одновременно нескольких штаммов одним методом. Используя капельный метод и среду, на которой одновременно могли расти культуры антагонистов (лактобацилл, бифидобактерий, энтерококков и сахаромицетов) и кампилобактерии, удалось выявить потенциально наиболее эффективные пробиотические средства *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Lacticaseibacillus rhamnosus* (*L. rhamnosus*) GG и *Limosilactobacillus reuteri* (*L. reuteri*) DSM 17938, аутопробиотические энтерококки) и те средства, которые

практически не проявляли антикампилобактерной активности (*L. plantarum* 8R-A3, *Sacharomyces boulardii*).

Достаточно неожиданной была низкая антагонистическая активность штамма *L. plantarum* 8R-A3, способного продуцировать лактоцины и NO [3, 248].

Наконец, бесспорную новизну исследования представляет апробация эффективности в системе *in vitro* аутопробиотических энтерококков, которые имеют ряд преимуществ перед пробиотическими культурами микроорганизмов: индигенные бактерии лучше адаптированы к условиям существования, что способствует более длительному сохранению в организме в высоких титрах [10, 76]. Оценка величины зон задержки роста позволила выявить штаммовые особенности клинических изолятов *Campylobacter* spp., которые нужно учитывать перед назначением пробиотиков [301].

При использовании предложенной модификации капельного метода в практической лаборатории возможен персонифицированный подбор пробиотиков для каждого пациента перед назначением пробиотической коррекции микробиоценоза и элиминации возбудителя.

Таким образом, в системе *in vitro* штаммы кампилобактерий показали различную чувствительность к пробиотическим культурам. Наибольший антагонистический эффект оказывал пробиотический штамм *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12), и аутопробиотические штаммы *Enterococcus faecium*. Пробиотические *Lactobacillus plantarum* 8R-A3, *Sacharomyces boulardii*, *Lactobacillus acidophilus* обладали низкой антагонистической активностью в отношении кампилобактерий.

3.4 Исследование антагонизма пробиотиков в отношении кампилобактерий *in vivo*

Для изучения антагонистического действия пробиотиков в отношении изолятов *Campylobacter* spp. была использована модель кампилобактериоза у взрослых мышей (масса 18–20 г). Для проведения эксперимента мыши были

разделены на 5 групп по 20 животных в каждой. Животным групп К+, П1 (получали 200 мкл *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* 10^8 КОЕ/мл), П2 (получали 200 мкл *Enterococcus faecium* L3 10^8 КОЕ/мл) и А (получали 200 мкл суспензии азитромицина) были перорально введены *C. jejuni* N508 в количестве 10^{10} КОЕ/мл. Животным из группы К- вводился перорально только фосфатный буфер.

Для оценки эффективности использования пробиотических штаммов в системе *in vivo* был подсчитан вес мышей за один день до момента инфицирования, в момент инфицирования и на протяжении 5 дней после инфицирования (рисунок 14).

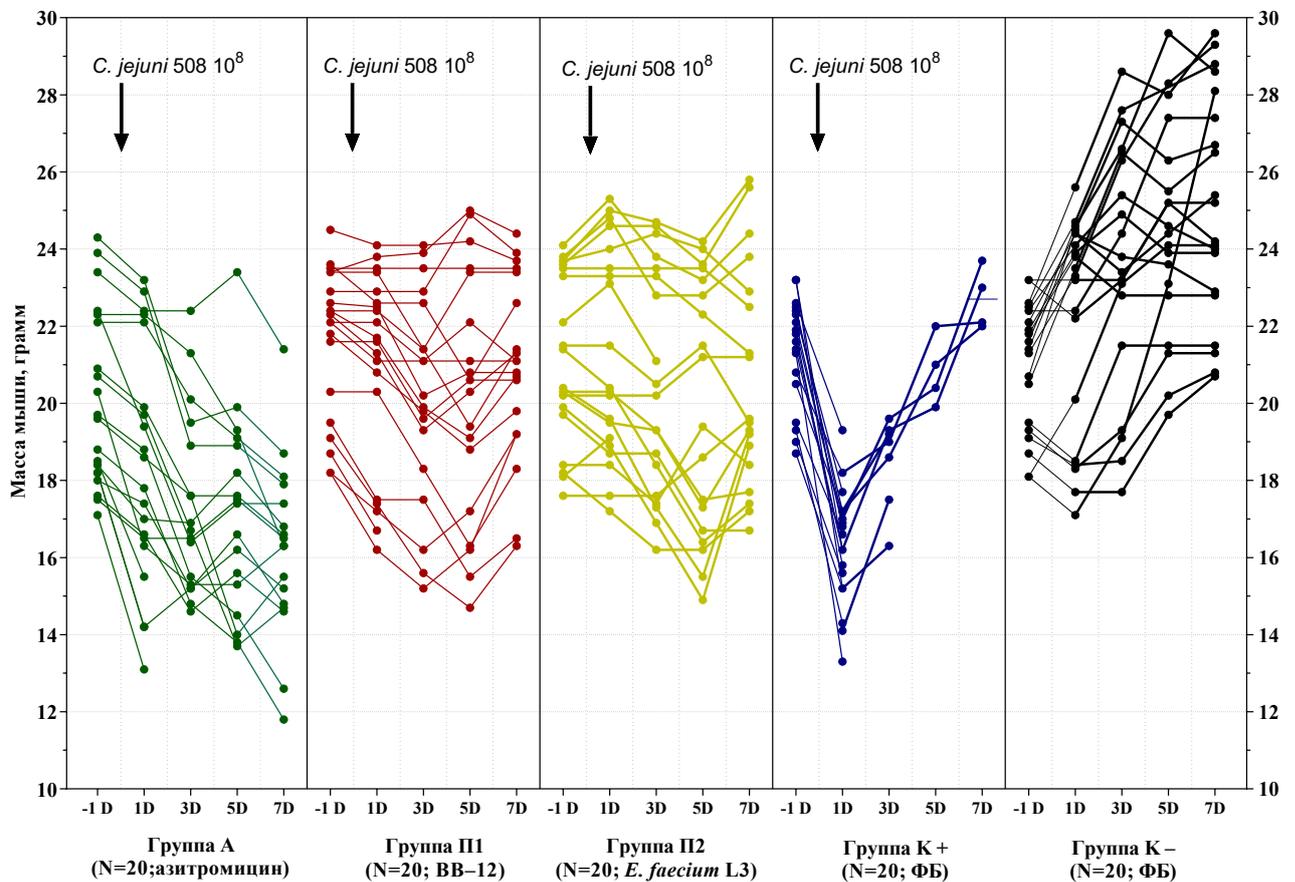


Рисунок 14 – Изменение массы мышей при экспериментальном кампилобактериозе (N=100)

Примечание – стрелкой указано введение штамма *C. jejuni* N508 животным.

У всех мышей после заражения кампилобактериями наблюдалось снижение массы тела. Наибольшее снижение массы отмечалось у мышей в группах А

(получали азитромицин) и К⁺ (не получали лекарственных препаратов). Две группы животных, получавшие пробиотики, характеризовались статистически значимо меньшим снижением массы тела ($p_{\text{П1-К}^+}=0,002$, $p_{\text{П1-А}}=0,03$, $p_{\text{П2-К}^+}=0,007$, $p_{\text{П2-А}}=0,01$). В контрольной группе «К⁻», где животные не были инфицированы кампилобактериями, отмечалось перманентное повышение массы тела животных.

На седьмой день средняя масса тела у мышей из групп П1 и П2 была статистически значимо выше, чем у мышей из групп А и К⁺ ($p_{\text{П1-К}^+}<0,001$, $p_{\text{П1-А}}=0,02$, $p_{\text{П2-К}^+}<0,001$, $p_{\text{П2-А}}=0,008$), и не отличалась значимо от массы мышей из группы К⁻ ($p=0,12$ и $0,27$ соответственно). В группе мышей К⁺, которым не вводили пробиотики, на 7 день после инфицирования спад массы носил наиболее значимый характер ($p=0,03$). В данной группе также отмечалась максимальная по частоте гибель животных ($n=14$; 70 %). В других группах частота гибели животных возрастала в ряду; группа П2 – $n=1$; 5,0 %, группа П1 – $n=2$; 10,0 %, группа А – $n=4$; 20,0 %. Для контроля элиминации возбудителя было подсчитано количество мышей, у которых на 7 день проведения эксперимента отмечалось выделение возбудителя (рисунок 15).

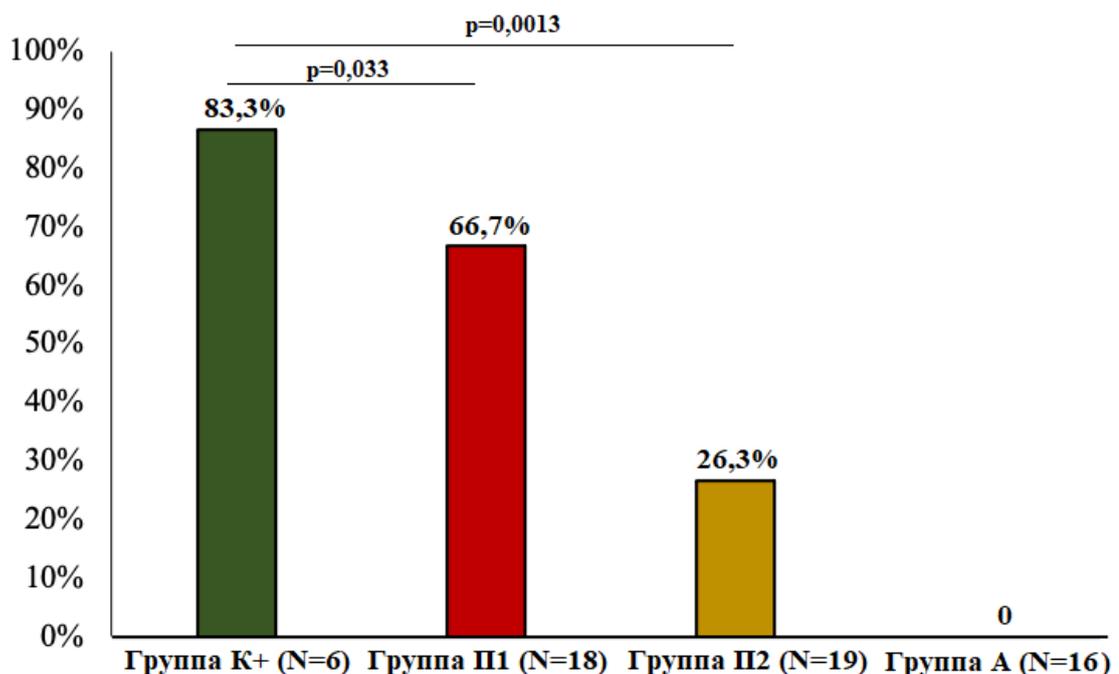


Рисунок 15 – Частота персистенции возбудителя на 7 сутки при экспериментальном кампилобактериозе (N=59)

Наибольшее число мышей, у которых была выявлена персистенция возбудителя, относились к группе К⁺ (83,3%), которые не получали пробиотики (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* или *E. faecium* L3) или антибиотик. Полной элиминации возбудителя удалось добиться в группе мышей, получавших азитромицин. Статистически значимые различия наблюдались между группами мышей П1 и П2, принимавшими *E. faecium* L3 и *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, в сравнении с контрольной группой К⁺

Таким образом, можно судить о более легком и менее длительном течении экспериментального кампилобактериоза при приеме пробиотического штамма *E. faecium* L3. Апробированные в ходе данного исследования модели кампилобактериоза у мышей показали высокую степень информативности и позволили оценить эффективность применения исследуемых средств. Стоит признать, что данная биологическая модель не позволяет оценить динамику большинства клинических параметров. Однако оценка массы тела животного, применяемая в качестве универсального показателя тяжести течения инфекционного процесса, позволила с высокой степенью статистической значимости продемонстрировать протективный эффект пробиотиков, направленный на снижение тяжести экспериментального кампилобактериоза. Полученные результаты еще раз подтвердили гипотезу об эффективности применения пробиотиков и аутопробиотиков для снижения частоты бактериовыделения после кампилобактериоза [317].

Полученные результаты дополняют данные исследований пробиотиков *in vitro*. Эффекты, полученные при изучении антагонистической активности пробиотиков и аутопробиотиков на кампилобактерий методом двуслойного агара, могут быть экстраполированы и на подобные взаимодействия в организме животных. В перспективе, применение комбинации двух данных методов оценки может послужить основой для оценивания эффективности новых пробиотиков, которые будут обладать максимально выраженной антикампилобактерной активностью.

3.5 Изучение фенотипических и генотипических свойств штаммов кампилобактерий

Огромное внимание во всем мире уделяется распространенности различных генотипов и серотипов *Campylobacter* spp. в различных географических регионах. Данные проведенных ранее исследований позволяют на основании принадлежности к определенным генетическим и серогруппам прогнозировать тяжесть течения кампилобактериоза и риск резистентности к этиотропным препаратам [56]. Большое внимание уделяется механизмам множественной резистентности кампилобактерий к химиопрепаратам и анализу частоты встречаемости генов резистентности у данных бактерий.

На сегодняшний день кампилобактерии рассматриваются Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) в качестве одного из трех возбудителей ОКИ, которые в ближайшие годы могут потерять чувствительность к большинству применяемых антибактериальных препаратов [72]. Однако, в нашей стране ранее такие исследования не проводились.

В данной работе было проведено исследование 48 штаммов кампилобактерий, выделенных у детей, находившихся на стационарном лечении в ДНКЦИБ ФМБА. Выделенные штаммы кампилобактерий по признакам были отнесены к видам *C. jejuni* (n=32) и *C. coli* (N=16). Штаммы имели характерные морфологические свойства: мелкие (0,2–0,9 мкм шириной и 0,2–5,0 мкм длиной) спирально изогнутые грамотрицательные палочки, не образующие спор. При оценке роста на дифференциально–диагностических плотных питательных средах было подтверждено выделение *C. jejuni* (n=32) и *C. coli* (N=16) с вероятностью 99,9 % (достоверность «отличная идентификация»).

Результаты серотипирования *C. jejuni* по термостабильному антигену

Было проведено серотипирование *C. jejuni*, основанное на выявлении термостабильного антигена (ТА) методом пассивной гемагглютинации (таблица 21).

Таблица 21 – Результаты серотипирования *C. jejuni* по термостабильному антигену

Серотип <i>C. jejuni</i>	N	%	Страны с широким распространением
ТА:2	4	12,50%	Канада, Чехия, Дания, Швеция, Швейцария,
ТА:3	2	6,25%	Норвегия, Франция, Германия, Бельгия, Канада, Чехия, Дания,
ТА:4	2	6,25%	Австралия, Бельгия, Бельгия, Канада, Чехия, Дания, Великобритания США
ТА:5	3	9,38%	Бельгия, Канада, Чехия, Дания,
ТА:15	3	9,38%	Южная Африка, Испания,
ТА:19	4	12,50%	Южная Африка, Испания,
ТА:37	6	18,75%	Таиланд, Великобритания Уругвай, США
Всего типировано	24	75,0%	–
Не типировано	8	25,0%	–

Примечание – ТА – термостабильный антиген.

Серотипирование ТА имеет клиническое значение из-за причинной связи некоторых серотипов с предшествующей инфекцией *C. jejuni* и развитием синдрома Гийена — Барре [110]. Среди выделенных серотипов доминировали типы 37, 2 и 19. Высокая частота выявления серотипа ТА:37 также регистрируется в Таиланде и странах Юго-Восточной Азии. Серотипы 2 и 19 являются одними из наиболее широко распространенных в Северной Европе и Скандинавии, а также в США и Испании [143].

Стоит также отметить, что серотип ТА:4, наиболее часто встречающийся в Великобритании, Швеции, Перу и США [143], был обнаружен только у двух пациентов. Данному серотипу кампилобактерий уделяется особое внимание. По данным S. Callahan, именно с данным серотипом связано наибольшее количество случаев отдаленных осложнений аутоиммунной природы [88].

Обнаруженное в настоящем исследовании разнообразие серотипов *C. jejuni* не свидетельствуют о преобладании какого-либо серотипа при кампилобактериозе, и эпидемиологически сопоставимо с частотой спорадических случаев,

представленных в северной части Европы. Тем не менее, накопление данных о составе циркулирующих серотипов *Campylobacter* spp. имеет огромное значение. Именно преваляирование в регионе того или иного серотипа кампилобактерий определяет состав перспективных вакцин, активно разрабатываемых в ветеринарии [318].

Генотипическое исследование кампилобактерий

По результатам полногеномного секвенирования были собраны черновые варианты бактериального генома до контигового уровня. Качество сборки генома позволяло проводить дальнейший биоинформатический анализ. Материал полученных коллекций были проанализирован с помощью общепринятых биоинформатических программ для установления основных молекулярно-генетических характеристик выделенных штаммов.

Филогенетический анализ показал, что некоторые штаммы, отнесенные к виду *C. jejuni*, образовали отдельную филогенетически обособленную группу. У восьми штаммов некоторые аллели, принадлежащие таксономическому кластеру *C. jejuni*, были обнаружены также у *C. coli*, и наоборот, что вызвано генетической мозаикой, встречающейся внутри рода *Campylobacter* spp.

Было также проведено сравнение разнообразия конституциональных генов *C. coli* и *C. jejuni*. Среди 32 штаммов *C. jejuni* путем мультилокусного секвенирования (МЛС) было обнаружено 18 различных типов последовательностей. 18 последовательностей МЛСТ были сортированы на 12 различных комплексов МЛСТ (К–МЛСТ). Географическое распространение выявленных типов представлено в таблице 22.

Таблица 22 – Распространение типов сиквенсов и кор-геномных типов сиквенсов *S. jejuni* в различных странах

Номер штамма	Сиквенс-тип	Кор-геномный сиквенс-тип	Д	В	Г	А	С	Кан	И	Н	Л	Я	У	Кит	Б	Фр	Фин	Шв	Ч
EI0796	21	21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
EI0797	137	45	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+
EI0798	38	48	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
EI0800	48	48	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+
EI0801	3503	48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EI0802	49	49	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
EI0803	52	52	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
EI0804	2100	52	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
EI0805	61	61	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-
EI0806	122	206	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
EI0807	206	206	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
EI0808	353	353	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
EI0809	524	353	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
EI0810	354	354	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-
EI0811	443	443	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-
EI0812	584	257	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
EI0813	824	257	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-
EI0814	305	574	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-

Примечания

1 Д – Дания, В – Великобритания, Г – Голландия, А – Австралия, С – США, Кан – Канада, И – Испания, Н – Норвегия, Л – Люксембург, Я – Япония, У – Уругвай, Кит – Китай, Б – Бельгия, Фр – Франция, Фин – Финляндия, Шв – Швеция, Ч – Чехия.

2 + – присутствие, – отсутствие *S. jejuni* в данной стране.

При сопоставлении типов сиквенсов кампилобактерий, выделенных у пациентов, и данных международных баз данных было показано, что сходные сиквенс типы наиболее распространены в Великобритании, странах Бенилюкса (Голландия, Люксембург) и Северной Европы (Дания, Швеция, Финляндия). Отмечалась высокая частота совпадений результатов серотипирования и генотипирования в отношении географического распространения изолята (15 из 24 штаммов, 62,5 %).

Среди 16 штаммов *C. coli* путем МЛС было обнаружено 10 различных типов последовательностей МЛСТ. Географическое распространение выявленных типов представлено в таблице 23. Максимально представлены различные типы сиквенсов в Великобритании, Голландии и Люксембурге.

Таблица 23 – Распространение типов сиквенсов и кор-геномных типов сиквенсов *C. coli*

Номер штамма	Сиквенс-тип	Кор-геномный сиквенс-тип	С	Д	Ис	Л	В	Ф	Ит	К
E11134	1414	828	+	-	-	-	-	-	-	-
E11135	1441	828	+	-	-	-	-	-	-	-
E11136	1582	-	-	+	+	+	-	-	-	-
E11137	1595	828	-	+	+	+	+	+	-	-
E11140	1605	-	-	-	-	-	-	-	+	-
E11141	1661	828	+	-	-	-	-	-	-	-
E11142	1691	828	+	-	-	-	-	-	-	-
E11143	2003	828	-	-	-	-	+	-	-	-
E11156	20/3	828	-	-	-	-	+	-	-	-
E11157	2503	828	-	-	-	-	-	-	-	+

Примечания

1 С — США, Д — Дания, Ис — Испания, Л — Люксембург, В — Великобритания, Ф — Финляндия, Ит — Италия, К — Канада.

2 + – присутствие, – отсутствие *C. coli* в данной стране.

Характер географического распространения выделенных *C. jejuni* и *C. coli* у пациентов в проведенном исследовании имел целый ряд сходств. Оба вида кампилобактерий были представлены типами сиквенсов, наиболее

распространенными в странах Бенилюкса и в Великобритании. Выявить механизмы, объясняющие подобное сродство, в ходе исследования не удалось. Стоит, однако, отметить, что вышеуказанные страны имеют наиболее развитую систему эпидемиологического надзора за кампилобактериозом. Нельзя исключить, что проведение дополнительных эпидемиологических исследований в других регионах позволило бы выявить превалирование этих сиквенс-типов и в других регионах Европы, и в целом на Земном шаре.

Частота выявления генов резистентности кампилобактерий к антибактериальным препаратам

Было проведено исследование генов резистентности к антибактериальным препаратам. Анализ с помощью программного комплекса AMRFinderPlus выявил в общей сложности 16 генетических детерминант антибиотикорезистентности. В их число вошли 13 приобретенных генов резистентности и 3 точковые мутации, обеспечивающие кампилобактериям устойчивость к антибактериальным препаратам (таблица 24).

Среди всех генов резистентности к антибактериальным препаратам наиболее часто (у 62,5 % изолятов) был выявлен ген *tet(O)*, ответственный за активацию транспортеров, обеспечивающих выведение тетрациклина [251]. Среди всех вариантов генов *tet(O)*, наиболее часто выявлялся *tet(O)*_2. Этот ген чаще всего выявлялся у изолятов, обладающих фенотипической резистентностью к тетрациклину ($n=13$; 92,86 %, $p<0,001$).

Таблица 24 – Частота выявления генов резистентности и их соотношение с фенотипической резистентностью кампилобактерий

Группа антибиотиков	Гены резистентности		Генотипическая резистентность		Фенотипическая резистентность	
			N	%	N	%
Макролиды	23S rRNA		11	22,92%	8	16,67%
	23S rRNA	CC[2075:A–G]	4	8,33%	3	6,25%
		CJ[2075:A–G]	2	4,17%	2	4,17%
		CJ[2074:A–C; 2075:A–R]	1	2,08%	0	0,00%
		CJ[2074:A–M]	2	4,17%	1	2,08%
		CJ[2074:A–T]	2	4,17%	2	4,17%
Фторхинолоны	<i>gyrA</i>		29	60,42%	21	43,75%
	<i>gyrA</i>	<i>gyrA</i> _CE[86:T–I; 90:D–Y]	1	2,08%	0	0,00%
		<i>gyrA</i> _CE[86:T–I]	5	10,42%	3	6,25%
		<i>gyrA</i> _CE2[86:T–I]	1	2,08%	1	2,08%
		<i>gyrA</i> _CJ[86:T–I; 104:P–S]	1	2,08%	1	2,08%
		<i>gyrA</i> _CJ[86:T–I; 90:D–N]	2	4,17%	1	2,08%
		<i>gyrA</i> _CJ[86:T–I]	17	35,42%	13	27,08%
		<i>gyrA</i> _CJ[86:T–R]	1	2,08%	1	2,08%
		<i>gyrA</i> _CJ[86:T–V]	1	2,08%	1	2,08%
тетрациклины	<i>tet(O)</i>		30	62,50%	17	35,42%
	<i>tet(O)</i>	<i>tet(O)</i> _2	14	29,17%	13	29,17%
		<i>tet(O/M/O)</i>	10	20,83%	6	12,50%
		<i>tet(O)</i> –Cc3	6	12,5%	1	2,08%
β-лактамы	<i>bla</i>	<i>blaOXA</i> –193	26	54,17%	–	
		<i>blaOXA</i> –461	9	18,75%		
		<i>blaOXA</i> –580	6	12,50%		
		<i>blaOXA</i> ^a	4	8,33%		
		<i>blaOXA</i> –184	2	4,17%		
		<i>blaOXA</i> –603	2	4,17%		
		<i>blaOXA</i> –447	1	2,08%		
<i>steABC</i> (множественная устойчивость к противомикробным препаратам)			42	87,25%	–	–

Примечание – Фенотипическая резистентность к β-лактамам не оценивалась.

Мутация гена 23S рРНК, приводящая к снижению чувствительности к эритромицину [184], была обнаружена у 11 изолятов (7 *C. jejuni* и 4 *C. coli*). 8 из них (72,73 %; $p=0,031$) также были фенотипически устойчивы к эритромицину.

Мутации *gyrA*, приводящие к снижению чувствительности к ципрофлоксацину, были обнаружены у 29 изолятов (17 *C. jejuni* и 12 *C. coli*), при этом 21 (72,41 %; $p=0,017$) из этих изолятов (12 *C. jejuni* и 9 *C. coli*) также проявляли фенотипическую устойчивость к ципрофлоксацину. Наиболее распространенная мутация гена *gyrA* (Т86I), обнаруженная в этом наборе данных, присутствовала у 21 из 23 изолятов (91,30 %).

Для формирования резистентности к аминогликозидам (гентамицину и стрептомицину) по данным литературы необходимо наличие нескольких генов. Ген *aadE* (*ant*(6)–Ia), повышающий устойчивость к стрептомицину [241], был обнаружен у 9 изолятов (18,75 %, $p>0,05$). Гены *aph*(3')–IIIa, определяющие устойчивость к стрептомицину, канамицину и амикацину [195], *aad9* и *sat4*, определяющие устойчивость к стрептомицину [241], были обнаружены у 4 изолятов, причем исключительно у *C. jejunii*. Только один изолят *C. jejuni* имели ген *aac*(60)–*aph*(200), связанный с устойчивостью к гентамицину. Этот изолят *C. jejuni* также оказался фенотипически устойчивым. Никаких расхождений между фенотипическими и генотипическими профилями устойчивости к гентамицину обнаружено не было ни у одного из протестированных изолятов.

Система эффлюксного насоса *steABC*, ответственная за множественную устойчивость к противомикробным препаратам, также была широко распространена среди всех видов *Campylobacter* spp. Ген *steABC* не был обнаружен только в 6 изолятах кампилобактерий (12,50 %). Эффлюксные насосы представляют из себя белковые транспортеры, локализованные в цитоплазматической мембране всех видов клеток. Каждый эффлюксный насос этого семейства состоит из 12 трансмембранных α -спиралей, соединенных гидрофильными петлями. Данная система у кампилобактерий состоит из 3 ключевых белков: белка внешней мембраны (*steC*), внутримембранного переносчика (*steB*) и периплазматического слитного белка (*steA*), которые

образуют мембранный канал, выводящий токсичные вещества из клетки [287]. Отсутствие *steABC* во всех 6 случаях сопровождалось фенотипической чувствительностью ко всем исследуемым противомикробным препаратам. Это свидетельствует о ключевой роли эффлюксного насоса *steABC* в обеспечении устойчивости кампилобактерий к действию антибиотиков разных групп, потенцируя эффекты других механизмов резистентности.

При сопоставлении фенотипической и генотипической резистентности отмечалась высокая частота совпадения результатов: 32 из 38 изолятов (84,2 %; $p=0,012$) имели согласованные результаты по всему профилю чувствительности (таблица 31), охватывающему три класса противомикробных препаратов (макролиды, фторхинолоны, тетрациклины). Из 6 изолятов (4 *C. jejuni* и 2 *C. coli*), показавших противоречивые результаты, у 2 изолятов *C. jejuni* наблюдалось несоответствие между фенотипическим и генотипическим профилем двух разных антимикробных препаратов, а у 2 (1 изолят *C. jejuni* и 1 *C. coli*) имело место расхождение только по одному противомикробному препарату.

Полученные результаты свидетельствуют о согласованности результатов полногеномного секвенирования и определения устойчивости изолятов диско-диффузионным методом. Это может свидетельствовать о возможности быстрого и точного прогнозирования распространенности резистентных к противомикробным препаратам изолятов *C. jejuni* и *C. coli* при рутинной ПЦР-диагностике определенных генов резистентности, что может способствовать обеспечению более эффективного эпидемиологического надзора и оптимизации тактики терапии.

Частота обнаружения генов вирулентности кампилобактерий

Результаты анализа 32 генов, связанных с вирулентностью, суммированы в таблице 25. Гены *flaA*, *flgB*, *flgE2*, *fliM*, *fliY*, *cheA*, *cheY*, *dnaJ* и *cdtB* присутствовали во всех протестированных штаммах. Кроме того, гены *cheB*, *cheW*, *cheZ*, *cadF*, *ciaB*, *cdtC* и *fur* были обнаружены у всех штаммов *C. jejuni*. Остальные 16 генов присутствовали у большинства изолятов, за исключением *wlaN* и *virB11*, которые

были обнаружены у 2 изолятов *C. jejuni* и 4 *C. coli* соответственно. 27 изолятов имели полный спектр генов, осуществляющих адгезию и хемотаксис, 16 штаммов *C. jejuni* и 8 штаммов *C. coli* имели неполный набор генов подвижности.

Таблица 25 – Частота выявления генов вирулентности у изолятов *Campylobacter* spp.

Род кампилобактерий		<i>C. jejuni</i> (n=32)		<i>C. coli</i> (n=16)		p	Всего (n=48)	
Группы генов	Гены	N	%	N	%		N	%
Подвижность	<i>flaA</i>	32	100,00%	16	100,00%	.0,05	48	100,00%
	<i>flaB</i>	16	50,00%	14	87,50%	0,011	30	62,50%
	<i>flhA</i>	28	87,50%	12	75,00%	.0,05	40	83,33%
	<i>flhB</i>	30	93,75%	14	87,50%	.0,05	44	91,67%
	<i>flgB</i>	32	100,00%	16	100,00%	.0,05	48	100,00%
	<i>flgE</i>	25	78,13%	16	100,00%	.0,05	41	85,42%
	<i>fliM</i>	32	100,00%	16	100,00%	.0,05	48	100,00%
	<i>fliY</i>	32	100,00%	16	100,00%	.0,05	48	100,00%
Хемотаксис	<i>cheA</i>	30	93,75%	16	100,00%	.0,05	46	95,83%
	<i>cheB</i>	31	96,88%	13	81,25%	.0,05	44	91,67%
	<i>cheR</i>	24	75,00%	12	75,00%	.0,05	36	75,00%
	<i>cheW</i>	30	93,75%	10	62,50%	0,0062	40	83,33%
	<i>cheY</i>	31	96,88%	15	93,75%	.0,05	46	95,83%
	<i>cheZ</i>	28	87,50%	9	56,25%	0,015	37	77,08%
Гены адгезии	<i>cadF</i>	29	90,63%	12	75,00%	.0,05	41	85,42%
	<i>dnaJ</i>	32	100,00%	16	100,00%	.0,05	48	100,00%
	<i>jlpA</i>	20	62,50%	7	43,75%	.0,05	27	56,25%
	<i>pldA</i>	22	68,75%	7	43,75%	.0,05	29	60,42%
	<i>racR</i>	28	87,50%	12	75,00%	.0,05	40	83,33%
	<i>virB11</i>	11	34,38%	5	31,25%	.0,05	16	33,33%
Гены инвазии	<i>iamA</i>	29	90,63%	15	93,75%	.0,05	44	91,67%
	<i>ciaB</i>	29	90,63%	13	81,25%	.0,05	42	87,50%
	<i>ceuE</i>	24	75,00%	16	100,00%	.0,05	40	83,33%
Цитотоксины	<i>cdtA</i>	20	62,50%	10	55,56%	.0,05	30	62,50%
	<i>cdtB</i>	32	100,00%	16	100,00%	.0,05	48	100,00%
	<i>cdtC</i>	21	65,63%	12	75,00%	.0,05	33	68,75%
	<i>wlaN</i>	4	12,50%	2	12,50%	.0,05	6	12,50%
Капсульные гены	<i>kpsM</i>	29	90,63%	13	81,25%	.0,05	42	87,50%
Гены резистентности к «стрессу»	<i>katA</i>	25	78,13%	13	81,25%	.0,05	38	79,17%
	<i>sodB</i>	32	100,00%	16	100,00%	.0,05	48	100,00%
Гены поглощения железа	<i>cfrA</i>	27	84,38%	11	68,75%	.0,05	38	79,17%
	<i>fur</i>	30	93,75%	14	87,50%	.0,05	44	91,67%

Предшествующие исследования продемонстрировали высокую

консервативность жгутиковых генов, являясь критически значимым фактором вирулентности [132, 258], обеспечивающим колонизацию и в конечном счете выживание кампилобактерий *Campylobacter* spp. [58]. Жгутики необходимы для сопротивления перистальтике кишечника, которая в противном случае могла бы вытеснить микроорганизм из желудочно-кишечного тракта [193]. Жгутиковая нить состоит из белка флагеллина, который кодируется двумя соседними генами: *flaA* и *flaB*. В работах L. Koolman было показано, что *flaB*-отрицательные кампилобактерии демонстрируют частичную подвижность и могут сохранять жизнеспособность [144]. Однако, в ряде других исследований имелись данные, что отсутствие *flaB* снижало колонизационную способность и вирулентность возбудителя [284]. Стоит также отметить, что отсутствие *flaB* достоверно чаще выявлялось у изолятов *C. jejuni* по сравнению с *C. coli*.

Гены *flhA* и *flhB*, участвующие в сборке жгутиков, по данным L. Koolman, критически необходимы для инвазии [144]. Среди изолятов исследования не было выявлено ни одного изолята, у которого отсутствовали бы оба гена одновременно, что частично подтверждает данную гипотезу.

При анализе частоты выявления генов вирулентности, обращало на себя внимание редкое обнаружение генов *virB11* и *wlaN*. Ген *virB11* кодирует гены, отвечающие за адгезию к энтероцитам [144]. По данным D. Vason, выявление данного гена приводило к резкому возрастанию способности к адгезии по сравнению со штаммами дикого типа [212]. Аналогичным образом ген *wlaN*, кодирующий β -1,3-галактозилтрансферазу, участвующую в синтезе клеточной стенки, многократно повышает способность кампилобактерий к закреплению на поверхности кишечного эпителия [270]. По всей видимости, частое выявление изолятов, не содержащих эти гены, свидетельствует об их вспомогательной роли, а их отсутствие не приводит к значительному снижению вирулентности.

Ген *wlaN* в ряде публикаций рассматривается как ключевой триггер иммунопатологических реакций, в частности запускающий развитие аутоиммунных полирадикулопатий [141]. Его низкая распространенность в исследуемой группе может частично объяснить отсутствие большого количества

сообщений о подтвержденных случаях синдрома Гийена — Барре у детей после кампилобактериоза в России.

Ген каталазы *katA* был выявлен у 78 % изолятов. Данный ген способствует защите *Campylobacter* spp. от окислительного стресса, повышает выживаемость внутри макрофагов. Одновременно наличие данного гена приводит к возрастанию устойчивости к воздействию антибактериальных препаратов [202]. Гены поглощения железа (*cfrA* и *fur*) также присутствовали в большинстве изолятов (79,17 % и 91,67 % соответственно).

Гены цитолетального расширяющего токсина (*cdtA*, *cdtB*, *cdtC*) имели высокую распространенность среди изолятов. При этом только ген *cdtB* был обнаружен во всех изолятах, а гены *cdtA* и *cdtC* выявлялись у 62,50 % и 68,75 % соответственно. Белки CDТА и CDТC необходимы для связывания с клеткой-хозяином, тогда как CDТВ представляет собой активный фрагмент, который проникает в клетку и вызывает остановку клеточного цикла в фазе G2/M, что приводит к гибели клетки [101] J. Dasti и коллеги ранее продемонстрировали, что изоляты, которые не имели генов *cdtA* и *cdtC*, продуцировали незначительное количество цитолетального расширяющего токсина или вообще не производили его [101].

По результатам проведенного исследования была установлена частота выявления наиболее значимых генов вирулентности кампилобактерий. По сравнению с данным западноевропейских публикаций в исследуемой коллекции реже выявлялись изоляты кампилобактерий, содержащие гены *virB11* и *wlaN*. Это позволяет предположить более низкие риски развития аутоиммунных полирадикулопатий при инфицировании изолятами, распространенными в Российской Федерации. Требуется особого внимания частое выявление генов *cdtA*, *B*, *C*, обеспечивающих резкое повышение активности ключевого фактора патогенности кампилобактерий — цитолетального расширяющего токсина. Генотип *cdtA*, *cdtB*, *cdtC* был выявлен у 42,97 % изолятов.

Таким образом, учитывая высокую социальную и клиническую значимость кампилобактериоза, несмотря на высокую чувствительность применяемых методов

диагностики, только применение комбинации методов диагностики позволяет быстро и точно диагностировать данное заболевание. Стоит, однако, отметить, что для диагностики кампилобактериоза имеет место явная тенденция превалирования значения культурально независимых диагностических тестов, в частности ПЦР и выявления антигенов в кале. Культуральные методы сохраняют свою значимость, позволяя проводить видовую идентификацию, определение чувствительности к антибактериальным препаратам.

При анализе серотипов структуры и наиболее распространенных сиквенс-типов кампилобактерий, выявленных у пациентов в исследовании, было установлено, что наиболее схожим является профиль выделяемых изолятов в странах Северной Европы и Бенилюкса.

Проведенные исследования также позволили выявить значительный рост резистентности кампилобактерий к антибактериальным препаратам. Не менее 15 % выделенных штаммов не были чувствительны к 4 и более антимикробным препаратам, уровень резистентности к фторхинолонам достигает 50 %, что говорит о вероятном скором снижении значимости данной группы препаратов в лечении кампилобактериоза у взрослых. При сопоставлении фенотипической и генотипической резистентности отмечалась выраженная корреляция результатов: 32 из 38 изолятов (84,2 %) имели согласованные результаты по всему профилю чувствительности.

При анализе генов резистентности к антибактериальным препаратам было показано, что система эффлюксного насоса лекарственных препаратов SMEABC является необходимым элементом формирования резистентности кампилобактерий ко всем антибактериальным препаратам. В отсутствие данной структуры выявление генов резистентности не приводило к формированию фенотипической устойчивости к антибиотикам.

Согласованность результатов полногеномного секвенирования и определения устойчивости изолятов культуральным методом, свидетельствует о возможности быстрого и точного прогнозирования распространенности резистентных к противомикробным препаратам изолятов *C. jejuni* и *C. coli* при

рутинной ПЦР-диагностике определенных генов резистентности, что будет способствовать обеспечению эпидемиологического надзора и оптимизации тактики терапии.

Глава 4. КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КАМПИЛОБАКТЕРИОЗА

4.1 Клинико-эпидемиологическая характеристика

Исследуемую группу пациентов составили 203 ребенка с кампилобактериозом в возрасте от 2 месяцев до 17 лет (таблица 26). 27 детей не были включены в исследование из-за несоответствия критериям включения.

Таблица 26 – Характеристика обследованных детей с учетом пола и возраста (N=203)

Возрастные группы	Мальчики		Девочки		Всего		P
	абс.	отн. (%)	абс.	отн. (%)	абс.	отн. (%)	
до 1 года	10	52,63%	9	47,37%	19	9,36%	0,741
1–3 года	25	64,10%	14	35,90%	39	19,21%	0,013
4–6 лет	35	50,00%	35	50,00%	70	34,48%	1
7–14 лет	30	63,83%	17	36,17%	47	23,15%	0,007
15–17 лет	10	35,71%	18	64,29%	28	13,79%	0,032
Всего	110	54,19%	93	45,81%	203	100%	0,092

Наибольшее количество пациентов с кампилобактериозом были в возрасте 4–6 лет (34,48 %). При оценке соотношения между пациентами мужского и женского пола, было установлено более частое выявление кампилобактериоза у мальчиков, наиболее выраженное в старших группах детей. В исследованиях российских и американских авторов тенденция преобладания манифестных форм кампилобактериоза у пациентов мужского пола также отмечалась [41, 187]. Однако, в отличие от проводимого исследования, более значимые отличия по полу исследователи обнаруживали у детей младшего возраста.

Заболевание регистрировалось в течение всего календарного года. Преобладания заболеваемости кампилобактериозом в летне-осенний период, как при других ОКИ, выявлено не было. Подобные результаты были отмечены и в исследовании V. Louis, описавшей сохранение уровня заболеваемости

кампилобактериозом в течение всего календарного года в Великобритании [299]. Семейные очаги кампилобактериоза были зарегистрированы у 3 пациентов (1,48 %), еще у 26 детей (12,81 %) отмечались симптомы ОКИ у родственников. Большинство пациентов связывали развитие кампилобактериоза с употреблением в пищу фермерских продуктов (RR=16,1±3,2; p<0,001), курицы-гриль (RR=8,9±1,6; p<0,001), яиц (RR=16,3±2,1; p<0,001) и куриного шашлыка (RR=18,3±2,2; p<0,001), что отражает наиболее вероятный источник инфекции (рисунок 16).

Несколько неожиданно у большинства пациентов не было выявлено повышения риска инфицирования *Campylobacter* spp. после употребления молока и молочных продуктов, что традиционно рассматривалось специалистами как один из наиболее вероятных факторов передачи инфекции [112]. Высокий риск развития кампилобактериоза отмечался при приготовлении пищи на костре и на мангалах (RR=15,9±1,6; p<0,001), а также в сети ресторанов быстрого питания (RR=7,9±2,1; p<0,001). Высокий риск развития кампилобактериоза имело место также у детей из неполных и многодетных семей (RR=9,9±2,1; p<0,001 и RR=6,4±1,3; p<0,001), а также при нахождении в путешествии (RR=12,3±2,2; p<0,001). Помимо качества продуктов питания, предлагаемых ребенку, при нахождении в путешествии, затрудняется надлежащее хранение и приготовление пищи, что, вероятно, и объясняет столь высокие риски развития инфекции.

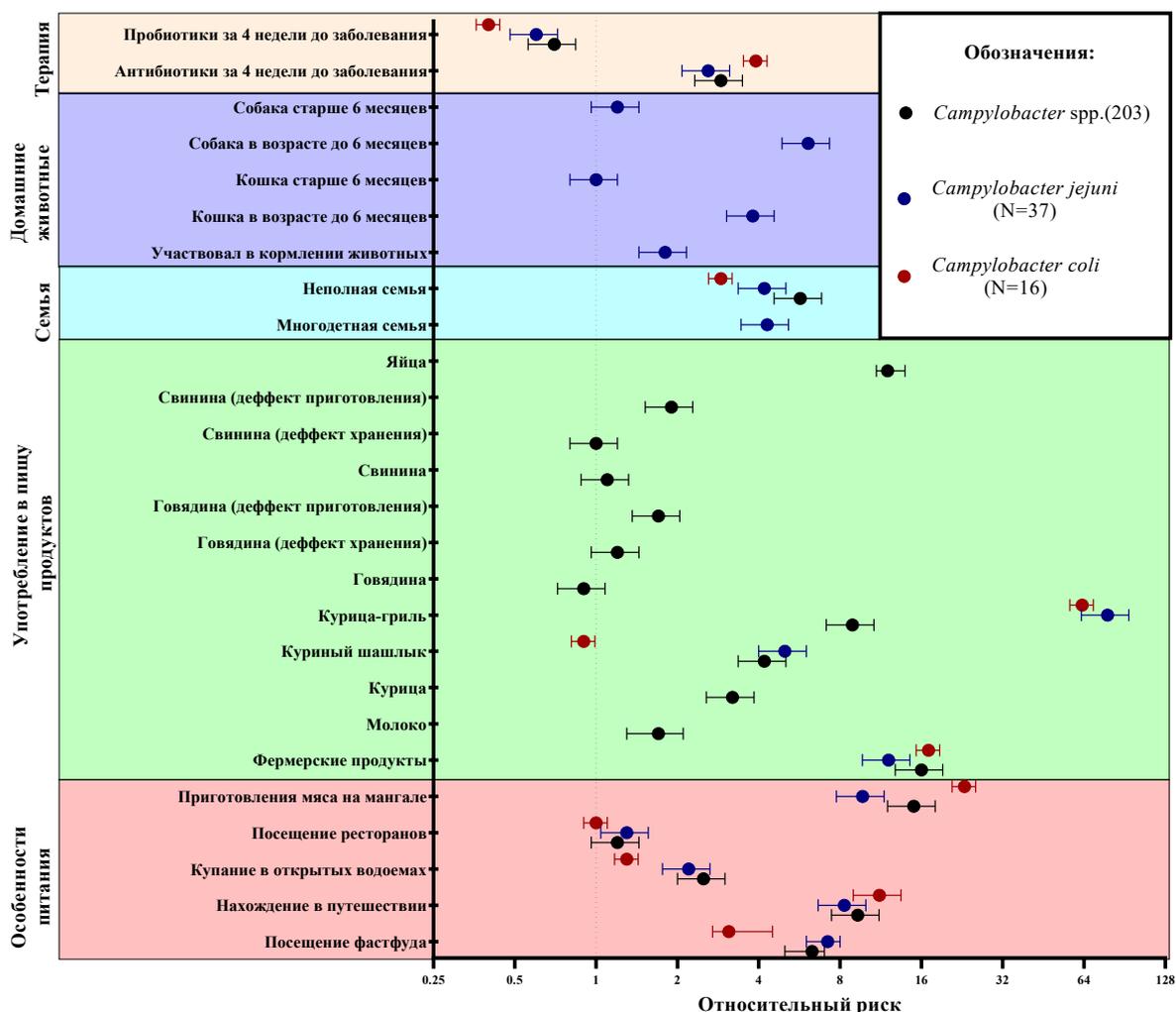


Рисунок 16 – Результаты многопараметрического логистического регрессионного анализа, показывающие относительные риски кампилобактериоза при наличии различных факторов (N=203)

У 53 пациентов удалось идентифицировать вид *Campylobacter* spp. При анализе возможных факторов передачи *C. coli* (N=16), был установлен высокий риск передачи данного микроорганизма при употреблении мяса свинины, приготовленного на мангале ($RR=23,2\pm 4,7$), в то время как для *C. jejuni* (N=37) максимально значимым оказалось употребление курицы-гриль ($RR=78,8\pm 12,3$). В ходе анализа было также установлено, что у детей старше 3 лет отсутствовали статистически значимые различия частоты выявления *C. coli* и *C. jejuni*.

Все дети поступали в стационар в сроки не позднее 7 дня болезни (таблица 27), большинство — в первые трое суток (84,23 %, $p<0,001$). Все дети,

госпитализированные позднее чем через 72 часа с момента начала заболевания (n=32; 15,76 %), предъявляли жалобы на многократный жидкий стул, повышение температуры до фебрильных или высоких цифр (73,81 %) и боли в животе (35,71 %).

Таблица 27 – Сроки поступления, тяжесть и применявшееся лечение у пациентов, поступающих для стационарного лечения в связи с кампилобактериозом (N=203)

Параметр	N	%
Время с момента появления симптомов заболевания до поступления в стационар		
< 24 часов	86	42,36%
24 – 72 часа	85	41,87%
> 72 часов	32	15,76%
Терапия, предшествующая госпитализации		
Антибактериальные препараты	88	43,35%
Нестероидные противовоспалительные средства	109	53,69%
Сорбенты	132	65,02%
Пробиотики	62	30,54%
Ферментные препараты	25	12,32%
Степень тяжести		
Легкая	12	5,91%
Средняя	156	76,85%
Тяжелая	35	17,24%

У 149 детей (73,40 %) отмечалось острое начало заболевания без продромального периода, с развитием в первые часы заболевания энтероколитического синдрома, характеризующегося жидким стулом с примесью слизи и болями в животе (таблица 28). У 54 пациентов (26,60 %) заболевание начиналось с появления слабости и головокружения. В течение последующих 10–12 часов отмечалось появления болей в животе, жидкого стула, тошноты и рвоты. В среднем пациенты поступали в стационар через $23,2 \pm 2,5$ часа с момента появления первых симптомов. В качестве стартовой терапии наиболее часто применяли антибактериальные препараты нитрофуранового ряда (n=49; 24,14 %) и сорбенты (65,02 %).

Средний показатель тяжести кампилобактериоза по шкале Кларка составил $12,6 \pm 1,6$ баллов. Тяжесть кампилобактериоза была оценена у 156 (76,85 %) детей как средняя, у 35 (17,24 %) детей — как тяжелая, у 12 (5,91 %) детей как легкая.

Ключевыми факторами, определявшими необходимость стационарного лечения, являлись прогрессирующая дегидратация, выраженный болевой синдром и появление крови в стуле. При пальпации живота при поступлении в стационар отмечалась болезненность в правой и левой подвздошных (n=184; 90,64 %) и в околопупочной областях (n=142; 69,95 %), урчание (n=107; 52,71 %) и умеренная гепатомегалия (n=103; 50,74 %).

Сухость слизистых оболочек при поступлении в стационар отмечалась у 185 (91,7 %) пациентов, уменьшение диуреза — у 82 (40,39 %) и снижение тургора кожи — у 18 (8,87 %) детей. Ведущей причиной дегидратации (n=38, 63 %) служили потери жидкости и электролитов с жидким или кашицеобразным стулом (таблица 28). У 14 (6,90 %) детей заболевание протекало без увеличения частоты дефекации и единичными эпизодами кашицеобразного стула.

Таблица 28 – Частота выявления различных симптомов кампилобактериоза при поступлении в стационар зависимости от степени тяжести (N=203)

Параметр	Степень тяжести						Всего (n=203)	p	Попарные сравнения
	Легкая (N=12)		Средняя (N=156)		Тяжелая (N=35)				
	абс.	%	абс.	%	абс.	%			
1	2	3	4	5	6	7	9	10	11
Повышение температуры	10	83,33%	150	96,15%	35	100,00%	195	p=0,049	p _{1,2} =0,045 p _{2,3} =0,015 p _{1,3} =0,055
37,0–37,9° С	6	50,00%	65	41,67%	8	22,86%	79	p=0,31	p _{1,2} =0,231 p _{2,3} =0,152 p _{1,3} =0,748
38,0–38,9° С	4	33,33%	80	51,28%	15	42,86%	99	p=0,22	p _{1,2} =0,045 p _{2,3} =0,014 p _{1,3} =0,045
39,0–39,9° С	0	0,00%	5	3,21%	9	25,71%	14	p<0,001	p _{1,2} =0,529 p _{2,3} <0,001 p _{1,3} =0,007
Более 40° С	0	0,00%	0	0,00%	3	8,57%	3	-	-
Тошнота	10	83,33%	136	87,18%	34	97,14%	180	p=0,805	p _{1,2} =0,704 p _{2,3} =1 p _{1,3} =0,735
Рвота	4	33,33%	106	67,95%	29	82,86%	139	p=0,036	p _{1,2} =0,015 p _{2,3} =0,438 p _{1,3} =0,009

Продолжение таблицы 28

1	2	3	4	5	6	7	9	10	11
Диарея	7	58,33%	148	94,87%	34	97,14%	189	p<0,001	p _{1,2} <0,001 p _{2,3} =0,084 p _{1,3} =0,027
Кровь в стуле	2	16,67%	82	52,56%	30	85,71%	114	p<0,001	p _{1,2} =0,016 p _{2,3} =0,006 p _{1,3} <0,001
Боли в животе	9	75,00%	155	99,36%	34	97,14%	198	p<0,001	p _{1,2} <0,001 p _{2,3} <0,001 p _{1,3} =0,310

Повышение температуры у 94,09 % (n=191) происходило уже в первые часы заболевания сопровождало весь период разгара заболевания. В 1 сутки болезни средний уровень повышения температуры составил $38,2 \pm 1,3$ °С. Лихорадка сопровождалась вялостью (n=157, 77,34 %) и головной болью (n=132; 65,02 %).

Кампилобактериоз тяжелой степени тяжести характеризовался лихорадкой более 39 °С продолжительностью в среднем $3,7 \pm 0,9$ суток (таблица 29), сопровождающейся выраженной дегидратацией до уровня эксикоза II степени. Обезвоживание обуславливалось многократной рвотой в течение $2,8 \pm 0,3$ суток и водянистой диареей в течение $4,5 \pm 0,8$ суток. Кампилобактериоз тяжелой степени статистически значимо чаще выявлялся у мальчиков младшей возрастной категории (от 1 до 3 лет) по сравнению с детьми старшего возраста и девочками (p=0,012 и p=0,02 соответственно).

Тяжесть состояния у 17 (48,57 %) пациентов была определялась развитием дегидратации на фоне выраженного энтероколитического синдрома, проявляющегося многократной жидким стулом с обильной примесью крови. У 18 детей с кампилобактериозом тяжелой степени тяжести (51,43 %) отмечалось превалирование интоксикационного синдрома (высокая лихорадка, головные боли, слабость, миалгии, головокружение) на фоне единичных эпизодов рвоты и с поздним (на 2–3 сутки болезни) развитием диарейного синдрома.

Таблица 29 – Характеристика длительности сохранения симптомов кампилобактериоза в зависимости от степени тяжести (N=203)

Параметр	Степень тяжести			Всего (n=203)	p	Попарные сравнения
	Легкая (N=12)	Средняя (N=156)	Тяжелая (N=35)			
Тошнота, дней	2,2±0,7	3,8±1,2	4,5±2,2	3,9±1,2	p=0,156	p _{1,2} =0,315 p _{2,3} =0,235 p _{1,3} =0,025
Лихорадка, дней	3,1±0,8	4,5±1,1	5,1±2,8	4,6±2,1	p=0,031	p _{1,2} =0,131 p _{2,3} =0,352 p _{1,3} =0,048
Диарея, дней	2,9±1,2	4,8±1,0	5,9±1,2	4,2±1,1	p=0,127	p _{1,2} =0,382 p _{2,3} =0,417 p _{1,3} =0,045
Сниженный аппетит, дней	3,1±0,9	4,8±1,2	5,1±0,8	4,9±1,3	P=0,033	p _{1,2} =0,529 p _{2,3} =0,011 p _{1,3} =0,007
Боли в животе, дней	2,9±1,1	5,8±1,0	6,9±1,2	5,9±1,4	p<0,001	p _{1,2} =0,023 p _{2,3} =0,271 p _{1,3} =0,007
Пребывание в стационаре, дней	4,1±1,8	5,8±2,2	7,1±2,8	5,5±2,2	P=0,013	p _{1,2} =0,704 p _{2,3} =0,113 p _{1,3} =0,015

При анализе частоты симптомов кампилобактериоза у детей различных возрастов (рисунок 17) были также выявлены характерные возрастные особенности. Так частота рвоты и болей в животе была максимальной в группе детей от 4–6 лет. Частота диарейного синдрома варьировала от 100 % среди детей первого года жизни до 56 % у старшей группы детей. Примесь крови в стуле наиболее часто регистрировалась в группе детей от 7 до 14 лет, однако выявить достоверные различия в частоте регистрации данного симптома не удалось.

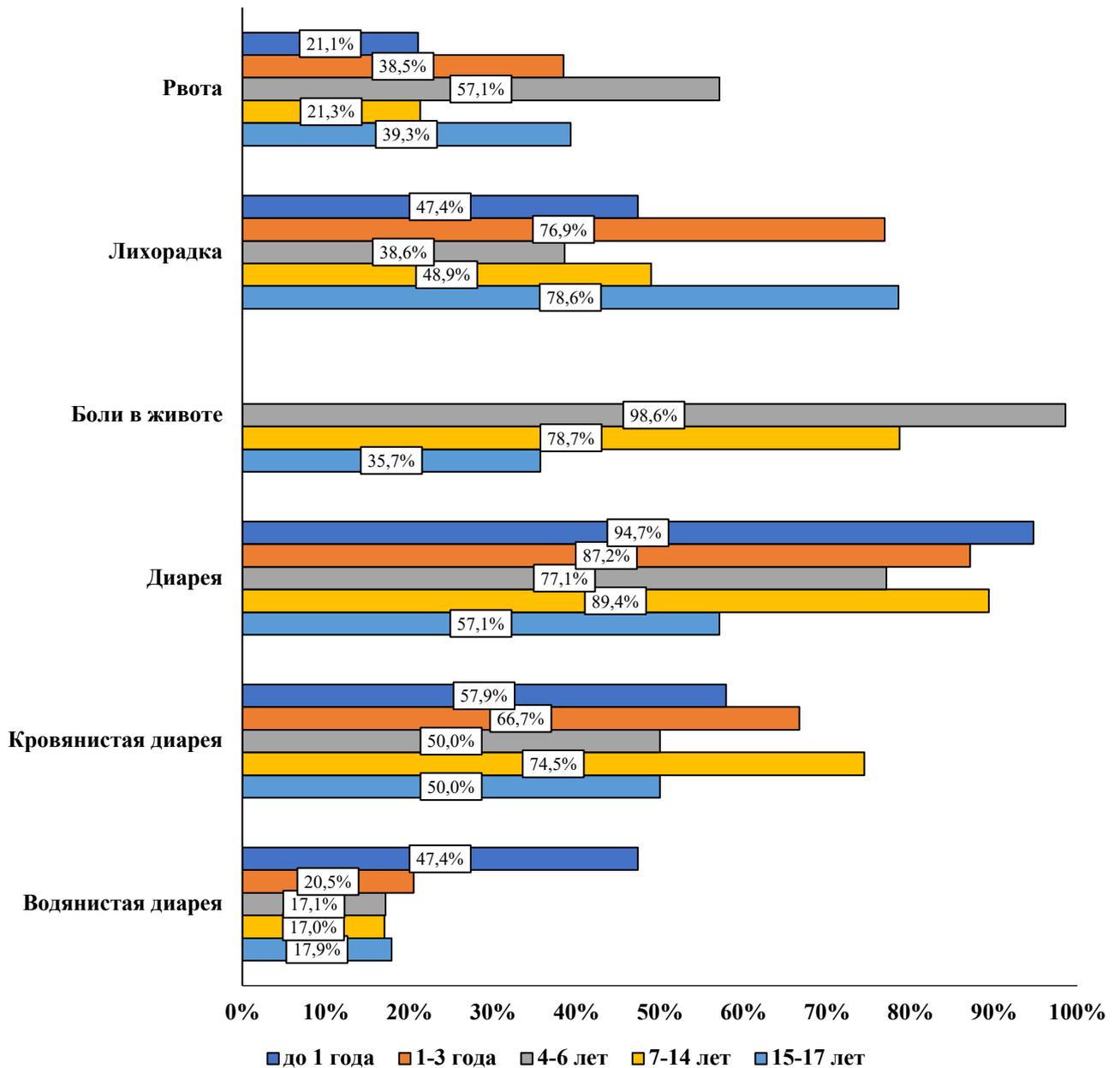


Рисунок 17 – Частота выявления симптомов кампилобактериоза у детей различных возрастов (N=203)

Примечание – Болевой синдром в младших группах детей не оценивался.

При анализе клинической картины кампилобактериоза доминировали 2 варианта течения заболевания (гастроэнтеритический и колитический), основанных на доминирующей симптоматике, ассоциированной с различиями в уровнях поражения ЖКТ. У 37 детей клиническая картина заболевания не позволяла отнести их ни к одному из вариантов кампилобактериоза. Пациенты

были отнесены к 2 другим «условным» вариантам, с преобладанием болевого синдрома или синдрома интоксикации (рисунок 18).

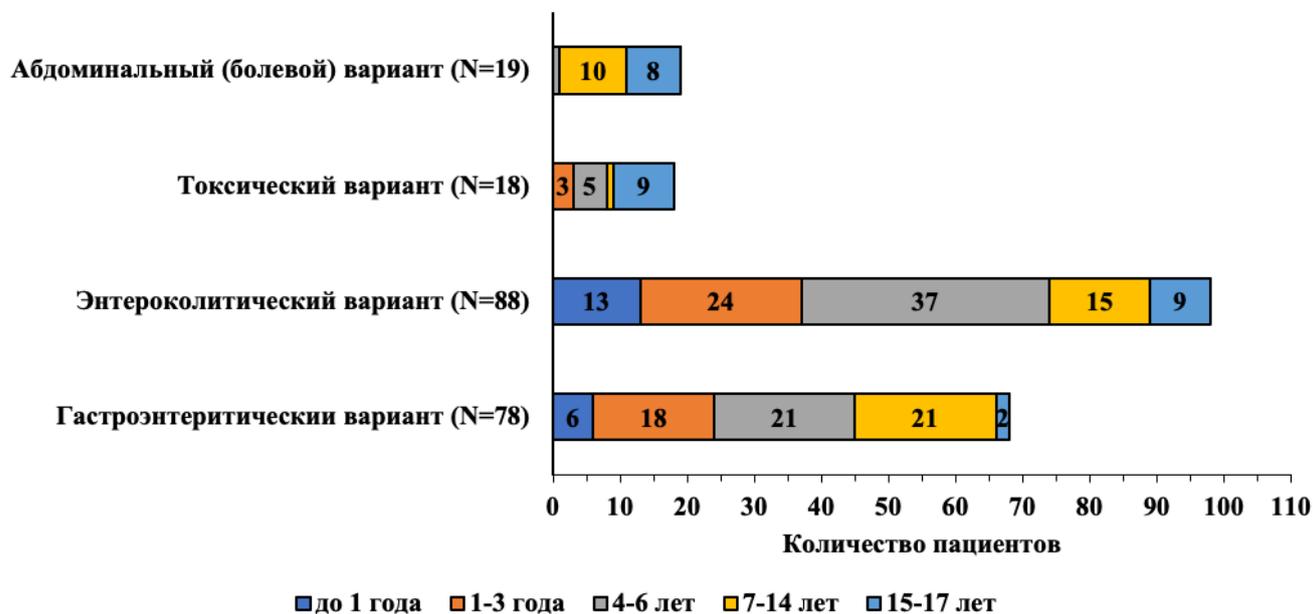


Рисунок 18 – Частота выявления различных клинических вариантов кампилобактериоза у детей различных возрастов (N=203)

Гастроэнтеритический вариант, выявленный у 78 пациентов (38,42 %) характеризовался преимущественным поражением верхних отделов ЖКТ (тошнота, рвота, отказ от еды), неинвазивным типом диареи, умеренными явлениями интоксикации и слабыми болями (средний показатель $2,9 \pm 0,9$ балла по шкале оценки боли) преимущественно в околопупочной области. Гастроэнтеритический вариант кампилобактериоза наиболее часто регистрировался в возрасте 4–6 лет.

Клиника энтероколитического варианта кампилобактериоза определялась вовлечением в процесс толстой кишки и появлением колитического синдрома. Данный вариант явился наиболее распространенным (n=88; 43,35 %) и регистрировался во всех возрастных группах детей. Клиническая картина кампилобактериоза при данной форме характеризовалась инвазивной диареей, с геморрагическими проявлениями в стуле (n=82; 93,18 %), болями в животе

умеренной силы (средний показатель $3,7 \pm 1,1$ балла по шкале оценки боли), длительной ($3,9 \pm 1,8$ дней) фебрильной или субфебрильной лихорадкой (рисунок 19).

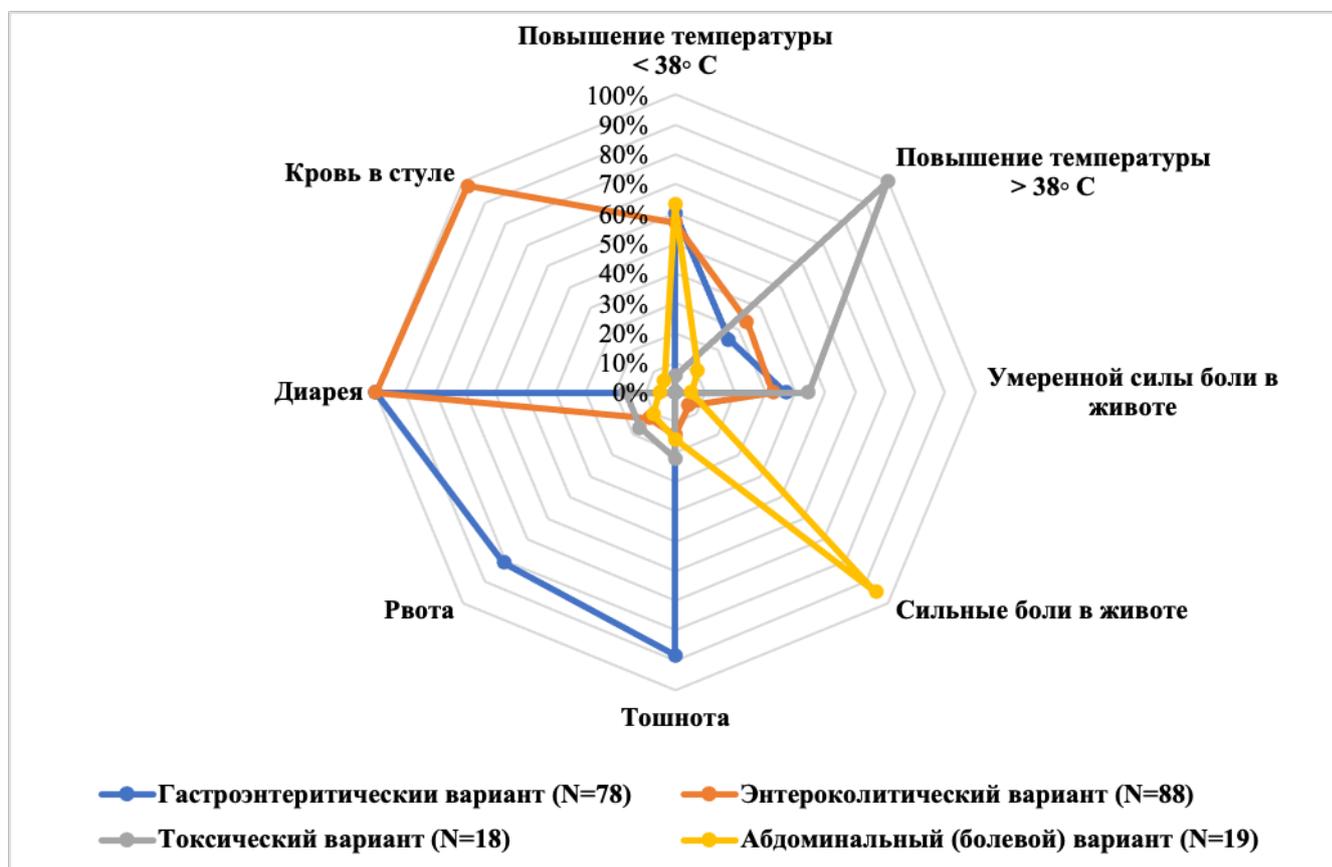


Рисунок 19 – Частота выявления симптомов заболевания кампилобактериоза в зависимости от клинического варианта (N=203)

Примечание – При оценке силы болей применялась 10–балльная визуальная шкала; интенсивность болей: >5 интерпретировались как «сильные», <5 — как «умеренной силы».

Пациенты с токсическим вариантом кампилобактериоза (n=18; 8,87 %) были представлены во всех возрастных группах. Особенностью данной группы было превалирование в клинической картине явлений интоксикации (лихорадка, слабость, вялость, адинамия) над признаками поражения ЖКТ (рвота, боли в животе, диарея). Заболевание дебютировало с подъема температуры, сопровождающегося тошнотой (n=6; 33,33 %) и кашицеобразным стулом (n=7;

38,89 %). Постановка диагноза у данной группы пациентов представляла значительные трудности. Как правило диагноз острой кишечной инфекции мог быть установлен только при тщательном сборе анамнеза (выявление случаев ОКИ у близких родственников, погрешностей в питании).

Абдоминальный вариант кампилобактериоза (n=19; 9,35 %) наблюдался преимущественно у детей старше 7 лет (n=18; 94,74 %). Заболевание характеризовалось выраженными абдоминальными болями (средний показатель $7,7 \pm 2,1$ балла по шкале оценки боли), умеренными явлениями интоксикации, поздней манифестацией или отсутствием диарейного синдрома. Пациенты часто поступали первично в хирургические отделения многопрофильных стационаров с подозрением на клиническую картину «острого живота» (предварительные диагнозы: острый аппендицит, динамическая кишечная непроходимость, острый аднексит). В дальнейшем после исключения хирургической патологии пациенты переводились в инфекционный стационар, где подтверждался диагноз кампилобактериоза. Варианты заболевания мезаденит и аппендицит [11] в исследуемой группе выявлены не были.

Клинические примеры «абдоминального» и «токсического» варианта кампилобактериоза описаны в публикациях клинических случаев рядом европейских и азиатских авторов [93, 185], однако ранее в классификации как отдельные варианты они не выделялись. Диагностика данных условно выделяемых вариантов заболевания затруднена и требует постоянной настороженности на предмет кампилобактериоза у специалистов не только инфекционного профиля, но и педиатров, гастроэнтерологов и хирургов.

Анализ преморбидного фона у детей с тяжелым течением кампилобактериоза (таблица 30) позволил установить, что у них статистически достоверно чаще имел место прием антибактериальных препаратов в предшествующий заболеванию период ($P < 0,001$), наличие у родственников первой линии родства гастроэнтерологической патологии ($p = 0,016$). Чаще кампилобактериоз тяжелой степени тяжести имел место у детей с аллергической патологией и многократными респираторными инфекциями в анамнезе.

Таблица 30 – Особенности преморбидного фона у детей с кампилобактериозом различной степени тяжести (N=203)

Данные анамнеза	Степень тяжести				Всего (N=203)		p
	Средняя и легкая (n=168)		Тяжелая (n=35)				
	N	%	N	%	N	%	
Прием антибактериальных препаратов в предшествующий 1 месяц	28	16,67%	15	42,86%	43	21,18%	P<0,001
Отягощенный перинатальный анамнез	12	7,14%	2	5,71%	14	6,90%	p=0,76
Перевод на искусственное вскармливание	7	4,17%	3	8,57%	10	4,93%	p=0,27
Аллергическая патология	39	23,21%	19	54,29%	58	28,57%	p=0,017
Частые респираторные инфекции	17	10,12%	10	28,57%	27	13,30%	p=0,03
Заболевания органов пищеварения у родителей	35	20,83%	14	40,00%	49	24,14%	p=0,016

Прием антибактериальных препаратов в предшествующий кампилобактериозу месяц повышал риск тяжелого течения кампилобактериоза в 2,57 раза ($RR=2,57\pm 1,11$), наличие аллергопатологии — в 2,34 раза ($RR=2,34\pm 1,09$).

У 200 (98,52 %) пациентов с кампилобактериозом, проходивших стационарное лечение, выявлены осложнения (таблица 31). Вопрос применения антибактериальных препаратов на этапе стартовой эмпирической терапии требует особого внимания в связи с высокой частотой резистентностью кампилобактерии к нитрофуранам и цефалоспорином, наиболее часто используемым для этой цели. Применение антибактериальных препаратов данных групп повышало вероятность тяжелых форм заболевания ($OR=2,98\pm 0,87$ и $OR=3,58\pm 1,39$, соответственно).

Таблица 31 – Характеристика осложнений острого периода кампилобактериоза у детей (N=203)

Признак	Гастроэнтерит. вариант (N=78)		Энтероколит. вариант (N=88)		Токсический вариант (N=18)		Абдоминальный (болевого) вариант (N=19)		Всего (N=203)	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Судорожный синдром	3	4,41%	5	5,10%	2	11,11%	0	0,00%	10	4,93%
Экзикоз I ст.	58	85,29%	38	38,78%	15	83,33%	11	57,89%	122	60,10%
Экзикоз II ст.	10	14,71%	60	61,22%	3	16,67%	5	26,32%	78	38,42%

Продолжение таблицы 31

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Острое повреждение почки	1	1,47%	8	8,16%	0	0,00%	0	0,00%	9	4,43%
Реактивный панкреатит	1	1,47%	2	2,04%	3	16,67%	1	5,26%	7	3,45%
Реактивный гепатит	1	1,47%	1	1,02%	4	22,22%	3	15,79%	9	4,43%
Кандидоз слизистых	0	0,00%	1	1,02%	1	5,56%	0	0,00%	2	0,99%
Аллергодерматит	7	10,29%	16	16,33%	5	27,78%	2	10,53%	30	14,78%
Негладкое	5	7,35%	17	17,35%	5	27,78%	7	36,84%	34	16,75%

Частота развития эксикоза составила 98,52 %. У 38,42 % выраженность дегидратации достигала II степени, у 60,10 % отмечался эксикоз I степени. Статистически достоверно чаще выраженные водно-электролитные нарушения проявлялись у детей до 3-х лет по сравнению с детьми других возрастов ($p < 0,001$). Острое повреждение почки имело место у 9 пациентов (4,43 %). Оно проявлялось в виде олигурии, повышением уровня мочевины и креатинина в сыворотке крови более чем в 1,5 раза выше нормы. На фоне проводимой терапии наблюдалась быстрая положительная динамика в виде нормализации диуреза и коррекции биохимических показателей на фоне терапии к 5–7 дню заболевания.

Выраженные боли в животе, потребовавшие исключения хирургической патологии, статистически чаще встречались в группе детей в возрасте старше 7 лет ($p < 0,001$).

С частотой 3,45 % и 4,43 % выявлялись реактивные изменения поджелудочной железы и печени, имевшие место во всех возрастных группах пациентов. Реактивный панкреатит протекал бессимптомно с изолированным повышением амилазы крови в 2–2,5 раза выше референсных показателей. Реактивный гепатит также выявлялся исключительно повышением уровня трансаминаз максимально до 10 норм. Средний уровень АЛТ у пациентов с реактивными гепатитами составил $254,97 \pm 53,41$ ед/л, АСТ — $189,75 \pm 37,32$ ед/л. Длительность сохранения гипертрансаминаземии составляла 2–3 недели, с нормализацией на 14 день болезни имела место у 77,8 % пациентов.

Особенностью детей младшего возраста явилась более высокая частота развития судорожного синдрома ($n=7$; 70,0 %). Судороги отмечались на высоте лихорадки, были непродолжительны (менее минуты), носили однократный характер и купировались самостоятельно. У 35 детей (17,24 %) отмечалось появление аллергодерматита. Критериям негладкого течения кампилобактериоза соответствовали 34 пациента (16,74 %). Повторное бактериовыделение наблюдалось у 17 (29,82 %) из 57 детей, у которых был выделен микроорганизм при поступлении, вне зависимости от вида возбудителя и возраста пациента.

Таким образом, клиническими проявлениями наиболее характерными для кампилобактериоза в детском возрасте являются диарея, фебрильная лихорадка протекающие с выраженным болевым синдромом. Наиболее распространенным вариантом течения кампилобактериоза является энтероколитический, выявляющийся у 43,35 % детей. Наиболее тяжелое течение кампилобактериоза наблюдается у детей в возрасте 1–3 лет. К тяжелому течению заболевания предрасполагает прием антибактериальных препаратов в предшествующий заболеванию период, наличие фоновой аллергической патологии и частых респираторных инфекций в анамнезе.

4.2 Изменения лабораторных показателей

Лабораторное обследование пациентов при кампилобактериозе способствует объективизации оценки тяжести инфекционного процесса. Однако, изменения гемограммы и копроцитограммы не имеют патогномоничного характера, не способствуя последующей коррекции обследования для идентификации возбудителя.

Изменения в гемограмме у большинства пациентов с кампилобактериозом ($n=156$; 76,85 %) характеризовалось нейтрофильным лейкоцитозом в диапазоне $15-35 \times 10^9$ клеток/л (рисунок 20) и ускорением СОЭ в диапазоне 20–40 мм/ч. Наиболее выраженным было повышение уровня лейкоцитов в возрастной группе детей 4–6 лет, где средний уровень лейкоцитов составил $17,8 \times 10^9$ клеток/л. Отмечалась

сильная положительная корреляция между тяжестью кампилобактериоза по шкале Кларка и общим уровнем лейкоцитов ($r=0,56$; $p=0,047$). Пациенты до года, как и старшие школьники имели широкое разнообразие показателей гемограммы, что, вероятно, может объясняться большим разнообразием иммунного реагирования организма ребенка и вариабельностью инфицирующей дозы возбудителя.

При сопоставлении уровня лейкоцитов при различных вариантах кампилобактериоза статистически значимых отличий выявлено не было.

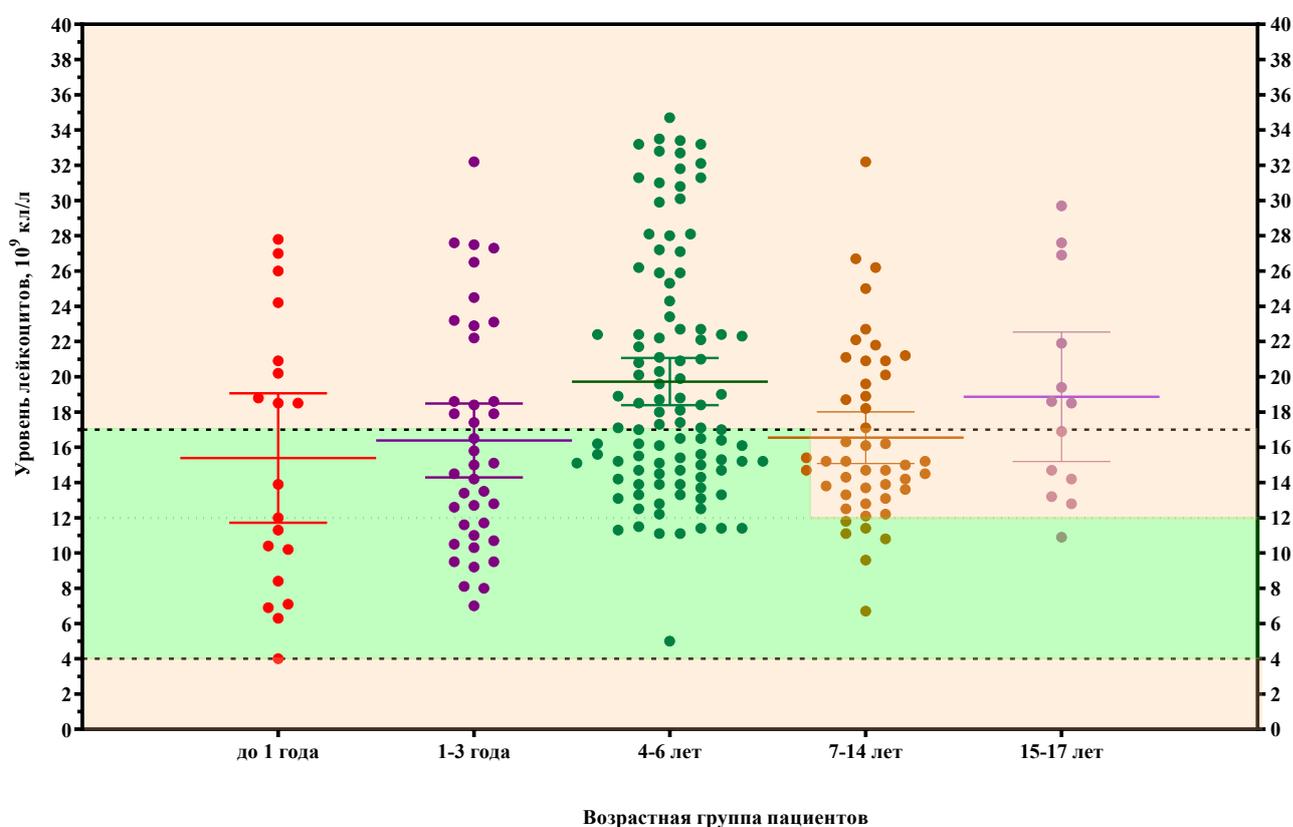


Рисунок 20 – Изменения уровня лейкоцитов в гемограмме на 1 сутки кампилобактериоза у детей различных возрастных групп (N=203)

Примечание – Зеленым цветом указана зона референсных значений уровня лейкоцитов для различных возрастных групп пациентов, розовым цветом указывались зоны отклонения от референсных значений.

Наиболее типичными изменениями в гемограмме было сочетание нейтрофильного лейкоцитоза, тромбоцитоза и повышения СОЭ (таблица 32). Стоит

также отметить, что у пациентов с тяжелыми формами кампилобактериоза, в отличие от среднетяжелых и легких, отмечалось статистически значимо более частое выявление анемии ($p<0,001$), тромбоцитоза ($p<0,001$), повышения гематокрита ($p<0,001$) и лейкопении ($p=0,021$). Вероятно, данные гематологические параметры могут свидетельствовать о недостаточности иммунного реагирования и расцениваться как предиктор высокого риска осложненного течения заболевания.

Таблица 32 – Показатели клинического анализа крови у детей с кампилобактериозом различной степени тяжести в динамике наблюдения (N=203)

Параметр	Период исследования													
	1 сутки						7 сутки							
	Средняя и легкая (n=168)		Тяжелая (n=35)		P	Всего (N=203)		Средняя и легкая (n=168)		Тяжелая (n=35)		P	Всего (N=203)	
	N	%	N	%		N	%	N	%	N	%		N	%
Лейкоцитоз	135	80,36%	33	94,29%	$p=0,284$	168	82,76%	6	3,57%	2	5,71%	$p=0,063$	8	3,94%
Лейкопения	7	4,17%	1	2,86%	$p=0,021$	8	3,94%	0	0,00%	4	11,43%	–	4	1,97%
Нейтрофилез	112	66,67%	29	82,86%	$p=0,341$	141	69,46%	4	2,38%	6	17,14%	$p=0,413$	10	4,93%
Тромбоцитоз	107	63,69%	34	97,14%	$p<0,001$	141	69,46%	9	5,36%	7	20,00%	$p<0,001$	16	7,88%
Анемия	12	7,14%	9	25,71%	$p<0,001$	21	10,34%	6	3,57%	7	20,00%	$p=0,193$	13	6,40%
Повышение уровня гематокрита	46	27,38%	19	54,29%	$p<0,001$	65	32,02%	4	2,38%	2	5,71%	$p=0,291$	6	2,96%
Повышение СОЭ >30 мм/ч	137	81,55%	34	97,14%	0,0436	171	84,24%	4	2,38%	3	8,57%	$p=0,067$	7	3,45%

У 171 (84,24 %) пациентов отмечалось повышение СОЭ более 30 мм/ч. У 65 (32,02 %) — повышение гематокрита более 45 %. Повышение данного показателя, косвенно отражающего выраженность эксикоза, статистически достоверно чаще отмечалось у пациентов с кампилобактериозом тяжелой степени тяжести, по сравнению с легкими и средними ($p<0,001$). При повторных исследованиях на 7 сутки лишь у 16 (7,88 %) пациентов имели место незначительные отклонения параметров гемограмм от нормальных значений.

Наиболее частыми отклонениями в биохимических показателях при поступлении были гипогликемия (средний уровень — $3,4\pm 0,6$ ммоль/л),

повышение уровня креатинина (средний уровень — $41,2 \pm 3,5$ мкмоль/л) и мочевины (средний уровень — $6,2 \pm 0,7$ ммоль/л) (таблица 33).

Таблица 33 – Частота выявления отклонений биохимического анализа крови у детей с кампилобактериозом различной степени тяжести в динамике наблюдения (N=203)

Параметр	Период исследования													
	1 сутки							7 сутки						
	Средняя и легкая (n=168)		Тяжелая (n=35)		P	Всего (N=203)		Средняя и легкая (n=168)		Тяжелая (n=35)		P	Всего (N=203)	
	N	%	N	%		N	%	N	%	N	%		N	%
Повышение уровня мочевины	29	17,26%	8	22,86%	0,28	37	18,23%	6	3,57%	2	5,71%	0,06	8	3,94%
Повышение уровня креатинина	37	22,02%	13	37,14%	0,021	50	24,63%	0	0,00%	0	0,00%	–	0	0,00%
Снижения уровня глюкозы	69	41,07%	22	62,86%	0,34	91	44,83%	4	2,38%	0	0,00%	0,41	4	1,97%
Повышение С-реактивного белка	109	64,88%	34	97,14%	0,0014	143	70,44%	9	5,36%	7	20,00%	0,003	16	7,88%
Повышение уровня АЛТ	10	5,95%	8	22,86%	0,0013	18	8,87%	6	3,57%	3	8,57%	0,19	9	4,43%
Повышение уровня АСТ	7	4,17%	7	20,00%	0,0078	14	6,90%	4	2,38%	2	5,71%	0,29	6	2,96%
Повышение уровня амилазы	7	4,17%	6	17,14%	0,043	13	6,40%	4	2,38%	3	8,57%	0,067	7	3,45%

Показатели острофазных белков по современным представлениям играют одну из определяющих ролей в оценке тяжести инфекционного процесса и тканевого воспаления при бактериальных кишечных инфекциях [142].

Уровень С-реактивного белка (СРБ) был повышен у 70,44 % пациентов. У четверти пациентов (n=60) на момент поступления данный показатель оставался в пределах референсных значений. Наиболее часто пациенты без повышения уровня СРБ относились к гастроэнтеритической и абдоминальной форме кампилобактериоза (28 и 13 пациентов соответственно). Наиболее высокий средний показатель уровня СРБ отмечался в группе детей от 7 до 14 лет ($79,6 \pm 23,7$ мг/л). Возрастные особенности распределения значений уровня СРБ у детей с

кампилобактериозом представлены на рисунке 21. Отмечалась сильная положительная корреляция между тяжестью кампилобактериоза по шкале Кларка и уровнем СРБ ($r=0,63$; $p=0,016$). Однако, несмотря на выявление подобной закономерности, необходимо отметить группу пациентов с умеренным повышением СРБ (10–50 мг/л), составивших значительную часть ($n=48$; 23,6 %) пациентов исследуемых групп. При значениях СРБ у пациента в пределах данного диапазона перед клиницистом стоит необходимость проведения дифференциальной диагностики и бактериальных ОКИ, и вирусных. Это послужило причиной сдержанного отношения к СРБ как к ключевому диагностическому маркеру природы заболевания в большинстве согласительных документов международных медицинских сообществ [324]. В динамике наблюдения нормализация СРБ отмечалась к 7 суткам у 95,11 % детей.

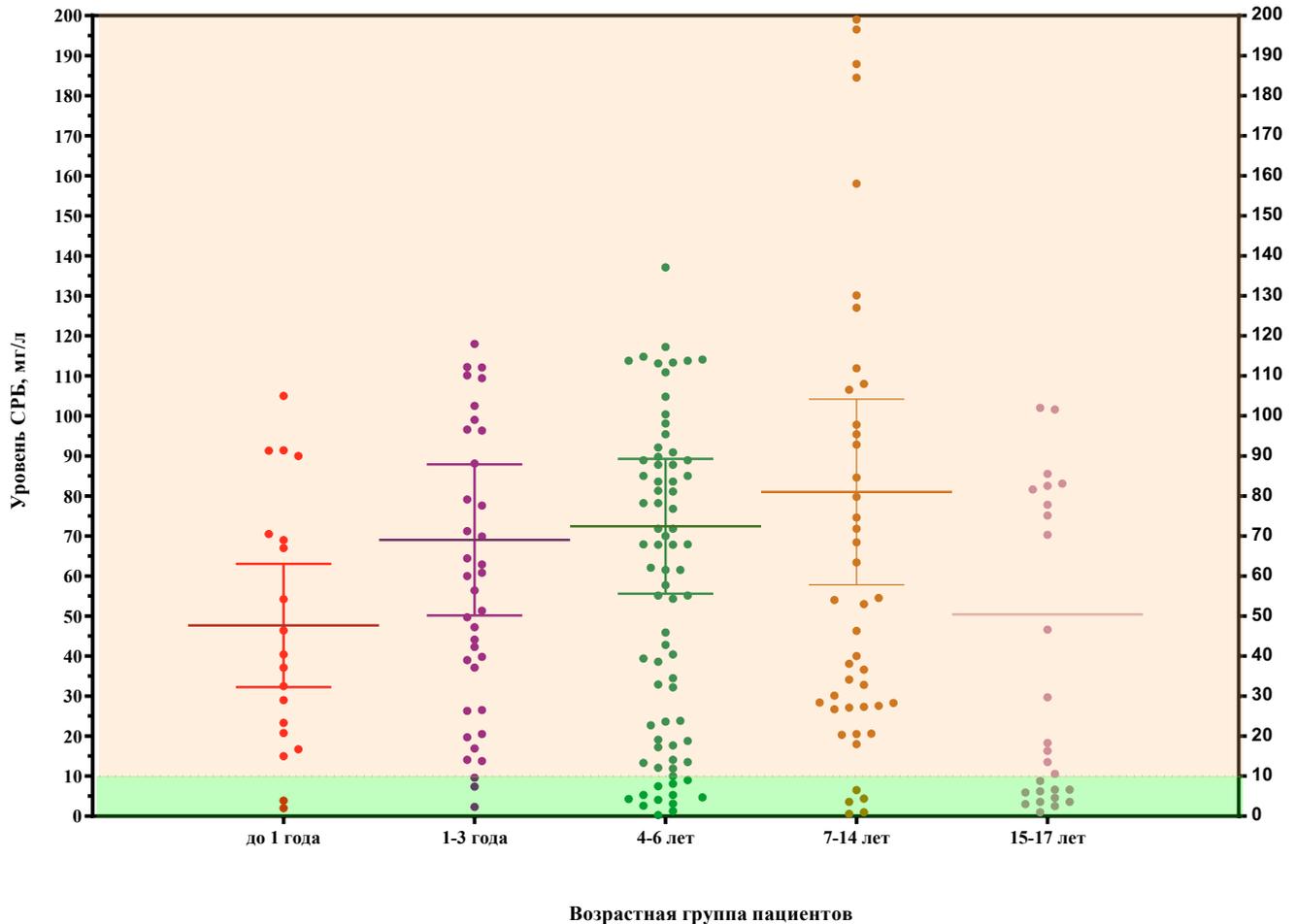


Рисунок 21 – Изменения уровня СРБ на 1 сутки кампилобактериоза у детей различных возрастных групп (N=203)

Примечание – Зеленым цветом указана зона референсных значений уровня лейкоцитов для различных возрастных групп пациентов, розовым цветом указывались зоны отклонения от референсных значений.

Для повышения эффективности комплексной оценки состояния детей с кампилобактериозом высокую значимость показал копрологический анализ проб фекалий. Типичным для рассматриваемого заболевания было выявление дистального колита (49,26 %) и гемоколита (33 %) на фоне выраженных нарушений переваривания (таблица 34).

Копрологические изменения при кампилобактериозе имели отличия при различных вариантах заболевания. Колитический вариант сопровождался появлением в копрограмме воспалительных изменений: появление слизи,

лейкоцитов «сплошь в поле зрения» и эритроцитов. При гастроэнтеритическом варианте возможным было появление единичных лейкоцитов или слизи в кале. Однако количество слизи ни в одном исследовании не превышало 1–2 баллов. При данном варианте отмечались наиболее выраженные нарушения переваривания пищи, проявляющиеся статистически значимым более частым появлением детрита ($p=0,04$), внеклеточного крахмала ($p=0,003$) и неперевариваемой клетчатки ($p<0,001$). Воспалительные изменения в кале отмечались также и при токсическом и абдоминальных вариантах кампилобактериоза, однако носили значительно менее выраженный характер. При данных вариантах отмечалось превалирование изменений, характерных для синдрома мальабсорбции в тонкой кишке. Это может свидетельствовать как о нарушении работы ферментативных систем, так и об усилении перистальтики с быстрым прохождением пищи через желудок и двенадцатиперстную кишку.

Таблица 34 – Изменения копроцитограммы в острый период кампилобактериоза

Признак	Гастроэнтер. вариант (N=78)		Энтероколитич. вариант (N=88)		Токсический вариант (N=18)		Абдоминальный (болевого) вариант (N=19)		Всего (N=203)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Детрит (2 +)	56	82,35%	47	47,96%	5	27,78%	6	31,58%	114	56,16%
Клетчатка перевариваемая (2 +)	54	79,41%	53	54,08%	9	50,00%	13,00	68,42%	129	63,55%
Клетчатка неперевариваемая (2 +)	49	72,06%	56	57,14%	4	22,22%	5,00	26,32%	114	56,16%
Крахмал внеклеточный (2 +)	34	50,00%	17	17,35%	5	27,78%	7	36,84%	63	31,03%
Крахмал внутриклеточный (2 +)	17	25,00%	15	15,31%	7	38,89%	5	26,32%	44	21,67%
Слизь	13	19,12%	89	90,82%	6	33,33%	9	47,37%	117	57,64%
Лейкоциты (>10 в п/з)	0	0,00%	98	100,00%	1	5,56%	1	5,26%	100	49,26%
Эритроциты	0	0,00%	67	68,37%	0	0,00%	0	0,00%	67	33,00%

Анализ копроцитограмм не всегда позволяет провести комплексную оценку

воспалительных изменений в желудочно-кишечном тракте. Для этой цели было дополнительно проведено исследование уровня фекального кальпротектина. Данный белок вырабатывается в лейкоцитах, и его концентрация в кале прямо пропорциональна числу лейкоцитов, попавших в кишку. Учитывая достаточную доказательную базу, тест на фекальный кальпротектин с 2010 года включен в перечень биохимических маркеров, которые могут использоваться для выявления воспаления в стенке кишечника [311].

Анализ уровня фекального кальпротектина у пациентов исследуемой группы позволил выявить статистически значимые различия между различными вариантами кампилобактериоза (рисунок 22): уровень кальпротектина был повышен у 23 детей (63,95 %) с гастроэнтеритическим вариантом, у всех 85 больных с энтероколитическим вариантом, у 6 детей (33,3 %) с токсическим вариантом и у 12 детей (66,7 %) с абдоминальным. При этом средний уровень кальпротектина при гастроэнтеритическом варианте заболевания составил $147,70 \pm 30,07$ мкг/г, при энтероколитическом — $253,20 \pm 93,69$ мкг/г.

Анализ уровня фекального кальпротектина при различной тяжести кампилобактериоза продемонстрировал, что при среднетяжелых формах заболевания его среднее содержание составило $120,59 \pm 47,21$ мкг/г, а при тяжелых — $242,80 \pm 105,99$ мкг/г ($p=0,19$).

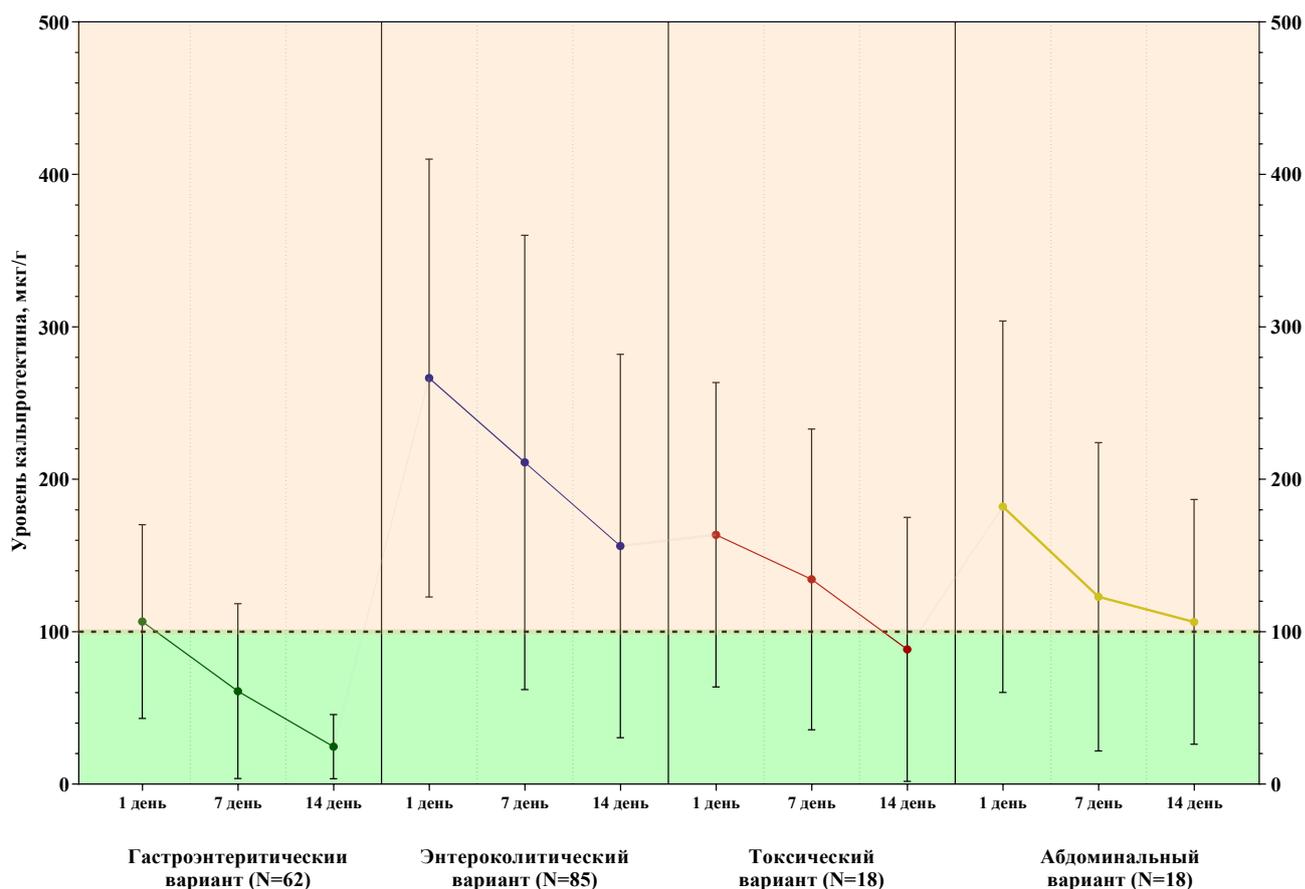


Рисунок 22 – Изменения уровня фекального кальпротектина у детей в возрасте с 1 года и до 18 лет (N=183) с различными вариантами кампилобактериоза

Примечание – Пациенты в возрастной группе до 1 года (n=19) оценивались отдельно из-за значительных отличий референсных интервалов.

Во всех группах отмечалась тенденция к отчетливому снижению среднего уровня фекального кальпротектина к 7 дню. На 14 день отмечалась нормализация уровня фекального кальпротектина у всех детей с гастроэнтеритическим вариантом кампилобактериоза и 95 (78,51 %) детей с другими вариантами кампилобактериоза. Повышение данного показателя было выявлено только у 26 детей (13,4 %), 24 из которых имели энтероколитический вариант кампилобактериоза. Это может свидетельствовать о значимости остаточных воспалительных изменений на поздних стадиях кампилобактериоза, трудно диагностируемых менее чувствительными методами.

Был также изучен уровень кальпротектина у детей в зависимости от возраста.

Наиболее выраженным было повышение данного показателя у детей в возрастной группе 1 – 3 лет по сравнению со всеми другими возрастными группами ($p < 0,001$).

Для двух вариантов кампилобактериоза: энтероколитического и абдоминального — была выявлена сильная корреляционная связь между уровнем фекального кальпротектина и общей тяжестью заболевания по шкале Кларка ($r=0,66$; $p=0,012$ и ($r=0,59$; $p=0,043$). По всей видимости, при данных вариантах кампилобактериоза именно воспалительный процесс в слизистой оболочке толстой кишки является определяющим в клинической картине, определяя максимально высокую информативность оценки фекального кальпротектина.

Другим важным показателем, анализируемым у пациентов с кампилобактериозом, был уровень зонулина (рисунок 23). Данный белок относится к числу ключевых эндогенных модуляторов межклеточной кишечной проницаемости [43]. Зонулин играет ключевую роль в формировании плотных контактов между энтероцитами, определяя интенсивность межклеточного транспорта. Дезорганизация структуры белковых комплексов плотных контактов, приводит к повышению проницаемости кишечного эпителиального барьера, что, в свою очередь, облегчает поступление в кровотоки патогенных микроорганизмов и их метаболитов, стимулирующих развитие воспалительных и аллергических реакций. Протективная функция зонулина при ОКИ заключается в способности контролировать активность межклеточного транспорта, и затруднять колонизации кишки микроорганизмами.

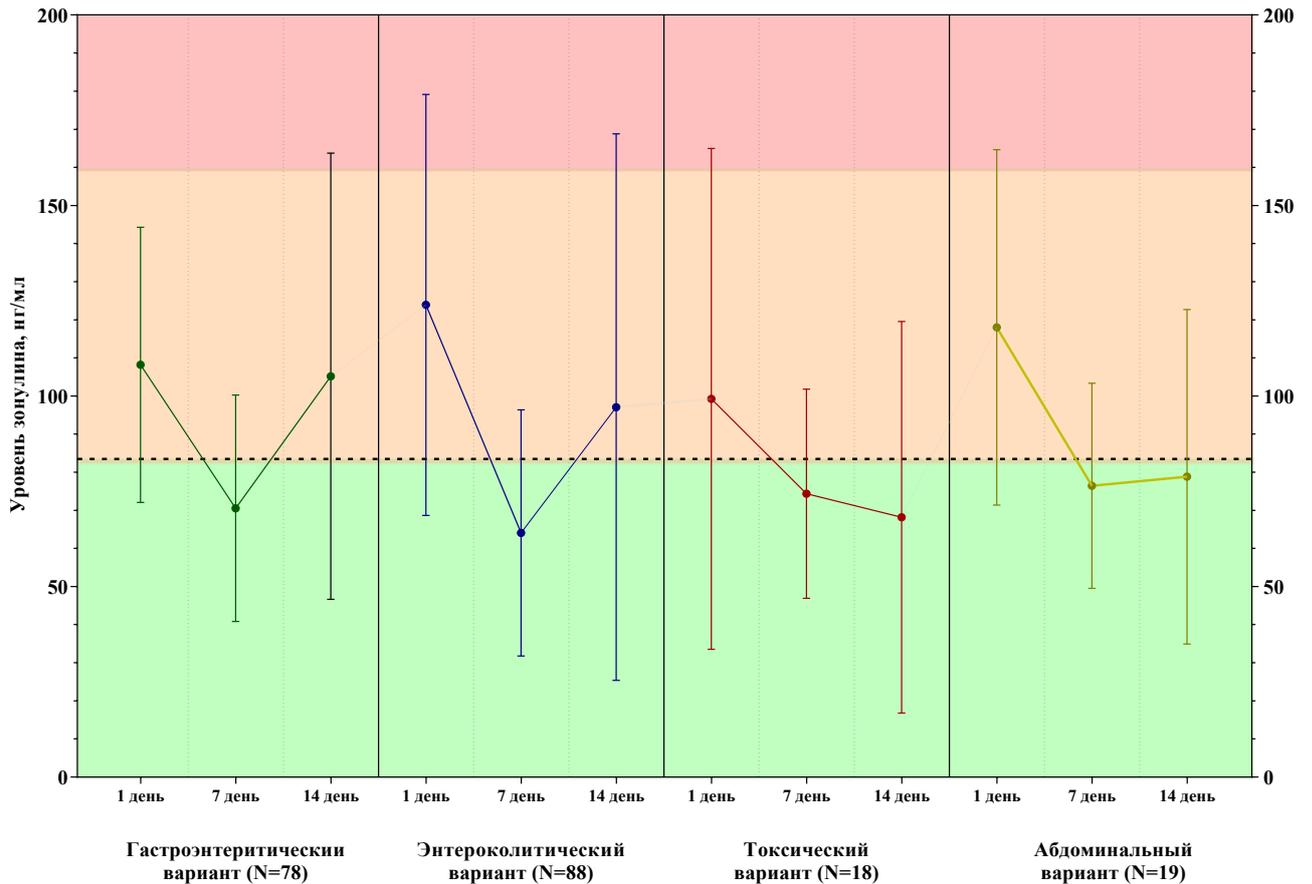


Рисунок 23 – Изменения уровня зонулина у детей в возрасте с 1 года и до 18 лет с различными формами кампилобактериоза (N=203)

Уровни фекального зонулина были высокими во все дни его определения, причем наибольшими — на 14-й день. Концентрация зонулина в кале пропорциональна увеличению проницаемости кишечника, что может наблюдаться на фоне воспалительного процесса различного генеза. Исследования последних лет свидетельствуют о том, что подобные изменения могут предшествовать развитию ВЗК и ФРОП [16].

Сохранение повышения уровня зонулина на поздних сроках кампилобактериоза не может быть объяснено только остаточными проявлениями инфекционного процесса. Выработка зонулина происходит в течение нескольких часов с момента воздействия триггерного фактора. В то время тяжесть инфекционного процесса на данном этапе значительно снижается. Одним из возможных механизмов, служащих объяснением данного феномена, ранее в

научных исследованиях не описанного, является значительное нарушение состава кишечной микробиоты, следующее за кампилобактериозом и приводящее к значительному изменению метаболической активности в просвет кишки. Другое возможное объяснение было предложено группой исследователей во главе с Р. Melnik, предположивших возможность длительной интраэпителиальной персистенции кампилобактерий после разрешения симптомов инфекционного процесса [263]. Поводом для подобного предположения послужило выявление ДНК кампилобактерий в биоптатах слизистой толстой кишки у пациентов с болезнью Крона и язвенным колитом. К сожалению, обе гипотезы нуждаются в дальнейшем подтверждении и требуют дальнейшего пристального изучения.

4.3 Микробиоценоз кишечника

Микробиоценоз кишечника оценивался 3 методами: культуральным (1 день), ПЦР в режиме реального времени (1,7, 21 дни) и 16S рРНК-секвенирования (1, 21 дни).

Исследование культуральным методом

Культуральный метод использовался для первоначальной оценки изменений состава микробиоценоза кишечника и также был необходим для выделения аутопробиотических штаммов энтерококков. При бактериологическом исследовании у 43 пациентов (21,18 %) были выявлены условно-патогенные микроорганизмы в концентрации не менее 10^6 КОЕ/мл. Наиболее часто выявлялись лактознегативные *E.coli* (n=14; 6,90 %), *Klebsiella* spp. (n=12; 5,91 %) и *Proteus* spp. (n=10; 4,93 %).

Выявление избыточного роста условно-патогенных бактерий, в периоде реконвалесценции, достоверно чаще наблюдалось при формировании затяжного бактериовыделения кампилобактерий (n=12, 70,58 %; и $p < 0,001$) и негладкого течения кампилобактериоза (n=19, 55,88 %; $p = 0,017$). Изменение состава симбиотических микроорганизмов у данных групп пациентов по сравнению с

пациентами с благоприятным клиническим течением кампилобактериоза характеризовалось сниженным уровнем микроорганизмов родов *Lactobacillus* spp. (9,2 [8,8; 9,6] и 10,3 [9,8; 10,8], $p < 0,001$) и *Bifidobacterium* spp. (6,2 [5,8; 6,6], $p < 0,001$). Это косвенно подтверждало на клинических примерах антикампилобактерный эффект *Lactobacillus* spp., который ранее был обнаружен в системе *in vitro* [30], на экспериментальной модели и при введении больным с кампилобактериозом пробиотических молочнокислых бактерий [54].

Выявленные изменения свидетельствовали о значении уровня содержания микроорганизмов родов *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. в поддержании колонизационной резистентности в острый период кампилобактериоза. Данные микроорганизмы могут препятствовать адгезии возбудителя к эпителиоцитам и его инвазии в более глубокие слои слизистой оболочки кишечника. Угнетение роста микроорганизмов родов *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. и замещение индигенных облигатных представителей микробиоты на условно-патогенные микроорганизмы лактознегативные *E. coli*, *Klebsiella* spp. и *Proteus* spp. предрасполагает к формированию длительной персистенции кампилобактерий с удлинением периода клинических проявлений и реконвалесцентного бактериовыделения.

Исследование методом ПЦР-РВ

Изменения микробиоценоза кишечника на 1 и 7 сутки кампилобактериоза (рисунок 24) характеризовались снижением *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. относительно референсных значений по данным ПЦР-РВ. При оценке некультивируемых на обычных питательных средах микроорганизмов наиболее значимым было снижение среднего уровня *B. thetaiotaomicron*, одного из наиболее значимых антагонистов *Campylobacter* spp. [77]. Нельзя также не отметить высокое содержание *B. fragilis* в фекалиях пациентов с кампилобактериозом. Данный микроорганизм повышает способность *Campylobacter* spp. к инвазии за счет модификации муцинов на поверхности эпителиоцитов путем их фукозилирования [77]. Стоит отметить, что снижение количественного состава ключевых

представителей нормального микробиоценоза кишечника нарастали к 7 суткам наблюдения за пациентом. Статистически значимые различия среднего уровня содержания были получены для *Bifidobacterium* spp. ($p=0,002$), *F. prausnitzii* ($p<0,001$) и *B. thetaiotaomicron* ($p<0,001$).

В динамике наблюдения к 21 дню отмечалась отчетливая тенденция к нормализации всех показателей микробиоценоза кишечника. Однако, даже на данном этапе отмечалось выраженное снижение *Bifidobacterium* spp. и *B. thetaiotaomicron* по сравнению с нормальными показателями.

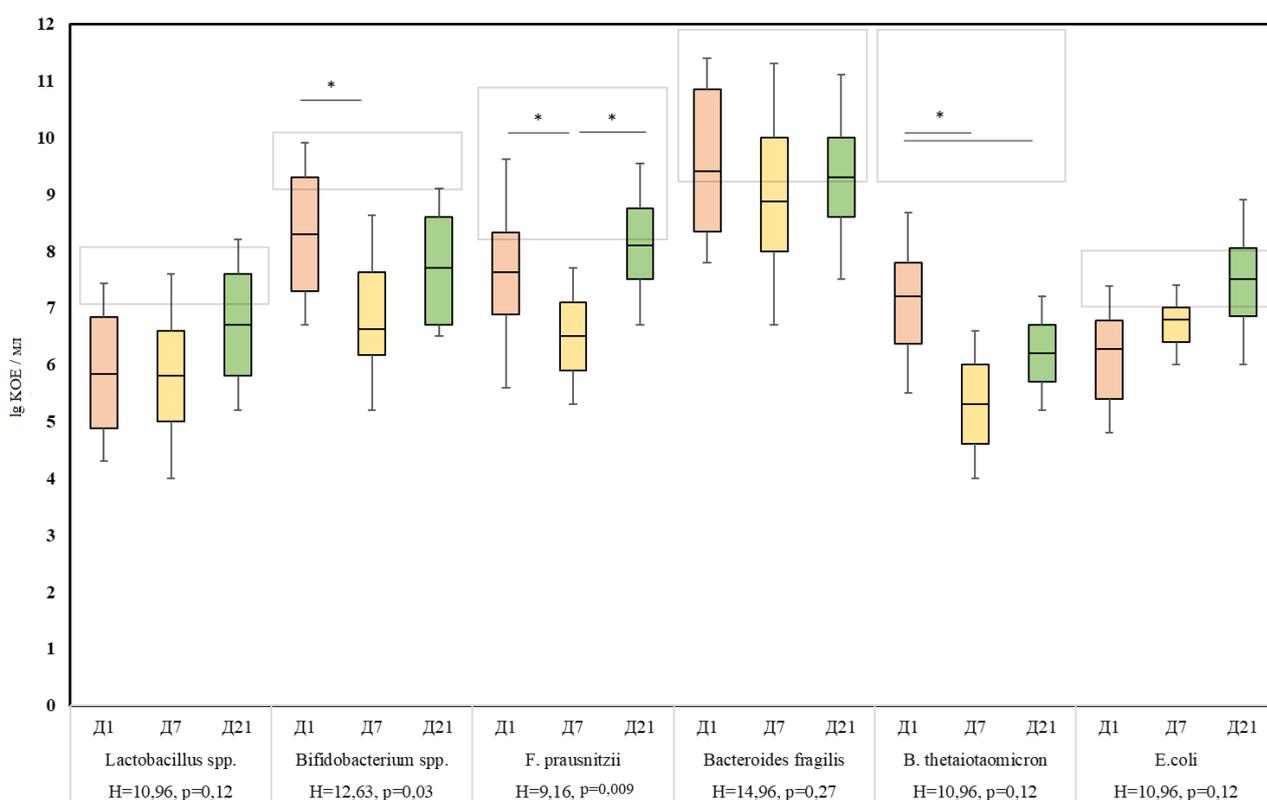


Рисунок 24 – Изменения состава микробиоценоза кишечника по данным ПЦР–РВ в различные периоды кампилобактериоза (N=203)

Примечание: Д1 – 1 день, Д7 – 7 день, Д21 – 21 день.

Наиболее значимым на 7 сутки было снижение среднего уровня содержания *B. thetaiotaomicron*, являющегося антагонистом *Campylobacter* spp. [77]. Одним из механизмов антибактериального действия *B. thetaiotaomicron*, помимо конкуренции за метаболиты и сайты прикрепления, влияния на ангиогенез,

иммунитет, моторику кишечника, является их способность индуцировать экспрессию ангиогенина, вырабатываемого клетками Панета и обладающего бактерицидной активностью [63]. Отмечено, что отсутствие или уменьшение численности *B. thetaiotaomicron* почти всегда сопровождается повышением уровня *Klebsiella* spp. и других условно-патогенных микроорганизмов. Снижение уровня *B. thetaiotaomicron* также является предиктором антибиотик-ассоциированных геморрагических колитов [26]. Статистически значимые различия среднего уровня содержания микроорганизмов в пробах фекалий обследуемых детей были получены не только в отношении *B. thetaiotaomicron*, потенциальный антикампилобактерный эффект которой уже отмечался ранее, но и при анализе количественного содержания *Bifidobacterium* spp. (0,031) и *F. prausnitzii* (0,027).

Показано, что снижение относительного содержания *Bifidobacterium* spp. в толстой кишке человека часто наблюдается также при формировании синдрома раздраженной кишки и воспалительных заболеваний кишечника [79, 188]. Эти бактерии обеспечивают сохранение барьерных функций кишечника и защиту от патогенов при помощи бактериоцинов, снижения рН за счет выработки кислот и блокирование адгезии патогенов к слизистой оболочке кишечника [173, 274]. Они вырабатывают ацетат и лактат во время ферментации углеводов, органических кислот, которые, в свою очередь, могут превращаться в бутират другими бактериями толстой кишки [133, 298, 300].

Уменьшение численности *Faecalibacterium prausnitzii* и других бутират-продуцирующих бактерий при воспалительных заболеваниях кишечника, показано в целом ряде исследований [50, 126, 206, 223]. Бутират-продуцирующие бактерии составляют от 4 до 30 % и более от общего числа всех бактерий толстой кишки, при этом доля одной только *Faecalibacterium prausnitzii* может достигать 15 % [247]. Масляная кислота (бутират) является важнейшим продуктом микробной ферментации углеводов в толстой кишке. Снижение уровня бутират-продуцирующих бактерий с соответствующим уменьшением синтеза масляной кислоты, а также нарушение ее захвата эпителиальными клетками и последующего внутриклеточного окисления, обусловленные воспалительными изменениями

в слизистой оболочке кишечника, приводят к развитию дефицита энергии в колоноцитах и повышению проницаемости кишечного барьера. Кроме того, масляная кислота обладает иммуномодулирующим действием, в частности ингибирует ключевые медиаторы воспаления в тучных клетках; регулирует экспрессии генов антимикробных пептидов; стимулирует пролиферации противовоспалительных регуляторных Т-клеток кишечника [26].

При сопоставлении тяжести кампилобактериоза и наблюдаемых значений содержания микроорганизмов в кишечнике (рисунок 25) были выявлены различия в общем уровне *B. fragilis* и *B. thetaiotaomicron*.

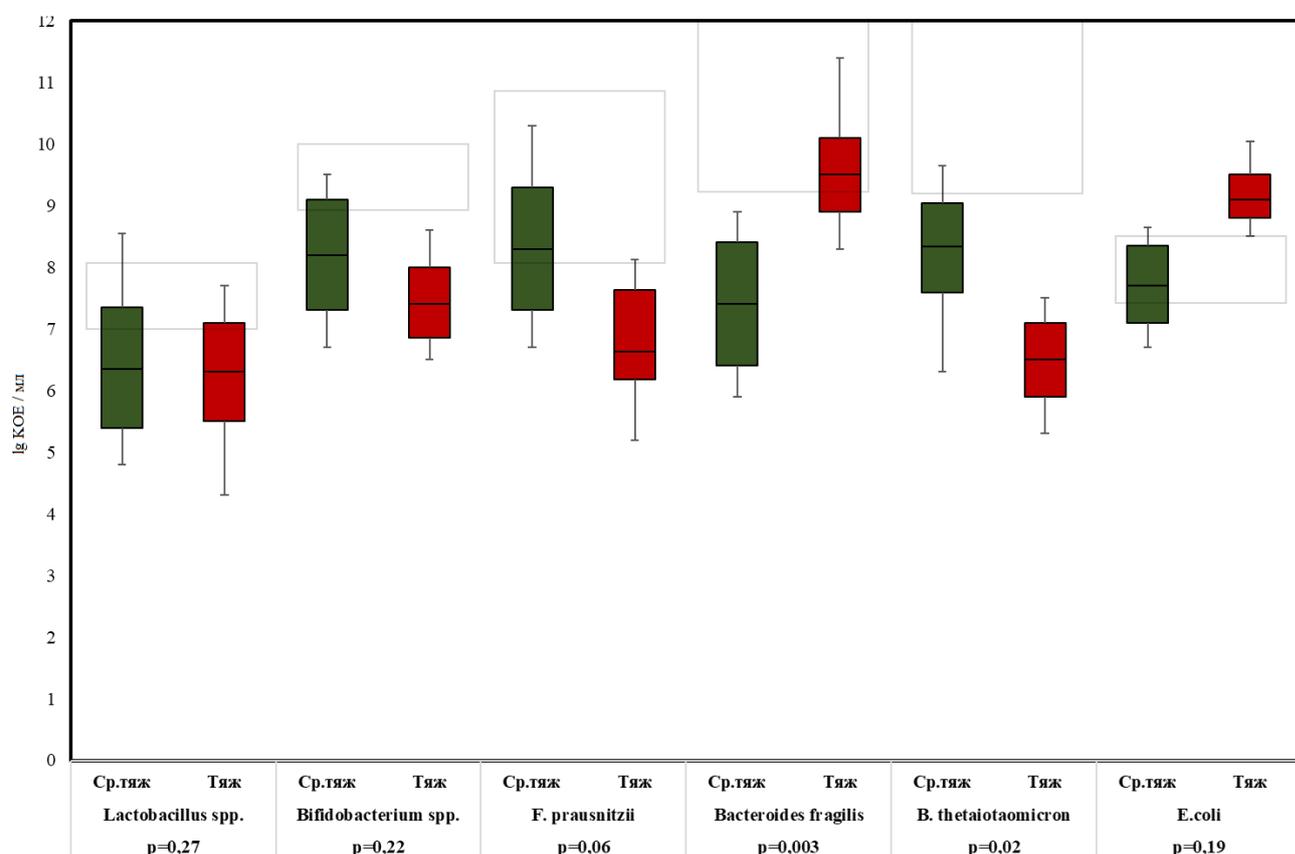


Рисунок 25 – Изменения состава микробиоценоза кишечника по данным ПЦР-РВ в зависимости от степени тяжести кампилобактериоза на 7 сутки заболевания (N=203)

Для тяжелой формы заболевания было характерно повышение уровня *B. fragilis* и *E. coli*. Данный феномен частично подтверждает гипотезу, высказанную Martin Stahl и коллегами, предполагавшими что *E. coli* и в

наибольшей степени *B. fragilis* способствуют быстрому росту кампилобактерий за счет представления энергетического субстрата [219]. Ранее было показано, что *C. jejuni* в отличие от *E. coli* и *B. fragilis* не фосфорилирует и не активирует GDP-1-фукозу для метаболизма, однако активно использует данный метаболит в обменных процессах и способна транспортировать его внутрь клетки [238]. *B. fragilis*, особенно его токсигенные варианты, повышают способность *Campylobacter* spp. к инвазии за счет модификации муцинов на поверхности эпителиоцитов путем их фукозилирования [77].

Подобная тенденция отмечалась и при сопоставлении изменений микробиоценоза у пациентов с различными формами кампилобактериоза (рисунок 26). Так, именно при колитической форме кампилобактериоза изменения уровня *B. fragilis* и *B. thetaiotaomicron* носили наиболее выраженный характер.

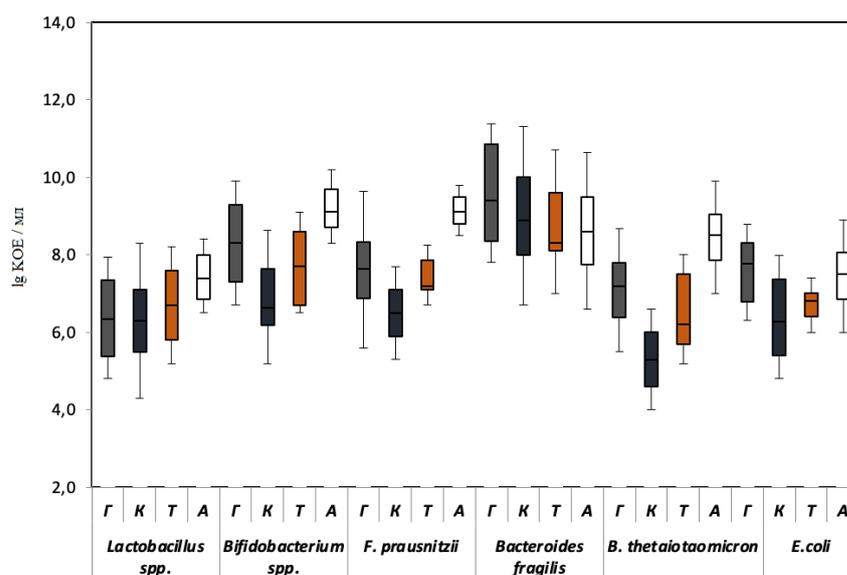


Рисунок 26 – Изменения состава микробиоценоза кишечника по данным ПЦР-РВ в зависимости от клинической формы кампилобактериоза на 7 сутки заболевания (N=203)

Примечание – Г – гастроэнтеритическая, К – энтероколитическая, Т – токсическая, А – абдоминальная.

Также было установлено, что стереотипные изменения микробиоценоза кишечника выявлялись во всех возрастных группах детей (рисунок 27). Однако, у детей младших возрастных групп отмечалась максимальная вариабельность

значений количества маркерных микроорганизмов кишечной микробиоты. Это может быть объяснено периодом нестабильности в составе микробиоты в рассматриваемом возрасте.

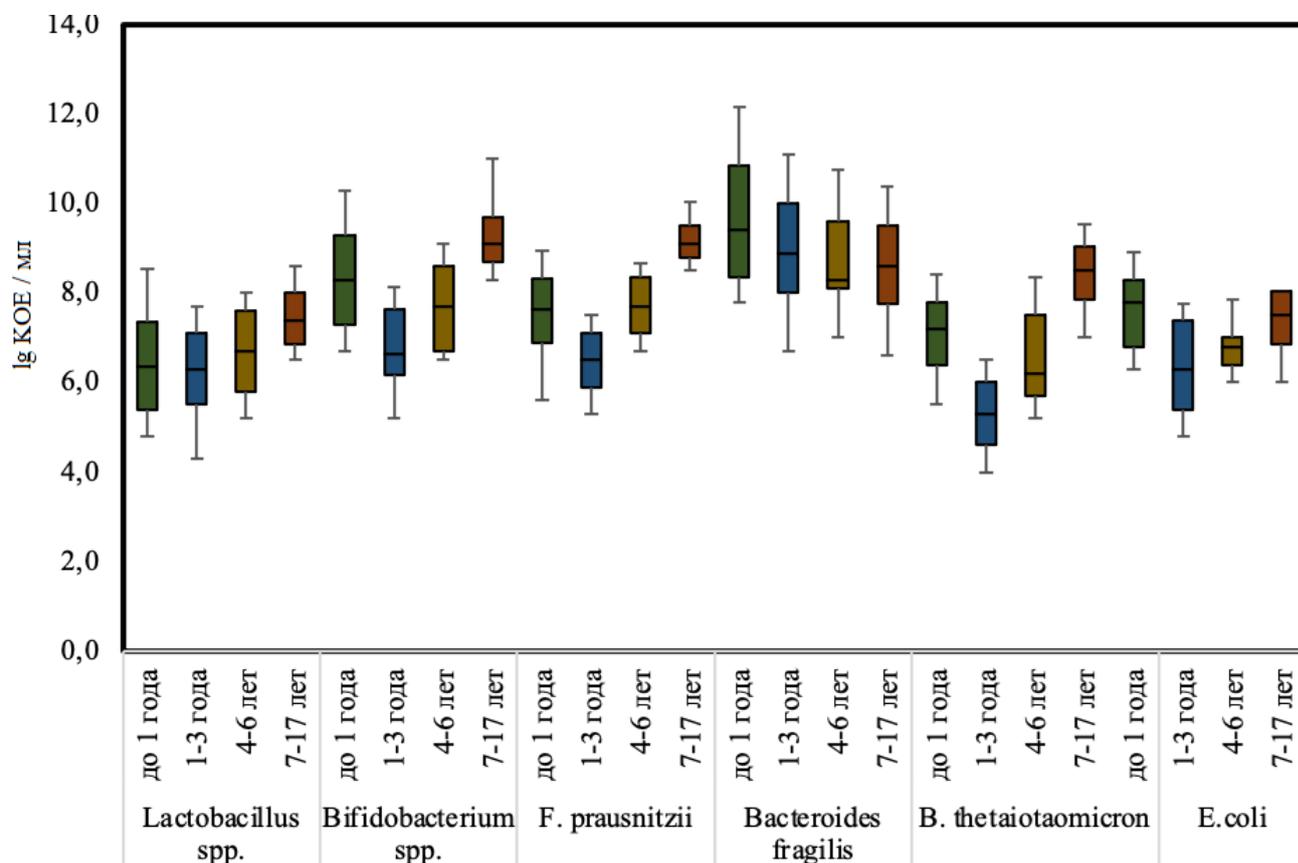


Рисунок 27 – Изменения состава микробиоценоза кишечника по данным ПЦР-РВ в зависимости от возраста больных кампилобактериозом на 7 сутки заболевания (N=203)

Метагеномное исследование (16S рРНК)

При проведении 16S рРНК метагеномного исследования 95 % нуклеотидных последовательностей было идентифицировано до уровня рода. За оперативную таксономическую единицу (Operational Taxonomic Unit, OTU) принимали род микроорганизма. Суммарно по 203 образцам было идентифицировано 11012 уникальных OTU, согласно современной номенклатуре прокариот, были разделены на 8 бактериальных филумов, 38 семейств и 57 родов бактерий. На каждый образец в среднем приходилось 105 [90; 200] OTU.

Индекс α -разнообразия Шеннона кишечной микробиоты был значительно ниже у пациентов с кампилобактериозом тяжелой степени по сравнению с формами легкой и средней тяжести ($p = 0,011$).

При сопоставлении данных, полученных методом ПЦР-РВ и 16S рРНК-секвенирования, отмечалась высокая степень согласованности результатов.

В целом, для детей рассматриваемой группы было характерно доминирование грамположительных анаэробных бактерий, на долю которых приходилось 71 ± 23 %. Детальный анализ распределения OTU на уровне фила (таксономического ранга Phylum) выявил наличие следующих бактериальных филлов: *Actinobacteria* (*Actinomycetota*), *Bacteroidetes* (*Bacteroidota*), *Tenericutes*, *Cyanobacteria* (*Cyanobacteriota*), *Firmicutes* (*Bacilliota*), *Proteobacteria* (*Pseudomonadota*) и *Verrucomicrobia*.

По результатам анализа выявлено, что в среднем нормированном количественном отношении у детей с кампилобактериозом доминировали *Firmicutes* ($47,32 \pm 16,24$ %), *Actinobacteria* ($18,09 \pm 10,93$ %) и *Proteobacteria* (*Pseudomonadota*) ($15,95 \pm 8,17$ %).

У детей с кампилобактериозом средней и легкой степени тяжести (рисунок 28) были в большей степени, чем при тяжелой представлены филы *Firmicutes*, *Proteobacteria*, в меньшем процентном содержании обнаруживались *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia* и *Bacteroidetes*. Бесспорно, позитивным эффектом могло являться присутствие в микробиоценозе детей с легким течением кампилобактериоза представителей фила *Firmicutes*: лактобацилл, фекалибактерий, непатогенных клостридий и энтерококков, присутствие которых подтверждено при помощи бактериогического метода и в ПЦР-РВ. Также к этому филу принадлежат большое число бутират и пропионатпродуцирующих бактерий, потенциально обладающих антикампилобактерной активностью и благотворно воздействующих на функционирование пищеварительной и иммунной систем [18].

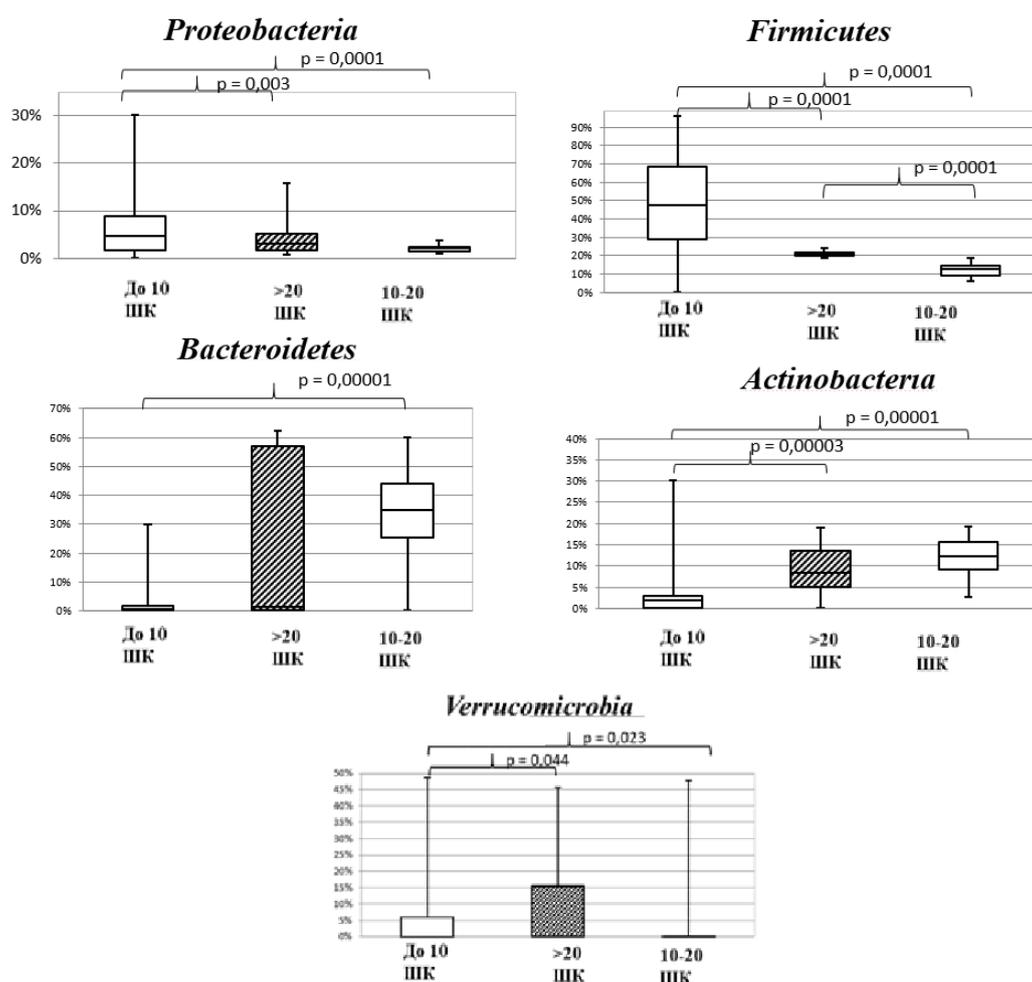


Рисунок 28 – Представительство различных филов бактерий в фекальных пробах детей с различной тяжестью течения кампилобактериоза (7 день наблюдений) (N=203)

Примечание – ШК – шкала Кларка (указаны значения тяжести по шкале Кларка: <10 баллов – легкая степень тяжести, 10 – 20 баллов средняя степень тяжести, > 20 баллов – тяжелая степень тяжести).

Анализ главных компонент (рисунок 29) показал, что при более легком течении кампилобактериоза отмечалась выраженная кластеризация на уровне в зоне фила *Proteobacteria*, при более тяжелом течение в зонах, соответствующих представителей *Verrucomicrobia* и *Bacteroidetes*. Это может быть связано с присутствием *Akkermansia* spp. и *B. fragilis*, соответственно. Оба рода бактерий

могут способствовать инвазии возбудителя за пределы слизистой оболочки кишечника.

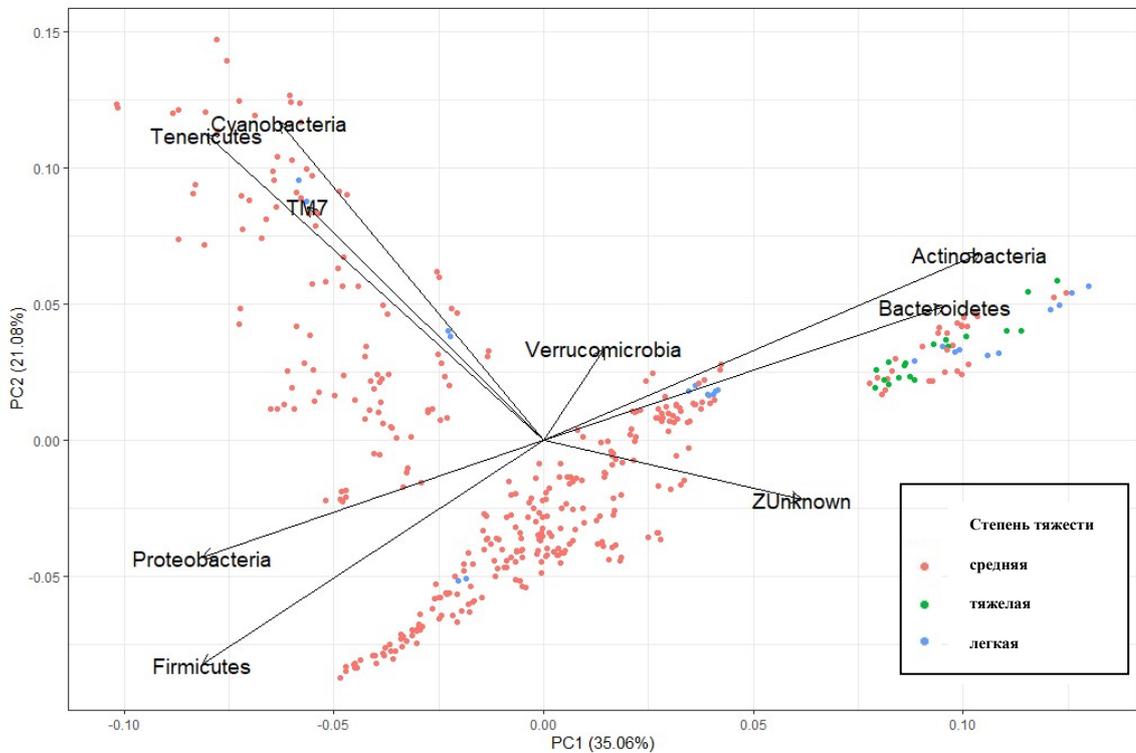


Рисунок 29 – Анализ главных компонент (PCA) анализ фекальных проб детей с различной тяжестью кампилобактериоза (N=203)

Несколько неожиданным было обнаружение фила *Tenericutes*, представителями которого, в частности, являются микоплазмы. Эти одни из наиболее маленьких по размерам бактерий, отличающиеся отсутствием клеточной стенки и чаще ассоциируемые с патологическими процессами в дыхательной системе и урогенитальном тракте человека. Роль их в составе кишечного микробиоценоза остается малоизученной. В то же время отмечается преобладание большого набора необходимых для слаженного функционирования микробиоты у здоровых людей ассоциаций микроорганизмов, в основном *Firmicutes*, компанию которым составляли *Bacteroidetes*, *Verrucomicrobia*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Tenericutes* и *Archaea* [18]. Нельзя исключить, что именно с этим связано и превалирование протеобактерий в группе детей с более легким течением

кампилобактериоза, обусловленным более взаимосвязанным по метаболическим путям и разнообразным консорциумом кишечных бактерий.

Были выявлены статистически значимые различия в показателях альфа-разнообразия между различными клиническими вариантами кампилобактериоза (рисунок 30). Максимальное биоразнообразие наблюдалось при энтероколитическом варианте течения заболевания, которое статистически достоверно было больше, по сравнению с токсической формой, и имело тенденцию к превышению при других формах кампилобактериоза вне зависимости от сроков заболевания.

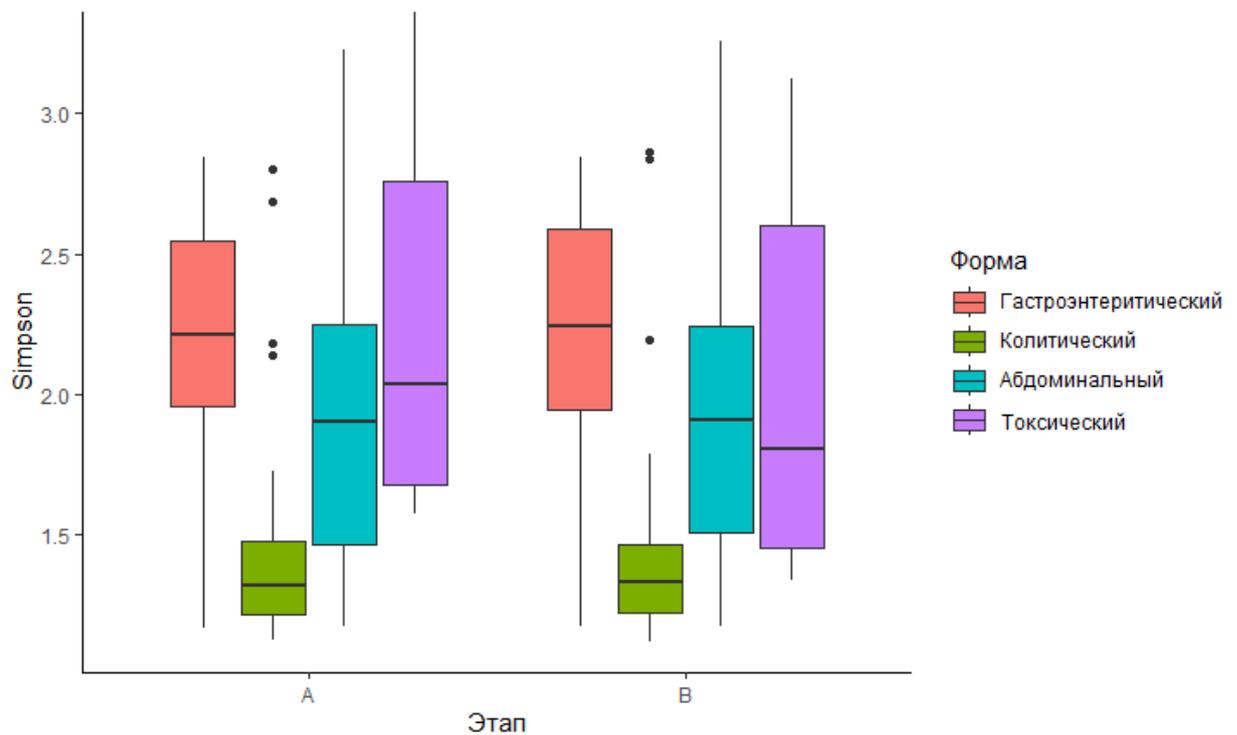


Рисунок 30 – α -разнообразие микробиоты у пациентов с кампилобактериозом различных вариантов в 1 (А) и 14 (В) дни заболевания (N=203)

Кроме того, была выявлена сильная обратная корреляционная связь ($r=-0,67$ [-0,62; -0,72]; $p=0,021$) между тяжестью кампилобактериоза по шкале Кларка и уровням альфа-разнообразия (рисунок 31).

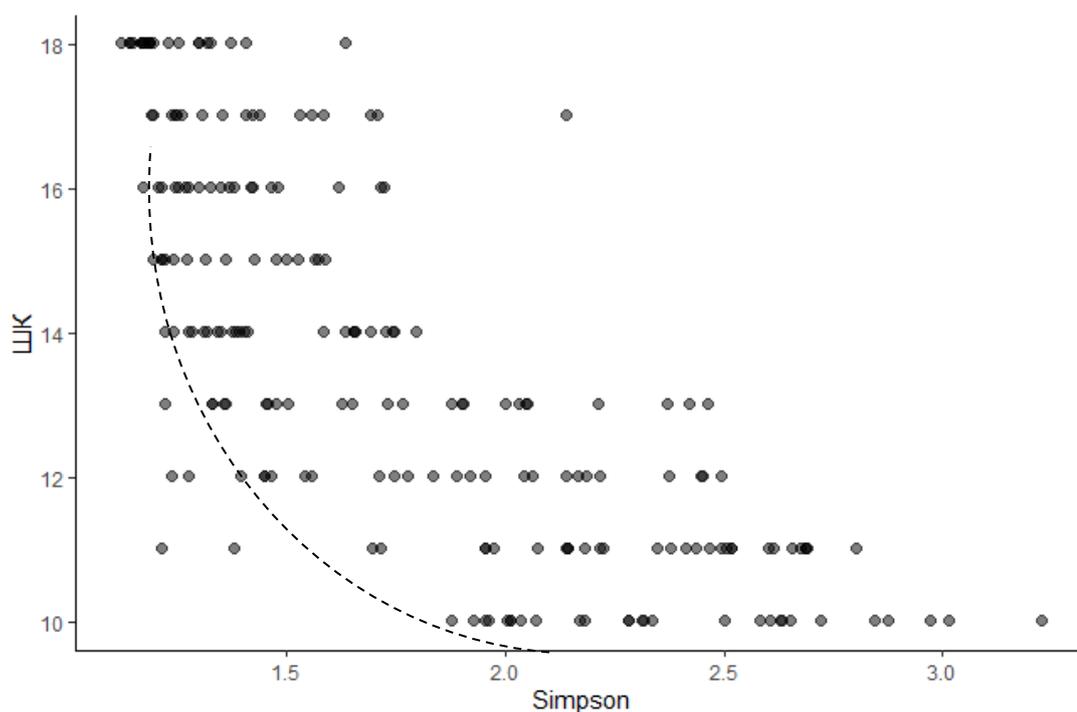


Рисунок 31 – α -разнообразие микробиоты у пациентов в зависимости от тяжести кампилобактериоза по шкале Кларка (N=203)

Оценка показателей микробиоценоза кишечника по индексу разнообразия Шеннона позволила выявить значимые отличия между легким течением (0–5 баллов по шкале Кларка) и среднетяжелым и тяжелым течением при сравнении на 1 и 14 сутки заболевания ($p=0,003$ и $0,029$ соответственно). Показатель энтропии кишечной микробиоты у пациентов с легкой (0–5 по шкале Кларка), средней и тяжелой степенями свидетельствовал о большем альфа-биоразнообразии при низкой выраженности клинических проявлений вне зависимости от сроков заболевания.

Таким образом в результате комплексного исследования микробиоты удалось получить взаимодополняющие данные об особенностях состава микробиоценоза кишечника детей с кампилобактериозом, учитывая тяжесть течения, клиническую форму заболевания и возраст пациентов. Также удалось показать динамику изменений микробиоты кишечника детей в различные периоды заболевания на фоне проведенной в первые 14 дней терапии.

4.4 Особенности иммунного ответа

Особенности иммунного ответа оценивали в острый период кампилобактериоза у 46 пациентов 4–6 лет с кампилобактериозом. Средний возраст составил $5,1 \pm 1,3$ лет. В исследование было включено 22 мальчика (47,82 %) и 24 девочки (52,17 %). Параметры иммунного ответа оценивались на 1 сутки пребывания в стационаре (период I) а также на 7 день (период II).

Клеточный иммунный ответ в I период кампилобактериоза характеризовался умеренным снижением как относительного ($p=0,045$), так и абсолютного ($p=0,031$) числа $CD3^+$ Т-лимфоцитов (рисунок 32). Для $CD4^+$ (Т-хелперы) и $CD8^+$ (эффекторные Т-лимфоциты) клеток средние значения находились в пределах возрастных референсных интервалов. Характерным для острого периода кампилобактериоза было снижение процента клеток с рецепторами негативной активации $CD95^+$. Опосредованная $CD95^+$ Т-лимфоцитами цитотоксичность (обеспечения удаления активированных лимфоцитов в завершающей фазе иммунного ответа) реализовалась на более поздних сроках заболевания. Несколько неожиданно, отмечалась тенденция к повышению абсолютного содержания $CD16^+$ лимфоцитов (естественных киллеров). Несмотря на то что данная субпопуляция ответственна в первую очередь за противоопухолевый и противовирусный иммунитет, ее увеличение играет определенное значение и в острый период кампилобактериоза. $CD16^+$ лимфоциты могут обеспечивать активацию не только антиген-специфических механизмов элиминации патогена, но и антиген-неспецифических [17].

У пациентов с кампилобактериозом тяжелой степени тяжести ($n=12$) в периоде I имело место повышение уровня зрелых $CD3^+$ лимфоцитов по сравнению с пациентами со среднетяжелой и легкой форм ($n=34$): $1132 \pm 119 \times 10^9$ клеток/л и $932 \pm 172 \times 10^9$ клеток/л, соответственно ($p=0,02$).

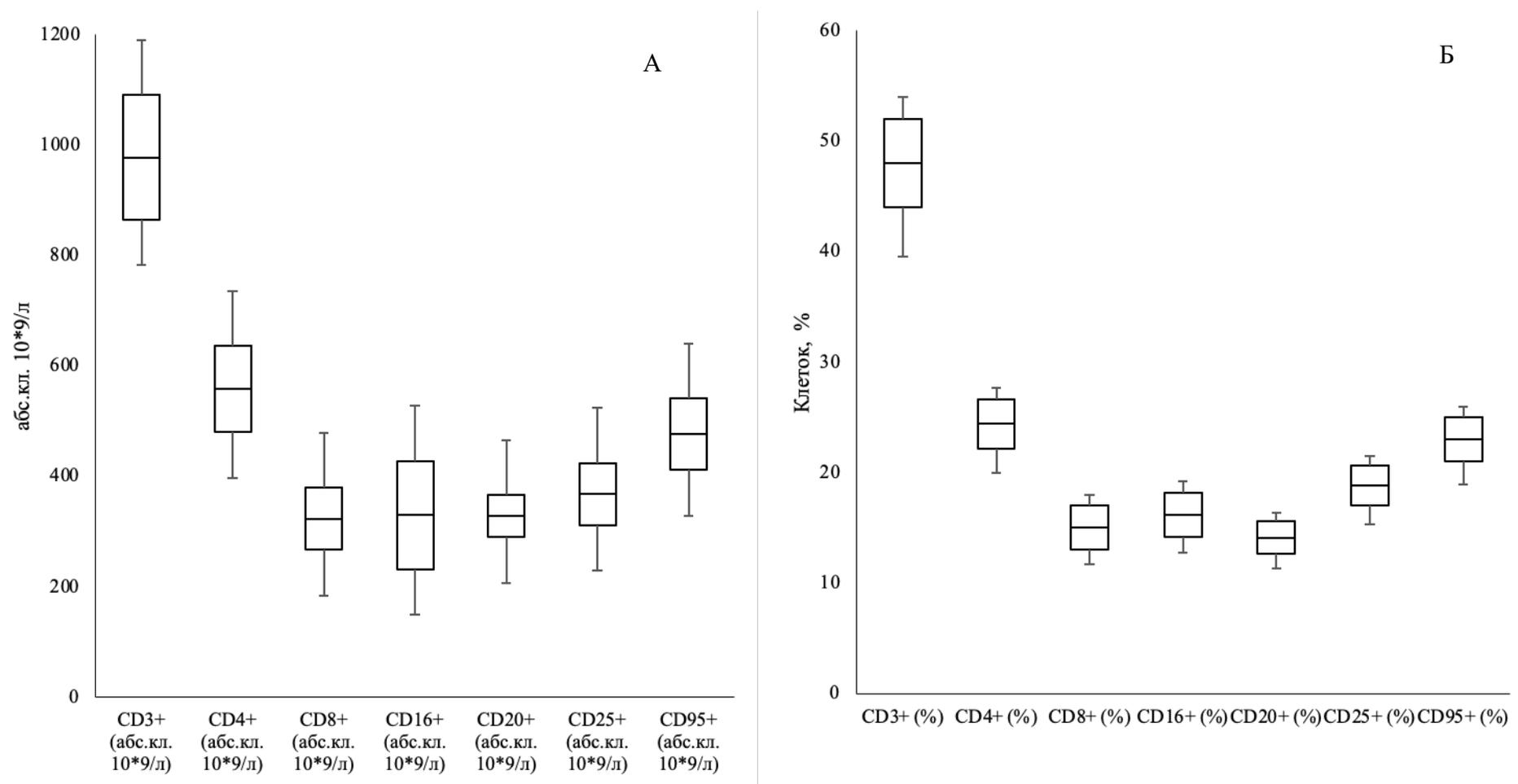


Рисунок 32 – Абсолютный (А) и относительный (Б) уровень лейкоцитов различного фенотипа у детей с кампилобактериозом в 1 сутки пребывания в стационаре (N=46)

Аналогичные отличия наблюдались и в отношении CD3+CD8+ эффекторных Т-лимфоцитов: $762 \pm 113 \times 10^9$ клеток/л и $532 \pm 112 \times 10^9$ клеток/л, соответственно ($p=0,04$). При оценке уровня CD20+ лимфоцитов (активированные В-лимфоциты) наблюдалась противоположная картина: у пациентов с кампилобактериозом тяжелой степени тяжести средний уровень был статистически значимо ниже, чем при легких и среднетяжелых — $276 \pm 103 \times 10^9$ клеток/л и $103 \pm 42 \times 10^9$ клеток/л, соответственно ($p < 0,001$).

На 7 день (период II) сохранялись статистически значимые отличия уровня CD16+ лимфоцитов (натуральных киллеров) в группах пациентов с тяжелой и среднетяжелой и легкой степенью тяжести кампилобактериоза ($465 \pm 111 \times 10^9$ /л и $332 \pm 89 \times 10^9$ /л, соответственно; $p=0,01$). Одновременно наблюдалось снижение среднего уровня В-лимфоцитов в сходных группах ($233 \pm 0,09 \times 10^9$ /л и $153 \pm 71 \times 10^9$ /л, соответственно; $p=0,009$). У 37 пациентов было выявлено повышение уровня CD3+ CD95+ клеток, несущих на своей поверхности рецептор инициации апоптоза CD95, относительно референсных значений, свидетельствующее о вероятном начале процесса элиминации и апоптоза активированных форм лимфоцитов других субпопуляций. В иммунной системе CD95+ клетки и лиганд CD95L, иницирующий молекулярный компонент апоптоза, вовлечены в опосредованную Т-лимфоцитами цитотоксичность для обеспечения удаления активированных лимфоцитов в завершающей фазе иммунного ответа [1].

Анализ выявленных различий между формами кампилобактериоза свидетельствовал о превалировании при тяжелой форме заболевания признаков избыточной активации клеточного звена иммунного ответа. В то же время при относительно благоприятном течении кампилобактериоза иммунный ответ характеризовался несколько меньшей в абсолютных величинах, но одновременной активацией и гуморального, и клеточного звена иммунного реагирования.

Сывороточный уровень антител в периоде I не имел статистически значимых отличий от референсных значений при оценке всех исследуемых классов иммуноглобулинов (рисунок 33).

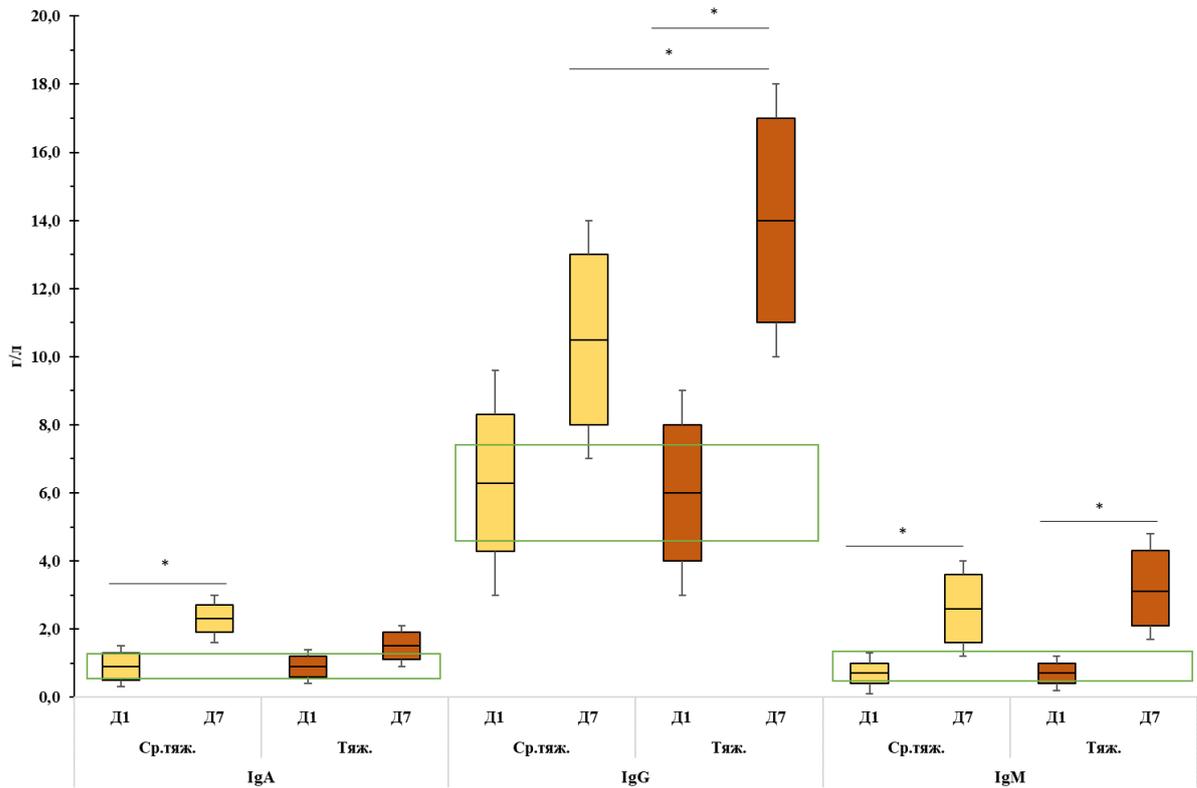


Рисунок 33 – Динамика уровня сывороточных иммуноглобулинов при кампилобактериозе у детей (N=46)

Примечания

1 – Д1 – 1 день заболевания, Д7 – 7 дней заболевания.

2 * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$.

3 – Зеленой рамкой выделены референсные значения, желтым цветом выделены значения при кампилобактериозе средней и легкой степени тяжести, оранжевым при кампилобактериозе тяжелой степени тяжести.

К 7 суткам наблюдалось повышение среднего уровня иммуноглобулинов статистически значимое для IgA и IgM ($p=0,003$ и $p=0,021$, соответственно). Статистически значимое повышение уровня IgG отмечалось у пациентов с кампилобактериозом тяжелой степени. В этой же группе отмечалось отсутствие значимого повышения уровня IgA ($p=0,239$). Вероятно, подобные особенности антителообразования несколько замедляют элиминацию возбудителя и способствуют утяжелению течения инфекционного процесса.

Было также проведено исследование концентраций отдельных цитокинов в остром периоде кампилобактериоза (рисунок 34).

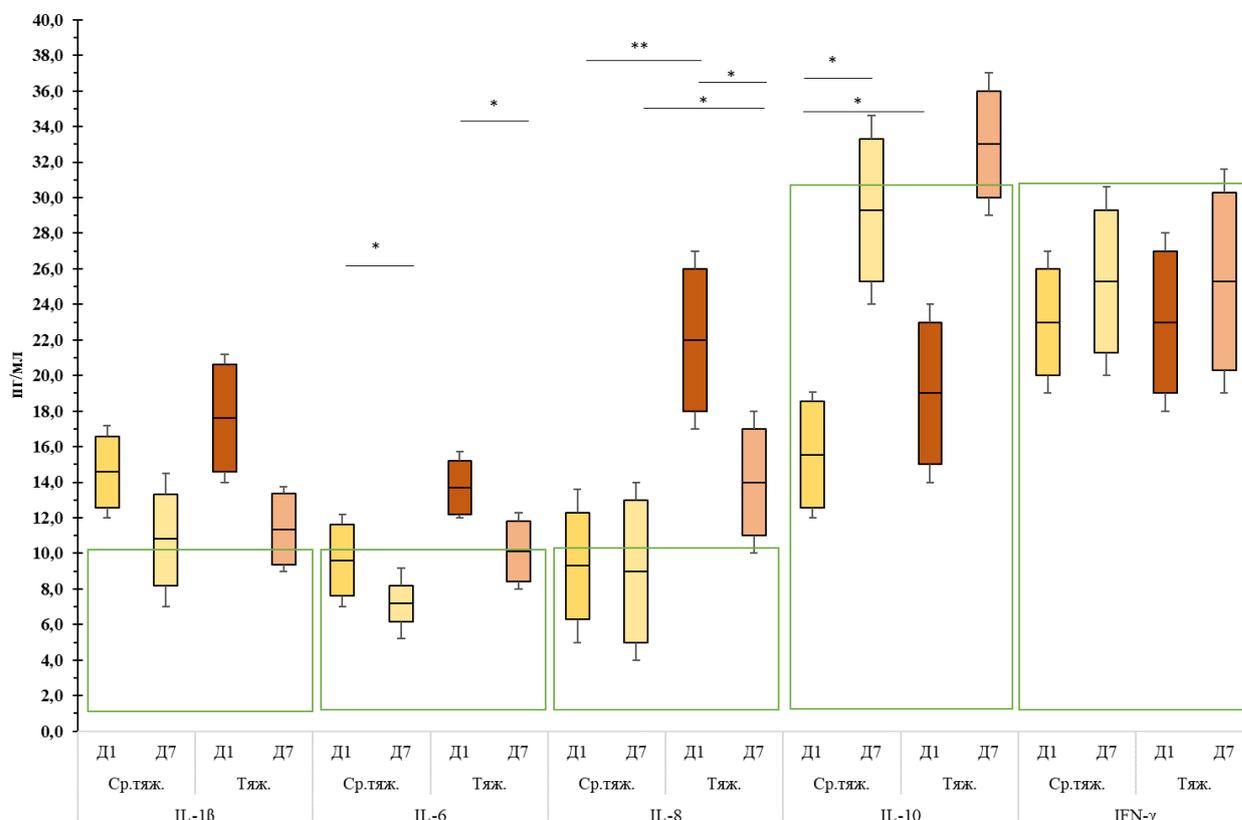


Рисунок 34 – Динамика сывороточных уровней сывороточных цитокинов при кампилобактериозе у детей (N=46)

Примечания

1 Д1 – 1 день заболевания, Д7 – 7 дней заболевания.

2 * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$.

3 – зеленой рамкой выделены референсные значения, желтым цветом выделены значения при кампилобактериозе средней тяжести, оранжевым при кампилобактериозе тяжелой степени тяжести.

Уже в первые сутки заболевания отмечалось повышение уровня IL-1β и IL-6. Данные цитокины запускают индукцию лихорадки, активируют пролиферации лимфоцитов, стимулируют фагоцитоз, а также активируют адгезию лейкоцитов к эндотелию сосудов. Несмотря на то что средний уровень IL-8 был в

пределах референсных значений в первые сутки болезни, у пациентов с кампилобактериозом тяжелой степени значения данного цитокина были статистически значимо выше, чем при кампилобактериозе средней тяжести ($p=0,002$). Одной из важнейших функций IL-8 является активация нейтрофилов. Его повышение происходит под действием других провоспалительных цитокинов (в частности IL-1 β), что может объяснять небольшое запаздывание его повышения по сравнению с IL-1 β , IL-6. Следует подчеркнуть, что IL-8 рассматривается в качестве ключевого триггера неспецифической иммунной защиты, ассоциированной с нейтрофилами. Повышение данного маркера на первые сутки было одним из наиболее значимых предикторов тяжелого течения заболевания (OR=7,6 \pm 1,7; $p<0,001$). Отмечалась сильная корреляционная связь между уровнем IL-8 и тяжестью кампилобактериоза по шкале Кларка ($r=0,781$; $p=0,006$).

На фоне проводимой терапии отмечалась отчетливая тенденция к быстрому снижению среднего уровня большинства цитокинов наиболее выраженная для IL-6, тогда как концентрации IL-1 β и IL-8 оставались на повышенном уровне, а содержание в крови IFN- γ и IL-10 возрастало. Важно отметить, что IL-10 является ключевым противовоспалительным и регуляторным цитокином, обеспечивая нормализацию температуры тела и подавление избыточной иммунной стимуляции аутоантигенами и антигенами возбудителя. В случае кампилобактерной инфекции важно, что рассматриваемый цитокин ингибирует индукцию секреции воспалительных цитокинов IL-1 β и IFN- γ , опосредованную липополисахаридом клеточной стенки грамотрицательных бактерий [253].

Таким образом, эффективная элиминация кампилобактерий осуществляется посредством комплексного действия гуморального и клеточного звена иммунного ответа. Достаточный прирост сывороточного IgA коррелировал с быстрой элиминацией кампилобактерий и относительно легким течением инфекционного процесса. Важное значение в качестве предиктора тяжелого течения кампилобактериоза показал IL-8. Его повышение в первые дни инфекции коррелировало с негладким течением кампилобактериоза.

4.5 Клинико-лабораторные показатели кампилобактериоза в зависимости от этиологии заболевания

У 53 пациентов (26,11 %) удалось идентифицировать вид *Campylobacter*. У 37 детей была выявлена *C. jejuni* (69,81 %), у 16 — *C. coli* (30,19 %). При анализе клинических проявлений кампилобактериоза были выявлены различия частоты развития тяжелых форм при инфицировании различными видами представителей рода *Campylobacter*. Из 35 пациентов с тяжелой степенью кампилобактериоза у 24 была осуществлена видовая идентификация возбудителя. В 16 случаях (66,67 %) им оказалась *C. coli*, значительно реже ($p=0,02$) в 10 (33,33%) — *C. jejuni* ($p=0,02$). С учетом более частого выделения *C. jejuni* отношение шансов выявления тяжелой формы кампилобактериоза при *C. coli* по сравнению с *C. jejuni* составило $18,9 \pm 3,63$ ($p < 0,001$).

У пациентов младшего возраста отмечалась более высокая частота выявления *C. jejuni* (72,00 % и 28,00 %, соответственно, $p=0,021$). При этом начиная с возраста 3 лет частота выявления *C. coli* была сопоставима с *C. jejuni* (42,42 % и 57,58 % соответственно, $p=0,140$). Эти данные согласуются с результатами исследований отечественных авторов, которые также отмечали превалирование *C. jejuni* в группе детей первых лет жизни [11, 41].

Тяжесть кампилобактериоза вне зависимости от этиологии определялась длительностью сохранением диарейного, интоксикационного и болевого синдромов (таблица 35).

Таблица 35 – Длительность сохранения и выраженность симптомов кампилобактериоза в зависимости от вида возбудителя (N=53)

Признак, единицы измерения	<i>C. jejuni</i> (N=37)	<i>C. coli</i> (N=16)	Всего	P
Частота стула в 1 сутки, раз	5,04±1,57	5,88±1,76	5,44±1,32	0,43
Частота рвоты в 1 сутки, раз	4,38±0,77	2,36±1,12	3,18±0,92	0,14
Длительность лихорадки, дней	4,33±0,77	5,88±1,12	5,43±1,17	0,03
Длительность болей в животе, дней	6,86±0,51	8,36±0,42	7,23±0,45	0,03
Длительность диареи, дней	4,47±1,67	5,91±1,16	5,31±1,23	0,15
Длительность колита, дней	6,10±0,36	5,21±0,32	5,73±0,56	0,23
Длительность гемоколита, дней	5,07±1,13	4,9±1,17	4,93±0,97	0,04
Тяжесть заболевания баллы по шкале Кларка	12,33±2,77	15,95±1,12	13,58±1,73	0,046

Продолжительность лихорадки и болевого синдромов была статистически значимо выше при кампилобактериозе, вызванном *C. coli*. При этом выраженность симптомов в первые дни заболевания, а также длительность сохранения диареи не имела статистически значимых отличий в зависимости от этиологии кампилобактериоза.

При анализе частоты клинических симптомов кампилобактериоза различной этиологии (рисунки 35, 36), было установлено, что боли в животе, а также большинство физикальных данных при пальпации живота и частота стула не имели достоверных различий в двух группах.

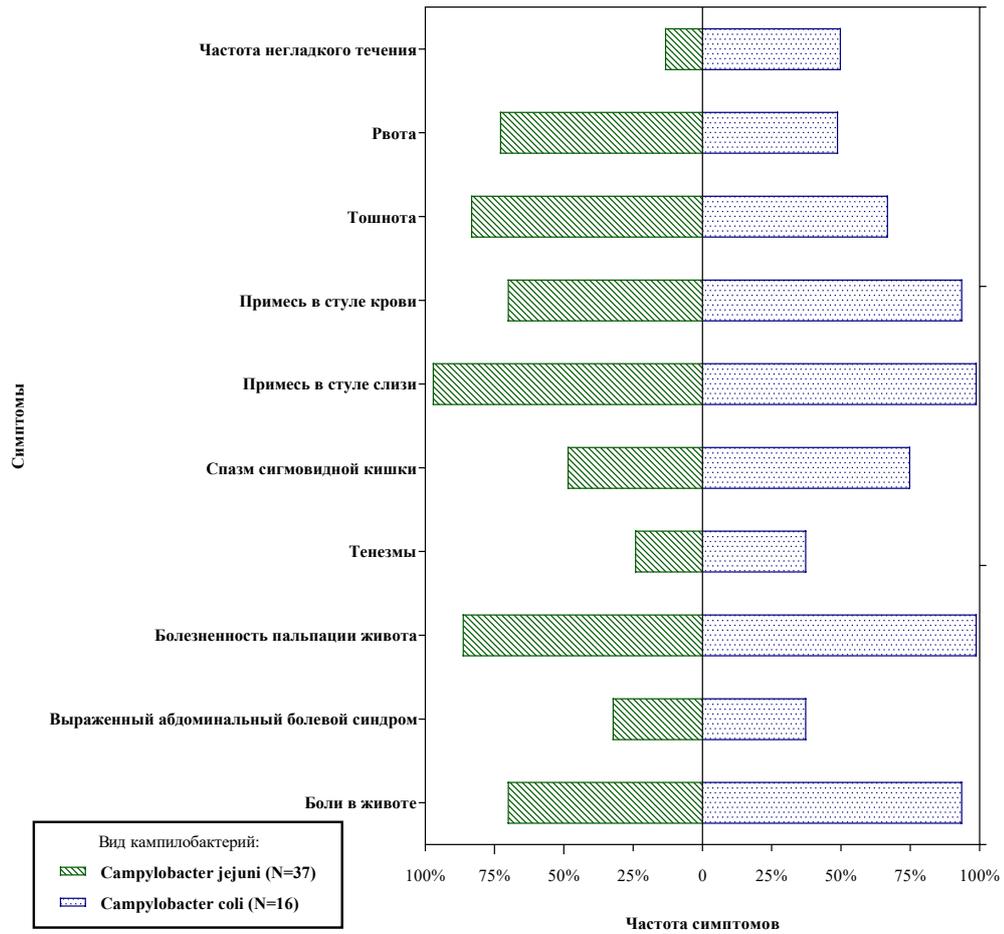


Рисунок 35 – Частота выявления различных симптомов поражения желудочно–кишечного тракта в зависимости от вида *Campylobacter* spp. (N=53)

Частота выявления тенезмов при кампилобактериозе, ассоциированном с *C. coli*, превышала частоту при кампилобактериозе, вызванном *C. jejuni* в 2,7 раза ($p=0,02$). Выявление *C. coli*, чаще приводило к негладкому течению кампилобактериоза ($p=0,02$), спазму сигмовидной кишки ($p=0,017$).

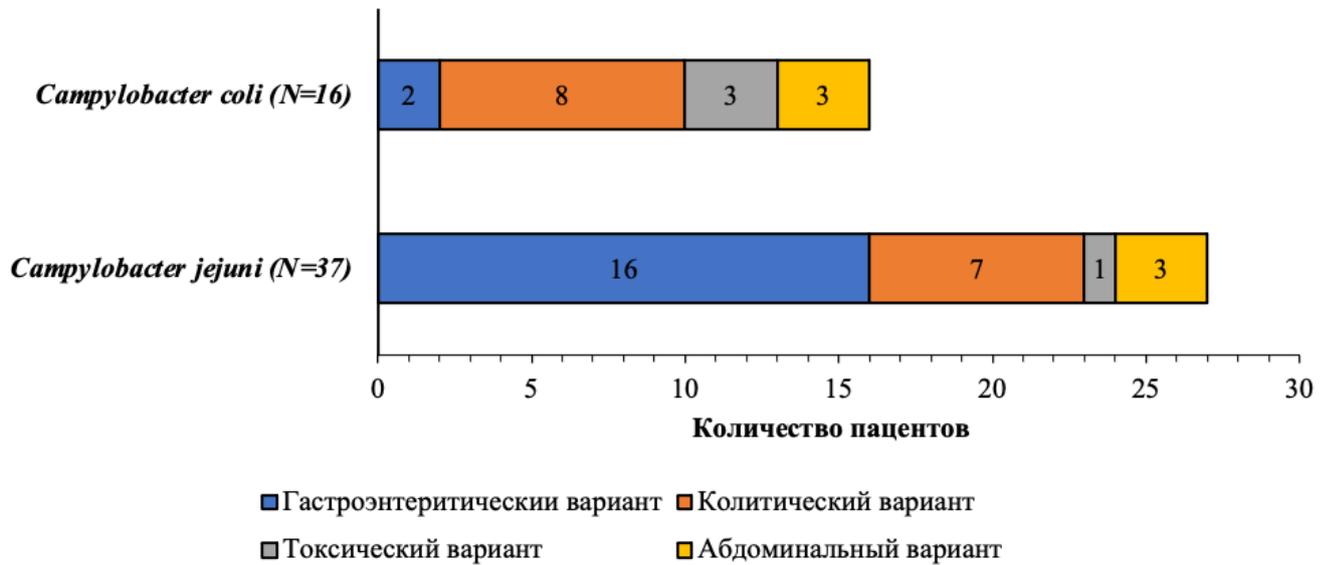


Рисунок 36 – Соотношение между вариантами кампилобактериоза у пациентов с различными видами кампилобактерий (N=53)

C. jejuni значительно чаще выявляли при гастроэнтеритическим варианте кампилобактериоза ($p=0,03$), в то время как при выявлении *C. coli* чаще имел место энтероколитический вариант заболевания ($p=0,02$). Клиника кампилобактериоза, ассоциированного с *C. coli*, характеризовалась обширным поражением тонкой и толстой кишки с большей частотой тяжелых форм, обусловленных выраженностью болевого и интоксикационного синдромов. Также при данной этиологии заболевания наблюдалась и тенденция к более частому развитию длительного сохранения симптомов и негладкого течения заболевания. При кампилобактериозе, ассоциированном с *C. jejuni*, отмечалось превалирование поражения желудка и тонкой кишки, что выражается в большей частоте и длительности тошноты и рвоты.

Влияние генотипа кампилобактерий на клиническое течение заболевания

Несмотря на высокую значимость видовой идентификации в практическом плане для прогнозирования клинической картины заболевания и тяжести инфекционного процесса, был проведен многофакторный анализ значения генов вирулентности кампилобактерий (32 *C. jejuni* и 16 *C. coli*), полученных путем

полногеномного секвенирования.

Сочетание генов *flgE*⁺, *cdtA*⁺ и *cdtC*⁺ выявлено у 83,3 % пациентов с тяжелым течением кампилобактериоза. По данным многофакторного анализа данный генотип повышал вероятность тяжелого течения кампилобактериоза в 12,57 [3,159; 50,019] раз ($p < 0,001$). Белок *flgE*⁺ является ключевым компонентом, обеспечивающим подвижность кампилобактерий и движение через вязкий слой муцина кишечника. Белок *flgE*⁺, являясь стержневым компонентом жгутика, участвует в процессах адгезии кампилобактерии к клеткам человека. В работе М. А. Kreuzberger с соавторами было показано, что данный белок также способствует ускользанию кампилобактерий от антигенпрезентирующих клеток [75].

Гены *cdtA* и *cdtC* ответственны за синтез белков, повышающих эффективность воздействия цитолетального «растягивающего» токсина. Основная токсическая субъединица CDTB отвечает за ферментативную активность, а белки CDTC и CDTA принимают участие в связывании с рецепторным аппаратом клеточной мембраны энтероцитов и интернализации CDTB. Кроме того, CDTB обладает нуклеазной активностью, приводящей к остановке клеточного цикла, «растяжению» и апоптотической гибели энтероцитов.

В работах N. Tegtmeyer было показано, что присутствие в геноме всех генов трех субъединиц цитолетального токсина приводит к резкому повышению цитотоксичности возбудителя, расширяя его возможности блокировать созревание клеток ворсинчатого эпителия. Это в свою очередь приводит к нарушению всасывания в кишке и развитию диареи [116].

Дети с инфекцией, вызванной кампилобактериями с генотипом *flgE*⁺, *cdtA*⁺, *cdtC*⁺, имели ряд клинических отличий в течении инфекционного процесса от пациентов другими генотипами возбудителя (таблица 36).

Таблица 36 – Длительность сохранения и выраженность симптомов кампилобактериоза в зависимости от генотипа возбудителя (N=53)

Признак, единицы измерения	<i>flgE+</i> , <i>cdtA+</i> , <i>cdtC+</i> (N=20)	Другие генотипы (N=33)	Всего	значимость различий
Тяжесть заболевания по шкале Кларка, баллы	16,57±3,19	13,83±2,71	14,43±2,14	0,002
Частота стула в 1 сутки, раз	8,04±3,31	5,42±2,69	6,34±1,27	0,03
Частота рвоты в 1 сутки, раз	3,21±1,35	4,16±1,74	3,72±1,12	0,54
Длительность лихорадки, дней	6,33±1,23	4,89±1,13	5,43±1,13	0,03
Длительность болей в животе, дней	7,86±0,51	8,36±0,42	8,13±0,39	0,3
Длительность диареи, дней	7,47±1,37	5,31±1,16	6,44±1,27	0,015

Выявление кампилобактерий с генотипом *flgE+*, *cdtA+*, *cdtC+* сопровождалось статистически значимо более частым стулом в 1 сутки заболевания ($p=0,03$), более длительной диареей ($p=0,0017$) и интоксикационным синдромом ($p<0,001$), а также более высокой общей тяжестью заболевания ($p<0,001$).

Таким образом, выявлены существенные отличия в клиническом течении кампилобактериоза в зависимости от вида и генотипа возбудителя. *C. jejuni* чаще ассоциировался с гастроэнтеритическим вариантом заболевания и выявлялся преимущественно у детей первых лет жизни. При выявлении *C. coli* чаще имел место энтероколитический вариант заболевания, отмечалось негладкое течение кампилобактериоза с обширным поражением тонкой и толстой кишки и большей частотой тяжелых форм. Выявление у *Campylobacter* spp. генотипа *flgE+*, *cdtA+*, *cdtC+* сопровождалось более тяжелым течением заболевания: длительным сохранением диареи и лихорадки, большей частотой жидкого стула в 1 сутки заболевания.

Таким образом, в ходе анализа актуальных особенностей течения кампилобактериоза у детей, было показано, что наибольшее значение при прогнозировании рисков передачи кампилобактериоза имеет употребление мясных продуктов с недостаточной термической обработкой.

В клинической картине кампилобактериоза можно было выделить 2 доминирующих варианта заболевания (энтероколитический и гастроэнтеритический). Течение болезни у 37 детей нельзя было отнести ни к одному из традиционно выделяемых вариантов кампилобактериоза и были условно выделены в абдоминальный и токсический варианты. Клиническая картина у данных групп пациентов характеризовалась доминированием болевого или интоксикационного синдромов на фоне минимального количества других клинических проявлений заболевания. В большинстве случаев заболевание протекало по энтероколитическому варианту (48,28 %) с развитием инвазивной диареи и быстрым прогрессированием интоксикационного и абдоминального болевого синдрома.

Лабораторные показатели при кампилобактериозе характеризовались значительным разнообразием. У пациентов с тяжелыми формами кампилобактериоза, в отличие от среднетяжелых, отмечалось частое выявление анемии, повышение гематокрита и лейкопения. Требуется дальнейшего изучения феномена нарастания уровня фекального зонулина к 14 дню кампилобактериоза. Одним из ключевых факторов, определяющих элиминацию кампилобактерий, служило повышение уровня сывороточного IgA. В то же время уровень IL-8 в 1 сутки заболевания являлся значимым предиктором негладкого течения и развития кампилобактериоза тяжелой степени тяжести. *C. jejuni* чаще ассоциировался с гастроэнтеритическим вариантом кампилобактериоза у детей первых лет жизни. При выявлении *C. coli* чаще отмечалось негладкое течение кампилобактериоза с обширным поражением тонкой и толстой кишки. Выявление у *Campylobacter* spp. генотипа *flgE+*, *cdtA+*, *cdtC+* сопровождалось более тяжелым течением заболевания: длительным сохранением диареи и лихорадки, большей частотой жидкого стула в 1 сутки заболевания.

Глава 5. ТАКТИКА ТЕРАПИИ КАМПИЛОБАКТЕРИОЗА У ДЕТЕЙ

5.1 Сравнение эффективности различных схем лекарственной терапии

Для сравнения эффективности различных схем лечения кампилобактериоза было проведено одноцентровое исследование 84 детей 4–6 лет (таблица 37). Средний возраст составил 5,1 [4,3; 5,9] лет. В исследование вошло 35 мальчиков (50,00 %) и 35 девочек (50,00 %).

Таблица 37 – Распределение пациентов по полу и возрасту в исследуемых группах (N=84)

Группы пациентов	девочки		мальчики		Всего N	Средний возраст детей, лет	
	N	%	N	%		Me	sd
Группа 1	13	52,00%	12	48,00%	30	4	0,9
Группа 2	12	48,00%	13	52,00%	30	4	0,6
Группа 3	12	50,00%	12	50,00%	24	4	0,7
Всего	35	50,00%	35	50,00%	84	4	0,8

Пациенты группы 1 не получали антибактериальный препарат. Для лечения применялся пробиотик, содержащий 10^9 КОЕ *Lactobacillus* GG и 10^9 КОЕ *Bifidobacterium lactis* BB-12. Пациенты группы 2 получали азитромицин (перорально в дозировке 10 мг/кг сутки). Пациенты группы 3 в первые 2–3 дня лечения получали цефалоспорины III поколения (цефтриаксон парентерально в дозировке 50 мг/кг сутки) с последующим назначением азитромицина (перорально в дозировке 10 мг/кг сутки).

У 59 пациентов (84,29 %) кампилобактериоз протекал в среднетяжелой форме, у 11 детей (15,71 %) — в тяжелой. Тяжесть состояния была обусловлена выраженностью синдромов интоксикации и дегидратации. Среднее значение тяжести заболевания (число баллов по шкале Кларка) возрастало в ряду: группа 1 — $11,3 \pm 2,8$ балла, группа 2 — $12,2 \pm 2,5$ балла, группа 3 — $13,3 \pm 2,1$ балла. Однако, статистически значимых отличий между сравниваемыми группами по тяжести выявлено не было ($p > 0,05$).

Ведущими симптомами в клинической картине у пациентов были диарея и лихорадка. У 57 пациентов (67,85 %) отмечалось появление гемоколита. Данный синдром статистически значимо реже отмечался у детей в 1 группе по сравнению с другими ($p_{1,2}=0,03$, $p_{1,3}=0,01$). У пациентов исследуемых групп преобладали энтероколитический и гастроэнтеритический варианты заболевания (таблица 38).

Таблица 38 – Частота выявления различных форм кампилобактериоза у пациентов исследуемых групп (N=84)

Форма кампилобактериоза	Группа 1 (N=30)		Группа 2 (N=30)		Группа 3 (N=24)		Всего	p	Попарные сравнения
	N	%	N	%	N	%			
Токсическая	8	50,00%	4	25,00%	4	25,00%	16	0,22	$p_{1,2}=0,144$ $p_{2,3}=0,144$ -
Абдоминальная	12	52,17%	3	13,04%	8	34,78%	23	0,02	$p_{1,2}=0,011$ $p_{2,3}=0,235$ $p_{1,3}=0,084$
Энтероколитическая	5	18,52%	18	66,67%	4	14,82%	27	<0,001	$p_{1,2}<0,001$ $p_{2,3}=0,715$ $p_{1,3}<0,001$
Гастроэнтеритическая	5	27,78%	5	27,78%	8	44,44%	18	0,12	- $p_{2,3}=0,300$ $p_{1,3}=0,300$
Всего	30		30		24		84	0,556	- $p_{2,3}=0,322$ $p_{1,3}=0,322$

У 76 детей (90,48 %) заболевание протекало с умеренным (не более 20 кл/мкл) лейкоцитозом с палочкоядерным нейтрофильным сдвигом и синдромом колита в копрограмме. У 39 детей (46,4 %) было выявлено повышение уровня СРБ выявление более 30 мг/л ($Me=24,7$ [10,3; 49,76] мг/л). Подобные значения СРБ чаще ранее отмечались у пациентов с сальмонеллезом и шигеллезом [153] и могли быть основанием для назначения цефалоспоринов третьего поколения, имеющих высокую эффективность при данных инфекциях. Статистически значимых различий в частоте выявления симптомов кампилобактериоза у детей сравниваемых групп не было.

Повышение температуры тела имело место у 80 (95,23 %) больных. У большинства детей лихорадка носила фебрильный характер (n=48; 57,1 %). Средняя продолжительность лихорадки составила $2,8 \pm 1,8$ дней, диареи — $5,7 \pm 1,2$ дня (рисунок 37).

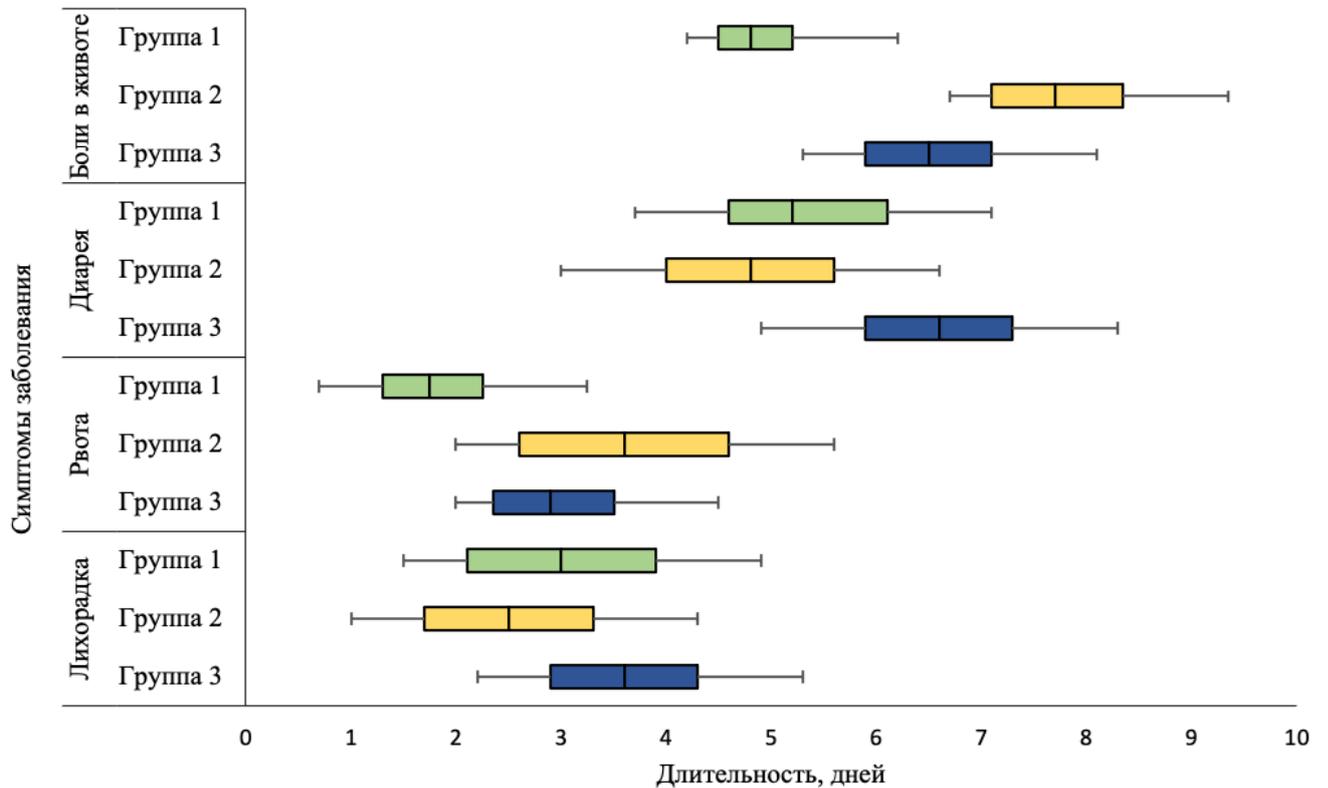


Рисунок 37 – Длительность сохранения симптомов кампилобактериоза у пациентов исследуемых групп (N=84)

Общая продолжительность антибактериальной терапии была статистически значимо выше у пациентов 3 группы ($6,8 \pm 1,7$ дней) по сравнению с группой 2 ($4,5 \pm 1,1$ дня, $p=0,03$). Стоит также отметить, что ни у одного пациента из группы 1 не возникло клинической необходимости назначения антибактериальных препаратов.

Длительность лихорадки, диареи и боли были наибольшими у детей из группы 3. У пациентов группы 2 отмечалось более быстрое купирование диареи по сравнению с пациентами 3 группы ($p=0,002$). Пациенты группы 1 по скорости разрешения всех остальных оцениваемых симптомов были сопоставимы с

пациентами группы 2 ($p > 0,05$), также показавшими быструю положительную клиническую динамику, и значительно превосходили пациентов группы 3 ($p < 0,001$). На 7 сутки отмечалась нормализация уровня СРБ у всех пациентов группы 1, 24 пациентов из группы 2 (80,00 %) и 16 пациентов (66,67 %) из группы 3 ($p = 0,006$).

6 пациентов из группы 1 (20,00 %), 8 из группы 2 (26,67 %) и 15 из группы 3 (62,50 %) не соответствовали критериям выздоровления от кампилобактериоза на 7 сутки с момента поступления в стационар ($P = 0,0026$, $P_{1,3} = 0,0084$, $P_{2,3} = 0,0015$). По результатам анализа полученных данных удалось установить, что у пациентов группы 3 негладкое течение кампилобактериоза отмечалось статистически значимо чаще, чем в группе 1, проявляющееся повторными рецидивами гемоколита или сохранением диарейного и болевого синдромов (таблица 39).

Таблица 39 – Результаты лечения кампилобактериоза на 7 сутки лечения (N=84)

Изучаемые признаки	Группа 1 (N=30)		Группа 2 (N=30)		Группа 3 (N=24)		Всего	P	Попарное сравнение
	N	%	N	%	N	%			
Повторное бактериовыделение	1	3,45%	1	3,45%	4	13,79%	6	0,105	$p_{1,3}=0,078$ $p_{2,3}=0,078$ -
Жидкий стул / стул с кровью	3	10,34%*	2	6,90%	3	10,34%	8	0,96	$p_{1,2}=0,590$ $p_{2,3}=0,590$
Сохранение диареи	4	13,79%	2	6,90%	5	17,24%	11	0,52	$p_{1,2}=0,338$ $p_{2,3}=0,169$ $p_{1,3}=0,051$
Сохранение болей	1	3,45%	4	13,79%	5	17,24%	10	0,228	$p_{1,2}=0,121$ $p_{2,3}=0,653$ $p_{1,3}=0,121$
Всего	6	20,69%	8	27,59%	15	51,72%	29	$P=0,036$	$P_{1,2}=0,539$ $P_{1,3}=0,0139$ $P_{2,3}=0,061$

Примечание – В группе 1 у 3 пациентов отмечались нарушения консистенции и частоты стула без явлений гемоколита.

Одним из факторов, которые могли бы объяснить высокую частоту негладкого течения кампилобактериоза у детей в группе 3, могло бы служить выраженное негативное воздействие антибактериальных препаратов на состав и разнообразие микробиоценоза кишечника.

Назначение одного (группа 2) или двух антибактериальных препаратов (группа 3), по данным исследования фекалий пациентов методом ПЦР-РВ на 7 сутки болезни, приводило к значимому снижению содержания ряда маркерных симбиотических микроорганизмов (рисунок 38).

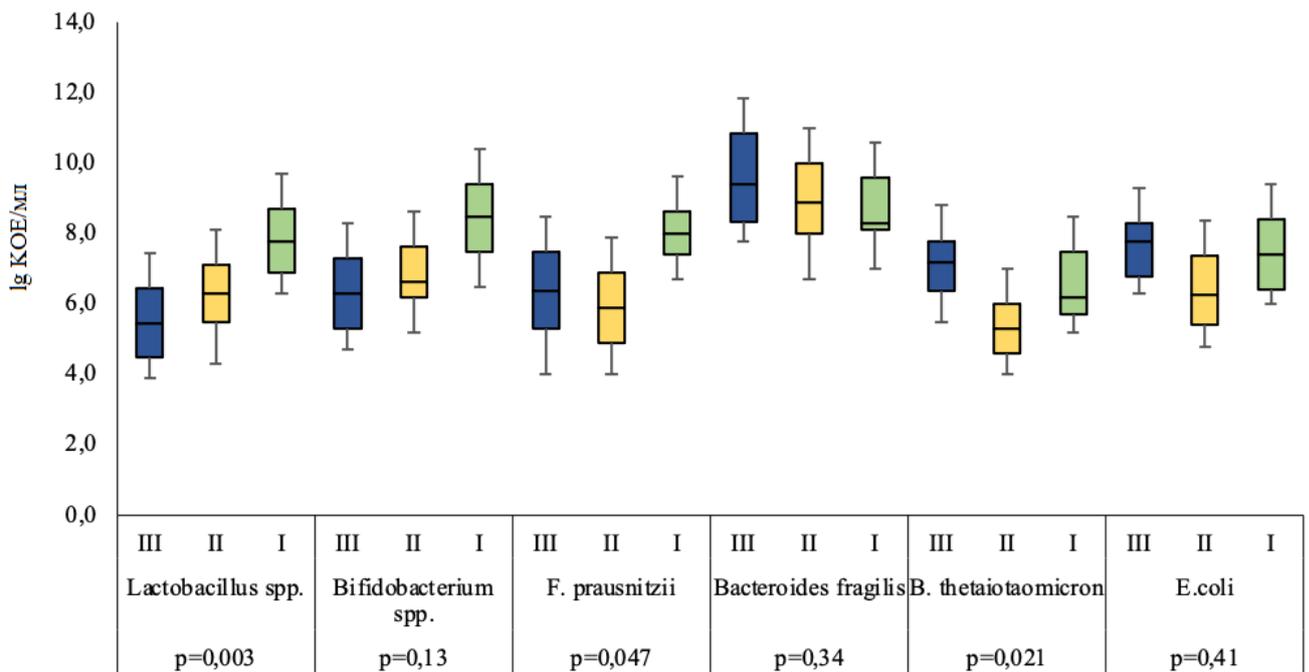


Рисунок 38 – Особенности микробиоценоза кишечника у детей на 7 сутки лечения кампилобактериоза в стационаре, по данным ПЦР в режиме реального времени (N=84).

Примечание – I – группа 1, II – группа 2, III – группа 3.

Наиболее выраженные изменения наблюдались в группе 3. Данная группа имела статистически значимо более низкие уровни *B. thetaiotaomicron* и *Lactobacillus* spp., чем группы 1 и 2 ($p=0,011$ и $0,031$). Снижение среднего уровня содержания микроорганизма относительно референсных значений наблюдалось в отношении *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp. и *F. prausnitzii* в группах 2 и 3. В

группе 1 средний уровень всех микроорганизмов находился в пределах референсных интервалов. *B. thetaiotaomicron* и *F. prausnitzii* играют определяющую в продукции бутирата и восстановлении гомеостаза после перенесенной инфекции. У 22 (75,86 %) детей с негладким течением кампилобактериоза уровень данных микроорганизмов был ниже референсных показателей более чем на 2 lg КОЕ/мл. В то же время у пациентов с благоприятным исходом инфекционного процесса подобное снижение наблюдалось только в 23 случаях (41,82 %, $p=0,03$). По всей видимости, значительное снижение *B. thetaiotaomicron* и *F. prausnitzii* свидетельствуют не только о выраженности нарушения микробиоценоза и сохраняющихся дисбиотических явлениях, но и может рассматриваться в качестве предиктора негладкого течения кампилобактериоза и замедленного восстановления кишечной микробиоты в целом.

Были выявлены статистически значимые отличия и в разнообразии кишечной микробиоты у пациентов исследуемых групп. Индекс α -разнообразия Шеннона (рисунок 39) кишечной микробиоты был статистически значимо ниже у пациентов из группы 3 по сравнению с группой 1 ($p = 0,002$).

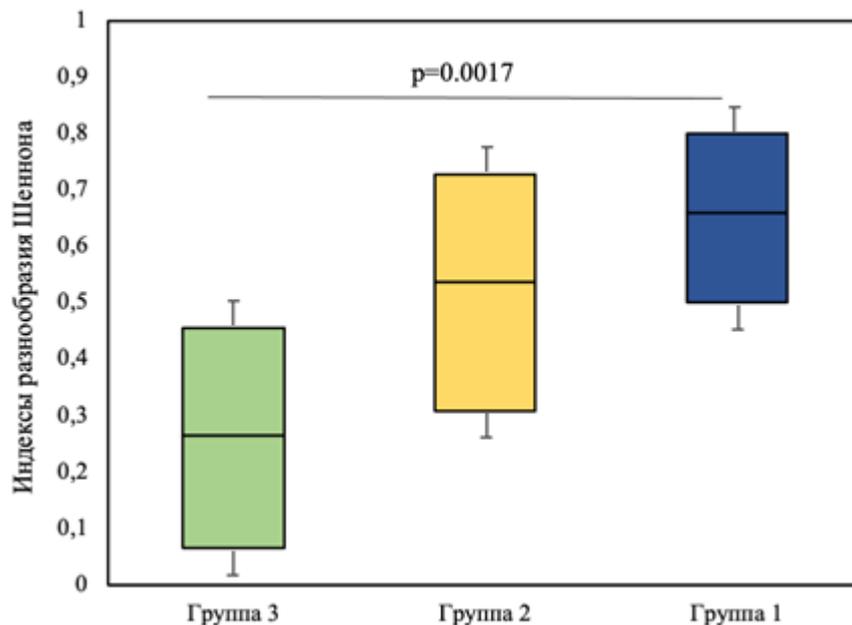


Рисунок 39 – α -разнообразие микробиоты у пациентов различных исследуемых групп на 7 сутки болезни (N=84)

Несмотря на статистическую значимость различий концентрации маркерных микроорганизмов между сравниваемыми группами, отсутствие информации о составе микробиоценоза до болезни не позволяет однозначно определить, является ли антибиотикотерапия ключевым фактором, нарушающим состав микробиоты кишечника. Однако, имеющиеся на сегодняшний день данные, полученные на экспериментальных моделях кампилобактериоза у лабораторных животных [61], свидетельствуют в пользу определяющей роли именно антибиотикотерапии в длительном нарушении микробиоценоза.

Таким образом, высокую эффективность при лечении кампилобактериоза как в отношении купирования симптомов заболевания, так и снижения рисков негладкого течения показала схема, основанная на монотерапии пробиотиком. В лечении тяжелых и среднетяжелых форм значительную эффективность сохраняют антибактериальные препараты группы макролидов. Назначение антибактериальных препаратов группы цефалоспоринов приводило к значимому нарушению качественного и количественного состава микробиоценоза кишечника, удлинению симптомов кампилобактериоза и негладкому течению заболевания.

Полученные результаты еще раз подтверждают значимость лабораторной диагностики кампилобактериоза. Быстрая идентификация возбудителя позволяет избежать ошибочного назначения тех антибактериальных препаратов, к которым *Campylobacter* spp. не чувствительны [73].

5.2 Факторы риска негладкого течения кампилобактериоза

Для выявления факторов, способствующих негладкому течению кампилобактериоза, были проанализированы клинические и лабораторные параметры пациентов, у которых заболевание протекало без явного клинического улучшения к 7 дню стационарного лечения или с повторным выделением кампилобактерий.

В качестве критериев «неудовлетворительных» результатов лечения, свидетельствующих о негладком течении кампилобактериоза, рассматривали:

1. Сохранение жидкой консистенции стула / наличия примеси крови в стуле.
2. Сохранение лихорадки.
3. Сохранение колитического синдрома по данным копрограммы.
4. Сохранение выраженного болевого синдрома.
5. Повторное выделение возбудителя.

Критериям негладкого течения кампилобактериоза соответствовали 34 пациента. Повторное бактериовыделение наблюдалось у 17 (29,82 %) из 57 детей, у которых был выделен микроорганизм при поступлении. Отсутствие санации имело место при всех вариантах кампилобактериоза и во всех возрастных группах пациентов. В исследование были включены 14 девочек (41,18 %) и 20 мальчиков (58,82 %). Средний возраст составил 7,9 [2,4; 14,2] лет.

Неудовлетворительным результатам лечения кампилобактериоза предшествовал более длительный период лихорадки, диареи, а также продолжительное сохранение примеси крови и слизи в кале (рисунок 40).

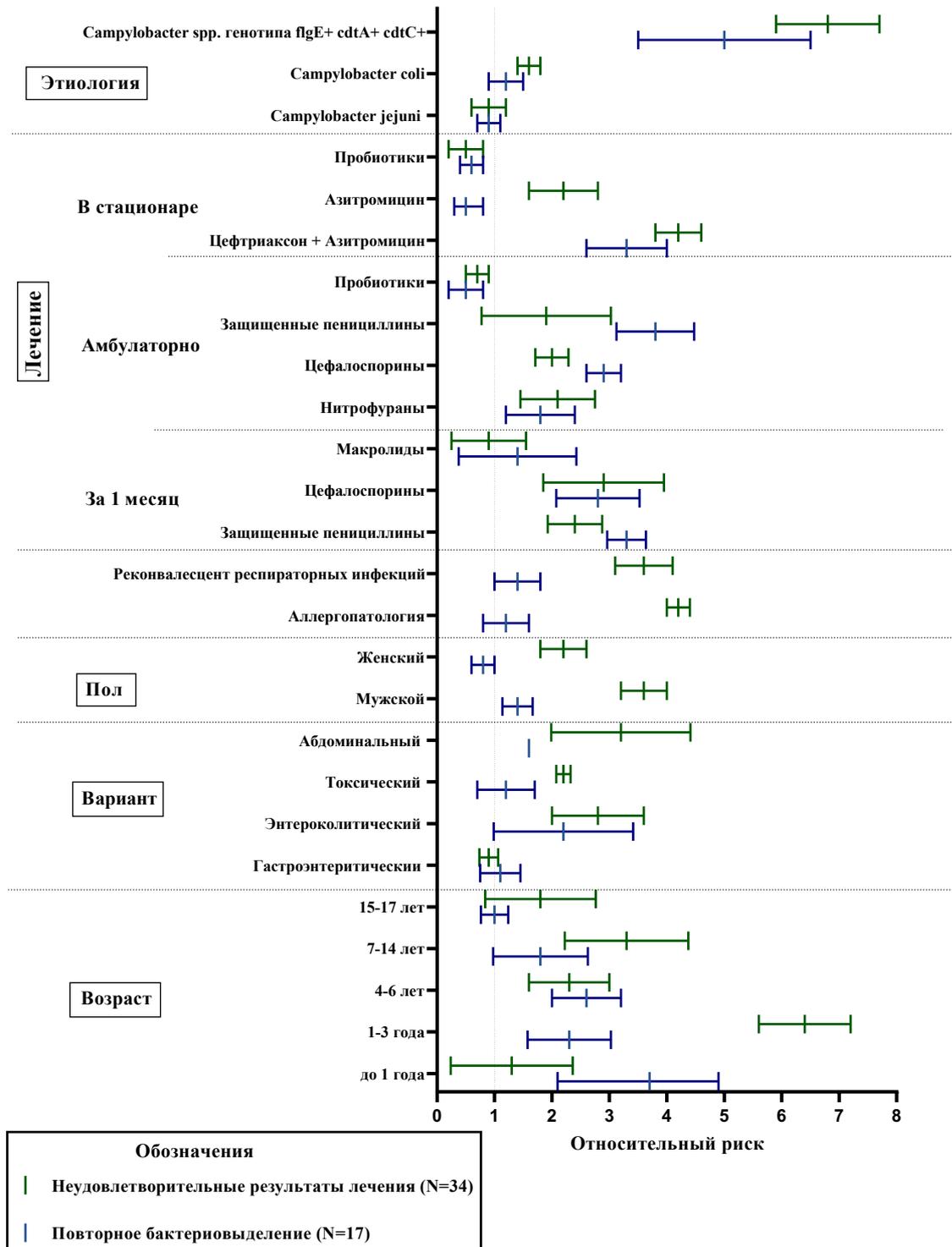


Рисунок 40 – Относительный риск неудовлетворительного результата лечения кампилобактериоза

Наиболее высокий риск негладкого течения кампилобактериоза был в возрастной группе от 1 до 3 лет (RR=6,4 [5,6; 7,2], $p<0,001$). Риск повторного

бактериовыделения был наибольшим у детей 1 года жизни (RR=3,7 [2,6; 4,9], p=0,012).

При сопоставлении рисков неблагоприятного течения при различных вариантах кампилобактериоза, несколько неожиданно наиболее высокий риск был выявлен при абдоминальном типе (RR=3,2 [4,4; 1,2]; p=0,03). Среднее значение общей тяжести абдоминального варианта по шкале Кларка уступало энтероколитическому и токсическому вариантам (p=0,003 и p=0,02, соответственно), однако это не препятствовало длительному сохранению симптомов заболевания и, вероятно, остаточных воспалительных процессов в слизистой кишечника. Вероятность негладкого течения возрастала при наличии у ребенка аллергопатологии (RR=4,2 [3,8; 4,0]; p=0,02), а также в течение 1 месяца после перенесенных респираторных инфекций (RR=3,6 [3,1; 4,1]; p=0,04).

Относительный риск затяжного бактериовыделения возрастал на фоне приема антибактериальных препаратов. Значение имело применение антибиотиков как в острый период заболевания, так и в течение месяца, предшествовавшего развитию кампилобактериоза. Наибольший риск формирования бактериовыделения отмечался при назначении за месяц до кампилобактериоза антибиотиков группы защищенных пенициллинов (RR=3,8 [3,1; 4,5]; p=0,01) и цефалоспоринов (RR=2,9 [2,6; 3,2]; p=0,04). В то же время при выборе на догоспитальном этапе в качестве альтернативы антибиотикам пробиотиков статистически значимо снижался и риск негладкого течения (RR=0,7 [0,5; 0,9]; p=0,04), и риск повторного бактериовыделения (RR=0,5 [0,2; 0,8]; p=0,001). Большое значение имел и выбор схемы лечения кампилобактериоза. Наибольшую эффективность и в отношении профилактики бактериовыделения (RR=0,6 [0,4; 0,8]; p<0,001), и в отношении снижения риска негладкого течения (RR=0,5 [0,2; 0,8]; p<0,001) показала схема, основанная на монотерапии пробиотиками. Применение макролидов значительно снижало риск повторного бактериовыделения кампилобактерий (RR=0,5 [0,2; 0,8]; p=0,01), но в ряде случаев сопровождалось негладким течением инфекционного процесса (RR=2,2 [1,6; 2,8]; p=0,13).

Наиболее значимым предиктором неблагоприятного течения кампилобактериоза было выявление у возбудителя генотипа *flgE+*, *cdtA+*, *cdtC+*.

Однако, несмотря на высокую статистическую значимость результатов изучения генома возбудителя, в практическом здравоохранении целесообразно использование для прогнозирования негладкого течения кампилобактериоза клинико-лабораторных параметров, доступных в условиях медицинских учреждений всех уровней.

Для разработки математической модели прогнозирования негладкого течения кампилобактериоза был проведен пошаговый дискриминантный анализ 28 факторов клинического и лабораторного течения кампилобактериоза. По результатам анализа была создана модель оценки вероятности развития негладкого течения кампилобактериоза основанная на расчете показателей линейных дискриминантных по формулам, основанным на коэффициентах, приведенных в таблице 40.

Таблица 40 – Модель прогноза негладкого течения кампилобактериоза (N=203)

Наименование признаков линейной дискриминантной функции (ЛДФ)	Единицы измерения и градации признаков	Коэффициенты		p
		ЛДФ1 (Низкая вероятность негладкого течения кампилобактериоза)	ЛДФ2 (Высокая вероятность негладкого течения кампилобактериоза)	
Уровень СРБ в 1 сутки	мг / л	5,94	7,23	0,01
Наличие гемоколита	0 – отсутствуют; 1 – присутствуют	8,47	18,56	0,03
Возраст от 1 до 3 лет	0 – не соответствуют 1 – соответствуют;	1,39	3,62	0,09
Лихорадка более 5 дней	0 – отсутствуют; 1 – присутствуют	5,36	6,37	0,004
Частота стула в 1 сутки	количество эпизодов	0,63	0,99	0,07
Константы	-	-65,34	-96,51	-

Разработанная модель прогноза применима для оценки рисков негладкого течения кампилобактериоза при поступлении больного в отделения стационара в первые трое суток заболевания.

Все признаки, включенные в модель, имели высокий ($p < 0,2$) уровень значимости и могут быть применены в клинической практике.

Модель позволяет классифицировать пациентов по двум уровням: низкая вероятность негладкого течения кампилобактериоза и высокая вероятность негладкого течения кампилобактериоза (таблица 41) и имеет вид:

$$\text{ЛДФ1} = -65,34 + 5,94 \times X_1 + 8,47 \times X_2 + 1,39 \times X_3 + 5,36 \times X_4 + 0,63 \times X_5;$$

$$\text{ЛДФ2} = -96,51 + 7,23 \times X_1 + 18,56 \times X_2 + 3,62 \times X_3 + 6,37 \times X_4 + 0,99 \times X_5.$$

Для решения задачи прогноза тяжести болезни в формулы ЛДФ подставляются значения включенных в модель признаков, полученных при обследовании конкретного больного, и производится решение уравнений. Оцениваемый пациент должен быть отнесен в ту группу, значения ЛДФ для которой оказались наибольшими.

При $\text{ЛДФ2} > \text{ЛДФ1}$ прогнозируется высокая вероятность негладкого течения кампилобактериоза, при $\text{ЛДФ1} < \text{ЛДФ2}$ прогнозируется низкая вероятность негладкого течения кампилобактериоза.

Таблица 41 – Классификационная матрица результатов прогнозирования негладкого течения кампилобактериоза у детей (N=203)

Исходы	Прогнозируемые			Прогнозируемая вероятность исходов, %
	Удовлетворительный результат лечения	Неудовлетворительный результат лечения	Всего детей	
Удовлетворительный результат лечения	166	1	167	98,2%
Неудовлетворительный результат лечения	2	34	36	93,9%
Всего в прогнозе	168	35	203	97,5%

Примечание – по строкам – классификация соответственно базе данных; по столбцам – классификация соответственно прогнозу.

Оценка качества созданной модели показала, что классификационная способность (точность) составила 97,5 % (таблица 41). Чувствительность модели составила 98,2 %, специфичность — 93,9 %. Модель основана на минимально необходимом числе анализируемых клинико-лабораторных признаков и может быть использована для оптимизации тактики ведения пациента.

Таким образом, были выявлены особенности течения кампилобактериоза, свидетельствовавшие о высоком риске развития негладкого течения. На основании них была разработана модель прогноза негладкого течения кампилобактериоза, основанная на изучении факторов, достоверно повышавших вероятность развития неудовлетворительного результата лечения, к которым относились: повышение уровня СРБ и частота стула в 1 сутки заболевания, наличие гемоколита, возраст пациента от 1 до 3 лет и лихорадка более 5 дней.

5.3 Персонафицированная симбионтная терапия детей с негладким течением кампилобактериоза

Пациенты с неудовлетворительными результатами терапии кампилобактериоза представляют несомненные трудности для практикующих врачей в плане выбора эффективной тактики лекарственной терапии. В большинстве случаев они не нуждаются в назначении антибактериальных препаратов, не соответствуя критериям их рационального назначения.

Высокая эффективность патогенетической терапии, которая была продемонстрирована у пациентов в условиях острого периода кампилобактериоза на этапе стационарного лечения, результаты исследований *in vitro* и на экспериментальных моделях, а также значительные успехи, достигнутые при терапии пробиотиками и аутопробиотиками при других нарушениях желудочно-кишечного тракта у детей и взрослых, явились основанием для применения персонафицированной симбионтной терапии как основного инструмента коррекции подобного негладкого течения.

В проспективное исследование было включено 34 ребенка с неудовлетворительными результатами терапии кампилобактериоза. Параметры, явившиеся основанием для отнесения пациентов к группе негладкого течения кампилобактериоза представлены в таблице 42.

Таблица 42 – Частота выявления неудовлетворительных результатов терапии кампилобактериоза у пациентов исследуемых групп (N=34)

Параметр	N	%
Сохранение жидкой консистенции стула	15	44,12%
Наличие примеси крови в стуле	15	44,12%
Сохранение лихорадки	13	38,24%
Сохранение колитического синдрома в копрограмме	18	52,94%
Сохранение болевого синдрома	21	61,76%
Повторное выделение возбудителя	12	35,29%
Сохранение жидкой консистенции стула / наличия примеси крови в стуле	13	38,24%
Всего	34	–

Пациенты группы А (n=15) получали аутопробиотик *E. faecium*, пациенты группы II получали пробиотик *E. faecium* L3 (n=19). У всех детей также осуществляли коррекцию питания, соответствующую периоду кампилобактериоза и возрасту пациента [30]. Пациенты были сопоставимы по возрасту (1,5 [1,2; 1,8] лет и 1,6 [1,2; 2,0] лет соответственно ($p=0,41$)) и полу ($p=0,73$). 1 пациент из группы II был исключен из исследования на 2-й день в связи с невыполнением протокола исследования.

На фоне проводимой терапии отмечалась положительная динамика клинических проявлений в обеих исследуемых группах. При оценке абдоминальных болей было установлено, что частота предъявления данной жалобы в группе А уменьшилась с 73,33 % (n=11) до 13,33 % (n=2; $p<0,001$) и 52,63 % (n=10) до 15,79 % (n=3; $p=0,017$). Отмечалась отчетливая тенденция по нормализации частоты и улучшению консистенции стула. В группе А частота диареи до лечения наблюдалась у 8 детей (53,33 %), а после терапии — у 1 (6,67 %; $p=0,005$), в группе II — с 36,84% (n=7) до 10,53% (n=1; $p=0,56$). Добиться

исчезновения примеси крови в стуле, лихорадки и колитического синдрома в копрограмме удалось у всех пациентов обеих групп.

При эффективности проводимой терапии были выявлены статистически значимые различия длительности сохранения абдоминальных болей и диареи (таблица 43).

Таблица 43 – Длительность сохранения симптомов заболевания у пациентов исследуемых групп (N=34)

Параметр	Группа П (n=19)	Группа А (n=15)	Р
Диарея, дней	3,6±1,1	2,1±0,6	0,04
Абдоминальные боли, дней	4,8±1,0	2,3±1,1	0,01
Метеоризм, дней	5,1±1,0	2,9±1,1	0,08
Длительность сохранения любых симптомов заболевания, дней	7,2±1,7	8,2±1,8	0,38

Изучение изменений копрограммы на фоне приема пробиотиков в сравниваемых группах детей (таблица 44) позволило установить положительную динамику в виде улучшения большинства макроскопических (консистенция, цвет) и микроскопических характеристик (крахмал внеклеточный, перевариваемая растительная клетчатка, детрит).

Таблица 44 – Сравнительная оценка результатов копрологического исследования у пациентов исследуемых групп (N=34)

Исследуемые показатели	Частота отклонения показателей от референсных значений															
	До начала лечения (1)						После лечения (2)						р			
	Группа П (n=19)		Группа А (n=15)		Всего (n=34)		Группа П (n=19)		Группа А (n=15)		Всего (n=34)		П1-П2	А1-А2	1-2	П2-А2
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%				
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Слизь	3	15,7 9%	2	13,33 %	5	14,7 1%	1	5,26%	1	6,67 %	2	5,88 %			*	
Кровь	8	42,1 1%	7	46,67 %	15	44,1 2%	1	5,26%	1	6,67 %	2	5,88 %	+	+	+	
Крахмал внутриклеточ.	5	26,3 2%	4	26,67 %	9	26,4 7%	2	10,53%	0	0,00 %	2	5,88 %			+	
Крахмал внеклеточный	9	47,3 7%	8	53,33 %	17	50,0 0%	3	15,79%	1	6,67 %	4	11,76 %				*

Продолжение таблицы 44

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Мышечные волокна с исчерч.	10	52,6 3%	9	60,00 %	19	55,8 8%	4	21,05%	0	0,00 %	4	11,76 %			+	
Мышечные волокна без исчерченности	13	68,4 2%	12	80,00 %	25	73,5 3%	3	15,79%	1	6,67 %	4	11,76 %	+	+		*
Жир нейтральный	7	36,8 4%	5	33,33 %	12	35,2 9%	6	31,58%	1	6,67 %	7	20,59 %		+	*	*
Мыла	3	15,7 9%	4	26,67 %	7	20,5 9%	2	10,53%	1	6,67 %	3	8,82 %		*	*	
Кристаллы	4	21,0 5%	4	26,67 %	8	23,5 3%	0	0,00%	0	0,00 %	0	0,00 %				
Растительная клетчатка непереваримая	11	57,8 9%	9	60,00 %	20	58,8 2%	3	15,79%	0	0,00 %	3	8,82 %	+		+	
Растительная клетчатка переваримая	8	42,1 1%	6	40,00 %	14	41,1 8%	2	10,53%	1	6,67 %	3	8,82 %	+	+	+	
Детрит	12	63,1 6%	13	86,67 %	25	73,5 3%	3	15,79%	1	6,67 %	4	11,76 %	*	+	+	
Иодофильная флора	13	68,4 2%	10	66,67 %	23	67,6 5%	2	10,53%	2	13,33 %	4	11,76 %	+	+	+	

Примечания

1 1 – до лечения, 2 – после курса терапии.

2 * – $p < 0,05$, + – $p < 0,001$.

3 $r_{п1-п2}$ – значимость различий у пациентов до и после терапии пробиотиком; r_{A1-A2} – значимость различий у пациентов до и после терапии аутопробиотиком, $r_{п1-п2}$ – значимость различий у пациентов до и после терапии в обеих группах; $r_{п1-п2}$ – значимость различий у пациентов различных групп после терапии.

После проведения курса пробиотиков отмечалось статистически значимое снижение частоты выявления в копрограмме внеклеточного крахмала, слизи и крови, мышечных волокон и нейтрального жира. При применении аутопробиотиков частота выявления нейтрального жира, мышечных волокон и крахмала была статистически значимо ниже, чем в группе пациентов, получавших пробиотик.

Состава микробиоценоза кишечника по данным ПЦР-РВ до начала лечения характеризовался снижением уровня *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *B. thetaiotaomicron* и *F. prausnitzii* относительно референсных значений. Подобные параметры микробиоценоза могут рассматриваться в качестве фактора,

предрасполагающего к негладкому течению кампилобактериоза и длительной персистенции кампилобактерий. Сравнение полученных данных между группами с использованием U-критерия Манна — Уитни не позволило выявить значительных отличий между сравниваемыми группами, что говорило о сопоставимом исходном составе микробиоценозе. Анализ результатов исследования микробиоты и после назначения пробиотиков в группе А и группе П позволил выявить ряд статистически значимых различий (рисунок 41).

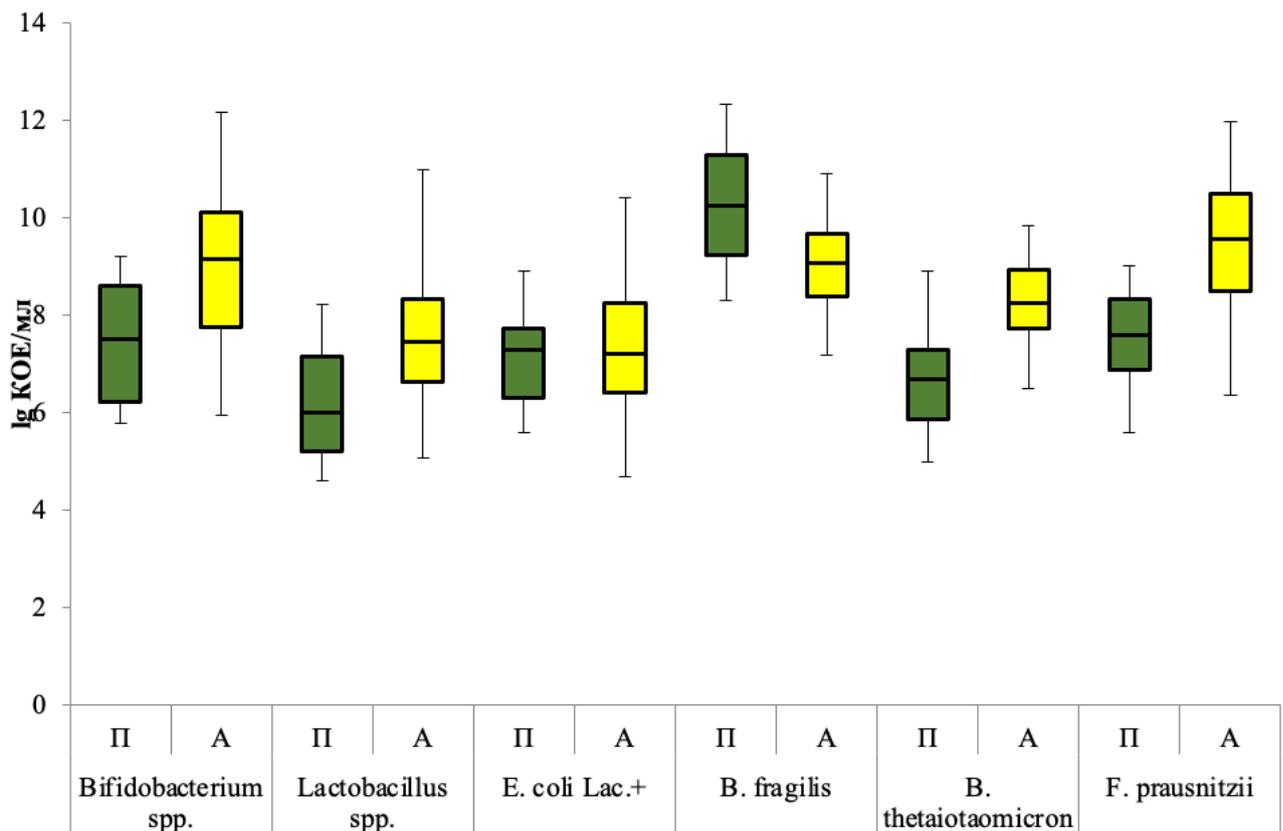


Рисунок 41 – Состав микробиоценоза кишечника у пациентов с негладким течением кампилобактериоза после завершения терапии пробиотиками и аутопробиотиками (N=34)

Примечание – П – пробиотики; А – аутопробиотики.

При терапии аутопробиотиками отмечалось значительное повышение среднего уровня содержания *F. prausnitzii* по сравнению с терапией пробиотиками ($p=0,006$). В группе П был выявлен статистически достоверно более высокий уровень *B. fragilis*. Данный микроорганизм в острый период кампилобактериоза

ассоциировался с более тяжелым течением инфекционного процесса и способен выступать в качестве условно-патогенной флоры. Как результат пробиотической терапии у 26 пациентов отмечалось полное разрешение симптомов заболевания. Добиться выздоровления от кампилобактериоза не удалось у 8 детей (23,53 %): у 2 пациентов (13,33 %) из группы А и 6 пациентов (31,57 %) из группы П (таблица 45).

Таблица 45 – Частота сохранения клинических симптомов и повторного выделения возбудителя кампилобактериоза после терапии пробиотиком или аутопробиотиком (N=34)

Параметр	Группа П (n=19)		Группа А (n=15)		Всего	P
	N	%	N	%		
Повторное бактериовыделение	1	5,26%	0	0	1	–
Сохранение гемоколита	0	0	0	0	0	–
Сохранение диареи	1	5,26%	1	6,67%	2	0,86
Сохранение абдоминальных болей	3	15,79%	2	13,33%	5	0,84
Сохранение метеоризма	2	10,53%	0	0	2	-
Всего	6	31,58%	2	13,33%	8	0,21

Существующие подходы к лечению кампилобактериоза не позволяют полностью исключить негладкого течения заболевания, которое составляет по данным разных авторов от 10 до 26 % [185, 282]. Частота негладкого течения у пациентов в данном исследовании составила 15,76 %, что согласуется с данными других авторов. Подобная высокая частота свидетельствует о необходимости разработки алгоритмов коррекции данных состояний. Полученные результаты свидетельствуют о возможности применения как пробиотика *E. faecium* L3, так и аутопробиотиков для лечения негладкого течения кампилобактериоза. Эффекты, полученные в ходе терапии аутопробиотиком, превосходили результаты терапии пробиотиком: персонифицированная терапия аутопробиотиками показала более быструю положительную клинико-лабораторную динамику, а также более

высокую частоту выздоровления. Клинические и лабораторные результаты согласуются и с изменениями параметров микробиоценоза кишечника. Использование аутопробиотических штаммов энтерококка способствовало более полному восстановлению количественного и качественного состава микробиоты.

Таким образом, в ходе оценки различных схем терапии кампилобактериоза у детей было показано, что высокую эффективность как в острый период заболевания, так и при формировании негладкого течения заболевания или затяжного бактериовыделения имеет применение пробиотиков и аутопробиотиков. У пациентов с кампилобактериозом тяжелой степени эффективными остаются антибактериальные препараты группы макролидов. Их применение значительно снижает риск затяжного бактериовыделения, но допускает формирование негладкого течения заболевания. Стоит, однако, признать, что данные о нарастающей резистентности кампилобактерий к данной группе препаратов, свидетельствуют о необходимости постоянного пересмотра эффективности макролидов в дальнейшем.

Монотерапия пробиотиками была эффективна у пациентов с кампилобактериозом как легкой, так и средней тяжести. Применение данной схемы демонстрировало наиболее высокую частоту достижения критериев излеченности. К негативным последствиям приводило применение антибактериальных препаратов других групп, отличных от макролидов. Их использование как для лечения кампилобактериоза, так и в предшествующий кампилобактериозу период приводило к утяжелению течения инфекции, повышению риска негладкого течения и повторного бактериовыделения. Пациенты с вынужденной сменой антибактериального препарата составили большинство группы с неудовлетворительными результатами лечения кампилобактериоза. Возможной причиной этому явилось более значимое угнетение микробиоценоза кишечника, замедляющее процессы репарации слизистой оболочки и восстановления гомеостаза кишки. Подробный анализ применения антибиотиков при кампилобактериозе, а также других факторов, влияющих на получение неудовлетворительных результатов лечения, позволил создать математическую

модель прогноза негладкого течения заболевания. Факторами формирования негладкого течения кампилобактериоза у детей явились повышение уровня СРБ, наличие гемоколита, возраст 1–3 года, °С, лихорадка более 5 дней, частота стула в 1 сутки заболевания. Применение модели прогнозирования позволяет выявить пациентов, имеющих высокие риски негладкого течения кампилобактериоза, в том числе для применения методов персонафицированной терапии.

Применение аутопробиотических *E. faecium* показало себя наиболее эффективным инструментом коррекции симптомов заболевания при неудовлетворительных результатах стартовой терапии кампилобактериоза. При сокращении времени приготовления аутопробиотика, в частности за счет создания биобанков фекальной микробиоты, их применение может быть расширено и на острый период инфекции, что может способствовать дальнейшему улучшению результатов лечения.

Глава 6. ПРОГНОЗИРОВАНИЕ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ИСХОДОВ И ТАКТИКА ДИСПАНСЕРНОГО НАБЛЮДЕНИЯ ДЕТЕЙ

6.1 Результаты катamnестического наблюдения пациентов, перенесших кампилобактериоз

В исследование были включены 203 ребенка, перенесшие кампилобактериоз, однако весь период наблюдения (12 месяцев) прошли только 149 (73,4 %) пациентов (рисунок 42). Наибольшее число пациентов (n=38) выбыли из исследования в период с 6 по 9 месяцы наблюдения (третья — четвертая контрольные точки), что позволило частично учитывать их результаты при анализе.

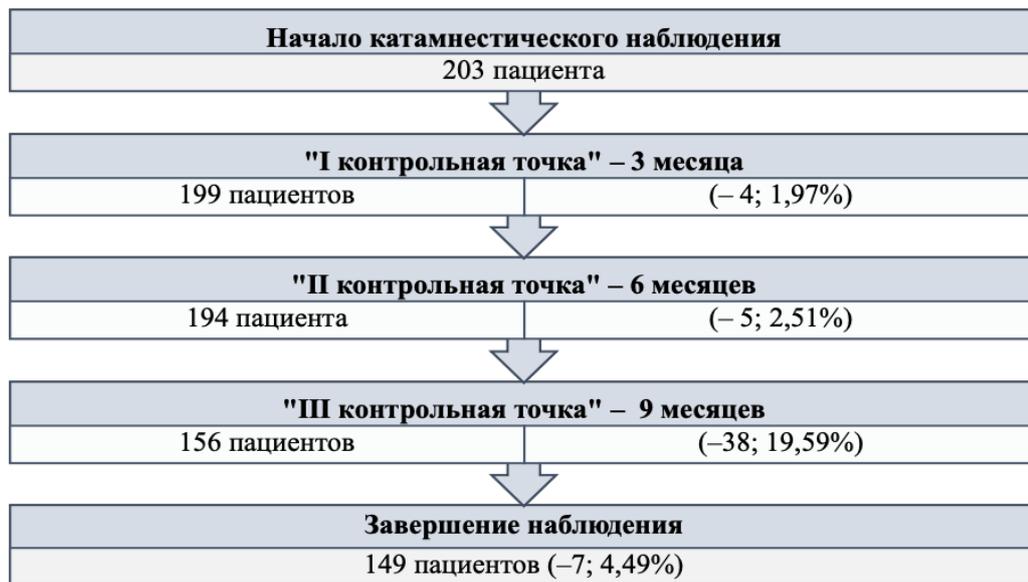


Рисунок 42 – Изменения количества пациентов за время катamnестического наблюдения (N=203)

Наиболее частыми причинами исключения из исследования становились отказ от участия (n=19; 35,2 %), инфекционные заболевания других органов и систем, потребовавшие стационарного лечения и/или приема антибактериальных препаратов (n=14; 25,9 %), повторные эпизоды острых кишечных инфекций

тяжелой и средней степени тяжести ($n=12$; 22,2 %), нарушение протокола наблюдения ($n=9$; 16,7 %). Анализ результатов катamnестического исследования осуществлялся на основании оценки клинических симптомов в 5 контрольных точках (0, 3, 6, 9, 12 месяцев). У 52 детей (25,62 %) жалобы на изменения состояния здоровья сохранялись с момента завершения лечения по поводу кампилобактериоза (рисунок 43). Число пациентов с симптомами ФРОП превосходило аналогичную группу детей, перенесших вирусные гастроэнтериты, где частота подобных симптомов составила 12,19 % [36].

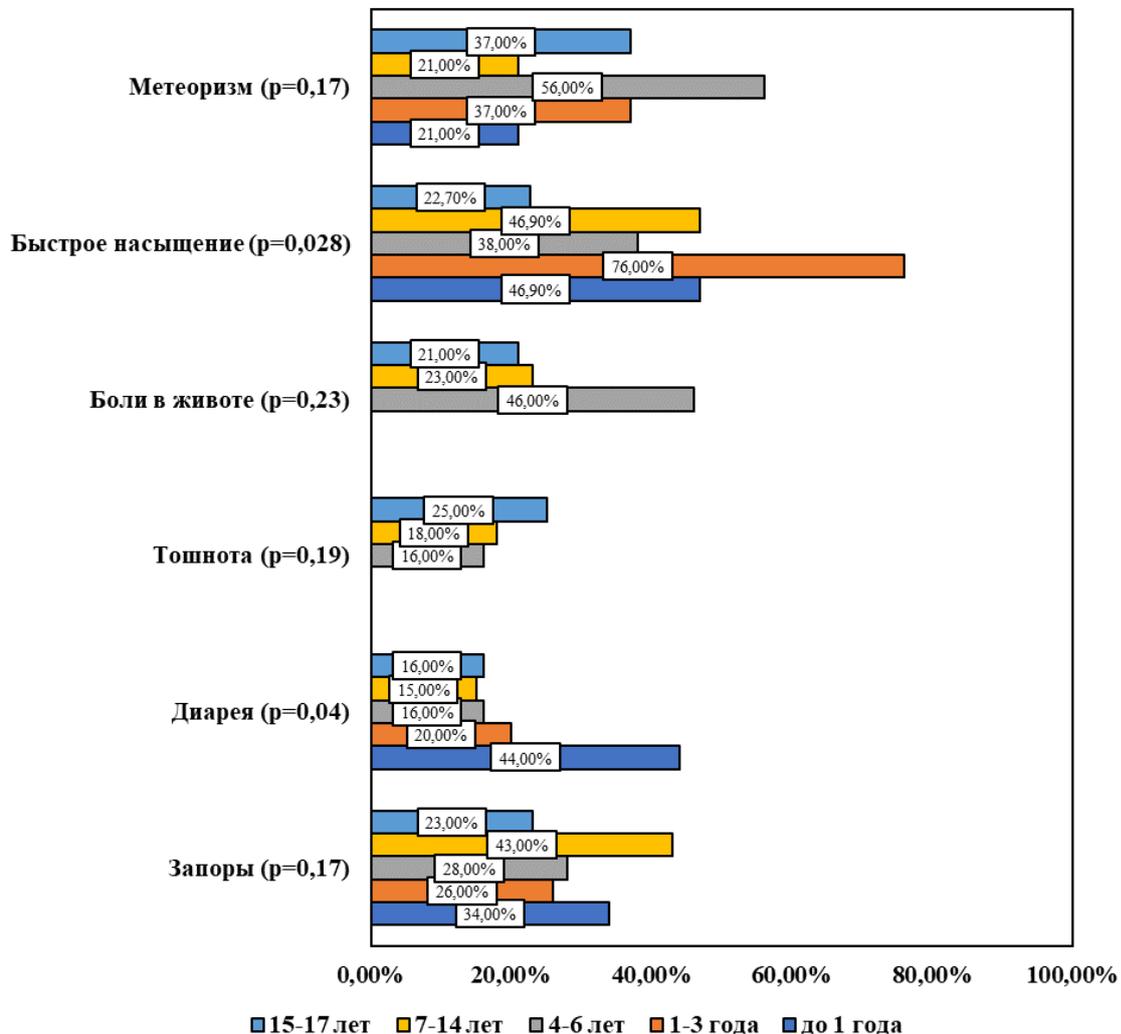


Рисунок 43 – Частота выявления симптомов ФРОП в начале катamnестического наблюдения у детей различных возрастов, перенесших кампилобактериоз (N=203)

Примечание – В группах детей младшего возраста болевой синдром и тошнота не оценивались.

Только у 61 пациента (40,94 %) за весь период катамнестического наблюдения не было выявлено значимых симптомов возможной постинфекционной патологии желудочно-кишечного тракта. Среди них преобладали пациенты старших возрастных групп (7–14 лет – n=19, 15–17 лет n=23), с гастроэнтеритическим вариантом кампилобактериоза (n=42). Ни у одного из них также не было выявлено повторного выделения *Campylobacter* spp. из кала.

У пациентов различных возрастных групп были выявлены различия в частоте регистрации различных симптомов дисфункции желудочно-кишечного тракта. Так у большего количества пациентов в возрасте 1–3 лет отмечали более частое раннее насыщение (n=30; 76,92 %, p=0,028) по сравнению с пациентами других возрастных групп. Нарушения консистенции стула и повышение его частоты наблюдалось в наибольшей доле случаев у детей до года (n=9; 42,11 %, p=0,043). Частота запоров была максимальной в группе детей 3 до 7 лет (n=18; 38,30 %, p=0,171). Диарея достоверно чаще наблюдалась у детей до года (n=13; 44,30 %, p=0,016).

Сопоставление частоты постинфекционных проявлений ФРОП у детей с различными вариантами кампилобактериоза показало ряд отличий. Пациенты с энтероколитическим вариантом чаще отмечали жалобы на сильные (5–6 баллов по шкале) абдоминальные боли (n=13; 14,77 %), вздутие живота и метеоризм (n=10; 11,36 %), частый стул (n=7; 7,95 %), быстрая насыщаемость (n=6; 6,82 %), запоры (n=7; 7,95 %). У детей с абдоминальным вариантом кампилобактериоза в катамнестический период отмечалось сочетание метеоризма и флатуленции (n=4; 21,05 %), вздутие живота (n=3; 15,79 %), снижение аппетита (n=3; 15,79 %) и умеренный дискомфорт в животе (n=3; 15,79 %). У 3 пациентов имели место запоры (n=2; 10,53 %) или диарея (n=1; 5,26 %). Реконвалесценты гастроэнтеритического варианта кампилобактериоза отмечали преобладание симптомов поражения верхних отделов пищеварительного тракта: быстрого насыщения (n=12; 15,38 %), тошноты (n=10; 12,82 %), умеренных болей в эпигастральной области (n=13; 16,67 %).

Появление жалоб со стороны органов пищеварения у большинства детей появлялось в период с 3 по 6 месяц (вторая — третья контрольные точки) наблюдения ($n=76$; 37,44 %, $p=0,003$). Наиболее часто пациенты отмечали жалобы на нарушения консистенции и частоты дефекации по типу запоров ($n=33$; 23,1 %; $p=0,04$): наблюдались эпизоды задержки стула до 2 раз в неделю, изменения консистенции стула (плотный, комочками, тип 1–2 по бристольской шкале оценки стула). Данные симптомы имели место у 22 (15,6 %) детей: у 13 (22,0 %) с абдоминальным вариантом, у 6 (11,9%) — с энтероколитическим и у 3 (10,7%) — с гастроэнтеритическим. Значительно реже ($n=15$; 11,3 %, $p<0,001$) отмечалась учащенная дефекация (3 и более раз в сутки). Частота выявления диареи была наибольшей ($n=13$; 6,70 %) в период с 3 по 6 месяцы наблюдения (вторая — третья точки наблюдения), имела отчетливую тенденцию к снижению в динамике наблюдения за пациентами. На 9 месяц наблюдения данный симптом отмечали у 3 (1,92 %, $p=0,041$) детей. Стоит также отметить, что длительность диарейного синдрома только в двух случаях превышала 14 дней (средняя продолжительность — $8\pm 4,8$ дней), в клинической картине не было обнаружено признаков интоксикации, появлению симптомов не предшествовали погрешности в питании, что делало маловероятным интеркуррентное течение других инфекционных заболеваний.

Среди жалоб на первое место по значимости пациенты и их представители ставили абдоминальный болевой синдром. Наибольшая интенсивность и частота болей в животе регистрировалась в середине катamnестического наблюдения. На 6 месяце наблюдения (третья контрольная точка) подобные симптомы отмечали у 33 (17,01 %) детей. Частота болевого синдрома снижалась в динамике наблюдения и к 12 месяцу (пятая контрольная точка) и составила 7,2 % ($p=0,032$).

При сопоставлении выраженности болевого синдрома у пациентов с разными вариантами течения острого периода кампилобактериоза было установлено, что наиболее сильные боли (рисунок 44) имели место у детей, перенесших абдоминальный вариант кампилобактериоза ($p<0,001$).

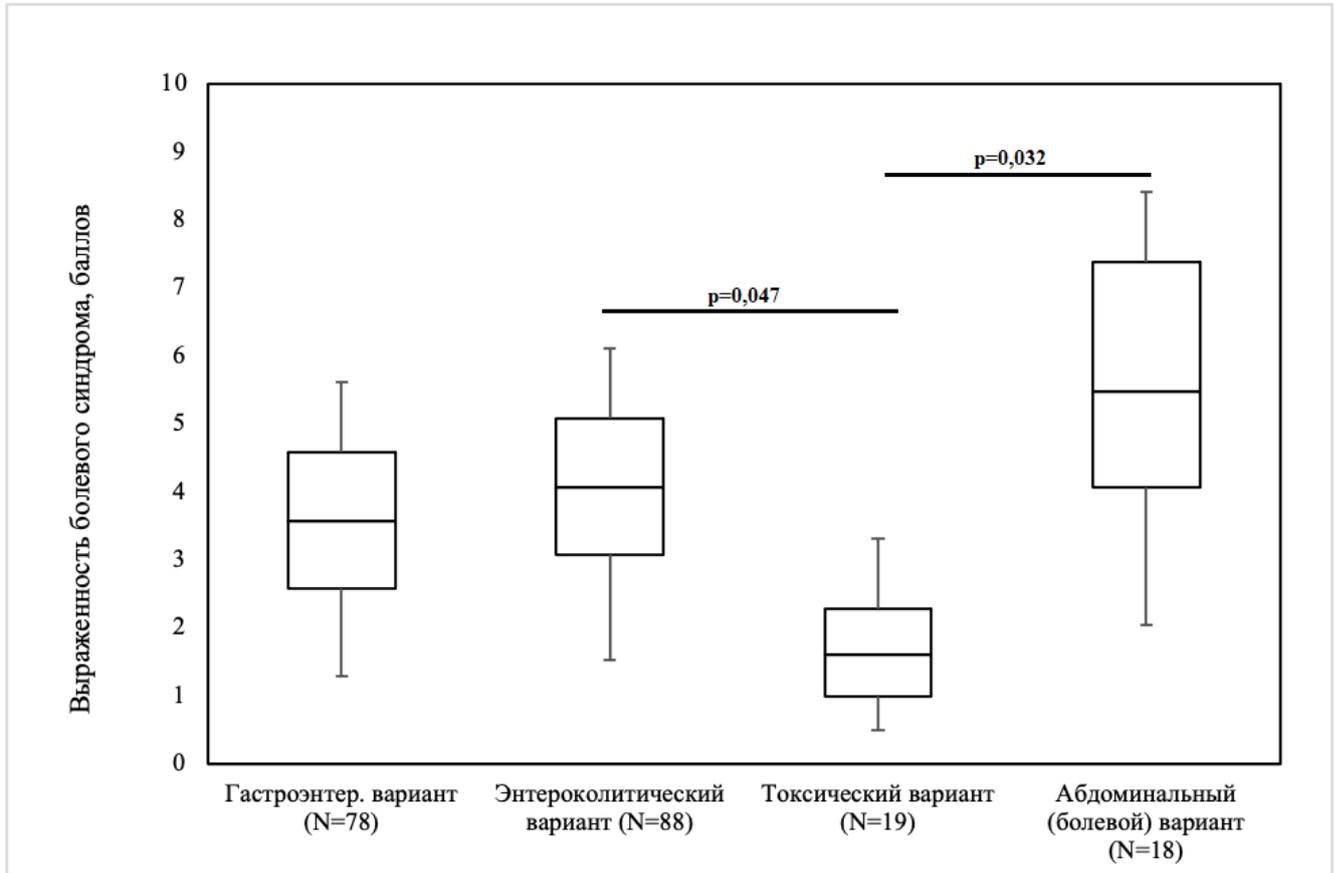


Рисунок 44 – Среднее значение болевого синдрома на 6 месяц катamnестического наблюдения у пациентов с различными вариантами кампилобактериоза (N=194)

Максимальной интенсивности при всех вариантах кампилобактериоза они достигают к 6 месяцу после начала наблюдения (третья контрольная точка). Выраженность болевого синдрома характеризовалась высокой изменчивостью за все время наблюдения. Ко второй контрольной точке исследования (3 месяц) он характеризовался умеренной интенсивностью (2–4 балла по шкале оценки боли), кратковременными, нестойкими болями без четкой локализации, которые не оказывали влияния на поведение ребенка и его социальную активность. К третьей контрольной точке интенсивность и длительность сохранения болей возрастала (рисунок 45). У 6 детей (4,4 %) боли оказывали влияние на активность ребенка, заставляли его отказаться от общения или прервать игру, сопровождалась беспокойством и плачем. В ряде случаев (n=12; 8,7 %) отмечалась необходимость

проведения комплексной медикаментозной терапии (пробиотические препараты, спазмолитики).

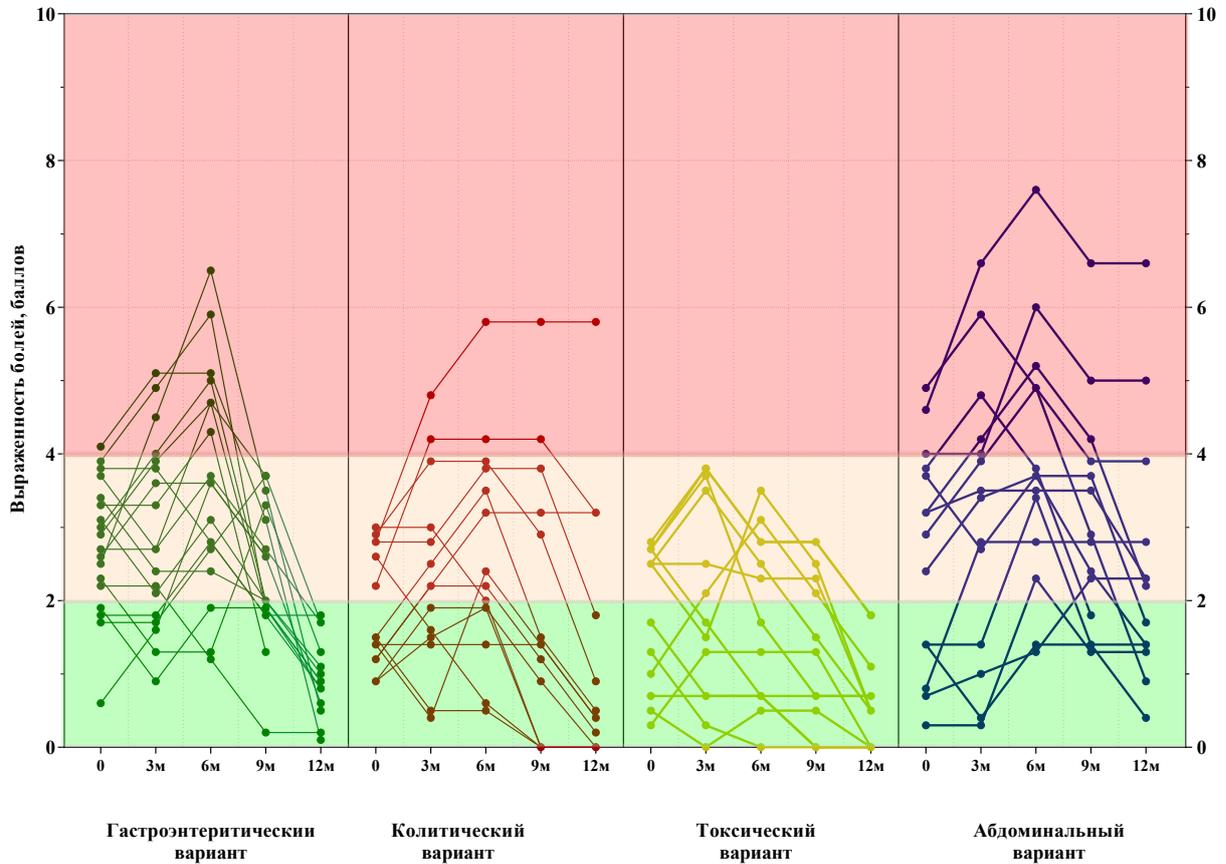


Рисунок 45 – Динамика изменения болевого синдрома в ходе катamnестического наблюдения у пациентов с различными вариантами кампилобактериоза (N=60)

Примечание – 3м – вторая контрольная точка, 3 месяца; 6м – третья контрольная точка, 6 месяцев; 9м – четвертая контрольная точка, 9 месяцев; 12м – пятая контрольная точка, 12 месяцев.

В большинстве случаев родители отмечали у ребенка уменьшение болей в животе после дефекации. Выявить связь боли с характером принимаемой пищи или особенностями дефекации не удалось (таблица 46).

Таблица 46 – Особенности болевого синдрома у пациентов, перенесших кампилобактериоз (N=60)

Параметр	Гастроэнтер. вариант (N=18)		Энтероколит. вариант (N=14)		Токсический вариант (N=12)		Абдоминальный вариант (N=16)		p	Всего (N=60)	
	N	%	N	%	N	%	N	%		N	%
Локализация											
Без четкой локализации	10	55,56%	4	28,57%	10	83,33%	0	0,00%	*	24	40,00%
Околопупочная область	5	27,78%	2	14,29%	2	16,67%	6	37,50%	*	15	25,00%
Фланки живота	1	5,56%	6	42,86%	0	0,00%	8	50,00%		15	25,00%
Нижние отделы	2	11,11%	2	14,29%	0	0,00%	2	12,50%		6	10,00%
Длительность болей											
До 30 минут	11	61,11%	9	64,29%	10	83,33%	3	18,75%	+	33	55,00%
30 минут — 1 час	2	11,11%	6	42,86%	2	16,67%	7	43,75%	*	17	28,33%
Более 1 часа	0	0,00%	2	14,29%	0	0,00%	6	37,50%	*	8	13,33%
Чем купировались											
Самостоятельно	11	61,11%	2	14,29%	12	100,00%	2	12,50%	+	27	45,00%
После дефекации	2	11,11%	6	42,86%	0	0,00%	6	37,50%	+	14	23,33%
После приема спазмолитиков	3	16,67%	6	42,86%	0	0,00%	8	50,00%	*	17	28,33%
Связь с приемом пищи											
Молочные продукты	5	27,78%	8	57,14%	2	16,67%	10	62,50%	*	25	41,67%
Фрукты	6	33,33%	9	64,29%	3	25,00%	11	68,75%		29	48,33%
Жирные продукты	7	38,89%	10	71,43%	4	33,33%	12	75,00%	*	33	55,00%
Любые продукты	8	44,44%	11	78,57%	5	41,67%	13	81,25%	*	37	61,67%

Примечания

1 В скобках указано количество пациентов, предъявляющих жалобы на боли в животе.

2 * – $p < 0,05$, + – $p < 0,001$.

В значительной доле случаев ($n=17$; 34,7 %) отмечалось сочетание болей в животе с метеоризмом и запорами. Изменение пищевого поведения в виде частого отказа от пищи было выявлено у 20 (15,2 %) детей, 12 из них перенесли гастроэнтеритический вариант кампилобактериоза. У части детей отмечалось появление тошноты ($n=40$; 30,3 %), единичных эпизодов рвоты ($n=8$; 6,1 %).

Период, в течение которого наблюдалось увеличение интенсивности и частоты жалоб на боли в животе, в данном исследовании совпадал с ожидаемым формированием «биопсихосоциальной матрицы» ФРОП. В соответствии с рекомендациями Римского консенсуса IV пересмотра для формирования очага персистирующей кишечной боли в пищеварительном тракте требуется минимум 3–6 месяцев с момента наступления события-триггера [178].

В литературе описаны случаи длительного субклинического течения ФРОП с более поздней, чем 6 месяцев, регистрацией манифестных проявлений [104]. Так, в исследованной нами группе в период с 6 по 12 месяц наблюдения выявление симптомов ФРОП у детей без жалоб на состояние здоровья отмечалось у 12 пациентов (8,7 %).

Жалобы пациентов в динамике катamnестического наблюдения характеризовались изменчивостью. С течением времени пациенты отмечали появление новых симптомов на фоне регресса или сохранения предшествующих. Данный феномен большинство исследователей связывают с особенностями системы ноцицепции и висцероцепции в детском возрасте [124, 178].

По итогам катamnестического наблюдения различные формы ФРОП диагностированы у 67 пациентов (33,01 %). Было выявлено 4 нозологические формы ФРОП: синдром раздраженного кишечника, функциональные запоры, функциональная диарея и функциональная диспепсия.

В старшей группе (с 4 лет) у 37 детей (18,23 %) диагностированы: синдром раздраженного кишечника (n=19; 51,4%), функциональная диспепсия (n=14; 37,8 %) и функциональные запоры (n=4; 10,8 %).

В младшей возрастной группе (0–4 года) у 30 детей (14,77 %) диагностированы: функциональные запоры (n=18; 60,0 %) и функциональная диарея (n=12; 40,0 %).

Результаты наблюдения за детьми, перенесшими кампилобактериоз, были сопоставимы с данными, полученными М. Ridley. Автор провел наблюдение за взрослыми пациентами, перенесшими кампилобактериоз. Частота формирования постинфекционных ФРОП составила 33,07 % [224]. Подобные результаты были

получены и L. Black, который регистрировал развитие ФРОП у 23,1 % реконвалесцентов бактериальных ОКИ [178].

6.2 Прогнозирование функциональных расстройств органов пищеварения у детей после кампилобактериоза

Для выявления наиболее значимых триггеров формирования ФРОП и их прогнозирования у детей после кампилобактериоза были сопоставлены клинико-лабораторные анамнестические параметры острого периода заболевания, генетические и фенотипические свойства возбудителя, особенности иммунного ответа и изменение микробиоценоза кишечника детей и результаты катамнестического наблюдения.

Сопоставление проводилось между группой пациентов с развившимися в период катамнестического наблюдения ФРОП (n=67, 33,01 %) и без них (n=126; 67,99 %). По выбранным параметрам проводилось сопоставление их частоты и выраженности, а также расчет отношения шансов формирования ФРОП при их наличии (рисунок 46).

Анализ преморбидного фона показал, что у детей с ФРОП чаще имели место вынужденный перевод на искусственное вскармливание (ФРОП+ n=17; 25,37 %; ФРОП– n=15; 11,91%; p=0,017) и заболевания органов пищеварения у родственников первой линии родства (ФРОП+ n=16; 23,88 %; ФРОП– n=14; 11,11%; p=0,020). Предшествовавшая госпитализации терапия антибактериальными препаратами повышала относительный риск формирования ФРОП (OR=2,1±1,3, p=0,038), что согласуется с рядом исследований, отмечающих отрицательное влияние обеих групп препаратов на кишечную микробиоту, слизистую эпителия и особенности местной воспалительной реакции в кишечнике [68, 69]. Наиболее высокими были шансы развития ФРОП при применении в течение месяца до кампилобактериоза антибиотиков группы защищенных пенициллинов (OR=7,3±1,3, p<0,001).

Выбор схемы лечения оказывал значительное влияние на шансы формирования ФРОП. Наименее высокими они были при применении монотерапии пробиотиками ($OR=0,6\pm 0,3$, $p=0,039$) или макролидами ($OR=0,9\pm 0,4$, $p=0,351$). Применение нитрофуранов и цефалоспоринов приводило к значительному повышению шансов формирования ФРОП. С наибольшей вероятностью происходило формирование ФРОП при смене антибактериального препарата на сроке более 3 суток ($OR=9,3\pm 1,3$, $p<0,001$).

Соотношение пациентов мужского и женского пола не имело статистически значимых отличий в зависимости от выявления ФРОП (пациенты женского пола: ФРОП+ $n=37$; 33,64 %; ФРОП- $n=73$; 66,36 %; $p>0,05$). Отмечалось более частое выявление ФРОП у детей в возрасте до 4 лет (пациенты женского пола: ФРОП+ $n=30$; 51,72 %; ФРОП- $n=28$; 48,28 %; $OR=3,12\pm 0,325$, $p=0,0003$). У пациентов, сформировавших ФРОП, длительность диареи в острый период кампилобактериоза была статистически значимо выше ($4,7\pm 0,3$ суток и $2,3\pm 0,8$ суток соответственно; $p=0,03$), чем у пациентов без ФРОП в анамнезе. Длительность рвоты (ФРОП+ $2,2\pm 0,8$ суток; ФРОП- $1,6\pm 0,6$ суток; $p>0,05$) и лихорадки (ФРОП+ $2,5\pm 0,5$ суток, ФРОП- $1,8\pm 0,8$ суток; $p>0,05$) не имела статистически значимых отличий между сравниваемыми группами. Выраженность и длительность сохранения других оцениваемых симптомов по данным математического анализа также не статистически значимо не отличалась и не оказывала влияния на шансы формирования ФРОП.

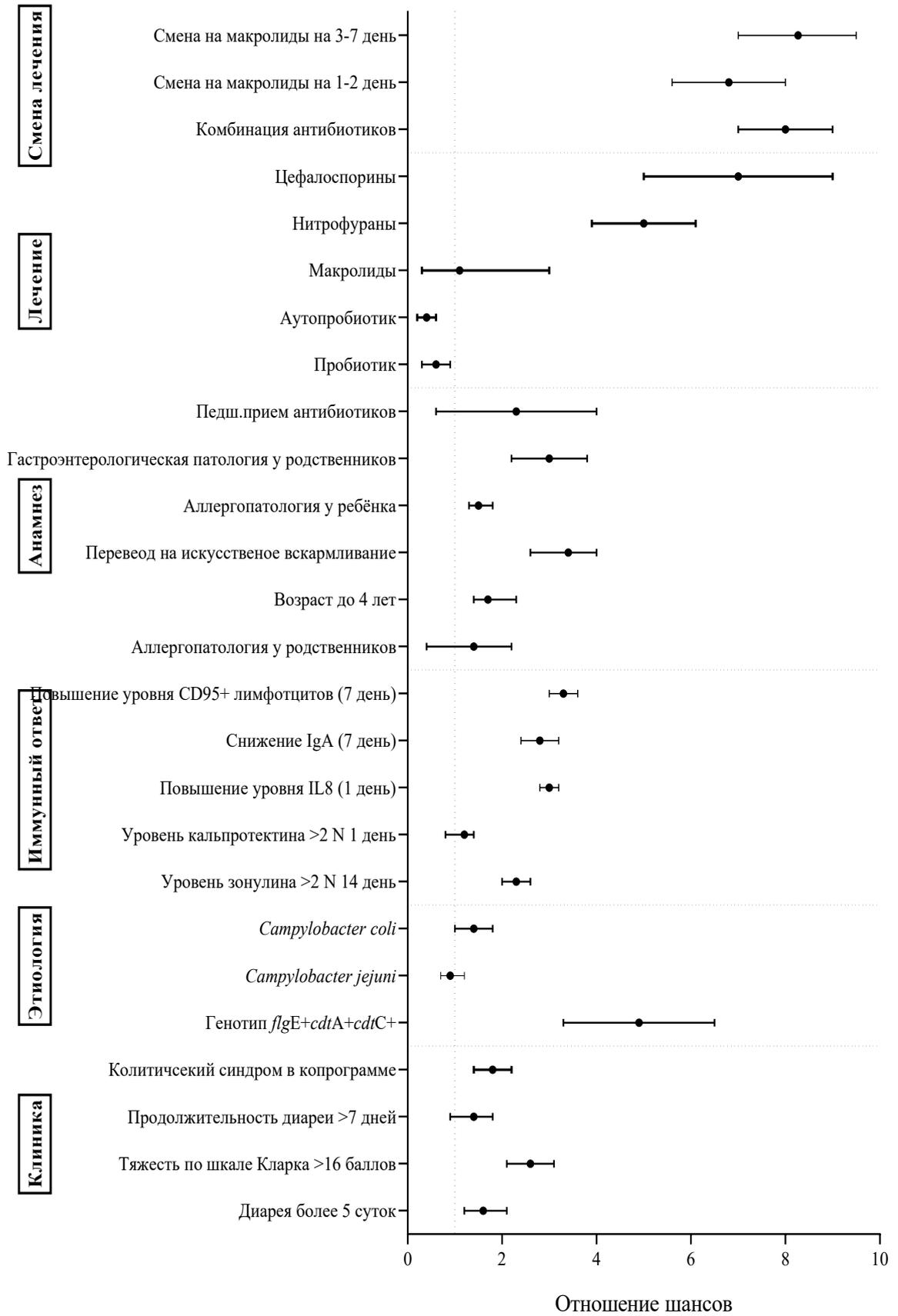


Рисунок 46 – Отношение шансов формирования ФРОП у детей, перенесших кампилобактериоз, для различных параметров

Средний уровень тяжести течения кампилобактериоза по интегральной шкале Кларка был статистически значимо выше у детей с ФРОП (ФРОП+ 14,6±1,2 баллов; ФРОП– 11,9±0,7 баллов; $p=0,04$). При тяжести заболевания более 15 баллов по шкале Кларка шансы формирования ФРОП значительно повышались (OR=2,6±0,5; $p=0,031$).

Выявить связь вида кампилобактерий и шансов формирования ФРОП не удалось, однако выявление у возбудителя генотипа *flgE+*, *cdtA+*, *cdtC+* оказалось одним из наиболее значимых предикторов формирования ФРОП (OR=4,9±1,5; $p=0,031$). Данный набор факторов патогенности, обеспечивающих усиление повреждение кишечного эпителия и уход возбудителя от действия иммунной системы, был обнаружен и у *C. coli*, и у *C. jejuni*.

Среди лабораторных показателей наиболее значимые различия между группами наблюдались при анализе результатов исследования фекалий пациентов. Выявление колитического синдрома при копрологическом исследовании сочеталось с более частым формированием ФРОП (ФРОП+ $n=11$; 36,7 %; ФРОП– $n=17$; 15,0 %, $p=0,04$). Повышало шансы неблагоприятного течения катамнестического периода повышение уровня фекального зонулина на 14 день болезни (OR=2,3±0,4; $p=0,003$).

Среди показателей иммунного ответа статистически значимое влияние на формирование ФРОП показали: повышение уровня IL-8 (OR=1,7±0,5; $p=0,047$), низкое содержание IgA в сыворотке (OR=1,7±0,43; $p=0,037$) и CD95+ лимфоцитов в периферической крови (OR=1,6±0,4; $p=0,043$). Комплекс указанных параметров отражает низкую эффективность клеточного звена защиты от инфицирования кампилобактерий. Эти параметры также могут указывать на сохранение местной (зонулин) и системной (CD95+ лимфоцитов) активности различных звеньев иммунной системы в период реконвалесценции кампилобактериоза. Ранее было показано, что низкие концентрации секреторного IgA в копрофильtrate сопряжены с тяжелым течением кампилобактериоза [21] и отражают угнетение метаболических процессов в микробиоценозе, а также недостаточность иммунного ответа на возбудитель [41].

Особого внимания при формировании ФРОП у детей после кампилобактериоза заслуживали показатели кишечной микробиоты. При оценке состояния микробиоценоза у детей с неблагоприятным течением катамнестического периода имело место частое выявление избыточного роста условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) на 14 сутки с начала кампилобактериоза (ФРОП+ n=12; 40,0 %, ФРОП– n=20; 17,7 %, p=0,027). Оценка уровня α -разнообразия микробиоты также позволила выявить значимые отличия между сравниваемыми группами по (рисунок 47).

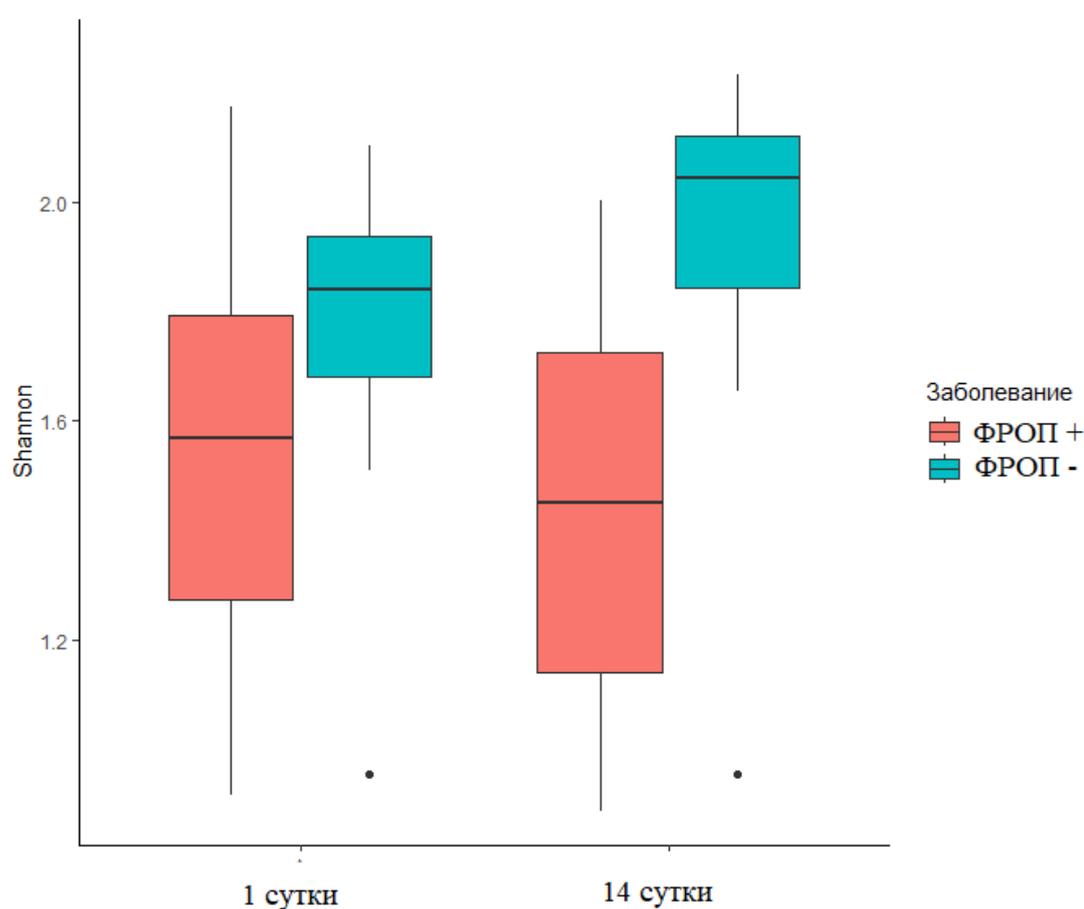


Рисунок 47 – α -разнообразие микробиоты в зависимости от формирования ФРОП на 1 и 14 сутки кампилобактериоза

Уровень α -разнообразия микробиоты был значимо снижен у детей, впоследствии сформировавших ФРОП. Статистически значимые различия

отмечались как на 1 сутки кампилобактериоза ($p=0,041$), так и через 14 дней после появления симптомов заболевания ($p=0,003$).

При оценке результатов метагеномного исследования микробиоценоза кишечника методом главных компонент было выявлено 5 кластеров микробиоты (рисунок 48).

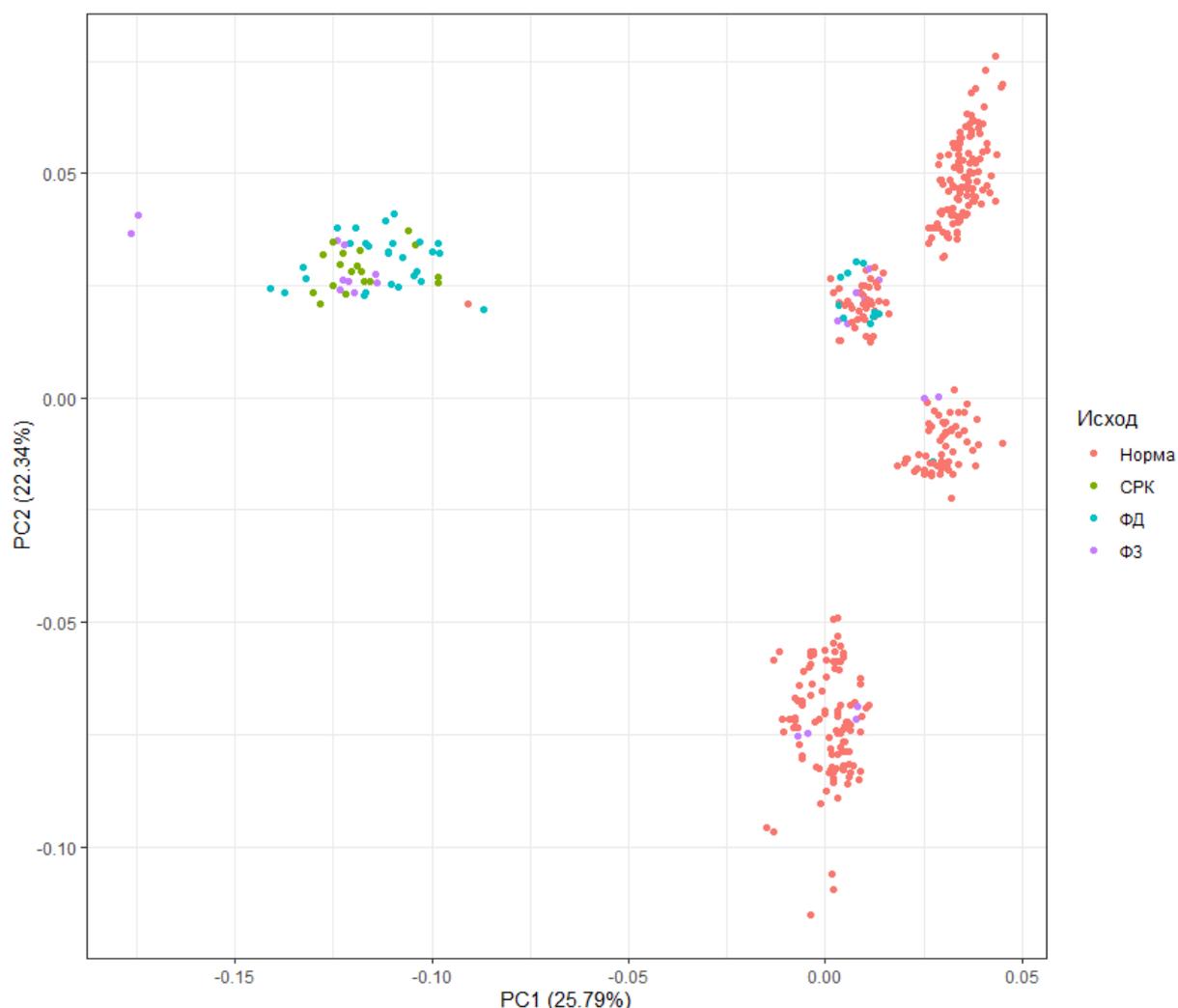


Рисунок 48 – Анализ главных компонент фекальных проб детей в зависимости от формирования ФРОП (N=203)

46 пациентов (68,66%), сформировавших ФРОП, по составу микробиоценоза кишечника были отнесены в 1 кластер. В данной группе отмечалось доминирование родов *Parabacteroides*, *Sutterella*, *Stenotrophomonas*, *Photobacterium*, *Aerococcus*, *Diaphorobacter*, *Bilophila*, *Peptostreptococcus*,

Haemophilus, *Bacteroides* и *Granulicatella*, на фоне снижения ключевых симбиотических микроорганизмов родов *Enterococcus* и *Lactobacillus* (рисунок 49).



Рисунок 49 – Результаты 16S-секвенирования микробиоценоза кишечника при кампилобактериозе на 21 сутки

При развитии ФРОП отмечались снижение представительства перечисленных таксонов и увеличение популяций представителей родов *Haemophilus*, *Bilophila*, *Peptostreptococcus*, *Stenotrophomonas*, *Photobacterium*, *Aerococcus*, *Suterella*, *Granulicatella*, большинство из которых рассматриваются как возможные возбудители инфекционных заболеваний. Например, сравнительно редко встречающийся род *Granulicatella*, представитель класса лактобацилл, может вызывать бактериемию и инфекционный эндокардит со значительной заболеваемостью и смертностью. Грамотрицательная аэробная неферментирующая бактерия, относящаяся к роду *Stenotrophomonas*, обладает высокой устойчивостью к антибиотикам и высокой патогенностью. Еще один род микроорганизмов, снижение которого было характерно для группы пациентов с неблагоприятным исходом кампилобактериоза, — *Christensenella*, в настоящий момент рассматривается в качестве перспективного пробиотика для лечения ряда соматических заболеваний [52]. Значительный дефицит микроорганизмов рода *Enterococcus* также, подтверждает высокий потенциал персонафицированной терапии аутопробиотиками, содержащими *Enterococcus faecium*.

Пациенты 4 других кластеров имели значительные отличия в составе кишечной микробиоты. Вероятно, процесс восстановления микробиоценоза кишечника после кампилобактериоза может реализовываться различными путями. Наиболее успешным образом восстановление проходило у 67 детей (33,01 %). У этих детей были выявлены в пробах фекалий высокое содержание облигатных представителей микробиоты, относящихся к родам *Faecalibacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* и других родов, которые, как правило, коррелируют с нормобиотой, входящие в состав *Firmicutes* представители родов *Eubacterium*, *Ruminococcus*, *Cristensinella* и *Blautia*, а также его грамотрицательные представитель *Dialister*, обладающий способностью ферментировать лактат и *Cristensinella*, представитель фила *Actinobacteria* семейства *Coriobacteriaceae* [149]. Кроме того, в этой группе проб было велико представительство *Odoribacter splanchnicus*, принадлежащей к

отряду *Bacteroidales*, являющийся распространенным симбионтным представителем кишечной микробиоты человека, продуцирующим короткоцепочечные жирные кислоты.

Следует подчеркнуть, что многие представители родов *Lactobacillus*, *Faecalibacterium* и непатогенные *Enterococcus*, как уже отмечалось в обзоре в данной диссертационной работе, обладают антикампилобактерной и более широкого спектра антибактериальной активностью и рассматриваются как кандидаты в пробиотические и аутопробиотические штаммы. Еще один род микроорганизмов, увеличение концентрации которого было характерно для группы пациентов с благоприятным исходом кампилобактериоза, — *Christensenella*, в настоящий момент рассматривается в качестве перспективного пробиотика для лечения ряда соматических заболеваний [52].

Еще одним вариантом восстановления микробиоценоза кишечника было увеличение содержания микроорганизмов родов *Christensenella*, *Propionibacterium*, *Dialister* и родов *Veillonella*, *Polaromonas*, *Sphingomonas* и *Burkholderia*.

По всей видимости, клинические эффекты восстановления микрофлоры в данном кластере достигаются за счет выработки ряда бактериоцинов и антибактериальных субстанций, подавляющих рост условно-патогенной флоры.

В частности, нитратпродуцирующих *Veillonella* spp., способных угнетать рост ряда анаэробных микроорганизмов, доминирующих при формировании ФРОП [245].

Суммарные данные по результатам исследования микробиоты представляется возможным представить в данном разделе (таблица 47).

Таблица 47 – Типовые изменения состава микробиоценоза кишечника по данным бактериологического метода, ПЦР-РВ и 16 рРНК секвенирования на 14 сутки кампилобактериоза в зависимости от формирования ФРОП в катамнезе

Методы	Параметры	ФРОП -	ФРОП +
Бактериологический метод	Содержание бактерий	Увеличение: <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp.	Увеличение: УПМ
ПЦР-РВ	Содержание бактерий	Увеличение: <i>Lactobacillus</i> spp. <i>B. tethaiotaomicron</i> , <i>Enterococcus</i> spp., <i>F. prausnitzii</i>	Увеличение: <i>Bacteroides fragilis</i>
16S рРНК-секвенирование	α -разнообразие	Увеличение	Снижение
	Представительство родов	Увеличение: <i>Faecalibacterium</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp., <i>Lactobacillus</i> spp., <i>Eubacterium</i> spp., <i>Ruminococcus</i> spp., <i>Cristensinella</i> spp., <i>Blautia</i> spp., <i>Cristensinella</i> spp., <i>Dialister</i> spp., <i>Slackia</i> spp.	Увеличение: <i>Parabacteroides</i> spp., <i>Sutterella</i> spp., <i>Stenotrophomonas</i> spp., <i>Photobacterium</i> spp., <i>Aerococcus</i> spp., <i>Diaphorobacter</i> spp., <i>Bilophila</i> spp., <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Haemophilus</i> spp., <i>Bacteroides</i> spp., <i>Granulicatella</i> spp.

Примечание – УПМ – условно патогенные микроорганизмы; ФРОП – отсутствие ФРОП; ФРОП + – формирование ФРОП.

Безусловно, изменения микробиоценоза не являются единственным фактором, определяющим все разнообразие процессов, приводящих к развитию гастроэнтерологической патологии в организме ребенка после перенесенного кампилобактериоза. Для повышения эффективности прогнозирования ФРОП и учета комплекса факторов, играющих роль в формировании данной патологии методом математического анализа была разработана математическая модель, применимая для оценки рисков развития в острый период кампилобактериоза

Для оценки вероятности развития ФРОП рассчитывали показатели линейных дискриминантных функций ЛДФ1 (отсутствие развития ФРОП) и ЛДФ2 (наличие развития ФРОП) по формулам, основанным на коэффициентах, приведенных в таблице 48.

Таблица 48 – Признаки, включенные в модель прогноза формирования ФРОП после кампилобактериоза (N=203)

Наименование признаков	Единицы измерения и градации признаков	Условное обозначение	Коэффициенты		P
			ЛДФ1 (отсутствие развития ФРОП)	ЛДФ2 (наличие развития ФРОП)	
Тяжесть кампилобактериоза по шкале Кларка	Баллы	X ₁	0,69	0,89	0,012
Выявление у возбудителя генотипа <i>flgE</i> ⁺ , <i>cdtA</i> ⁺ и <i>cdtC</i> ⁺	Есть — 1 Нет — 2	X ₂	6,31	9,31	0,031
Уровень <i>Bacteroides fragilis</i>	lg КОЕ/мл	X ₃	3,27	4,39	0,007
Возраст	Лет	X ₄	2,83	1,45	0,151
Наличие гемоколита	Есть — 1 Нет — 2	X ₅	8,32	9,41	0,027
Повешение уровня зонулина на 14 день заболевания	Есть — 1 Нет — 2	X ₆	6,52	9,63	0,033
Константы			-61,35	-74,68	

Для прогнозирования формирования ФРОП в формулы ЛДФ подставляются значения признаков, включенных в модель признаков, полученных при обследовании конкретного больного, и производится решение уравнений. Оцениваемый пациент должен быть отнесен в ту группу, значение ЛДФ для которой оказалось наибольшими. Модель позволяет классифицировать пациентов по двум уровням: отсутствие развития ФРОП и формирование ФРОП — и имеет вид:

$$\text{ЛДФ1} = -61,35 + 0,69 \times X_1 + 6,31 \times X_2 + 3,27 \times X_3 + 2,83 \times X_4 + 8,32 \times X_5 + 6,52 \times X_6;$$

$$\text{ЛДФ2} = -74,68 + 0,89 \times X_1 + 9,31 \times X_2 + 4,39 \times X_3 + 1,45 \times X_4 + 9,41 \times X_5 + 9,63 \times X_6.$$

При ЛДФ2 > ЛДФ1 прогнозировалось развитие ФРОП, при ЛДФ1 < ЛДФ2 прогнозировалось отсутствие развития ФРОП.

Признаками, включенными в модель, оказались: тяжесть кампилобактериоза по шкале Кларка, выявление генотипа *flgE*⁺, *cdtA*⁺ и *cdtC*⁺, уровень *Bacteroides fragilis*, возраст, наличие гемоколита и повешение уровня зонулина на 14 день заболевания. Уровень значимости пяти из шести признаков, включенных в модель,

показал высокий уровень статистической значимости (таблица 49). Значение возраста пациента, самостоятельно не являясь статистически достоверным для прогноза параметром, было включено в модель, так как служило простым и доступным инструментом, значительно повышающим классификационную силу прогностической модели при оценке совокупности всех факторов.

Таблица 49 – Распределение детей, перенесших кампилобактериоз, с помощью модели прогноза (N=203)

Исходы Наблюдавшиеся	Прогнозируемые		Всего детей	Прогнозируемая вероятность исходов, %
	Отсутствие формирования ФРОП	Формирование ФРОП		
Отсутствие формирования ФРОП	132	4	136	99,03%
Формирование ФРОП	5	62	67	97,54%
Всего в прогнозе	137	66	203	95,57%

Примечание – классификация по строкам – соответственно базе данных; по столбцам – соответственно прогнозу.

Чувствительность модели составила 99,03 %, специфичность — 97,54 %. Точность — 95,57 %. Модель позволяет выявить пациентов с высоким риском формирования ФРОП для своевременной оптимизации тактики ведения пациента.

Таким образом, в ходе проведенного анализа были выявлены факторы, повышающие шансы формирования ФРОП у реконвалесцентов кампилобактериоза. К подобным факторам относились и особенности преморбидного фона (гастроэнтерологическая патология у родственников, вынужденный перевод на искусственное вскармливание, аллергопатология), течения заболевания (длительность лихорадки, диареи, общая тяжесть по шкале Кларка), генотип возбудителей. Высокую информативность при оценке шансы формирования ФРОП показали также данные определения сывороточных уровней IL8, IgA, отражая важную роль гуморального звена иммунитета в элиминации возбудителя.

Выбор схемы лечения оказался одним из немногих модифицируемых

факторов, имеющих значимое воздействие на шансы формирования ФРОП. Если применение пробиотиков и особенно аутопробиотиков значительно снижало вероятность развития ФРОП, то применение схем, включающих антибиотики широкого спектра действия или несколько препаратов разных групп, их повышало в 6–8 раз. Подобное негативное воздействие вероятно было опосредовано через изменение качественного и количественного состава микробиоценоза кишечника. Был установлен ряд родов микроорганизмов (*Parabacteroides* spp., *Sutterella* spp., *Stenotrophomonas* spp., *Haemophilus* spp., *Bacteroides* spp., *Granulicatella* spp. и другие), повышение концентрации которых было стойко ассоциировано с развитием ФРОП.

На основании пошагового дискриминантного анализа была создана математическая модель, позволяющая на основании тяжести кампилобактериоза, выявление генотипа кампилобактерий, уровень *Bacteroides fragilis*, возраста пациента, наличия гемоколита и повышения уровня зонулина на 14 день заболевания позволяла с точностью 95,57 % прогнозировать ФРОП.

6.3 Персонализированная симбионтная терапия детей с функциональными расстройствами органов пищеварения после кампилобактериоза

Растущая заболеваемость кампилобактериозом, многообразие клинических форм заболевания и частое формирование ФРОП определяют необходимость оптимизации рациональной тактики наблюдения за реконвалесцентами данного заболевания. Одним из возможных путей преодоления данных трудностей является дальнейшее расширение применения пробиотиков и аутопробиотиков.

В исследование эффективности пробиотиков и аутопробиотиков при ФРОП было включено 47 детей. У пациентов было выявлено 2 нозологические формы ФРОП: функциональные запоры (n=21; 44,68 %) и синдром раздраженного кишечника (n=26; 55,32%). ФРОП анализировались совместно из-за схожести симптоматики. Пациенты были разделены на 2 группы. Пациенты группы А (n=20) получали аутопробиотик *E. faecium*, пациенты группы II — получали пробиотик *E.*

faecium L3 (n=27). Пациенты были сопоставимы по возрасту (5,7 [2,2; 7,8] лет и 6,3 [4,2; 9,0] лет соответственно, $p=0,41$) и полу ($p=0,73$). Ни один пациент из исследования исключен не был.

У всех пациентов в клинической картине наиболее значимым был болевой синдром (таблица 50).

Таблица 50 – Особенности болевого синдрома у пациентов с ФРОП (N=47)

Параметр	Группа А (N=20)		Группа П (N=27)		P	Всего (N=47)	
	N	%	N	%		N	%
Локализация							
Без четкой локализации	10	50,00%	12	44,44%	P=0,157	22	46,81%
Околопупочная область	5	25,00%	8	29,63%	P=0,160	15	31,91%
Фланки живота	1	5,00%	6	22,22%	P=0,037	15	31,91%
Нижние отделы	2	10,00%	1	3,70%	P=0,063	6	12,77%
Длительность							
До 30 минут	14	70,00%	6	22,22%	P<0,001	33	70,21%
30 минут — 1 час	4	20,00%	6	22,22%	P=0,173	17	36,17%
Более 1 часа	2	10,00%	2	7,41%	P=0,162	8	17,02%
Купирование							
Самостоятельно	11	55,00%	19	70,37%	P=0,062	27	57,45%
После дефекации	2	10,00%	4	14,81%	P=0,149	14	29,79%
После приема спазмолитиков	3	15,00%	4	14,81%	P=0,178	17	36,17%

Жалобы на задержку стула более 3 дней отмечали 30 пациентов (63,83 %): 13 из группы А (65,00 %) и 17 из группы П (62,96 %; $p=0,886$). У 17 детей 8 из группы А (40,00 %) и 9 из группы П (33,33 %; $p=0,638$) отмечалось чередование запоров и частого стула.

На фоне применения пробиотиков и аутопробиотиков отмечалась отчетливая положительная динамика клинических проявлений ФРОП у 33 детей (таблица 51). Изменение пищевого поведения в виде частого отказа от пищи и быстрого насыщения было выявлено у 20 детей: у 11 (55,0 %) — из группы А, у 9 (33,3 %) — из группы П. У 12 детей отмечалось появление тошноты (n=40; 27,2 %), единичных эпизодов рвоты (n=8; 5,4 %). Положительная динамика характеризовалась исчезновением болей в животе, нормализацией частоты, формы и консистенции стула, уменьшением метеоризма и вздутия живота.

Таблица 51 – Динамика клинических симптомов ФРОП на фоне терапии пробиотиками и аутопробиотиками (N=47)

Параметр	Группа А (N=20)		Группа П (N=27)		P	Всего (N=47)	
	N	%	N	%		%	N
Полное купирование болей в животе	13	65,00%	10	37,04%	P=0,009	23	48,94%
Частичное купирование болей в животе	6	30,00%	8	29,63%	P=0,178	15	31,91%
Сохранение болей в животе	1	5,00%	9	33,33%	P=0,007	15	31,91%
Нормализация стула	16	80,00%	15	55,56%	P=0,02	6	12,77%
Сохранение запоров	2	10,00%	6	22,22%	P=0,079	33	70,21%
Сохранение диареи	2	10,00%	6	22,22%	P=0,079	17	36,17%
Нормализация аппетита	19	95,00%	23	85,19%	P=0,086	8	17,02%
Быстрая насыщаемость	2	10,00%	7	25,93%	P=0,052	27	57,45%

У 14 детей (4 ребенка из группы А и 10 детей из группы П; $p=0,026$) улучшение состояния носило кратковременный и частичный характер. Ни у одного пациента появления новых симптомов или отрицательной динамики по имеющейся симптоматике не отмечалось.

Выявить достоверные различия в показателях копрограмм пациентов до и после назначения пробиотиков, а также между группами не удалось. Однако было установлено, что, если до лечения в группах А ($n=13$; 65,00 %) и П ($n=10$; 37,04 %) превалировал стул 1–2 типа по бристольской шкале, после проведенного лечения отмечалась доминирование стула 3–4 типа ($n=34$; 72,34 %; $p=0,02$), более выраженное в группе А ($n=15$; 75,00 %; $p=0,011$).

Стул по данным копрограмм в обеих группах характеризовался умеренной амилореей ($n=33$; 70,21 %) креатореей ($n=29$; 61,70 %) и стеатореей ($n=27$; 57,45 %). Механизм формирования данных нарушений, по всей видимости, обусловлен усилением моторики и перистальтики, свойственных ФРОП, и относительным снижением активности процессов переваривания и всасывания в кишечнике на фоне ускоренного пассажа кишечного содержимого. На фоне терапии частота выявления и выраженность данных лабораторных копрологических показателей снижалась, однако выявить статистически значимые отличия не удалось ($p>0,05$).

Необходимо также отметить, что ни у одного пациента не было выявлено воспалительных изменений в копрограмме (лейкоциты, эритроциты, примесь слизи, крови).

Одним из ведущих факторов, определяющих формирование ФРОП после кампилобактериоза, по мнению ряда исследователей служит состав кишечного микробиоценоза [170, 264]. Группа исследователей в Перу показала, что обеднение разнообразия кишечного микробиоценоза повышала как вероятность бессимптомного носительства или манифестных форм кампилобактериоза, но предрасполагало к формированию его неблагоприятных исходов [191]. По данным различных авторов частота формирования ФРОП после кампилобактериоза составляет от 9 до 24,9 % [104, 119, 294].

При оценке исходного состава микробиоценоза кишечника было выявлено значительное снижение уровня *Lactobacillus* spp., *F. prausnitzii* и *B. thetaiotaomicron* по сравнению с референсными значениями (рисунок 50). Снижение данных представителей симбиотической микрофлоры отражает глубокие изменения микробиоценоза, следующие за перенесенной инфекцией, и вероятно может рассматриваться и в качестве одного из факторов, поддерживающих висцеральную гиперчувствительность при ФРОП. Сравнение среднего уровня содержания маркерных микроорганизмов между группами не позволило выявить статистически значимых отличий.

На фоне применения пробиотиков было выявлено снижение количества *Bifidobacterium* spp. ($p=0,036$), а также тенденции увеличения количества *E. coli* ($p=0,096$). Применение аутопробиотиков приводило к более значимым изменениям состава кишечной микробиоты: отмечалось статистически значимое повышение *Lactobacillus* spp. ($p=0,021$), *Bifidobacterium* spp. ($p=0,047$), *F. prausnitzii* ($p=0,044$) и *B. thetaiotaomicron* ($p=0,049$), что свидетельствует о более выраженном положительном воздействии на индигенную микробиоту кишечника аутопробиотических штаммов *E. faecium* по сравнению с пробиотическим штаммом *E. faecium* L3.

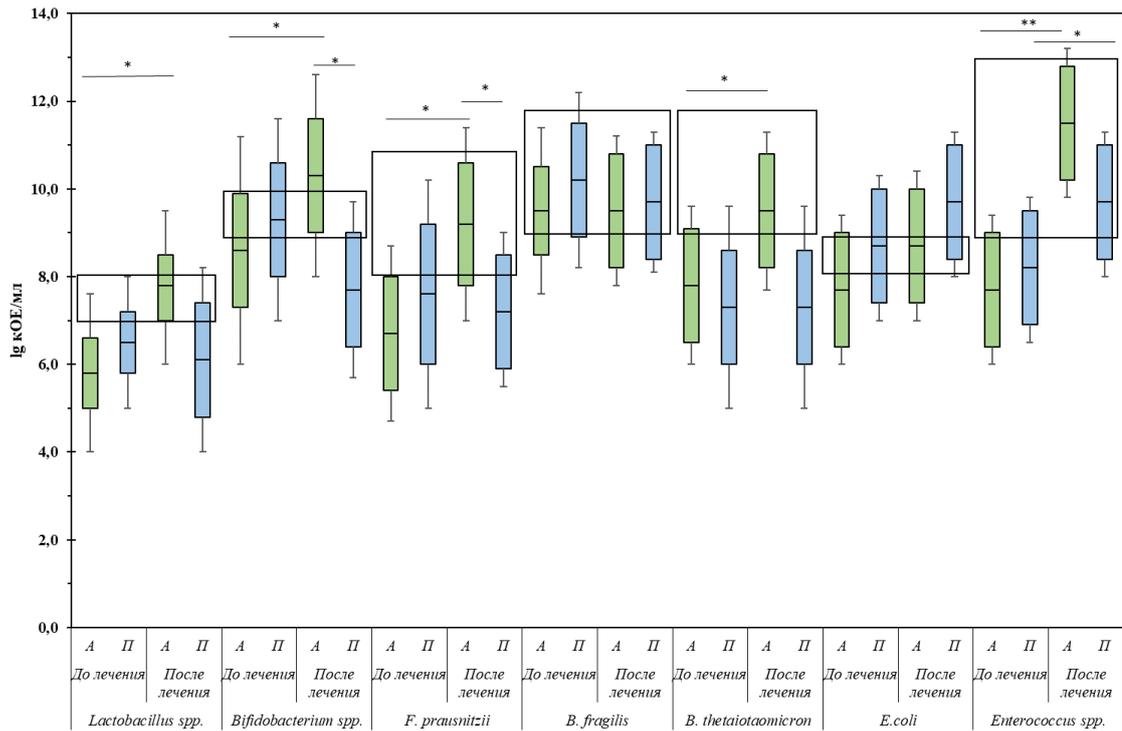


Рисунок 50 – Изменение микробиоценоза кишечника по данным ПЦР-РВ у пациентов с ФРОП до лечения и после завершения терапии (N=47)

Примечание – П – группа пациентов, получавших пробиотик. А – группа пациентов, получавших аутопробиотик. Рамка указывает на референсные значения; * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$.

Избыточный рост УПМ в фекалиях (не менее 10^5 КОЕ/мл) после проведенной терапии статистически значимо реже наблюдался у детей группы А по сравнению с группой П (n=2, 10,00 %; n=10, 37,04 %; $p=0,036$).

Полученные данные свидетельствуют о целесообразности использования аутопробиотических штаммов энтерококка при наличии выраженного дисбиоза кишечника у детей с функциональной гастроэнтерологической патологией.

Исследования влияния двух различных подходов назначения штаммов энтерококка детям с ФРОП — условно «эталонного» штамма *E. faecium* L3 и аутопробиотических штаммов — выявили положительное воздействие на клиническую симптоматику заболевания, что выражалось исчезновением абдоминального болевого синдрома, нормализацией частоты, формы и консистенции стула, уменьшением метеоризма при отсутствии нежелательных побочных явлений. Анализ динамики изменения параметров копрограмм

в результате приема пробиотиков и аутопробиотиков, не выявил достоверных различий: имела место равнозначная положительная динамика в виде улучшения большинства макроскопических и микроскопических характеристик стула. Исследование состава микробиоты кишечника у наблюдаемых детей обнаружило низкий уровень лактобацилл и энтерококка до и после назначения пробиотиков, что подтверждает необходимость пробиотической терапии при ФРОП.

После курса назначения аутопробиотических штаммов *E. faecium* отмечалось достоверное повышение содержания патогенетически значимых индигенного повышение *Lactobacillus* spp. ($p=0,021$), *Bifidobacterium* spp. ($p=0,047$), *F. prausnitzii* ($p=0,044$) и *B. thetaiotaomicron* ($p=0,049$) в составе микробиоценоза кишечника.

Таким образом, реконвалесценты тяжелых форм кампилобактериоза нуждаются в диспансерном наблюдении длительностью не менее 6 мес. Было выявлено 4 нозологические формы ФРОП: синдром раздраженного кишечника, функциональные запоры, функциональная диарея и функциональная диспепсия.

В старшей группе (с 4 лет) у 37 детей (18,23 %) диагностированы: синдром раздраженного кишечника ($n=19$; 51,4 %), функциональная диспепсия ($n=14$; 37,8 %) и функциональные запоры ($n=4$; 10,8 %).

На основании проведенного исследования была разработана математико-статистическая модель прогнозирования ФРОП, позволяющая на основании оценки клинических и анамнестических признаков, выделить детей, относящихся к группе риска. К предикторам ФРОП у детей, перенесших кампилобактериоз, вошедшим в модель прогноза, можно отнести: поступление в стационар на поздних сроках болезни с тяжелой степенью кампилобактериоза по шкале Кларка, назначение нескольких курсов антибактериальных препаратов, вынужденный перевод на искусственное вскармливание, возраст, наличие гемоколита, выраженность дегидратации.

Полученные результаты нужно принимать во внимание для дальнейших исследований, которые определяют направление и методы исследований микробиоты кишечника, смогут подтвердить и уточнить представленные

результаты для их использования на этапе прогнозирования и принятия решений для адекватной персонифицированной терапии.

ОБСУЖДЕНИЕ

Кампилобактериоз является одним из наиболее значимых инфекционных заболеваний детского возраста [129]. Этиопатогенетические механизмы развития и факторы, способствующие тяжелому течению кампилобактериоза недостаточно изучены. Формы кампилобактериоза многообразны как по тяжести инфекционного процесса, так и по клиническим проявлениям.

За последние 10 лет появилось большое количество сообщений о повсеместном росте заболеваемости кампилобактериозом. Зарегистрирован почти двукратный рост заболеваемости в Северной Америке, Европе и Австралии. Имеются данные о ее повышении в отдельных регионах Африки, Азии и Ближнего Востока [282, 306].

В России проблеме кампилобактериоза также уделяется пристальное внимание. Необходимо отметить исследования А. В. Горелова и О. В. Тихомировой, значительно расширившие представления о диагностике, патогенезе, клиническом течении и терапии кампилобактериоза [11, 21]. Тем не менее, сохраняется целый ряд нерешенных вопросов, определивших необходимость данного исследования.

Трудности культивирования кампилобактерий и недостаточно широкое внедрение современных методов лабораторной диагностики обусловили занижение истинной заболеваемости кампилобактериозом. Во многих регионах России кампилобактериоз не регистрируется. В г. Санкт-Петербурге в 2022 году частота регистрации составила 2,5 на 100 тыс. населения [14], тогда как заболеваемость данной инфекцией в США за период 2014–2020 годы оценивалась на уровне 12,3–23,5 на 100 тыс. населения, а в странах Западной Европы и Израиле этот показатель составлял 30–60 на 100 тыс. населения. В тоже время, при проведении исследований распространенности кампилобактериоза в одном регионе или в рамках одного стационара, удается установить частоту регистрации, сопоставимую с Европой и США. Так в исследовании 2016-2018 гг. М. А. Поздеевой на территории приарктической зоны Европейского Севера России

было установлено, что кампилобактериоз составляет до 36,8 % всех ОКИ [33]. В исследовании Е. А. Шевцовой, проведенном в городской больнице № 5 города Барнаул частота кампилобактериоза составила 15,6 % [45]. Эти данные согласуются с нашими результатами, полученными в ходе проведенного исследования. Установлено, что *Campylobacter* spp. были идентифицированы у 17,25 % детей, находившихся на лечении в ДНКЦИБ с геморрагическими колитами.

Для идентификации кампилобактерий в данном исследовании применяли три группы методов: классический культуральный, молекулярно-генетический (ПЦР) и иммунологические (ИХ и ФИА).

Среди всех методов наименьшую точность показал ИХ (62,6%). Низкие чувствительность и специфичность метода приводили к диагностическим ошибкам за счет высокой частоты ложноположительных (11,74 %) и ложноотрицательных результатов (37,83 %).

Наиболее высокую точность диагностики имела ПЦР (92,6 %), что позволяло рассматривать ее в качестве оптимального стартового метода выявления кампилобактериоза. Неоспоримым преимуществом ПЦР была относительная быстрота проведения реакции, способствующая своевременной коррекции antimicrobial терапии. Однако, несмотря на описанные преимущества ПЦР как точного и быстрого метода, метод имел ряд недостатков. Чувствительность ПЦР уступила культуральному методу при установлении диагноза в первые часы заболевания. Вероятно, преимущество культурального метода в данных условиях определялось возможностью сохранения роста микроорганизма на питательных средах, в то время как количество детектируемой ДНК в исследуемых образцах в первые часы заболевания могло быть ниже порога идентификации методом ПЦР и уже не возрастало. Следует отметить, что именно культуральный метод имел наиболее высокую специфичность (99,6 %) среди всех сравниваемых методов. Неоспоримыми преимуществами культурального метода были возможность определения видовой принадлежности кампилобактерий, подбора наиболее эффективных средств этиотропной терапии и определения резистентности к

антибактериальным препаратам. Тем не менее, необходимость особых условий хранения и культивирования кампилобактерий, быстрая потеря их жизнеспособности под воздействием атмосферного кислорода и внешней среды объективно снижает информативность бактериологического метода [12]. Это приводит к тому, что пациенты, самостоятельно осуществляющие транспортировку и хранение биоматериала, практически лишаются возможности передать в лабораторию жизнеспособного возбудителя. Этим же может объясняться низкая частота повторного бактериовыделения [8], контрастирующая с данными европейских авторов, регистрирующих повторное выделение кампилобактерий у каждого пятого пациента [282]. Введение нами в схему диагностики обязательного использования транспортной среды для хранения материала перед посевом позволило повысить диагностическую ценность культурального метода. В данном исследовании частота повторного бактериовыделения составила 29,8 %, что сопоставимо с данными, полученными в Европе, Северной Америке и Африке [74, 185, 306].

В некоторых случаях невысокий процент совпадения результатов ПЦР и культурального метода, по-видимому, также мог быть обусловлен быстрой санацией от патогена на фоне антимикробной терапии, вследствие чего происходило быстрое снижение концентрации возбудителя ниже порога бактериологического выделения, но достаточного для обнаружения следов его ДНК методом ПЦР-РВ.

Метод ФИА позволил дополнительно расшифровать 12 случаев (3 %) геморрагических колитов. Ранее по результатам ПЦР и культурального исследования данные пробы были расценены как «без идентифицированного возбудителя». При детальном анализе биологического материала из данных проб удалось выявить редкие виды кампилобактерий (*C. concisus* и др.), диагностика которых методом ПЦР «ОКИ скрин» была невозможна. Еще одним преимуществом ФИА была высокая точность данного метода на поздних сроках заболевания (более 72 часов).

Для повышения эффективности диагностики кампилобактериоза и выбора

оптимальной последовательности применения методов лабораторной диагностики был применен алгоритм дерева решений (рисунок 51).

Проблема диагностики кампилобактериоза в нашей стране определяется не только ограничениями лабораторных возможностей идентификации данного возбудителя, но и недостаточной настороженностью врачей на предмет данного заболевания. Поэтому на основании анализа клинико-эпидемиологических особенностей кампилобактериоза у исследуемой группы пациентов были сформированы опорные признаки заболевания, служащие основанием для начала лабораторного обследования.

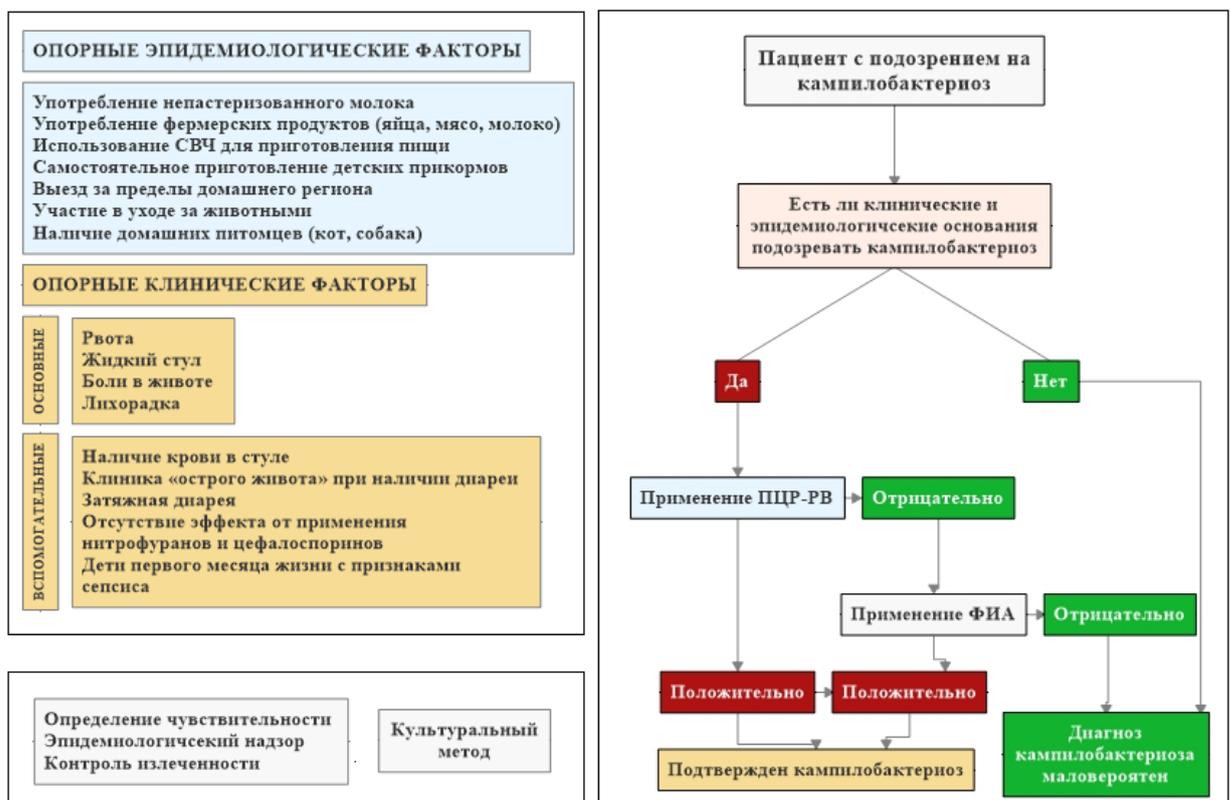


Рисунок 51 – Комплексная модель диагностики кампилобактериоза

Применение комплексной модели диагностики, включающей последовательно использование ПЦР и ФИА, позволило повысить частоту выявления кампилобактериоза среди пациентов с кровавой диареей в 1,4 раза в том числе за счет расширения спектра выявляемых видов кампилобактерий.

В работах зарубежных исследователей представлены противоречивые данные о частоте выявления различных видов кампилобактерий. Доказано, что два наиболее значимых вида кампилобактерий *C. jejuni* и *C. coli* длительное время способны существовать в качестве комменсалов в кишечном тракте самых разных диких и домашних животных, определяя постоянное наличие рисков инфицирования человека [160, 174]. За последние 20 лет описано несколько крупных пищевых и молочных вспышек кампилобактериоза [22, 112, 158, 235]. В ходе данного исследования было еще раз подтверждено, что именно употребление в пищу мяса животных, является наиболее эпидемиологически значимым путем инфицирования детей *Campylobacter* spp. [280]. Особенности распределения *C. jejuni* и *C. coli* среди разных видов животных и птиц, во многом определяют и различия в заболеваемости разных возрастных групп детей. В работах N. Kaakoush и коллег было показано, что *C. jejuni* преимущественно выделяется из мяса домашней птицы и коровьего молока, тогда как *C. coli* — из мяса свиней и мелкого рогатого скота [42, 96, 162, 185]. В ходе проведения данного исследования был установлен высокий риск передачи *C. coli* микроорганизма при употреблении мяса свинины (RR=8,3±2,2), в то время как для *C. jejuni* значимым оказалось употребление курицы-гриль (RR=7,8±3,3).

По данным S. Sheppard *C. jejuni* также является наиболее клинически значимой и составляет 65–92 % случаев кампилобактериоза [288]. Предыдущие исследования отечественных авторов показали аналогичное нашим данным распределение частоты выделенных от людей кампилобактерий [11, 41].

В ходе анализа было также установлено, что у детей старше 3 лет отсутствовали статистически значимые различия частоты выявления *C. coli* и *C. jejuni*. Согласно данным L. Gillespie, у детей до 14 лет также преобладающим возбудителем является *C. jejuni* с соотношением 3:2, тогда как у взрослых это соотношение было близким к 1:1 [211].

Необходимо также отметить, что в работах последних лет все чаще признается клиническая значимость редких видов кампилобактерий, в частности *C. concisus* и *C. ureolyticus* [115, 215]. Определение видовой принадлежности

возбудителя кампилобактериоза в проведенном исследовании показало, что хотя доминирующим видами являются *C. jejuni* (59,7 %) и *C. coli* (25,8 %), также выявляются и редкие виды кампилобактерий: *C. hyoilei* (3,2 %), *C. upsaliensis* (9,7 %) и *C. hyointestinalis* (1,6 %). Выявление 5 различных видов кампилобактерий у детей с гемоколитами в ходе данного исследования свидетельствует о потребности в постоянной переоценке потенциала патогенности представителей данного рода микроорганизмов и совершенствования диагностических алгоритмов с учетом новых возбудителей.

Выделение культур кампилобактерий позволило дополнительно провести ряд исследований, расширяющих наши представления о фенотипических и генотипических особенностях возбудителя. Так было проведено серотипирование 37 штаммов *C. jejuni*. Наиболее часто у детей, вошедших в исследование выявлялись серотипы 37, 2 и 19. Отмечается высокая частота выявления «азиатского» серотипа TA:37 и серотипов TA:2 и TA:19, широко распространенных в Северной Европе и Скандинавии, США и Испании [143]. Серотип TA:4, наиболее часто доминирующий в Великобритании, Швеции, Перу и США [143], был обнаружен только у двух пациентов. С данным серотипом связано наибольшее количество случаев отдаленных осложнений аутоиммунной природы. Его редкое выявление в исследуемой группе является прогностически благоприятным и может объяснить отсутствие подобных осложнений в катамнестический период.

По результатам секвенирования кампилобактерий было установлено, что сходные с полученными сиквенс-типы наиболее распространены в Великобритании, странах Бенилюкса (Голландия, Люксембург) и Северной Европы (Дания, Швеция, Финляндия). Отмечалась высокая частота совпадений результатов серотипирования и генотипирования в отношении географического распространения изолята (15 из 24 штаммов, 62,5 %).

Была проанализирована частота выявления у изолятов генов вирулентности (подвижности, хемотаксиса, адгезии, инвазии и цитотоксинов). Высокую степень информативности показало выявление у изолятов генотипа *flgE+*, *cdtA+* и *cdtC+*.

Данная комбинация генов предрасполагала к более тяжелому течению инфекционного процесса и высокому риску осложнений.

Проведенные исследования также позволили выявить дальнейший рост резистентности кампилобактерий к антибактериальным препаратам. Более 43,2 % изолятов кампилобактерий были нечувствительны к антибактериальным препаратам группы фторхинолонов, 30–35,2 % изолятов к макролидам. Более того, не менее 25 % выделенных штаммов не были чувствительны к 3 и более антимикробным препаратам. Подобный уровень резистентности может свидетельствовать о потенциальном снижении значимости данных групп препаратов в лечении кампилобактериоза. Результаты оценки резистентности классическим дискодиффузионным методом были сопоставлены с частотой выявления генов резистентности к антибактериальным препаратам. Высокая согласованность (75–88 %) результатов полногеномного секвенирования и определения устойчивости изолятов культуральным методом свидетельствует о возможности быстрого и точного прогнозирования распространенности резистентных к противомикробным препаратам изолятов *C. jejuni* и *C. coli* при рутинной диагностике с использованием классических бактериологических методов выделения, идентификации и оценки чувствительности к антимикробным препаратам методом MALDI-ToF масс-спектрометрии, ПЦР — для выявления генов резистентности и периодического выборочного полногеномного исследования, что будет способствовать обеспечению эпидемиологического надзора и оптимизации тактики терапии.

Результаты, полученные в данной работе, согласуются с более ранними сообщениями о повсеместно продолжающемся росте распространенности количества кампилобактерий, устойчивых к лекарственным препаратам [67, 73, 184]. Учитывая отсутствие перспективных новых антибактериальных препаратов для лечения тяжелых форм кампилобактериоза, актуальным является поиск новых средств терапии.

В проведенном исследовании в качестве альтернативы антибиотикам рассматривали пробиотики и аутопробиотики. Их антагонистическая

антикампилобактерная активность была оценена *in vitro* с помощью модифицированного капельного метода. При использовании предложенной модификации был возможен персонифицированный подбор пробиотиков для каждого пациента перед назначением пробиотической коррекции микробиоценоза и элиминации возбудителя. Ранее методы одновременной оценки чувствительности кампилобактерий к широкому спектру пробиотиков, аутопробиотиков и антибиотиков не применялись. Успешная разработка данной методики и ее практическое применение позволило выявить препараты, наиболее эффективные в отношении *Campylobacter* spp. (пробиотический штамм *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* ВВ-12, и аутопробиотические штаммы *Enterococcus*). Необходимо также отметить, что ни один пробиотик не показал способности блокировать рост всех изолятов кампилобактерий, что свидетельствует о необходимости постоянного индивидуального подбора данных препаратов для каждого пациента. Ограничениями исследования явилась невозможность оценить «непрямые» эффекты пробиотиков и аутопробиотиков (влияние на иммунный ответ, состояние эпителия кишечника, процессы переваривания).

Эти ограничения были частично преодолены при проведении исследования эффективности пробиотиков и аутопробиотиков *in vivo* на экспериментальной модели кампилобактериоза у мышей. Применение пробиотиков при экспериментальном кампилобактериозе показало достоверное снижение тяжести инфекции, проявляющееся менее значимым снижением массы тела животного и отсутствием повторных выделения возбудителя и гибели животных. Эффекты пробиотиков были сопоставимы с применением азитромицина. Подобные исследования, включавшие несколько пробиотиков, ранее не осуществлялись.

В ходе данного исследования был проведен анализ актуальных клинико-лабораторных параметров кампилобактериоза во всех возрастных группах детей. Наибольшее количество пациентов было в возрасте от 4 до 6 лет (34,5 %). Значимую долю пациентов составили дети первого года жизни (9,36 %). Ранее заболеваемость кампилобактериозом в данной группе пациентов связывали

преимущественно с нозокомиальным инфицированием [235, 246]. У наблюдаемых пациентов наиболее вероятным путем инфицирования служило употребление мясных прикормов из фермерских продуктов, не прошедших должную термическую обработку. В целом полученные в ходе исследования данные соответствовали возрастной структуре развитых стран Европы и Северной Америки [185, 186]. Единственным отличием служила более высокая частота кампилобактериоза у детей первого года жизни.

Статистически значимых различий в распределении по полу среди детей выявлено не было. Однако в 2 группах детей: 1–3 лет и 7–14 лет — выявлено преобладание мальчиков (64,1 % и 63,8 %), что совпадает со статистическими данными о большем риске кампилобактериоза у лиц мужского пола [187].

В большинстве случаев заболевание протекало в среднетяжелой форме (76,85 %). Тяжелые формы инфекции отмечены у 35 детей (17,24 %). На основании анализа клинических симптомов заболевания было выделено четыре клинических варианта кампилобактериоза: энтероколитический (43,34 % пациентов), гастроэнтеритический (38,4 % пациентов), токсический (9,4 % пациентов) и абдоминальный (8,9 % пациентов). Все пациенты с тяжелой формой кампилобактериоза имели энтероколитический или токсический вариант заболевания. Высокая частота тяжелых форм определялась ограничениями исследования: оценивались особенности кампилобактериоза у детей, госпитализированных в стационар, в то время как значимая часть детей с легкими формами заболевания, вероятно, проходит лечение амбулаторно или не обращается за медицинской помощью [80].

Среди наблюдаемых пациентов наиболее распространенным был энтероколитический вариант кампилобактериоза, характеризовавшийся инвазивной диареей с частым присоединением гемоколита, выраженным интоксикационным и абдоминальным болевым синдромом. Для пациентов данной группы были характерны выраженные воспалительные изменения в гемограмме и копроцитограмме.

Средняя частота стула в разгар заболевания составляла $7,6 \pm 2,3$ раза.

Симптомы дистального колита (тенезмы, спазм и болезненность сигмовидной кишки) отмечались у 76,1 % детей этой группы. Особенностью данной группы пациентов также были высокие цифры фекального кальпротектина и зонулина, а также медленный характер их нормализации. Отмечены возрастные особенности колитического варианта: наиболее тяжелые формы отмечались в возрастной группе от 1 до 3 лет.

Гастроэнтеритический вариант характеризовался преимущественным поражением верхних отделов ЖКТ (тошнота, рвота, отказ от еды), неинвазивным типом диареи, умеренными явлениями интоксикации и слабыми болями в животе, преимущественно в околопупочной области. У детей с гастроэнтеритическим вариантом кампилобактериоза отмечена меньшая продолжительность диареи ($2,46 \pm 0,32$ и $5,61 \pm 0,63$ дней соответственно), интоксикации ($1,98 \pm 0,62$ и $3,23 \pm 0,45$ дней) и абдоминального болевого синдрома ($2,75 \pm 0,25$ и $6,43 \pm 0,43$ дней) в сравнении с энтероколитическим вариантом.

Группа пациентов из 37 человек (18,2 %) имела клиническую картину, которая в полной мере не укладывалась в первые два варианта заболевания. На основании доминирующей симптоматики были условно выделены абдоминальный и токсический варианты кампилобактериоза.

Особенностью абдоминального варианта (8,9 % пациентов) явился выраженный болевой синдром, интенсивность которого у 7,9 % детей требовала исключения хирургической патологии. Этот вариант чаще встречался у детей старше 7 лет. Диарея при данном варианте носила кратковременный характер и всегда упоминалась пациентами как второстепенное явление по сравнению с болями в животе. У 3 пациентов выявить наличие диареи удалось только после детального расспроса с активным выявлением жалоб.

Токсический вариант кампилобактериоза (9,4 % пациентов) относился к наиболее тяжелым по течению. У пациентов отмечалось доминирование интоксикационного синдрома, характеризующегося длительной стойкой лихорадкой выше 39°C на фоне единичных эпизодов рвоты и диареи.

C. jejuni чаще ассоциировался с гастроэнтеритическим вариантом

заболевания и выявлялся преимущественно у детей первых лет жизни. Эти данные согласуются с результатами исследований отечественных авторов, которые также отмечали превалирование *C. jejuni* в группе детей первых лет жизни [11, 41]. При выявлении *C. coli* чаще имел место энтероколитический вариант заболевания, отмечалось негладкое течение кампилобактериоза с обширным поражением тонкой и толстой кишки и большей частотой тяжелых форм. Ранее видовые особенности клинической картины кампилобактериоза отмечались лишь в единичных публикациях [21, 41], в которых выявленные параметры связывали преимущественно с возрастом пациента и путем заражения, а не с самим возбудителем.

Важной особенностью актуальной клинической картины кампилобактериоза явилась выраженность лабораторных показателей системного воспаления (уровень СРБ) и местной реакции слизистой (уровень фекального кальпротектина). Средние показатели и частота значительного повышения данных лабораторных параметров ранее отражалась только в публикациях описаний клинических случаев [93, 107, 252] или определенных декретированных групп пациентов [102, 242]. По всей видимости, патоморфоз кампилобактериоза привел к тому, что существовавшая ранее в практическом здравоохранении концепция более вероятного течения сальмонеллеза, шигеллеза или ряда других ОКИ при высоких цифрах СРБ более не является актуальной. Это затрудняет выбор стартового лекарственного препарата у детей с выраженными признаками воспаления.

В ходе проведенного исследования было показано, что различные схемы лекарственной терапии имели различную частоту повторного бактериовыделения и неудовлетворительных результатов лечения. В терапии тяжелых и среднетяжелых форм кампилобактериоза у детей раннего возраста сохраняли эффективность препараты группы макролидов. В то же время, назначение антибактериальных препаратов группы цефалоспоринов с последующей сменой на группу макролидов приводило к замедлению процесса выздоровления за счет значимого повреждения микробиоценоза кишечника и приводило к частому повторному выделению возбудителя. Предшествующие кампилобактериозу курсы

антибактериальной терапии, ранний перевод на искусственное вскармливание, а также гастроэнтерологическая патология у родственников являются факторами риска повторного выделения возбудителя кампилобактериоза после лечения у детей раннего возраста. Сопоставимые с применением азитромицина результаты показало применение пробиотиков, содержащих 10^9 КОЕ, — *Lactobacillus* GG и *Bifidobacterium lactis* BB-12 по 1 капсуле два раза в день в течение 5–7 дней. Пациенты, не получавшие антибактериальный препарат, не только не имели статистически значимых отличий по частоте и длительности сохранения симптомов заболевания, но и имели большую частоту рецидивов.

Неудовлетворительным результатам лечения кампилобактериоза предшествовал более длительный период общеинфекционной симптоматики и жидкого стула, а в случаях развития колитического варианта кампилобактериоза — замедленная репарация слизистой кишечника с продолжительным присутствием крови и слизи в фекалиях. Наиболее значимым предиктором неблагоприятного течения кампилобактериоза является возбудитель с генотипом *flgE+*, *cdtA+*, *cdtC+*.

Для оценки факторов, предрасполагающих к негладкому течению кампилобактериоза и повторному бактериовыделению, были проанализированы особенности микробиоценоза кишечника и иммунного реагирования. Ранее исследование микробиоценоза при кампилобактериозе проводилось преимущественно одним методом и не учитывались отдаленные исходы заболевания [232, 325]. Нельзя, однако, не отметить крупное когортное исследование, проведенное S. Rouhani в Перу, который выявил характерные изменения микробиоценоза, предрасполагающие к инфицированию кампилобактериями, а также последующее значение данных изменений для восстановления нормальной прибавки массы тела и роста [191].

В ходе данного исследования методом ПЦР-РВ было выявлено снижение содержания *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *B. thetaiotaomicron* и увеличение содержания *B. fragilis* по сравнению с референсными значениями у всех пациентов с кампилобактериозом. Данные изменения регистрировались с

первых дней заболевания и нарастали к 7 суткам наблюдения за пациентом. При проведении 16S рРНК метагеномного исследования была также установлена сильная обратная корреляция тяжести инфекционного процесса и уровня α -разнообразия Шеннона кишечной микробиоты. Анализ главных компонент показал, что при более легком течении кампилобактериоза отмечалась выраженная кластеризация на уровне в зоне фила *Proteobacteria*, при более тяжелом течении — в зонах, соответствующих представителям *Verrucomicrobia* и *Bacteroidetes*, что может быть связано с присутствием *Akkermansia* spp. и *B. fragilis*, соответственно. Оба рода бактерий могут способствовать инвазии возбудителя за пределы слизистой оболочки кишечника.

Анализ различий иммунного реагирования между тяжелыми и среднетяжелыми формами кампилобактериоза свидетельствовал о превалировании при тяжелой форме заболевания признаков избыточной активации клеточного звена иммунного ответа (значительное повышение уровня CD3+ CD8+ эффекторных Т-лимфоцитов). В то же время при относительно благоприятном течении кампилобактериоза иммунный ответ характеризовался несколько меньшей в абсолютных величинах, но одновременной активацией и гуморального, и клеточного звеньев иммунного реагирования. Важное значение в качестве предиктора тяжелого течения кампилобактериоза показал IL-8. Его повышение в первые дни инфекции коррелировало с негладким течением кампилобактериоза.

У пациентов с негладкими формами кампилобактериоза было проведена терапия пробиотиками и аутопробиотиками. Ранее уже отмечалось успешное использование отдельных пробиотиков при терапии кампилобактериоза [83,168, 255]. Следует подчеркнуть, что терапия кампилобактериоза при помощи аутопробиотических энтерококков проводилась впервые в мире. Выбор данного функционального персонифицированного продукта был не случаен. Ранее была доказана его высокая эффективность перед пробиотическими средствами, обусловленная отсутствием конфронтации организма хозяина и его микробиоценоза с вводимыми индигенными непатогенными бактериями [5, 29].

Получены патенты РФ, описывающие принципы использования аутопробиотиков при терапии СРК, болезни Паркинсона и хеликобактерной инфекции [76].

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о возможности успешного применения как аутопробиотиков, так и пробиотика *E. faecium* L3 для лечения затяжных форм кампилобактериоза. Анализ данных, полученных в ходе сопоставления эффектов терапии двумя пробиотическими препаратами, показал более быструю положительную клинико-лабораторную динамику, а также более высокую частоту выздоровления у детей, получавших аутопробиотик. Исследования влияния двух различных подходов назначения пробиотических штаммов энтерококка детям с затяжным течением кампилобактериоза — условно «эталонного» промышленного штамма *E. faecium* L3 и аутопробиотических штаммов с сопоставимой частотой (88,9 % и 93,3 % случаев соответственно) выявили их значимое положительное воздействие на течение затяжных форм кампилобактериоза, что выражалось исчезновением абдоминального болевого синдрома, нормализацией частоты и консистенции стула, купированием гемоколита при отсутствии нежелательных побочных явлений. Анализ динамики копрограмм до и после приема аутопробиотиков и пробиотика *E. faecium* L3 также не выявил достоверных различий: имела место равнозначная положительная динамика в виде улучшения большинства макроскопических и микроскопических характеристик стула. Исследование состава микробиоты кишечника показало, что после курса назначения аутопробиотических штаммов *E. faecium* отмечалось достоверное повышение содержания бутират-продуцирующего индигенного представителя — *F. prausnitzii*, способствующего репарации слизистой оболочки кишечника.

Проведенные исследования также показали, что курсовое использование аутопробиотических штаммов энтерококка способствовало снижению частоты реконвалесцентного выделения кампилобактерий, это позволяет предполагать saniрующее воздействие аутопробиотиков и не исключает подобного эффекта в отношении других бактериальных возбудителей кишечных инфекций у детей.

Однако, несмотря на ряд явных преимуществ аутопробиотиков, существует ряд ограничений по их применению. Наиболее значимыми являются ограничения по времени, связанные с необходимостью выделения индигенного аутопробиотического штамма, оценки их безопасности и изготовления на их основе лекарственного препарата. Состояние микробиоценоза кишечника на фоне массивной колонизации кишечника патогенными *Campylobacter* spp. и применения антибактериальных препаратов может затруднять выделение аутопробиотических штаммов. Существенными остаются и финансовые затраты на приготовление аутопробиотической закваски.

Тем не менее, эффекты, полученные в ходе терапии аутопробиотиком у наиболее сложной группы пациентов, не ответившей на использование стандартных схем терапии, представляются, несомненно, значимыми. Причем с учетом явной тенденции по увеличению численности резистентных к антибактериальной терапии штаммов *Campylobacter* spp. актуальность применения аутопробиотиков будет только возрастать.

Предметом будущих разработок может служить сокращение времени приготовления аутопробиотика для максимального раннего назначения с целью терапии. Одним из возможных решений данной проблемы могло бы стать создание биобанков фекальной микробиоты, наиболее эффективное именно в детском возрасте.

Пристального внимания также требует дальнейшее изучение факторов, предрасполагающих к негладкому течению кампилобактериоза. Выделение группы пациентов с высоким риском подобного течения заболевания позволит уже в острый период заболевания приступить к созданию аутопробиотика и минимизировать время ожидания приготовления на его основе лечебной закваски.

Наблюдение за детьми, перенесшими кампилобактериоз, позволило подтвердить значимость негативного воздействия данного заболевания на состояние здоровья пациентов. Так, по итогам двенадцати месяцев наблюдения только у 61 пациента (40,9 %) не было выявлено симптомов постинфекционной патологии желудочно-кишечного тракта. Было установлена наиболее типичная

симптоматика (боли в животе, нарушения консистенции стула по типу запоров) и сроки ее появления (три — шесть месяцев с момента перенесенного заболевания).

По итогам катамнестического наблюдения различные формы ФРОП диагностированы у 67 пациентов (33,01 %). Было выявлено 4 нозологические формы ФРОП: СРК, функциональные запоры, функциональная диарея и функциональная диспепсия. [124, 178]. Частота развития ФРОП в проведенном исследовании превосходила показатели, полученные M.Ridley [224], который анализировал взрослые когорты пациентов. Стоит однако отметить, что структура постинфекционных ФРОП в проведенном исследовании и в группах взрослых пациентов, оцениваемых другими учеными, имела целый ряд сходств в отношении ведущих клинических проявлений и динамики их появления [224, 265]. Так максимальная интенсивность болевого синдрома достигалась к 6 месяцу после начала наблюдения. Европейские и американские авторы, учитывая значительность воздействия кампилобактерий на иммунитет и микробиоценоз кишечника, рассматривают данное заболевание в качестве ключевого триггера ФРОП на общепопуляционном уровне [124,178]. Формирование ФРОП у реконвалесцентов ОКИ большинство исследователей связывают с особенностями системы ноцицепции и висцероцепции в детском возрасте. В частности, большое внимание уделяется потенциалу легких форм кампилобактериоза, истинная частота которых не изучена.

Группа пациентов, сформировавших ФРОП, при ретроспективном анализе имела целый ряд особенностей, учет которых мог бы способствовать профилактике данных состояний. Одним из ключевых модифицируемых факторов был выбор лекарственной терапии острого периода кампилобактериоза. Наименее высокими риски формирования ФРОП были при монотерапии пробиотиками или макролидами. Применение нитрофуранов и цефалоспоринов приводило к значительному повышению шансов формирования ФРОП. С наибольшей вероятностью происходило формирование ФРОП при смене антибактериального препарата на сроке более 3 суток. Особого внимания при формировании ФРОП у детей после кампилобактериоза заслуживали показатели кишечной микробиоты.

Большинство пациентов, сформировавших ФРОП, имели единый профиль микробиоты кишечника с значительным повышением относительного содержания родов условно-патогенных микроорганизмов *Haemophilus*, *Bifidobacteria*, *Peptostreptococcus*, *Stenotrophomonas*, *Photobacterium*, *Aerococcus*, *Suterella* и *Granulicatella* на фоне снижения микроорганизмов рода *Enterococcus* и *Christensenella*. Дефицит микроорганизмов рода *Enterococcus*, выявленный методом 16S РНК-секвенирования после перенесенного кампилобактериоза, является еще одним возможным объяснением высокой эффективности аутопробиотиков, содержащих *Enterococcus faecium*. Эффекты терапии аутопробиотиками на основании индигенных микроорганизмов данного вида показали наибольшую эффективность по сравнению с пробиотическим штаммом *Enterococcus faecium* L3 и сведениями о коррекции данных состояний другими методами, по результатам аналогичных исследований [183]. Клинические эффекты применения персонифицированной симбионтной терапии у детей с ФРОП в катамнестическом периоде кампилобактериоза сочетались со значительным ростом содержания *Enterococcus* spp. по данным ПЦР-РВ.

Таким образом, полученные результаты расширяют представления о распространении, патогенетических факторах, течении кампилобактериоза и роли взаимодействия возбудителя с организмом ребенка, а также отдельными представителями микробиоценоза кишечника. Учет этих факторов позволил выделить клинико-лабораторные параметры определяющие исходы заболевания. Установлена ключевая роль микробиоценоза кишечника и особенностей иммунного ответа в патогенезе кампилобактериоза у детей, оценка которых позволяет прогнозировать характер течения заболевания и усовершенствовать персонифицированную терапию данного заболевания.

Предложенные изменения в тактике двухэтапного использования диагностических методов с учетом стадии заболевания для этиологической диагностики кампилобактериоза могут повысить ее качество и быть использованы для их дальнейшего усовершенствования при появлении новых технических возможностей.

Данные генотипирования с применением биоинформационных ресурсов и методов секвенирования нового поколения расширяют возможности эпидемиологического мониторинга за данной инфекцией, позволяющие оптимизировать профилактические меры для снижения ее распространения и подбор терапевтических средств.

Предложенные модели для оценки антикампилобактерного эффекта в системах *in vivo* и *in vitro* могут быть использованы для выявления более эффективных средств терапии в том числе при выборе пробиотиков, обладающих высоким потенциалом для борьбы с *Campylobacter* spp.

Разработанные критерии прогнозирования неблагоприятного течения кампилобактериоза и низкой эффективности стартовой терапии позволяют врачу усовершенствовать тактику ведения пациентов.

Применение персонифицированной терапии аутопробиотиками и пробиотиками является эффективным инструментом как при негладком течении кампилобактериоза с повторным бактериовыделением, так и для коррекции ФРОП, сформировавшихся после перенесенной инфекции. В дальнейшем, подбор пробиотических и аутопробиотических штаммов может быть рекомендован в рутинной практике для назначения персонифицированной антикампилобактерной терапии, а наиболее эффективные из них могут рассматриваться в качестве кандидатов для создания новых пробиотических препаратов.

ВЫВОДЫ

1. Чувствительность диагностики кампилобактериоза составляет при использовании ПЦР — 92,2 %, ФИА — 83,1 %, бактериологического исследования — 26,5 %, специфичность — 88,5 %, 82,0 % и 95,3 %, соответственно. Наиболее высокую точность диагностики в первые 24 часа имеет культуральный метод (92,4 %), после 72 часов – ФИА (89,7 %). На основе алгоритма дерева решений разработана модель, заключающаяся в последовательном применении ПЦР и ФИА, позволяющая с чувствительностью 96,4 % и специфичностью 95,3 % диагностировать кампилобактериоз у детей.

2. Пробиотики и аутопробиотики в системе *in vitro* обладают штаммоспецифическим антагонистическим действием в отношении кампилобактерий. Наибольший эффект оказывают штаммы *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* и *Enterococcus faecium*, ингибирующие рост 85,7 % и 92,9 % изолятов кампилобактерий. Применение *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* и *Enterococcus faecium* L3 при экспериментальном кампилобактериозе у мышей снижало летальность на 65,0 % и 60,0 % и частоту бактериовыделения на 16,6 % и 57,0 %, соответственно.

3. Кампилобактериоз у детей протекает преимущественно в двух клинических вариантах — энтероколитическом (43,3 %) и гастроэнтеритическом (38,4 %). У детей 1–3 лет отмечена большая продолжительность интоксикационного, диарейного и болевого синдрома, сопровождающихся наиболее выраженными нарушениями микробиоценоза кишечника. Изменения микробиоценоза характеризуются снижением альфа-разнообразия, снижением уровня симбиотических микроорганизмов *Lactobacillus* spp., *F. prausnitzii* и *B. thetaiotaomicron* и увеличением популяции условно-патогенных энтеробактерий и *B. fragilis*.

4. В этиотропной терапии тяжелых и среднетяжелых форм кампилобактериоза у детей раннего возраста наибольшую эффективность имеют антибактериальные препараты группы макролидов. При легких и среднетяжелых

формах монотерапия пробиотическими средствами сопоставима по эффективности с применением комбинации пробиотика и азитромицина. Назначение антибактериальных препаратов группы цефалоспоринов при кампилобактериозе приводит к замедлению процесса выздоровления за счет значимого повреждения микробиоценоза кишечника, приводя к повышению длительности лечения и финансовых затрат, а также риска повторного выделения возбудителя. Предшествующие кампилобактериозу курсы антибактериальной терапии, ранний перевод на искусственное вскармливание, а также гастроэнтерологическая патология у родственников являются факторами риска повторного выделения возбудителя кампилобактериоза после лечения у детей раннего возраста.

5. Функциональные расстройства органов пищеварения формируются у 33,01 % детей, перенесших кампилобактериоз. Функциональные запоры диагностируются в 11,2 % случаев, синдром раздраженного кишечника — в 3,5 %, функциональная диспепсия — в 2,8 %, функциональные абдоминальные боли, не классифицируемые в другие рубрики — в 2,1 %, функциональная диарея — в 1,4 %. Ведущими клиническими симптомами в период катамнеза у детей после кампилобактериоза являются абдоминальные боли и нарушения дефекации в виде запоров.

6. На основании методов математического моделирования установлен комплекс прогностических факторов, определяющих формирование функциональных расстройств органов пищеварения у детей после кампилобактериоза: тяжесть инфекции по шкале Кларка, уровень *Bacteroides fragilis*, генотип возбудителя *flgE+*, *cdtB+* и *cdtC+*, наличие гемоколита, высокий уровень зонулина на 14 сутки заболевания и возраст пациента менее 3 лет. Также прогностическим ориентиром является увеличение представительства родов условно-патогенных бактерий *Bilophila*, *Haemophilus*, *Odoribacter*, *Granulicutella*, *Burcholderia* и *Suterella*, снижение процентного содержания облигатных представителей кишечного микробиоценоза, лактобацилл и энтерококков, а также представительство бактерий родов *Ruminococcus*, *Pseudobutiricum*, *Cristensinella*,

Holdemania, значение которых в составе микробиоценоза еще остается малоизученным.

7. Применение персонифицированной терапии аутопробиотиками на основе индигенных штаммов *E. faecium* является эффективным методом лечения как негладкого течения кампилобактериоза с повторным бактериовыделением, так и функциональных расстройств пищеварения, сформировавшихся после перенесенной инфекции.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Обследованию на кампилобактериоз подлежат дети с колитом и гемоколитом, длительной или рецидивирующей диареей, а также пациенты с подозрением на клинику «острого живота» на фоне диареи и септические больные. Для диагностики заболевания целесообразно использовать комплексный подход к выявлению возбудителя с применением культуральных методов, ПЦР и ФИА в фекалиях, позволяющих своевременно проводить адекватную этиотропную терапию и определить профиль антибиотикорезистентности микроорганизма. Диагностика гемоколитов в современных условиях не может ограничиваться только культуральными методами, а должна включать ПЦР и ФИА, в том числе из-за высокой частоты кампилобактериоза. При этом определение чувствительности штаммов кампилобактерий к антибиотикам, пробиотикам и аутопробиотикам позволяет значительно повысить результаты лечения при кампилобактериозе.

2. На основании алгоритма дерева решений разработана модель, основанная на последовательном применении методов ПЦР и ФИА, позволяющая с чувствительностью 96,4 % и специфичностью 95,3 % диагностировать кампилобактериоз. Предлагается следующий порядок диагностики кампилобактериоза. На 1 этапе выполняется ПЦР. Если результат положительный, то диагностируется кампилобактериоз. Если результат отрицательный, то переходим ко 2 этапу и выполняем тест ФИА. Если результат положительный, то диагностируется кампилобактериоз. Если результат отрицательный, то с точностью 90,9 % диагностируется отсутствие кампилобактериоза.

3. Применение нитрофуранов и цефалоспоринов III поколения у пациентов с геморрагическими колитами в качестве стартовой терапии без применения мер по идентификации возбудителя может быть контрпродуктивно из-за высокой частоты кампилобактериоза, при котором данные лекарственные препараты замедляют выздоровление и повышают вероятность негладкого течения заболевания.

4. Для повышения эффективности лечения кампилобактериоза

целесообразно дополнительное исследование микробиоценоза кишечника с использованием ПЦР «Колонофлор-16». Применение модели прогнозирования негладкого течения кампилобактериоза, основанной на оценке параметров тяжести инфекционного процесса: высокий уровень СРБ, наличие гемоколита, лихорадка длительностью не менее 5 дней, возраст от 1 до 3 лет, высокая частота стула в 1 сутки, — позволяет выявить пациентов группы риска и своевременно скорректировать терапевтическую тактику.

5. Дети, перенесшие кампилобактериоз и отнесенные к группе высокого риска формирования неблагоприятных исходов заболевания (тяжесть инфекции по шкале Кларка более 12 баллов, высокий уровень *Bacteroides fragilis*, генотип возбудителя *flgE+*, *cdtA+* и *cdtC+*, наличие гемоколита, высокий уровень зонулина на 14 сутки заболевания, возраст пациента менее 3 лет), нуждаются в длительном, в течение не менее 1 года, наблюдении на предмет выявления симптомов функциональных расстройств органов пищеварения.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АЛТ — аланинаминотрансфераза
- АПК — антигенпрезентирующие клетки
- АСТ — аспартатаминотрансфераза
- ВЗК — воспалительные заболевания кишечника
- ВОЗ — Всемирная организация здравоохранения
- ГГА — гистогематический антиген
- ГГТП — гаммаглутаминтранспептидаза
- ДВС-синдром — синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания
- ДК — дендритные клетки
- ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота
- ЖКТ — желудочно-кишечный тракт
- ИФА — иммуноферментный анализ
- ИХ — иммунохроматографический
- К-МЛСТ — комплексное мультилокусное сиквенс-типирование
- кДа — килодальтон
- КОЕ — колониеобразующие единицы
- КЦЖК — короткоцепочечные жирные кислоты
- ЛОС — липоолигосахариды
- ЛДФ — линейная дискриминантная функция
- МЛС — мультилокусное секвенирование
- МЛСТ — типирование на основе мультилокусных последовательностей
- НИИ — научно-исследовательский институт
- НПЦ — научно-производственный центр
- ОКИ — острая кишечная инфекция
- ООО — общество с ограниченной ответственностью
- ПЦР — полимеразная цепная реакция
- ПЦР-РВ — полимеразная цепная реакция в режиме реального времени

pРНК — рибосомные рибонуклеиновые кислоты

СЗГМУ им. И.И. Мечникова – Северо-Западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова

СЗО РАН – Северо-Западное отделение Российской академии наук

СОЭ — скорость оседания эритроцитов

СПбГПМУ – Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет

СРБ — С-реактивный белок

СРК — синдром раздраженной кишки

ТА — термостабильный антиген

УЗИ — ультразвуковое исследование

УПМ — условно-патогенные микроорганизмы

ФГБУ — федеральное государственное бюджетное учреждение

ФИА — флуоресцентный иммуноанализ

ФМБА — Федеральное медико-биологическое агентство

ФРОП — функциональные расстройства органов пищеварения

ASV (Amplicon Sequence Variant) — ампликонный вариант секвенирования

CD (Cluster of Differentiation) — кластер дифференцировки

CDC (Centers for Disease Control and Prevention) — Центры по контролю и профилактике заболеваний

cgMLST (Core Genome Multilocus Sequence Typing) — типирование мультилокусных последовательностей основного генома

EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) —

Европейский комитет по тестированию антимикробной чувствительности

IL — интерлейкин

MALDI-ToF — матрично-ассоциированная лазерная десорбция ионизацией

NF-κB (Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer of Activated B Cells) — ядерный фактор κB

OR (Odds Ratio) — отношение шансов

OTU (Operational Taxonomic Unit) — операционная таксономическая единица

PCA (Principal Component Analysis) — анализ главных компонент

ROC-AUC (Area Under Curve Receiver Operating Characteristic), площадь под кривой рабочей характеристики данных

RR (Relative Risk) — относительный риск

Th (T helper cells) — Т-хелперные клетки

TLR (Toll like receptors) — Toll-подобные рецепторы

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акимова, В. Н. Экспрессия CD95 на лимфоцитах периферической крови при острых и хронических абдоминальных заболеваниях / В. Н. Акимова. – Текст : непосредственный // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 1. – С. 127.
2. Актуальные аспекты бактериологической диагностики и лечения кампилобактериоза у детей / Н. В. Тарасенко, Е. А. Силина, И. А. Кравченко Ю. В. Штиблер. – Текст : непосредственный // Запорожский медицинский журнал. – 2011. – № 4, № 13. – С. 135-136.
3. Антагонистическая активность пробиотиков и бактериоцинов в отношении *Campylobacter* spp. / Н. П. Болдырева, К. Д. Ермоленко, Э. А. Мартенс [и др.]. – Текст : непосредственный // Здоровье — основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. – 2019. – Т. 14, № 1. – С. 460-469.
4. Антибиотикорезистентность штаммов *Campylobacter jejuni*, выделенных из пищевых продуктов / Н. Р. Ефимочкина, Ю. В. Короткевич, В. В. Стеценко [и др.]. – Текст : непосредственный // Вопросы питания. – 2017. – Т. 86, № 1. – С. 17-27.
5. Аутопробиотики как средство профилактики инфекционно-воспалительных заболеваний у человека в искусственной среде обитания / В. К. Ильин, А. Н. Суворов, Н. В. Кирюхина [и др.]. – Текст : непосредственный // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2013. – Т. 68, № 2. – С. 56-62.
6. Бакаева, О. А. Использование шанса и шансового отношения для выявления связи между качественными переменными / О. А. Бакаева, В. Н. Щенников. – Текст : непосредственный // Вестник ВСГУТУ. – 2012. – Т. 38, № 3. – С. 37.
7. Бельмер, С. В. Функциональные расстройства органов пищеварения у детей. Рекомендации Общества детских гастроэнтерологов, гепатологов и нутрициологов. Часть 1 / С. В. Бельмер. – Текст : непосредственный // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2020. – Т. 65, № 4. – С. 150-161.

8. Бехтерева, М. К. Кампилобактериоз / М. К. Бехтерева, О. И. Ныркова, А. Н. Сиземов. – Текст : непосредственный // Педиатр. – 2012. – Т. 3, № 3. – С. 102-109.
9. Бехтерева, М. К. Клинические рекомендации (протокол лечения) оказания медицинской помощи детям больным кампилобактериозом / М. К. Бехтерева, В. А. Анохин, С. В. Халиуллина. – Текст : электронный // Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней федерального медико-биологического агентства» : [сайт]. – 2013. – URL: <http://niidi.ru/dotAsset/cbe56de8-e407-47c2-b35d-1a076895865f.pdf> (дата обращения: 14.06.2023 г.).
10. Влияние пробиотических энтерококков на функциональные характеристики кишечника крыс при дисбиозе, индуцированном антибиотиками / Е. И. Ермоленко, В. Н. Донец, Ю. В. Дмитриева [и др.]. – Текст : непосредственный // Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина. – 2009. – № 1. – С. 157-167.
11. Горелов, А. В. Кампилобактериоз у детей / А. В. Горелов. – Текст : непосредственный // Инфекционные болезни. – 2004. – Т. 2, № 3. – С. 80-82.
12. Диагностика кампилобактериоза культуральным методом: возможность и перспектива / О. В. Полосенко, А. П. Шепелин, И. И. Марчихина, Л. П. Шолохова. – Текст : непосредственный // Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации: материалы V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (г. Орехово-Зуево, 30 ноября 2018 г.). – Орехово-Зуево : Издательство Государственного гуманитарно-технологического университета, 2018. – С. 179-181.
13. Ермоленко, К. Д. Особенности клинического течения кампилобактериоза у пациентов различных возрастных групп / К. Д. Ермоленко, Т. В. Потапова, Е. И. Ермоленко. – Текст : непосредственный // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2019. – № 2. – С. 18-19.
14. Заболеваемость острыми кишечными инфекциями в Санкт-Петербурге на фоне пандемии COVID-19 / Т. В. Потапова, К. Д. Ермоленко, А. В. Холин [и др.]. – Текст

: непосредственный // Журнал инфектологии. – 2022. – Т. 14, № 3. – С. 37-44.

15. Захаренко, С. М. Антибиотики и пробиотики в профилактике и терапии диареи путешественников / С. М. Захаренко. – Текст : непосредственный // Инфекционные болезни. – 2012. – Т. 10, № 2. – С. 61-69.

16. Зонулин как маркер проницаемости клеточных контактов при соматических и онкологических заболеваниях (обзор литературы) / Н. Н. Зыбина, Е. Л. Никонов, Е. С. Герштейн [и др.]. – Текст : непосредственный // Доказательная гастроэнтерология. – 2022. – Т. 11, № 4. – С. 28-44.

17. Каббани, М. С. Клеточно-опосредованная цитотоксичность (фенотипы cd8 и cd16) в иммунном ответе (обзор) / М. С. Каббани, Т. Б. Сергеева, Л. С. Щеголева. – Текст : непосредственный // Новые исследования. – 2021. – Т. 66, № 2. – С. 36-43.

18. Кишечная микробиота: современные представления о видовом составе, функциях и методах исследования / А. А. Кожевников, К. В. Раскина, Е. Ю. Мартынова [и др.]. – Текст : непосредственный // РМЖ. – 2017. – Т. 25, № 17. – С. 1244-1247.

19. Клинико-эпидемиологические аспекты сальмонеллеза и кампилобактериоза у детей / М. В. Савиных, Т. И. Калужских, Н. А. Савиных [и др.]. – Текст : непосредственный // Журнал инфектологии. – 2020. – Т. 12, № 4 S 1. – С. 97.

20. Клинико-эпидемиологическая характеристика кампилобактериоза у детей / О. В. Молочкова, О. Б. Ковалев, А. А. Новокшенов [и др.]. – Текст : непосредственный // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2017. – Т. 96, № 6. – С. 53-56.

21. Клинические особенности кампилобактериоза у детей, современные подходы к его диагностике и терапии / О. В. Тихомирова, А. С. Лачкова, А. С. Кветная [и др.]. – Текст : непосредственный // Инфекционные болезни. – 2004. – Т. 2, № 4. – С. 59-63.

22. Кобрисова, Р. М. Ретроспективный анализ заболеваемости населения кампилобактериозом за период 2010-2020 годов / Р. М. Кобрисова, И. Д. Смирнов.

– Текст : непосредственный // Трамплин в науку. Сборник тезисов студенческой научно-практической конференции (Красноярск, 11-31 мая 2022 года) / под редакцией П. А. Шестерня, О. А. Белова, П. В. Алябьева [и др.]. – Красноярск : тип. КрасГМУ, 2022. – С. 35.

23. Корниенко, Е. А. Микробиота кишечника как ключевой фактор формирования иммунитета и толерантности. Возможности пробиотиков / Е. А. Корниенко. – Текст : непосредственный // Медицинский совет. – 2020. – № 10. – С. 88-96.

24. Макарова, А. Р. Современные подходы к диагностике кампилобактериоза у детей / А. Р. Макарова, В. Ф. Баликин. – Текст : непосредственный // Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека: материалы IV всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием XIV областной фестиваль «Молодые ученые - развитию ивановской области». – Иваново, 2018. – С. 308-310.

25. Медведева, Е. А. Маски абдоминальной боли у детей дошкольного и раннего школьного возраста / Е. А. Медведева, А. И. Хавкин. – Текст : непосредственный // РМЖ. Мать и дитя. – 2023. – Т. 6, № 2. – С. 175-183.

26. Микробиота кишечника при язвенном колите и целиакии / С. И. Ситкин, Т. Я. Вахитов, Е. И. Ткаченко [и др.]. – Текст : непосредственный // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2017. – Т 137, № 1. – С. 8-30.

27. Миннетдинова, Э. С. Кампилобактериз у детей / Э. С. Миннетдинова, И. Ф. Миясарова. – Текст : непосредственный // Forcipe. – 2020. – Т. 3, № 5. – С. 296-297.

28. Острые кишечные инфекции в таблицах и схемах: Учебно-методическое пособие. Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии. Медицинский университет «Реавиз» / А. В. Горелов, А. А. Плоскирева, Т. А. Руженцова [и др.]. – Москва : Консалтинговая компания Юком, 2020. – 60 с. ISBN 978-5-4480-0273-1. – Текст : непосредственный.

29. Патент № 2460778 Российская Федерация, МПК C12N 1/20 (2006.01), A61K 35/74 (2006.01), A23C 9/127 (2006.01). Способ получения аутопробиотика на основе

Enterococcus faecium, представителя индигенной микрофлоры кишечника хозяина : № 2010154822/10 : заявл. 30.12.2010 : опубл. 10.09.2012 / Суворов А. И., Симаненков В. И., Сундукова З. Р. [и др.] ; заявители Суворов А. И., Симаненков В. И. – 11 с. : ил. – Текст: непосредственный.

290. Патент № 1286212 А1 Союз Советских Социалистических Республик, МПК А61К 35/74 (2006.01). Способ лечения дисбактериоза кишечника : № 3769186/28-14 : заявл. 25.07.1984 : опубл. 30.01.1987 / Коршунов В.М., Сеницына Н.А., Пинегин Б.В., Гиноман Г.А. – 4 с. – Текст: непосредственный.

30. Персонафицированная симбионтная терапия детей с функциональными расстройствами органов пищеварения / Н. В. Гончар, Л. А. Алехина, А. Н. Цапиева [и др.]. – Текст : непосредственный // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2021. – Т. 12, № 196. – С. 44-52.

31. Плоскирева, А. А. Тактика пробиотической терапии при острых кишечных инфекциях у детей / А. А. Плоскирева, А. В. Горелов. – Текст : непосредственный // Вопросы практической педиатрии. – 2015. – Т. 10, № 2. – С. 40-46.

32. Подшибякина, О. В. Кампилобактериоз у детей на современном этапе / О. В. Подшибякина, Е. А. Краевская, А. В. Подосинникова. – Текст : непосредственный // Молодежный инновационный вестник. – 2019. – Т. 8, № 2. – С. 205-207.

33. Поздеева, М. А. Кампилобактериоз среди жителей преарктической зоны европейского севера / М. А. Поздеева, Г. Ш. Османова, И. Е. Ирхина. – Текст : непосредственный // Вестник науки и образования. – 2019. – Т. 55, № 1-2. – С. 75-78.

34. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ «Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» (вместе с «СанПиН 3.3686-21. Санитарные правила и нормы...») от 28.01.2021 № 4 (зарегистрировано в Минюсте России 15.02.2021 г. № 62500) – Текст : электронный // Консультант Плюс: информационно-правовой портал: [сайт]. – 2021. – URL:

http://vnipchi.rospotrebnadzor.ru/s/203/files/ND/safety/95493_64.pdf (дата обращения: 22.05.2023 г.).

35. Роль колонизационной резистентности слизистой оболочки желудка и кишечника в развитии инфекций бактериальной природы желудочно-кишечного тракта / И. Ю. Чичерин, И. П. Погорельский, А. М. Колодкин [и др.]. – Текст : непосредственный // Инфекционные болезни. – 2019. – Т. 17, № 3. – С. 55-68.
36. Роль острых кишечных инфекций вирусной этиологии в формировании функциональной патологии желудочно-кишечного тракта у детей / К. Д. Ермоленко, Н. В. Гончар, Е. И. Ермоленко [и др.]. – Текст : непосредственный // Фарматека. – 2016. – Т. 1, № 314. – С. 55.
37. Сафина, Д. Д. Микробиота кишечника и ее значение для здоровья человека / Д. Д. Сафина, С. Р. Абдулхаков, Н. Б. Амиров. – Текст : непосредственный // Вестник современной клинической медицины. – 2021. – Т. 14, № 5. – С. 81-94.
38. Сезонность и возрастная структура заболеваемости острыми кишечными инфекциями на территории РФ / А. Т. Подколзин, Е. Б. Фенске, Н. Ю. Абрамычева [и др.]. – Текст : непосредственный // Терапевтический архив. – 2007. – Т. 79, № 11. – С. 10-16.
39. Супонева, Н. А. Клиническая и диагностическая роль аутоантител к ганглиозидам периферических нервов: обзор литературы и собственные данные / Н. А. Супонева. – Текст : непосредственный // Нервно-мышечные болезни. – 2013. – № 1. – С. 26-35.
40. Тазалова, Е. В. Чувствительность кампилобактерий к антибиотикам и некоторые механизмы формирования антибиотикорезистентности / Е. В. Тазалова. – Текст : непосредственный // Дальневосточный медицинский журнал. – 2012. – № 3. – С. 120-123.
41. Тихомирова, О. В. Клинико-патогенетическая характеристика кампилобактериоза у детей / О. В. Тихомирова, Л. В. Лачкова, А. С. Кветная. – Текст : непосредственный // Детские инфекции. – 2006. – Т. 5, № 3. – С. 11-15.

42. Тотолян, А. А. Современные подходы к диагностике иммунопатологических состояний / А. А. Тотолян. – Текст : непосредственный // Медицинская иммунология. – 1999. – Т. 1, № 1-2. – С. 75-108.
43. Хавкин, А. И. Биологическая роль зонулина и эффективность его использования в качестве биомаркера синдрома повышенной кишечной проницаемости / А. И. Хавкин, Н. М. Богданова, В. П. Новикова. – Текст : непосредственный // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2021. – Т. 66, № 1. – С. 31-38.
44. Халиуллина, С. В. Особенности диагностики и терапевтическая тактика при острых кишечных инфекциях неустановленной этиологии / С. В. Халиуллина, В. А. Анохин. – Текст : непосредственный // Инфекционные болезни. – 2015. – Т. 13, № 2. – С. 55-60.
45. Шевцова, Е. А. Клинико-лабораторные проявления острой кишечной инфекции, вызванной *Campylobacter* spp., на современном этапе / Е. А. Шевцова, М. А. Никонорова, О. В. Бесхлебова. – Текст : непосредственный // Современные проблемы науки и образования. – 2021. – № 1. – С. 55.
46. Шендеров, Б. А. Пробиотики и функциональное питание / Б. А. Шендеров, М. А. Манвелова, Ю. Б. Степанчук. – Текст : непосредственный // Антибиотики и химиотерапия. – 1997. – Т. 42, № 7. – С. 30-34.
47. Шендеров, Б. А. Современное состояние и перспективы развития концепции «функционального питания» / Б. А. Шендеров. – Текст : непосредственный // Пищевая промышленность. – 2003. – № 6. – С. 6-8.
48. Шуляк, Б. Ф. Диагностика кампилобактериозов / Б. Ф. Шуляк. – Текст : непосредственный // Российский ветеринарный журнал. – 2008. – № 4. – С. 19-22.
49. Эпидемиологические и клинико-лабораторные аспекты кампилобактериоза / Т. В. Потапова, Д. А. Лиознов, А. С. Драп, К. Д. Ермоленко. – Текст : непосредственный // Фарматека. – 2017. – Т. 5, № 13. – С. 40-43.
50. A decrease of the butyrate-producing species *Roseburia hominis* and *Faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis /

- K. Machiels, M. Joossens, J. Sabino [et al.]. – Текст : непосредственный // Gut. – 2014. – Vol. 63, № 8. – P. 1275-1283.
51. A nationwide study of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* bacteremia in Finland over a 10-year period, 1998–2007, with special reference to clinical characteristics and antimicrobial susceptibility / B. Feodoroff, A. Lauhio, P. Ellström, H. Rautelin. – Текст : непосредственный // Clinical Infectious Diseases. – 2011. – Vol. 53, № 8. – P. 99-106.
52. A new strain of *Christensenella minuta* as a potential biotherapy for obesity and associated metabolic diseases / W. Mazier, K. Le Corf, C. Martinez [et al.]. – Текст : непосредственный // Cells. – 2021. – Vol. 10, № 4. – P. 823.
53. A novel mouse model of *Campylobacter jejuni* enteropathy and diarrhea / N. Giallourou, G. L. Medlock, D. T. Bolick [et al.]. – Текст : непосредственный // PLoS pathogens. – 2018. – Vol. 14, № 3. – P. 1-23.
54. A randomized double blind controlled safety trial evaluating d-lactic acid production in healthy infants fed a *Lactobacillus reuteri*-containing formula / K. Papagaroufalas, A. Fotiou, D. Egli [et al.]. – Текст : непосредственный // Nutrition and metabolic insights. – 2014. – Vol. 7. – P. 19-27.
55. A review of current knowledge and gaps about campylobacter methods: from culture to characterization / A. El Baaboua, A. Bouyahya, A. Kounoun [et al.]. – Текст : непосредственный // Journal of microbiology, biotechnology and food sciences. – 2022. – Vol. 11, № 4. – P. 1-8.
56. A systematic review and meta-analysis of Penner serotype prevalence of *Campylobacter jejuni* in low-and middle-income countries / T. N. Clarke, M. A. Schilling, L. A. Melendez [et al.]. – Текст : непосредственный // Plos one. – 2021. – Vol. 16, № 5. – P. 1-17.
57. Acheson, D. *Campylobacter jejuni* infections: update on emerging issues and trends / D. Acheson, B. M. Allos. – Текст : непосредственный // Campylobacter jejuni infections: update on emerging issues and trends // Clinical infectious diseases. – 2001. – Vol. 32, № 8. – P. 1201-1206.

58. Adaptation of *Campylobacter jejuni* NCTC11168 to high-level colonization of the avian gastrointestinal tract / M. A. Jones, K. L. Marston, C. A. Woodall [et al.]. – Текст : непосредственный // *Infection and immunity*. – 2004. – Vol. 72, № 7. – P. 3769-3776.
59. Ajene, A. N. Enteric pathogens and reactive arthritis: a systematic review of *Campylobacter*, *Salmonella* and *Shigella*-associated reactive arthritis / A. N. Ajene, C. L. F. Walker, R. E. Black. – Текст : непосредственный // *Journal of health, population, and nutrition*. – 2013. – Vol. 31, № 3. – P. 299.
60. Allos, B. M. Association between *Campylobacter* infection and Guillain-Barré syndrome / B. M. Allos. – Текст : непосредственный // *Journal of Infectious Diseases*. – 1997. – Vol. 176, № 2. – P. 125-128.
61. An antibiotic depleted microbiome drives severe *Campylobacter jejuni*-mediated Type 1/17 colitis, Type 2 autoimmunity and neurologic sequelae in a mouse model / P. T. Brooks, J. A. Bell, C. E. Bejcek [et al.]. – Текст : непосредственный // *Journal of Neuroimmunology*. – 2019. – Vol. 337. – P. 577048.
62. An iron-regulated alkyl hydroperoxide reductase (AhpC) confers aerotolerance and oxidative stress resistance to the microaerophilic pathogen *Campylobacter jejuni* / M.-L. A. Baillon, A. H. van Vliet, J. M. Ketley [et al.]. – Текст : непосредственный // *Journal of Bacteriology*. – 1999. – Vol. 181, № 16. – P. 4798-4804.
63. Angiogenins: a new class of microbicidal proteins involved in innate immunity / L. V. Hooper, T. S. Stappenbeck, C. V. Hong, J. I. Gordon. – Текст : непосредственный // *Nature immunology*. – 2003. – Vol. 4, № 3. – P. 269-273.
64. Antagonistic activity of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 on the growth and adhesion/invasion characteristics of human *Campylobacter jejuni* / R. Campana, S. Federici, E. Ciandrini, W. Baffone. – Текст : непосредственный // *Current microbiology*. – 2012. – Vol. 64, № 4. – P. 371-378.
65. Antibiotic resistance in *Campylobacter*: emergence, transmission and persistence / T. Luangtongkum, B. Jeon, J. Han [et al.]. – Текст : непосредственный // *Future Microbiol.* – 2009. – Vol. 4, № 2. – P. 85-92.

66. Antibiotic resistance of *Campylobacter* species in a pediatric cohort study / F. Schiaffino, J. M. Colston, M. Paredes-Olortegui [et al.]. – Текст : непосредственный // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2019. – Vol. 63, № 2. – P. 1-10.
67. Antibiotic resistance profiles and molecular mechanisms of *Campylobacter* from chicken and pig in China / M. Tang, Q. Zhou, X. Zhang [et al.]. – Текст : непосредственный // *Frontiers in microbiology*. – 2020. – Vol. 11. – P. 592496.
68. Antibiotics and non-steroidal anti-inflammatory drugs in outpatient practice: indications and unwanted effects in a gastroenterological setting / G. C. Actis, R. Pellicano, M. Fadda [et al.]. – Текст : непосредственный // *Current drug safety*. – 2014. – Т. 9, № 2. – С. 133-137.
69. Antibiotics, gut microbiota, and irritable bowel syndrome: What are the relations? / Z. Mamieva, E. Poluektova, V. Svistushkin [et al.]. – Текст : непосредственный // *World Journal of Gastroenterology*. – 2022. – Vol. 28, № 12. – P. 1204-1219.
70. Antimicrobial resistance among campylobacter strains, United States, 1997–2001 / A. Gupta, J. M. Nelson, T. J. Barrett [et al.]. – Текст : непосредственный // *Emerging infectious diseases*. – 2004. – Vol. 10, № 6. – P. 1102.
71. Antimicrobial resistance determinants circulating among thermophilic *Campylobacter* isolates recovered from broilers in Ireland over a one-year period / C. T. Lynch, H. Lynch, S. Burke [et al.]. – Текст : непосредственный // *Antibiotics*. – 2020. – Vol. 9, № 6. – P. 1-20.
72. Antimicrobial resistance in shigellosis, cholera and campylobacteriosis / D. A. Sack, C. Lyke, C. McLaughlin, V. Suwanvanichkij. – USA: World Health Organization, 2001. – 56 p. – Текст : непосредственный.
73. Antimicrobial resistance of zoonotic and commensal bacteria in Europe: the missing link between consumption and resistance in veterinary medicine / L. Garcia-Migura, R. S. Hendriksen, L. Fraile, F. M. Aarestrup. – Текст : непосредственный // *Veterinary Microbiology*. – 2014. – Vol. 170, № 1-2. – P. 1-9.
74. Assiene, S.D.O. Characterization of *Campylobacter* spp. isolated from chicken and at-risk people (children) in Cameroon: A review / S. D. O. Assiene, E. Nghah, D. Ndjonka.

- Текст : непосредственный // World Journal of Advanced Research and Reviews. – 2022. – Vol. 15, № 1. – P. 651-661.
75. Atomic structure of the *Campylobacter jejuni* flagellar filament reveals how ϵ *Proteobacteria* escaped Toll-like receptor 5 surveillance / M. A. Kreutzberger, C. Ewing, F. Poly [et al.]. – Текст : непосредственный // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2020. – Vol. 117, № 29. – P. 16985-16991.
76. Autoprobiotics as an approach for restoration of personalised microbiota / A. Suvorov, A. Karaseva, M. Kotyleva [et al.]. – Текст : непосредственный // Frontiers in microbiology. – 2018. – Vol. 9. – P. 1869.
77. *Bacteroides fragilis* fucosidases facilitate growth and invasion of *Campylobacter jejuni* in the presence of mucins / Y. M. Luijckx, N. M. Bleumink, J. Jiang [et al.]. – Текст : непосредственный // Cellular microbiology. – 2020. – Vol. 22, № 12. – P. 13252.
78. Bhunia, A. K. Foodborne Microbial Pathogens: Mechanisms and Pathogenesis / A. K. Bhunia. – USA : Springer Science & Business Media, 2018. – 276 p. – ISBN 978-0-387-74536-7. Текст : непосредственный.
79. Bifidobacteria: their impact on gut microbiota composition and their applications as probiotics in infants / D. Di Gioia, I. Aloisio, G. Mazzola, B. Biavati. – Текст : непосредственный // Applied microbiology and biotechnology. – 2014. – Vol. 98, № 2. – P. 563-577.
80. Blaser, M. J. Clinical aspects of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* infections / M. J. Blaser, J. Engberg. – Текст : непосредственный // Campylobacter. – 2008. – P. 97-121.
81. Bolinger, H. The current state of macrolide resistance in *Campylobacter* spp.: trends and impacts of resistance mechanisms / H. Bolinger, S. Kathariou. – Текст : непосредственный // Applied and Environmental Microbiology. – 2017. – Vol. 83, № 12. – P. 1-9.
82. Bolton, D.J. *Campylobacter* virulence and survival factors / D.J. Bolton. – Текст : непосредственный // Food microbiology. – 2015. – Vol. 48. – P. 99-108.

83. Brüssow, H. Probiotics and prebiotics in clinical tests: an update / H. Brüssow. – Текст : непосредственный // F1000Research. – 2019. – Vol. 8. – P. 1-9.
84. Burnens, A. P. Comparison of *Campylobacter* carriage rates in diarrheic and healthy pet animals / A. P. Burnens, B. Angéloz-Wick, J. Nicolet. – Текст : непосредственный // Journal of Veterinary Medicine, Series B. – 1992. – Т. 39, № 1-10. – P. 175-180.
85. Butzler, J.-P. *Campylobacter* enteritis / J.-P. Butzler, M. Skirrow. – Текст : непосредственный // Clinics in gastroenterology. – 1979. – Т. 8, № 3. – P. 737-765.
86. Butzler, J.-P. *Campylobacter*, from obscurity to celebrity / J.-P. Butzler. – Текст : непосредственный // Clinical microbiology and infection. – 2004. – Т. 10, № 10. – P. 868-876.
87. Cader, M. Z. Recent advances in inflammatory bowel disease: mucosal immune cells in intestinal inflammation / M. Z. Cader, A. Kaser. – Текст : непосредственный // Gut. – 2013. – Vol. 62, № 11. – P. 1653-1664.
88. Callahan, S. M. The host cellular immune response to infection by *Campylobacter* spp. and its role in disease / S. M. Callahan, C. G. Dolislager, J. G. Johnson. – Текст : непосредственный // Infection and Immunity. – 2021. – Vol. 89, № 8. – P. 1-17.
89. *Campylobacter*: an important food safety issue / W. C. Silva, B. N. Targino, A. G. Gonçalves [et al.]. – Текст : непосредственный // Food Safety and Preservation Elsevier, 2018. – P. 391-430.
90. *Campylobacter* as a major foodborne pathogen: A review of its characteristics, pathogenesis, antimicrobial resistance and control / A. M. Ammar, E.-S.Y. El-Naenaeey, M. I. Abd El-Hamid [et al.]. – Текст : непосредственный // Journal of microbiology, biotechnology and food sciences. – 2021. – Vol. 10, № 4. – P. 609-619.
91. *Campylobacter* bacteremia: clinical features and factors associated with fatal outcome / J. Pacanowski, V. Lalande, K. Lacombe [et al.]. – Текст : непосредственный // Clinical Infectious Diseases. – 2008. – Vol. 47, № 6. – P. 790-796.
92. *Campylobacter* bacteremia in children / R. P. Reed, I. R. Friedland, F. O. Wegerhoff, M. Khoosal. – Текст : непосредственный // The Pediatric infectious disease journal. – 1996. – Vol. 15, № 4. – P. 345-348.

93. *Campylobacter colitis: Rare cause of toxic megacolon* / M. Kwok, A. Maurice, C. Lisec, J. Brown. – Текст : непосредственный // *International journal of surgery case reports*. – 2016. – Vol. 27. – P. 141-143.
94. *Campylobacter culture fails to correctly detect Campylobacter in 30% of positive patient stool specimens compared to non-cultural methods* / J. E. Buss, M. Cresse, S. Doyle [et al.]. – Текст : непосредственный // *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. – 2019. – Т. 38. – P. 1087-1093.
95. *Campylobacter epidemiology: a descriptive study reviewing 1 million cases in England and Wales between 1989 and 2011* / G. L. Nichols, J. F. Richardson, S. K. Sheppard [et al.]. – Текст : непосредственный // *BMJ open*. – 2012. – Vol. 2, № 4.
96. *Campylobacter epidemiology — Sources and routes of transmission for human infection* / D. G. Newell, L. Mughini-Gras, R. S. Kalupahana, J. A. Wagenaar. – Текст : непосредственный // *CampylobacterElsevier*. – 2017. – P. 85-110.
97. *Campylobacter gastroenteritis in children in north-eastern Israel comparison with other common pathogens* / W. Sakran, Z. Hexner-Erlichman, R. Spiegel [et al.]. – Текст : непосредственный // *Scientific Reports*. – 2020. – Vol. 10, № 1. – P. 5823.
98. *Campylobacter in dogs and cats; its detection and public health significance: A review* / M.Goni, I. Muhammad, M. Goje [et al.]. – Текст : непосредственный // *Adv. Anim. Vet. Sci.* – 2017. – Vol. 5, № 6. – P. 239-248.
99. *Campylobacter infection in adult patients with primary antibody deficiency* / J. Dion, M. Malphettes, L. Bénéjat [et al.]. – Текст : непосредственный // *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. – 2019. – Vol. 7, № 3. – P. 1038-1041.
100. *Campylobacter jejuni* / W. Snelling, M. Matsuda, J. Moore, J. Dooley. – Текст : непосредственный // *Letters in applied microbiology*. – 2005. – Vol. 41, № 4. – P. 297-302.
101. *Campylobacter jejuni: a brief overview on pathogenicity-associated factors and disease-mediating mechanisms* / J. I. Dasti, A. M. Tareen, R. Lugert [et al.] – Текст : непосредственный // *International Journal of Medical Microbiology*. – 2010. – Vol. 300, № 4. – P. 205-211.

102. *Campylobacter jejuni* bacteremia in the term infant a rare cause of neonatal hematochezia / S. Mizuno, K. Yokoyama, T. Nukada [et al.]. – Текст : непосредственный // The Pediatric Infectious Disease Journal. – 2022. – Vol. 41, № 4. – P. 156-157.
103. *Campylobacter jejuni* cytolethal distending toxin induces GSDME-dependent pyroptosis in colonic epithelial cells / J. Gu, Y. Lin, Z. Wang [et al.]. – Текст : непосредственный // Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. – 2022. – Vol. 12. – P. 853204.
104. *Campylobacter jejuni* genotypes are associated with post-infection irritable bowel syndrome in humans / S. Peters, B. Pascoe, Z. Wu [et al.]. – Текст : непосредственный // Communications Biology. – 2021. – Vol. 4, № 1. – P. 1-17.
105. *Campylobacter jejuni* induces acute enterocolitis in gnotobiotic IL-10^{-/-} mice via Toll-like-receptor-2 and-4 signaling / L. M. Haag, A. Fischer, B. Otto [et al.]. – Текст : непосредственный // PloS one. – 2012. – Vol. 7, № 7. – P. 1-11.
106. *Campylobacter jejuni*-mediated induction of CC and CXC chemokines and chemokine receptors in human dendritic cells / L. Hu, M. D. Bray, Y. Geng, D. J. Кореско. – Текст : непосредственный // Infection and immunity. – 2012. – Vol. 80, № 8. – P. 2929-2939.
107. *Campylobacter jejuni* meningitis in a neonate: a rare case report / K. Tsoni, E. Papadopoulou, E. Michailidou, I. Kavaliotis. – Текст : непосредственный // Journal of Neonatal-Perinatal Medicine. – 2013. – Vol. 6, № 2. – P. 183-185.
108. *Campylobacter jejuni* promotes colorectal tumorigenesis through the action of cytolethal distending toxin / Z. He, R. Z. Gharaibeh, R. C. Newsome [et al.]. – Текст : непосредственный // Gut. – 2019. – Vol. 68, № 2. – P. 289-300.
109. *Campylobacter jejuni* proteins Cj0952c and Cj0951c affect chemotactic behaviour towards formic acid and are important for invasion of host cells / A. M. Tareen, J. I. Dasti, A. E. Zautner [et al.]. – Текст : непосредственный // Microbiology. – 2010. – Vol. 156, № 10. – P. 3123-3135.

110. *Campylobacter jejuni* strains from patients with Guillain-Barré syndrome / B. M. Allos, F. T. Lippy, A. Carlsen [et al.]. – Текст : непосредственный // *Emerging infectious diseases*. – 1998. – Vol. 4, № 2. – P. 263.
111. *Campylobacter jejuni* transcriptional and genetic adaptation during human infection / A. A. Crofts, F. M. Poly, C. P. Ewing [et al.]. – Текст : непосредственный // *Nature microbiology*. – 2018. – Vol. 3, № 4. – P. 494-502.
112. *Campylobacter* outbreak associated with raw drinking milk, North West England, 2016 / J. Kenyon, T. Inns, H. Aird [et al.]. – Текст : непосредственный // *Epidemiology & Infection*. – 2020. – Vol. 148. – P. 1-6.
113. *Campylobacter* polysaccharide capsules: virulence and vaccines / P. Guerry, F. Poly, M. Riddle [et al.]. – Текст : непосредственный // *Frontiers in cellular and infection microbiology*. – 2012. – Vol. 2. – P. 7.
114. *Campylobacter* reactive arthritis: a systematic review / J. E. Pope, A. Krizova, A. X. Garg [et al.]. – Текст : непосредственный // *Seminars in arthritis and rheumatism*. – 2007. – Vol. 37, № 1. – P. 48-55.
115. *Campylobacter ureolyticus*: a portrait of the pathogen / D. O'Donovan, G. D. Corcoran, B. Lucey, R. D. Sleator – Текст : непосредственный // *Virulence*. – 2014. – Vol. 5, № 4. – P. 498-506.
116. *Campylobacter* virulence factors and molecular host-pathogen interactions / N. Tegtmeyer, I. Sharafutdinov, A. Harrer [et al.]. – Текст : непосредственный // *Fighting Campylobacter Infections: Towards a One Health Approach*. – 2021. – P. 169-202.
117. *Campylobacteriosis* in the Nordic countries from 2000 to 2015: Trends in time and space / K. G. Kuhn, K. M. Nygård, M. Löfdahl [et al.]. – Текст : непосредственный // *Scandinavian Journal of Public Health*. – 2020. – Vol. 48, № 8. – P. 862-869.
118. Case Report of Perimyocarditis as a Rare Complication of *Campylobacteriosis* / A. Behzadpour, D. Patel, X. Mdluli, A. A Khoshniyati. – USA: American University of the Caribbean, School of Medicine, Coral Gables, FL, 2022. – Текст : непосредственный.

119. Characteristics and risk factors of post-infection irritable bowel syndrome after *Campylobacter* enteritis / A. Berumen, R. Lennon, M. Breen-Lyles [et al.]. – Текст : непосредственный // *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. – 2021. – Vol. 19, № 9. – P. 1855-1863.
120. Characterization of *Campylobacter* associated gastric enteritis among patients with Human Immunodeficiency Virus (HIV) in a hospital in Accra, Ghana / A. O. Forson, D. N. Adjei, M. Olu-Taiwo [et al.]. – Текст : непосредственный // *Plos one*. – 2020. – Vol. 15, № 10. – P. 1-12.
121. Characterization of the *Campylobacter jejuni* population in the barnacle geese reservoir / A. K. Llarena, C. Skarp-de Haan, M. Rossi, M. L. Hänninen. – Текст : непосредственный // *Zoonoses and public health*. – 2015. – Vol. 62, № 3. – P. 209-221.
122. Chaveerach, P. Antagonistic activities of several bacteria on in vitro growth of 10 strains of *Campylobacter jejuni/coli* / P. Chaveerach, L. Lipman, F. Van Knapen. – Текст : непосредственный // *International Journal of Food Microbiology*. – 2004. – Vol. 90, № 1. – P. 43-50.
123. Chemotaxis in *Campylobacter jejuni* / A. E. Zautner, A. Malik Tareen, U. Groß, R. Lugert . – Текст : непосредственный // *European Journal of Microbiology and Immunology*. – 2012. – Vol. 2, № 1. – P. 24-31.
124. Clinical features, immunological characteristics, and treatment outcomes of *Campylobacter* spp. infections in patients with common variable immunodeficiency / A. Roa-Bautista, L.-A. K. Brown, S. Tadros [et al.]. – Текст : непосредственный // *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. – 2023. – Vol. 11, № 11– P. 3493-3501.
125. Cloning, sequencing and molecular analysis of the *Campylobacter jejuni* groESL bicistronic operon / F. L. Thies, A. Weishaupt, H. Karch [et al.]. – Текст : непосредственный // *Microbiology*. – 1999. – Vol. 145, № 1. – P. 89-98.
126. Colonisation by *Faecalibacterium prausnitzii* and maintenance of clinical remission in patients with ulcerative colitis / E. Varela, C. Manichanh, M. Gallart [et al.]. – Текст :

- непосредственный // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. – 2013. – Vol. 38, № 2. – P. 151-161.
127. Colonization factors of *Campylobacter jejuni* in the chicken gut / D. Hermans, K. Van Deun, A. Martel [et al.]. – Текст : непосредственный // *Veterinary research*. – 2011. – Vol. 42, № 1. – P. 1-14.
128. Concomitant *Campylobacter fetus* septic arthritis and acute gout in an older woman / M. A. Gauci, J. Grima, S. A. Camilleri [et al.]. – Текст : непосредственный // *British Journal of Hospital Medicine*. – 2021. – Vol. 82, № 8. – P. 1-3.
129. Comparison of Vesikari and Clark scales regarding the definition of severe rotavirus gastroenteritis in children / A. Aslan, Z. Kurugol, H. Cetin [et al.]. – Текст : непосредственный // *Infectious Diseases*. – 2015. – Vol. 47, № 5. – P. 332-337.
130. Costa, D. Pathogenomics of emerging *Campylobacter* species / D. Costa, G. Iraola. – Текст : непосредственный // *Clinical microbiology reviews*. – 2019. – Vol. 32, № 4. – P. 1-24.
131. Cummings, J. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon / J. Cummings, G. Macfarlane. – Текст : непосредственный // *Journal of Applied Bacteriology*. – 1991. – Vol. 70, № 6. – P. 443-459.
132. Datta, S. Prevalence of 11 pathogenic genes of *Campylobacter jejuni* by PCR in strains isolated from humans, poultry meat and broiler and bovine faeces / S. Datta, H. Niwa, K. Itoh. – Текст : непосредственный // *Journal of medical microbiology*. – 2003. – Vol. 52, № 4. – P. 345-348.
133. De Vuyst, L. Cross-feeding between bifidobacteria and butyrate-producing colon bacteria explains bifidobacterial competitiveness, butyrate production, and gas production / L. De Vuyst, F. Leroy. – Текст : непосредственный // *International journal of food microbiology*. – 2011. – Vol. 149, № 1. – P. 73-80.
134. Defining the human microbiome / L. K. Ursell, J. L. Metcalf, L. W. Parfrey, R. Knight. – Текст : непосредственный // *Nutrition reviews*. – 2012. – Vol. 70, № 1. – P. 38-44.

135. Delineation of the innate and adaptive T-cell immune outcome in the human host in response to *Campylobacter jejuni* infection / L. A. Edwards, K. Nistala, D. C. Mills [et al.]. – Текст : непосредственный // PLoS One. – 2010. – Vol. 5, № 11. – P. 1-9.
136. DeLong, E. R. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach / E. R. DeLong, D. M. DeLong, D. L. Clarke-Pearson. – Текст : непосредственный // Biometrics. – 1988. – P. 837-845.
137. Detection of *Campylobacter* species in different types of samples from dairy farms / I. Hansson, E. Olsson Engvall, S. Ferrari [et al.]. – Текст : непосредственный // Veterinary Record. – 2020. – Vol. 186, № 18. – P. 605.
138. Diagnosis and management of Guillain–Barré syndrome in ten steps / S. E. Leonhard, M. R. Mandarakas, F. A. Gondim [et al.]. – Текст : непосредственный // Nature Reviews Neurology. – 2019. – Vol. 15, № 11. – P. 671-683.
139. Diagnostic challenges in gastrointestinal infections / N. Negrut, S. A. Khan, S. Bungau [et al.]. – Текст : непосредственный // Rom J Mil Med. – 2020. – Vol. 123. – P. 83-90.
140. Dietary *Saccharomyces cerevisiae* boulardii CNCM I-1079 positively affects performance and intestinal ecosystem in broilers during a *Campylobacter jejuni* infection / F. R. Massacci, C. Lovito, S. Tofani [et al.]. – Текст : непосредственный // Microorganisms. – 2019. – Vol. 7, № 12. – P. 596.
141. Differential distribution of the *wlaN* and *cgtB* genes, associated with Guillain-Barré syndrome, in *Campylobacter jejuni* isolates from humans, broiler chickens, and wild birds / P. Guirado, S. Paytubi, E. Miró [et al.]. – Текст : непосредственный // Microorganisms. – 2020. – Vol. 8, № 3. – P. 325.
142. Discriminatory potential of C-reactive protein, cytokines, and fecal markers in infectious gastroenteritis in adults / J. Weh, C. Antoni, C. Weiß [et al.]. – Текст : непосредственный // Diagnostic microbiology and infectious disease. – 2013. – Vol. 77, № 1. – P. 79-84.
143. Distribution of capsular types of *Campylobacter jejuni* isolates from symptomatic and asymptomatic children in Peru / J. D. Rojas, N. D. Reynolds, B. L. Pike [et al.]. –

Текст : непосредственный // The American journal of tropical medicine and hygiene. – 2019. – Vol. 101, № 3. – P. 541.

144. Distribution of virulence-associated genes in a selection of *Campylobacter* isolates / L. Koolman, P. Whyte, C. Burgess, D. Bolton. – Текст : непосредственный // Foodborne pathogens and disease. – 2015. – Vol. 12, № 5. – P. 424-432.

145. Diversity of bacterial pathogens and their antimicrobial resistance profile among commensal rodents in Qatar / M. M. Islam, E. Farag, M. M. Hassan [et al.]. – Текст : непосредственный // Veterinary Research Communications. – 2022. – Vol. 46, № 2. – P. 487-498.

146. Double-blind, randomized, placebo-controlled study of three-month treatment with the combination of ofloxacin and roxithromycin in recent-onset reactive arthritis / A. Kuuliala, H. Julkunen, L. Paimela [et al.]. – Текст : непосредственный // Rheumatology international. – 2013. – Vol. 33, № 11. – P. 2723-2729.

147. Draft genome sequence of ciprofloxacin and ceftriaxone resistant *Campylobacter jejuni* MM26-781 assigned to novel ST isolated from common pigeon in Lithuania / J. Aksomaitiene, S. Ramonaite, A. Novoslavskij [et al.]. – Текст : непосредственный // Evolutionary Bioinformatics. – 2019. – Vol. 15. – P. 1-5.

148. Draft genome sequence of probiotic *Enterococcus faecium* strain L-3 / A. Karaseva, A. Tsapieva, J. Pachebat, A. Suvorov. – Текст : непосредственный // Genome announcements. – 2016. – Vol. 4, № 1. – P. 1-2.

149. Effects of calcium-magnesium carbonate and calcium-magnesium hydroxide as supplemental sources of magnesium on ruminal microbiome / J. A. Arce-Cordero, T. Liu, A. Ravelo [et al.]. – Текст : непосредственный // Translational Animal Science. – 2022. – Vol. 6, № 3. – P. 1-10.

150. Effect of repeated *Campylobacter jejuni* infection on gut flora and mucosal defense in a rat model of post infectious functional and microbial bowel changes / J. Sung, W. Morales, G. Kim [et al.]. – Текст : непосредственный // Neurogastroenterology & Motility. – 2013. – Vol. 25, № 6. – P. 529-537.

151. Effect of transport enrichment medium, transport time, and growth medium on the detection of *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* / H. J. Monke, B. C. Love,

T. E. Wittum [et al.]. – Текст : непосредственный // Journal of veterinary diagnostic investigation. – 2002. – Vol. 14, № 1. – P. 35-39.

152. Efficacy of supplemented buffered peptone water for the isolation of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* from broiler retail products / O. A. Oyarzabal, S. Backert, M. Nagaraj [et al.]. – Текст : непосредственный // Journal of Microbiological Methods. – 2007. – Vol. 69, № 1. – P. 129-136.

153. Elevated Values of C-reactive protein induced by imported infectious diseases: a controlled cross-sectional study of 11,079 diseased german travelers returning from the tropics and subtropics / K. H. Herbinger, I. Hanus, M. Schunk [et al.]. – Текст : непосредственный // The American journal of tropical medicine and hygiene. – 2016. – Vol. 95, № 4. – P. 938.

154. Emergence of erythromycin resistance methyltransferases in *Campylobacter coli* strains in France / Q. Jehanne, L. Bénéjat, A. Ducournau [et al.]. – Текст : непосредственный // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2021. – Vol. 65, № 11. – P. 1-14.

155. Emerging erm (B)-mediated macrolide resistance associated with novel multidrug resistance genomic islands in *Campylobacter* / D. Liu, W. Liu, Z. Lv [et al.]. – Текст : непосредственный // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2019. – Vol. 63, № 7. – P. 1-9.

156. Enhanced immunogenicity and protective efficacy of a *Campylobacter jejuni* conjugate vaccine coadministered with liposomes containing monophosphoryl lipid A and QS-21 / A. Ramakrishnan, N. M. Schumack, C. L. Gariepy [et al.]. – Текст : непосредственный // MSPHERE. – 2019. – Vol. 4, № 3. P. 1-16.

157. Enhanced, sialoadhesin-dependent uptake of Guillain-Barre syndrome-associated *Campylobacter jejuni* strains by human macrophages / A. P. Heikema, R. I. Koning, S. Duarte dos Santos Rico [et al.]. – Текст : непосредственный // Infection and Immunity. – 2013. – Vol. 81, № 6. – P. 2095-2103.

158. Epidemiological trends of foodborne *Campylobacter* outbreaks in the United States of America, 1998–2016 / A. A. Sher, M. A. Ashraf, B. E. Mustafa, M. M. Raza. – Текст : непосредственный // Food Microbiology. – 2021. – Vol. 97. – P. 103751.

159. Epidemiology and antimicrobial resistance of international travel-associated *Campylobacter* infections in the United States, 2005–2011 / E. E. Ricotta, A. Palmer, K. Wymore [et al.]. – Текст : непосредственный // *American journal of public health*. – 2014. – P. 104, № 7. – P. 108-114.
160. Epidemiology and Economic Burden of Acute Infectious Gastroenteritis Among Adults Treated in Outpatient Settings in US Health Systems / R. C. Moon, T. C. Bleak, N. A. Rosenthal [et al.]. – Текст : непосредственный // *The American Journal of Gastroenterology*. – 2023. – Vol. 118, № 6. – P. 1069-1079.
161. Epidemiology of *Campylobacter* gastroenteritis in New Zealand children and the effect of the *Campylobacter* strategy: A 20-year observational study / E. Jeffs, J. Williman, N. Martin [et al.]. – Текст : непосредственный // *The Pediatric infectious disease journal*. – 2019. – Vol. 38, № 6. – P. 569-576.
162. Epidemiology of *Campylobacter* infections among children of 0–24 months of age in South Africa / A. Samie, R. C. Moropeng, N. F. Tanih [et al.]. – Текст : непосредственный // *Archives of Public Health*. – 2022. – Vol. 80, № 1. – P. 107.
163. Ermolenko, E. Microbial Therapy with Indigenous Bacteria: From Idea to Clinical Evidence / E. Ermolenko, I. Koroleva, A. Suvorov. – Текст : непосредственный // *Microbiome in 3P Medicine Strategies: The First Exploitation Guide* Springer. – 2023. – P. 251-274.
164. Estimating the true incidence of campylobacteriosis and salmonellosis in the European Union, 2009 / A. Havelaar, S. Ivarsson, M. Löfdahl, M. Nauta. – Текст : непосредственный // *Epidemiology & Infection*. – 2013. – Vol. 141, № 2. – P. 293-302.
165. EUCAST recommendations for antimicrobial susceptibility testing applied to the three main *Campylobacter* species isolated in humans / E. Sifré, B. A. Salha, A. Discourneau [et al.]. – Текст : непосредственный // *Journal of microbiological methods*. – 2015. – Vol. 119. – P. 206-213.
166. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition / European Society for Pediatric Infectious Diseases evidence-based guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe: update 2014 /

- A. Guarino, S. Ashkenazi, D. Gendrel [et al]. – Текст : непосредственный // Journal of pediatric gastroenterology and nutrition. – 2014. – Vol. 59, № 1. – P. 132-152.
167. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics / G. R. Gibson, R. Hutkins, M. E. Sanders [et al.]. – Текст : непосредственный // Nature reviews Gastroenterology & hepatology. – 2017. – Vol. 14, № 8. – P. 491-502.
168. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic / C. Hill, F. Guarner, G. Reid [et al.]. – Текст : непосредственный // Nature reviews Gastroenterology & hepatology. – 2014. – Vol. 11, № 8. – P. 506-514.
169. Exploring campylobacter seasonality across Europe using the European surveillance system (TESSy), 2008 to 2016 / I. Lake, F. J. Colon-Gonzalez, J. Takkinen [et al.]. – Текст : непосредственный // Eurosurveillance. – 2019. – Vol. 24, № 13. – P. 1-12.
170. Farmer, A. D. Mechanisms of visceral pain in health and functional gastrointestinal disorders / A. D. Farmer, Q. Aziz. – Текст : непосредственный // Scandinavian Journal of Pain. – 2014. – Vol. 5, № 2. – P. 51-60.
171. Finsterer, J. Triggers of Guillain–Barré syndrome: *campylobacter jejuni* predominates / J. Finsterer. – Текст : непосредственный // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – Vol. 23, № 22. –P. 14222.
172. Florez, I. D. Acute infectious diarrhea and gastroenteritis in children / I. D. Florez, L. F. Nino-Serna, C. P. Beltran-Arroyave. – Текст : непосредственный // Current infectious disease reports. – 2020. – Vol. 22, № 2. – P. 1-12.
173. Food safety knowledge, optimistic bias and risk perception among food handlers in institutional food services / M. d. S. C. Rossi, E. Stedefeldt, D. T. da Cunha, V. V. de Rosso. – Текст : непосредственный // Food control. – 2017. – Vol. 73. – P. 681-688.
174. Food safety: Rapid Detection and Effective Prevention of Foodborne Hazards / editor L. Hu. – USA : Apple Academic Press, 2018. – 258 p. – ISBN 9781774630686. – Текст : непосредственный.

175. Foodborne *Campylobacter*: infections, metabolism, pathogenesis and reservoirs / S. V. Epps, R. B Harvey, M. E. Hume [et al.]. – Текст : непосредственный // *International journal of environmental research and public health*. – 2013. – Vol. 10, № 12. – P. 6292-6304.
176. Foodborne toxigenic agents investigated in central Italy: An overview of a three-year experience (2018–2020) / V. Russini, C. Corradini, M. L. De Marchis [et al.]. – Текст : непосредственный // *Toxins*. – 2022. – Vol. 14, № 1. – P. 40.
177. Frese, S. A. Comparison of the colonization ability of autochthonous and allochthonous strains of lactobacilli in the human gastrointestinal tract / S. A. Frese, R. W Hutkins, J. Walter. – Текст : непосредственный // *Advances in Microbiology*. – 2012. – Vol. 2, № 3. – P. 399-409.
178. Functional gastrointestinal disorders: advances in understanding and management / C. J. Black, D. A. Drossman, N. J. Talley. – Текст : непосредственный // *The Lancet*. – 2020. – Vol. 396, № 10263. – P. 1664-1674.
179. Galate, L. *Campylobacter* — A foodborne pathogen / L. Galate, S. Bangde. – Текст : непосредственный // *Int. J. Sci. Res.* – 2015. – Vol. 4. – P. 1250-1259.
180. García-Sánchez, C. Clinical and microbiological findings of recurrent *Campylobacter* spp. gastroenteritis in a tertiary care hospital / C. García-Sánchez, J. García-Rodríguez, G. Ruiz-Carrascoso. – Текст : непосредственный // *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. – 2022.
181. Genetic diversity of *Campylobacter jejuni* isolated from avian and human sources in Egypt / M. I. Abd El-Hamid, N. K. Abd El-Aziz, M. Samir [et al.]. – Текст : непосредственный // *Frontiers in microbiology*. – 2019. – Vol. 10. – P. 2353.
182. Genotyping, virulence genes and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. isolated during two seasonal periods in Spanish poultry farms / L. García-Sánchez, B. Melero, A. M. Diez [et al.]. – Текст : непосредственный // *Preventive veterinary medicine*. – 2020. – Vol. 176. – P. 104935.
183. Giannetti, E. Probiotics for irritable bowel syndrome: clinical data in children / E. Giannetti, A. Staiano. – Текст : непосредственный // *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. – 2016. – Vol. 63, № 1S. – P. 25-26.

184. Gibreel, A. Macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* / A. Gibreel, D. E. Taylor. – Текст : непосредственный // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2006. – Vol. 58, № 2. – P. 243-255.
185. Global epidemiology of *Campylobacter* infection / N. O. Kaakoush, N. Castaño-Rodríguez, H. M. Mitchell, S. M. Man. – Текст : непосредственный // *Clinical microbiology reviews*. – 2015. – Vol. 28, № 3. – P. 687-720.
186. Global epidemiology of campylobacteriosis and the impact of COVID-19 / F. Liu, S. A. Lee, J. Xue, [et al.]. – Текст : непосредственный // *Frontiers in cellular and infection microbiology*. – 2022. – Vol. 12. – P. 1666.
187. Green, M. S. Sex differences in campylobacteriosis incidence rates at different ages—a seven country, multi-year, meta-analysis. A potential mechanism for the infection / M. S. Green, N. Schwartz, V. Peer. – Текст : непосредственный // *BMC Infectious Diseases*. – 2020. – Vol. 20, № 1. – P. 1-12.
188. Grimm, V. Bifidobacteria-host interactions — an update on colonisation factors / V. Grimm, C. Westermann, C. U. Riedel. – Текст : непосредственный // *BioMed research international*. – 2014. – Vol. 2014. – P. 1-11.
189. Guide for the care and use of laboratory animals: Eighth Edition / National Research Council 2010. – Washington : The National Academies Press, 2010. – 248 p. – ISBN 978-0-309-15400-0. Текст : непосредственный.
190. Guillain-Barré syndrome in pediatrics: a literature review / M. E. T. De-Lucca, J. F. Maffini, M. G. Grassi [et al.]. – Текст : непосредственный // *Residência Pediátrica*. – 2022. – Vol. 12, № 3. – P. 1-8.
191. Gut microbiota features associated with *Campylobacter* burden and postnatal linear growth deficits in a Peruvian birth cohort / S. Rouhani, N. W. Griffin, P. P. Yori [et al.]. – Текст : непосредственный // *Clinical Infectious Diseases*. – 2020. – Vol. 71, № 4. – P. 1000-1007.
192. Gut microbiota: Role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease / J. M. Pickard, M. Y. Zeng, R. Caruso, G. Núñez. – Текст : непосредственный // *Immunological reviews*. – 2017. – Vol. 279, № 1. – P. 70-89.

193. Hendrixson, D. R. Identification of *Campylobacter jejuni* genes involved in commensal colonization of the chick gastrointestinal tract / D. R. Hendrixson, V. J. DiRita. – Текст : непосредственный // *Molecular microbiology*. – 2004. – Vol. 52, № 2. – P. 471-484.
194. Hepatotoxic activity of *Campylobacter jejuni* / E. Kita, D. Oku, A. Hamuro [et al.]. – Текст : непосредственный // *Journal of medical microbiology*. – 1990. – Vol. 33, № 3. – P. 171-182.
195. High prevalence and predominance of the aph (2 ") -If gene conferring aminoglycoside resistance in *Campylobacter* / H. Yao, D. Liu, Y. Wang [et al.]. – Текст : непосредственный // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2017. – Vol. 61, № 5. – P. 1-9.
196. Hirvonen, J. J. Comparison of FecalSwab and ESwab devices for storage and transportation of diarrheagenic bacteria / J. J. Hirvonen, S. S. Kaukoranta. – Текст : непосредственный // *Journal of clinical microbiology*. – 2014. – Vol. 52, № 7. – P. 2334-2339.
197. Hlashwayo, D. F. Epidemiology and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. in animals in Sub-Saharan Africa: A systematic review / D. F. Hlashwayo, B. Sigaúque, C. G. Bila. – Текст : непосредственный // *Heliyon*. – 2020. – Vol. 6, № 3. – P. 1-11.
198. Host-gut microbiota metabolic interactions / J. K. Nicholson, E. Holmes, J. Kinross [et al.]. – Текст : непосредственный // *Science*. – 2012. – Vol. 336, № 6086. – P. 1262-1267.
199. Hu, L. *Campylobacter* species / L. Hu, D. D. Kopecko. – Текст : непосредственный // *Food Safety: Rapid Detection and Effective Prevention of Foodborne Hazards* / editor L. Hu. – USA : Apple Academic Press, 2018. – P. 73-110.
200. Hu, L. Signal transduction events involved in human epithelial cell invasion by *Campylobacter jejuni* 81-176 / L. Hu, J. P. McDaniel, D. J. Kopecko. – Текст : непосредственный // *Microbial pathogenesis*. – 2006. – Vol. 40, № 3. – P. 91-100.
201. Human milk oligosaccharide blood group epitopes and innate immune protection against *campylobacter* and calicivirus diarrhea in breastfed infants / A. Morrow, G. Ruiz-Palacios, M. Altaie [et al.]. – Текст : непосредственный // *Protecting Infants*

- through Human Milk: Advancing the Scientific Evidence. – 2004. – Vol. 554 – P. 443-446.
202. Hwang, S. Roles of the superoxide dismutase SodB and the catalase KatA in the antibiotic resistance of *Campylobacter jejuni* / S. Hwang, S. Ryu, B. Jeon. – Текст : непосредственный // The Journal of Antibiotics. – 2013. – Vol. 66, № 6. – P. 351-353.
203. Immunoproliferative small intestinal disease associated with *Campylobacter jejuni* / M. Lecuit, E. Abachin, A. Martin [et al.]. – Текст : непосредственный // New England Journal of Medicine. – 2004. – Vol. 350, № 3. – P. 239-248.
204. Impact of CDT toxin on human diseases / T. Faïs, J. Delmas, A. Serres [et al.]. – Текст : непосредственный // Toxins. – 2016. – Vol. 8, № 7. – P. 220.
205. Incidence and ecology of *Campylobacter jejuni* and *coli* in animals / S. Horrocks, R. Anderson, D. Nisbet, S. Ricke. – Текст : непосредственный // Anaerobe. – 2009. – Vol. 15, № 1-2. – P. 18-25.
206. Increased proportions of *Bifidobacterium* and the *Lactobacillus* group and loss of butyrate-producing bacteria in inflammatory bowel disease / W. Wang, L. Chen, R. Zhou [et al.]. – Текст : непосредственный // Journal of clinical microbiology. – 2014. – Vol. 52, № 2. – P. 398-406.
207. 2017 Infectious Diseases Society of America clinical practice guidelines for the diagnosis and management of infectious diarrhea / A. L. Shane, R. K. Mody, J. A. Crump [et al.]. – Текст : непосредственный // Clinical Infectious Diseases. – 2017. – Vol. 65, № 12. – P. 45-80.
208. Inflammation-associated microbiota in pediatric eosinophilic esophagitis / A. J. Benitez, C. Hoffmann, A. B. Muir [et al.]. – Текст : непосредственный // Microbiome. – 2015. – Vol. 3, № 23 – P. 1-11.
209. Influence of microplastics on the growth and the intestinal microbiota composition of brine shrimp / H. Li, H. Chen, J. Wang [et al.]. – Текст : непосредственный // Frontiers in microbiology. – 2021. – Vol. 12. – P. 1-13.
210. Intestinal innate immunity to *Campylobacter jejuni* results in induction of bactericidal human beta-defensins 2 and 3 / M. Zilbauer, N. Dorrell, P. K. Boughan

- [et al.]. – Текст : непосредственный // *Infection and immunity*. – 2005. – Vol. 73, № 11. – P. 7281-7289.
211. Investigating vomiting and/or bloody diarrhoea in *Campylobacter jejuni* infection / I. A. Gillespie, S. J. O'Brien, J. A. Frost [et al.]. – Текст : непосредственный // *Journal of medical microbiology*. – 2006. – Vol. 55, № 6. – P. 741-746.
212. Involvement of a plasmid in virulence of *Campylobacter jejuni* 81-176 / D. J. Bacon, R. A. Alm, D. H. Burr [et al.]. – Текст : непосредственный // *Infection and immunity*. – 2000. – Vol. 68, № 8. – P. 4384-4390.
213. Jacobi, C. A. Treating critically ill patients with probiotics: Beneficial or dangerous? / C. A. Jacobi, C. Schulz, P. Malfertheiner. – Текст : непосредственный // *Gut pathogens*. – 2011. – Vol. 3, № 1. – P. 1-5.
214. Johanesen, P. A. Flagellin-independent regulation of chemokine host defense in *Campylobacter jejuni*-infected intestinal epithelium / P. A. Johanesen, M. B. Dwinell. – Текст : непосредственный // *Infection and immunity*. – 2006. – Vol. 74, № 6. – P. 3437-3447.
215. Kaakoush, N. O. *Campylobacter concisus* — a new player in intestinal disease / N. O. Kaakoush, H. M. Mitchell. – Текст : непосредственный // *Frontiers in cellular and infection microbiology*. – 2012. – Vol. 2. – P. 4.
216. Kaakoush, N. O. Role of emerging *Campylobacter* species in inflammatory bowel diseases / N. O. Kaakoush, H. M. Mitchell, S. M. Man. – Текст : непосредственный // *Inflammatory bowel diseases*. – 2014. – Vol. 20, № 11. – P. 2189-2197.
217. Korolik, V. The role of chemotaxis during *Campylobacter jejuni* colonisation and pathogenesis / V. Korolik. – Текст : непосредственный // *Current opinion in microbiology*. – 2019. – Vol. 47. – P. 32-37.
218. Kubasova, T. Ecological adaptations of gut microbiota members and their consequences for use as a new generation of probiotics / T. Kubasova, Z. Seidlerova, I. Rychlik. – Текст : непосредственный // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22, № 11. – P. 5471.

219. L-fucose utilization provides *Campylobacter jejuni* with a competitive advantage / M. Stahl, L. M. Friis, H. Nothhaft [et al.]. – Текст : непосредственный // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2011. – Vol. 108, № 17. – P. 7194-7199.
220. Lilja, L. Evaluation of a commercial automated ELISA and PCR-method for rapid detection and identification of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* in poultry products / L. Lilja, M. L. Hänninen. – Текст : непосредственный // Food microbiology. – 2001. – Vol. 18, № 2. – P. 205-209.
221. Linton, D. Rapid identification by PCR of the genus *Campylobacter* and of five *Campylobacter* species enteropathogenic for man and animals / D. Linton, R. Owen, J. Stanley. – Текст : непосредственный // Research in microbiology. – 1996. – Vol. 147, № 9. – P. 707-718.
222. Lloyd-Price, J. The healthy human microbiome / J. Lloyd-Price, G. Abu-Ali, C. Huttenhower. – Текст : непосредственный // Genome medicine. – 2016. – Vol. 8, № 1. – P. 1-11.
223. Longitudinal analyses of gut mucosal microbiotas in ulcerative colitis in relation to patient age and disease severity and duration / A. Fite, S. Macfarlane, E. Furrie [et al.]. – Текст : непосредственный // Journal of clinical microbiology. – 2013. – Vol. 51, № 3. – P. 849-856.
224. Longitudinal molecular epidemiological study of thermophilic campylobacters on one conventional broiler chicken farm / A. M. Ridley, V. K. Morris, S. A. Cawthraw [et al.]. – Текст : непосредственный // Applied and Environmental Microbiology. – 2011. – Vol. 77, № 1. – P. 98-107.
225. Macfarlane, S. Regulation of short-chain fatty acid production / S. Macfarlane, G. T. Macfarlane. – Текст : непосредственный // Proceedings of the Nutrition Society. – 2003. – Vol. 62, № 1. – P. 67-72.
226. Malik-Kale, P. Culture of *Campylobacter jejuni* with sodium deoxycholate induces virulence gene expression / P. Malik-Kale, C. T. Parker, M. E. Konkel. – Текст : непосредственный // Journal of bacteriology. – 2008. – Vol. 190, № 7. – P. 2286-2297.

227. Mechanisms of action of probiotics / J. Plaza-Diaz, F. J. Ruiz-Ojeda, M. Gil-Campos, A. Gil. – Текст : непосредственный // *Advances in nutrition*. – 2019. – Vol. 10, № 1. – P. 49-66.
228. Meningitis caused by *Campylobacter jejuni*: A case presentation and literature review / M. Kusulja, M. Santini, K. Margetić [et al.]. – Текст : непосредственный // *Acta Clinica Belgica*. – 2021. – Vol. 76, № 4. – P. 318-323.
229. Metabolite and transcriptome analysis of *Campylobacter jejuni* in vitro growth reveals a stationary-phase physiological switch / J. A. Wright, A. J. Grant, D. Hurd [et al.]. – Текст : непосредственный // *Microbiology*. – 2009. – Vol. 155, № 1. – P. 80-94.
230. Microbiota-derived short-chain fatty acids modulate expression of *Campylobacter jejuni* determinants required for commensalism and virulence / P. M. Luethy, S. Huynh, D. A. Ribardo [et al.]. – Текст : непосредственный // *MBio*. – 2017. – Vol. 8, № 3. – P. 407-417.
231. Microbiota-derived short-chain fatty acids promote Th1 cell IL-10 production to maintain intestinal homeostasis / M. Sun, W. Wu, L. Chen [et al.]. – Текст : непосредственный // *Nature communications*. – 2018. – Vol. 9, № 1. – P. 3555.
232. Modification of intestinal microbiota and its consequences for innate immune response in the pathogenesis of campylobacteriosis / W. O. Masanta, M. M. Heimesaat, S. Bereswill [et al.]. – Текст : непосредственный // *Clinical and Developmental Immunology*. – 2013. – Vol. 2013. – P. 1-10.
233. Molecular epidemiology of *Campylobacter* isolates from broiler slaughterhouses in Tripoli, North of Lebanon / R. Rafei, I. Al Kassaa, M. Osman [et al.]. – Текст : непосредственный // *British poultry science*. – 2019. – Vol. 60, № 6. – P. 675-682.
234. Molecular epidemiology, virulence determinants and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spreading in retail chicken meat in Central China / T. Zhang, Q. Luo, Y. Chen [et al.]. – Текст : непосредственный // *Gut pathogens*. – 2016. – Vol. 8, № 1. – P. 1-9.
235. Molecular typing of *Campylobacter jejuni* isolates involved in a neonatal outbreak indicates nosocomial transmission / J. Llovo, E. Mateo, A. Munoz [et al.]. – Текст :

- непосредственный // Journal of Clinical Microbiology. – 2003. – Vol. 41, № 8. – P. 3926-3928.
236. Moran, A. P. Structure and conserved characteristics of *Campylobacter jejuni* lipopolysaccharides / A. P. Moran. – Текст : непосредственный // Journal of Infectious Diseases. – 1997. – Vol. 176, № 2. – P. 115-121.
237. Mousavi, S. Novel clinical *Campylobacter jejuni* infection models based on sensitization of mice to lipooligosaccharide, a major bacterial factor triggering innate immune responses in human campylobacteriosis / S. Mousavi, S. Bereswill, M. M. Heimesaat. – Текст : непосредственный // Microorganisms. – 2020. – Vol. 8, № 4. – P. 482.
238. Muraoka, W. T. Phenotypic and genotypic evidence for L-fucose utilization by *Campylobacter jejuni* / W. T. Muraoka, Q. Zhang. – Текст : непосредственный // Journal of bacteriology. – 2011. – Vol. 193, № 5. – P. 1065-1075.
239. Multiple drug resistance of *Campylobacter jejuni* and *Shigella* isolated from diarrhoeic children at Kapsabet County referral hospital, Kenya / O. H. Zachariah, M. A. Lizzy, K. Rose, M. M. Angela. – Текст : непосредственный // BMC Infectious Diseases. – 2021. – Vol. 21, № 1. – P. 1-8.
240. Mutation in the *peb1A* locus of *Campylobacter jejuni* reduces interactions with epithelial cells and intestinal colonization of mice / Z. Pei, C. Burucoa, B. Grignon [et al.]. – Текст : непосредственный // Infection and immunity. – 1998. – Vol. 66, № 3. – P. 938-943.
241. Mutations in the *rpsL* gene are involved in streptomycin resistance in *Campylobacter coli* / S. Olkkola, P. Juntunen, H. Heiska [et al.]. – Текст : непосредственный // Microbial Drug Resistance. – 2010. – Vol. 16, № 2. – P. 105-110.
242. Neonatal sepsis by *Campylobacter jejuni*: genetically proven transmission from a household puppy / T. F. Wolfs, B. Duim, S. P. Geelen [et al.]. – Текст : непосредственный // Clinical Infectious Diseases. – 2001. – Vol. 32, № 5. – P. 97-99.
243. New and alternative strategies for the prevention, control, and treatment of antibiotic-resistant *Campylobacter* / L. Dai, O. Sahin, M. Grover, Q. Zhang. – Текст : непосредственный // Translational Research. – 2020. – Vol. 223. – P. 76-88.

244. Nielsen, H. Risk and prognosis of campylobacteriosis in relation to polymorphisms of host inflammatory cytokine genes / H. Nielsen, R. Steffensen, T. Ejlersen. – Текст : непосредственный // *Scandinavian Journal of Immunology*. – 2012. – Vol. 75, № 4. – P. 449-454.
245. Nitrite production from nitrate and its link with lactate metabolism in oral *Veillonella* spp. / D. P. Wicaksono, J. Washio, Y. Abiko [et al.]. – Текст : непосредственный // *Applied and environmental microbiology*. – 2020. – Vol. 86, № 20. – P. 1-9.
246. Nosocomial outbreak of *Campylobacter jejuni* meningitis in newborn infants / H. Goossens, L. Kremp, R. Boury [et al.]. – Текст : непосредственный // *The Lancet*. – 1986. – Vol. 328, № 8499. – P. 146-149.
247. Not only butyrate-producing bacteria but possibly also *Bacteroides thetaiotaomicron* protects against ulcerative colitis / S. Sitkin, T. Vakhitov, E. Tkachenko [et al.]. – Текст : непосредственный // *Journal of Crohns & Colitis*. – 2016. – Vol. 10, № 1. – P. 489-489.
248. Novel cereal-based beverages fermented with probiotic strain *Lactobacillus plantarum* 8-RA-3 / J. Epishkina, B. Karetkin, V. Panfilov [et al.]. – Текст : непосредственный // *International Multidisciplinary Scientific GeoConference: SGEM*. – 2020. – Vol. 20, № 6.2. – P. 97-104.
249. O'Brien, S. J. The consequences of Campylobacter infection / S. J. O'Brien. – Текст : непосредственный // *Current opinion in gastroenterology*. – 2017. – Vol. 33, № 1. – P. 14-20.
250. Occurrence of Campylobacter species in healthy well-nourished and malnourished children / H. Fernández, F. Vera, M. P. Villanueva, A. García. – Текст : непосредственный // *Brazilian Journal of Microbiology*. – 2008. – Vol. 39, № 1. – P. 56-58.
251. Occurrence of tet (O/M/O) mosaic gene in tetracycline-resistant Campylobacter / L. Hormeño, M. J. Campos, S. Vadillo, A. Quesada. – Текст : непосредственный // *Microorganisms*. – 2020. – Vol. 8, № 11. – P. 1710.

252. Ono, S. Endovascularly treated superficial femoral artery aneurysm rupture secondary to campylobacter fetus bacteremia: a case report / S. Ono, T. Shimogawara, H. Hasegawa. – Текст : непосредственный // *Annals of vascular surgery*. – 2021. – Vol. 72. – P. 664.
253. Opp, M. Interleukin-10 (cytokine synthesis inhibitory factor) acts in the central nervous system of rats to reduce sleep / M. Opp, E. Smith, Jr T. Hughes. – Текст : непосредственный // *Journal of neuroimmunology*. – 1995. – Vol. 60, № 1-2. – P. 165-168.
254. Overview of methodologies for the culturing, recovery and detection of *Campylobacter* / M. Soto-Beltrán, B. G. Lee, B. A. Amézquita-López, B. Quiñones. – Текст : непосредственный // *International Journal of Environmental Health Research*. – 2023. – Vol. 33, № 3. – P. 307-323.
255. Pathogen-specific effects of probiotics in children with acute gastroenteritis seeking emergency care: a randomized trial / S. B. Freedman, Y. Finkelstein, X. L. Pang [et al.]. – Текст : непосредственный // *Clinical Infectious Diseases*. – 2022. – Vol. 75, № 1. – P. 55-64.
256. Pathogen-specific risk of chronic gastrointestinal disorders following bacterial causes of foodborne illness / C. K. Porter, D. Choi, B. Cash. – Текст : непосредственный // *BMC gastroenterology*. – 2013. – Vol. 13, № 1. – P. 1-7.
257. Pathophysiology of *Campylobacter* enteritis / R. I. Walker, M. B. Caldwell, E. C. Lee [et al.]. – Текст : непосредственный // *Microbiological reviews*. – 1986. – Vol. 50, № 1. – P. 81-94.
258. PCR detection of virulence-associated genes in *Campylobacter jejuni* strains with differential ability to invade Caco-2 cells and to colonize the chick gut / J. Müller, F. Schulze, W. Müller, I. Hänel. – Текст : непосредственный // *Veterinary Microbiology*. – 2006. – Vol. 113, № 1-2. – P. 123-129.
259. Phongsisay, V. The immunobiology of *Campylobacter jejuni*: innate immunity and autoimmune diseases / V Phongsisay. – Текст : непосредственный // *Immunobiology*. – 2016. – Vol. 221, № 4. – P. 535-543.

260. Pike, B. L. Global distribution of *Campylobacter jejuni* Penner serotypes: a systematic review / B. L. Pike, P. Guerry, F. Poly. – Текст : непосредственный // PloS one. – 2013. – Vol. 8, № 6. – P. 1-8.
261. Platts-Mills, J. A. Update on the burden of *Campylobacter* in developing countries / J. A Platts-Mills, M. Kosek. – Текст : непосредственный // Current opinion in infectious diseases. – 2014. – Vol. 27, № 5. – P. 444-450.
262. Population incidence of Guillain-Barré syndrome: a systematic review and meta-analysis / J. J. Sejvar, A. L. Baughman, M. Wise, O. W. Morgan. – Текст : непосредственный // Neuroepidemiology. – 2011. – Vol. 36, № 2. – P. 123-133.
263. Positivity of stool pathogen sampling in pediatric inflammatory bowel disease flares and its association with disease course / P. Melnik, N. Soffair, M. Matar [et al.]. – Текст : непосредственный // Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. – 2021. – Vol. 72, № 1. – P. 61-66.
264. Postinfection irritable bowel syndrome / M. M. Marcellini, M. R. Barbaro, C. Cremon, G. Barbara. – Текст : непосредственный // Neurogastro LATAM Rev. – 2018. – Vol. 2. – P. 78-86.
265. Postinfectious irritable bowel syndrome after *Campylobacter* infection / E. J. S. Walter, S. M. Crim, B. B. Bruce, P. M. Griffin. – Текст : непосредственный // Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG. – 2019. – Vol. 114, № 10. – P. 1649-1656.
266. Potential uses of probiotics in clinical practice / G. Reid, J. Jass, M. T. Sebulsky, J. K. McCormick. – Текст : непосредственный // Clinical microbiology reviews. – 2003. – Vol. 16, № 4. – P. 658-672.
267. Predominant *Campylobacter jejuni* sequence types persist in Finnish chicken production / A. K. Llarena, A. Huneau, M. Hakkinen, M. L. Hänninen. – Текст : непосредственный // PloS one. – 2015. – Vol. 10, № 2. – P. 1-18.
268. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from children and environmental sources in urban and suburban areas / B. Szczepanska, M. Andrzejewska, D. Spica, J. J. Klawe. – Текст : непосредственный // BMC microbiology. – 2017. – Vol. 17, № 1. – P. 1-9.

269. Prevalence and determinants of *Campylobacter* infection among under five children with acute watery diarrhea in Mwanza, North Tanzania / A. P. Deogratias, M. F. Mushi, L. Paterno [et al.]. – Текст : непосредственный // *Archives of Public Health*. – 2014. – Vol. 72, № 1. – P. 1-6.
270. Prevalence of virulence genes and cytolethal distending toxin production in *Campylobacter jejuni* isolates from diarrheal patients in Bangladesh / K. A. Talukder, M. Aslam, Z. Islam [et al.]. – Текст : непосредственный // *Journal of clinical microbiology*. – 2008. – Vol. 46, № 4. – P. 1485-1488.
271. Probiotics for the management of pediatric gastrointestinal disorders: position paper of the ESPGHAN Special Interest Group on Gut Microbiota and Modifications / H. Szajewska, R. Berni Canani, M. Domellöf [et al.]. – Текст : непосредственный // *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. – 2022. – Vol. 76, № 2. – P. 232-247.
272. Probiotics: mechanism of action, health benefits and their application in food industries / A. Latif, A. Shehzad, S. Niazi [et al.]. – Текст : непосредственный // *Frontiers in Microbiology*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1-15.
273. Probiotics mechanism of action on immune cells and beneficial effects on human health / C. Mazziotta, M. Tognon, F. Martini [et al.]. – Текст : непосредственный // *Cells*. – 2023. – Vol. 12, № 1. – P. 184.
274. Production of conjugated linoleic acid and conjugated linolenic acid isomers by *Bifidobacterium* species / L. Gorissen, K. Raes, S. Weckx [et al.]. – Текст : непосредственный // *Applied microbiology and biotechnology*. – 2010. – Vol. 87, № 6. – P. 2257-2266.
275. Qin, X. The rise of antibiotic resistance in *Campylobacter* / X. Qin, X. Wang, Z. Shen. – Текст : непосредственный // *Current Opinion in Gastroenterology*. – 2023. – Vol. 39, № 1. – P. 9-15.
276. Quantitative proteomics of intracellular *Campylobacter jejuni* reveals metabolic reprogramming / X. Liu, B. Gao, V. Novik, J. E. Galan. – Текст : непосредственный // *PLoS pathogens*. – 2012. – Vol. 8, № 3. – P. 1-12.

277. Quinolone-resistant *Campylobacter* infections: risk factors and clinical consequences / J. Engberg, J. Neimann, E. M. Nielsen [et al.]. – Текст : непосредственный // *Emerging infectious diseases*. – 2004. – Vol. 10, № 6. – P. 1056.
278. Recombinant human interferon-inducible protein 10 is a chemoattractant for human monocytes and T lymphocytes and promotes T cell adhesion to endothelial cells / D. D. Taub, A. R. Lloyd, K. Conlon [et al.]. – Текст : непосредственный // *The Journal of experimental medicine*. – 1993. – Vol. 177, № 6. – P. 1809-1814.
279. Richardson, P.T. Enterochelin acquisition in *Campylobacter coli*: characterization of components of a binding-protein-dependent transport system / P. T. Richardson, S .F. Park. – Текст : непосредственный // *Microbiology*. – 1995. – Vol. 141, № 12. – P. 3181-3191.
280. Rokosz, N. Microbiological diagnosis of infections caused by *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in humans / N. Rokosz, W. Rastawicki, T. Wołkowicz . – Текст : непосредственный // *Advances in Hygiene and Experimental Medicine*. – 2014. – Vol. 68. – P. 48-56.
281. Saarela, M. H. Safety aspects of next generation probiotics / M. H. Saarela. – Текст : непосредственный // *Current Opinion in Food Science*. – 2019. – Vol. 30. – №. 8. – P. 8-13.
282. Same, R.G. *Campylobacter* infections in children / R. G. Same, P. D. Tamma. – Текст : непосредственный // *Pediatrics in review*. – 2018. – Vol. 39, № 11. – P. 533-541.
283. Seasonality and the effects of weather on *Campylobacter* infections / A. Djennad, G. Lo Iacono, C. Sarran [et al.]. – Текст : непосредственный // *BMC infectious diseases*. – 2019. – Vol. 19, № 1. – P. 1-10.
284. Secretion of virulence proteins from *Campylobacter jejuni* is dependent on a functional flagellar export apparatus / M. E. Konkel, J. D. Klena, V. Rivera-Amill [et al.]. – Текст : непосредственный // *Journal of bacteriology*. – 2004. – Vol. 186, № 11. – P. 3296-3303.
285. Sellars, M. J. Growth of *Campylobacter jejuni* supported by respiration of fumarate, nitrate, nitrite, trimethylamine-N-oxide, or dimethyl sulfoxide requires oxygen / M. J.

- Sellars, S. J. Hall, D. J. Kelly. – Текст : непосредственный // *Journal of bacteriology*. – 2002. – Vol. 184, № 15. – P. 4187-4196.
286. Shahrizaila, N. Guillain-Barré syndrome / N. Shahrizaila, H. C. Lehmann, S. Kuwabara. – Текст : непосредственный // *The lancet*. – 2021. – Vol. 397, № 10280. – P. 1214-1228.
287. Sharifi, S. Significant contribution of the CmeABC Efflux pump in high-level resistance to ciprofloxacin and tetracycline in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* clinical isolates / S. Sharifi, B. Bakhshi, S. Najar-Peerayeh. – Текст : непосредственный // *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. – 2021. – Vol. 20, № 1. – P. 1-9.
288. Sheppard, S. K. The evolution of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* / S. K. Sheppard, M. C. Maiden. – Текст : непосредственный // *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. – 2015. – Vol. 7, № 8. – P. 1-13.
289. Sialoadhesin promotes rapid proinflammatory and type I IFN responses to a sialylated pathogen, *Campylobacter jejuni* / M. Klaas, C. Oetke, L. E. Lewis [et al.]. – Текст : непосредственный // *The Journal of Immunology*. – 2012. – Vol. 189, № 5. – P. 2414-2422.
290. Sialylation of *Campylobacter jejuni* lipo-oligosaccharides is associated with severe gastro-enteritis and reactive arthritis / N. P. Mortensen, M. L. Kuijff, C. W. Ang [et al.]. – Текст : непосредственный // *Microbes and Infection*. – 2009. – Vol. 11, № 12. – P. 988-994.
291. Singh, T.P. Next-generation probiotics: a promising approach towards designing personalized medicine / T.P. Singh, B.H. Natraj. – Текст : непосредственный // *Critical Reviews in Microbiology*. – 2021. – Vol. 47, № 4. – P. 479-498.
292. Skirrow, M. *Campylobacter* enteritis: a "new" disease / M. Skirrow. – Текст : непосредственный // *Br Med J*. – 1977. – Vol. 2, № 6078. – P. 9-11.
293. Smith, J. L. Commentary: *Campylobacter* and hemolytic uremic syndrome / J. L. Smith, N. W. Gunther. – Текст : непосредственный // *Foodborne pathogens and disease*. – 2019. – Vol. 16, № 2. – P. 90-93.

294. Spiller, R. Postinfectious irritable bowel syndrome / R. Spiller, K. Garsed. – Текст : непосредственный // *Gastroenterology*. – 2009. – Vol. 136, № 6. – P. 1979-1988.
295. Sproston, E.L. Trends in fluoroquinolone resistance in *Campylobacter* / E. L. Sproston, H. M. Wimalarathna, S. K. Sheppard. – Текст : непосредственный // *Microbial genomics*. – 2018. – Vol. 4, № 8. – P. 1-8.
296. Steffen, R. Traveler's diarrhea: a clinical review / R. Steffen, D. R. Hill, H. L. DuPont. – Текст : непосредственный // *Jama*. – 2015. – Vol. 313, № 1. – P. 71-80.
297. Szajewska, H. What are the indications for using probiotics in children? / H. Szajewska. – Текст : непосредственный // *Archives of disease in childhood*. – 2016. – Vol. 101, № 4. – P. 398-403.
298. Summer Meeting 2013: growth and physiology of bifidobacteria / L. De Vuyst, F. Moens, M. Selak [et al.]. – Текст : непосредственный // *Journal of applied microbiology*. – 2014. – Vol. 116, № 3. – P. 477-491.
299. Temperature-driven *Campylobacter* seasonality in England and Wales / V. R. Louis, I. A. Gillespie, S. J. O'Brien [et al.]. – Текст : непосредственный // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2005. – Vol. 71, № 1. – P. 85-92.
300. The ability of bifidobacteria to degrade arabinoxylan oligosaccharide constituents and derived oligosaccharides is strain dependent / A. Rivière, F. Moens, M. Selak [et al.]. – Текст : непосредственный // *Applied and environmental microbiology*. – 2014. – Vol. 80, № 1. – P. 204-217.
301. The complete genome sequence of *Campylobacter jejuni* strain 81116 (NCTC11828) / B. M. Pearson, D. J. Gaskin, R. P. Segers [et al.]. – Текст : непосредственный // *Journal of bacteriology*. – 2007. – Vol. 189, № 22. – P. 8402-8403.
302. The epidemiology of antibiotic resistance in *Campylobacter* / J. E. Moore, M. D. Barton, I. S. Blair [et al.]. – Текст : непосредственный // *Microbes and infection*. – 2006. – Vol. 8, № 7. – P. 1955-1966.
303. The epidemiology of irritable bowel syndrome in the US military: findings from the Millennium Cohort Study / M. S. Riddle, M. Welsh, C. K. Porter [et al.]. – Текст :

непосредственный // The American journal of gastroenterology. – 2016. – Vol. 111, № 1. – P. 93.

304. The genome sequence of the food-borne pathogen *Campylobacter jejuni* reveals hypervariable sequences / J. Parkhill, B. Wren, K. Mungall [et al.]. – Текст : непосредственный // Nature. – 2000. – Vol. 403, № 6770. – P. 665-668.

305. The global prevalence of *Campylobacter* spp. in milk: A systematic review and meta-analysis / M. Taghizadeh, A. Nematollahi, M. Bashiry [et al.]. – Текст : непосредственный // International Dairy Journal. – 2022. – Vol. 133.

306. The incidence, aetiology, and adverse clinical consequences of less severe diarrhoeal episodes among infants and children residing in low-income and middle-income countries: a 12-month case-control study as a follow-on to the Global Enteric Multicenter Study (GEMS) / K. L. Kotloff, D. Nasrin, W. C. Blackwelder [et al.]. – Текст : непосредственный // Lancet Glob Health. – 2019. – Vol. 7, № 5. – P. 568-584.

307. The iron-induced ferredoxin FdxA of *Campylobacter jejuni* is involved in aerotolerance / A. H. van Vliet, M.-L. A. Baillon, C. W. Penn, J. M. Ketley. – Текст : непосредственный // FEMS Microbiology Letters. – 2001. – Vol. 196, № 2. – P. 189-193.

308. The occurrence of *Campylobacter* in river water and waterfowl within a watershed in southern Ontario, Canada / M. Van Dyke, V. Morton, N. McLellan, P. Huck. – Текст : непосредственный // Journal of applied microbiology. – 2010. – Vol. 109, № 3. – P. 1053-1066.

309. The pathogenesis of *Campylobacter jejuni*-mediated enteritis / M. E. Konkel, M. R. Monteville, V. Rivera-Amill, L. A. Joens. – Текст : непосредственный // Current issues in intestinal microbiology. – 2001. – Vol. 2, № 2. – P. 55-71.

310. The role of respiratory donor enzymes in *Campylobacter jejuni* host colonization and physiology / D. R. Weerakoon, N. J. Borden, C. M. Goodson [et al.]. – Текст : непосредственный // Microbial pathogenesis. – 2009. – Vol. 47, № 1. – P. 8-15.

311. The second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: definitions and diagnosis / G. Van Assche, A. Dignass, J. Panes

[et al.]. – Текст : непосредственный // Journal of Crohn's and Colitis. – 2010. – Vol. 4, № 1. – P. 7-27.

312. Thomrongsuwannakij, T. A study on *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* through commercial broiler production chains in Thailand: antimicrobial resistance, the characterization of DNA gyrase subunit A mutation, and genetic diversity by flagellin A gene restriction fragment length polymorphism / T. Thomrongsuwannakij, P. J. Blackall, N. Chansiripornchai. – Текст : непосредственный // Avian Diseases. – 2017. – Vol. 61, № 2. – P. 186-197.

313. Transmission of multidrug-resistant *Campylobacter jejuni* to children from different sources in Pakistan / Z. Noreen, F. Siddiqui, S. Javed [et al.]. – Текст : непосредственный // Journal of global antimicrobial resistance. – 2020. – Vol. 20. – P. 219-224.

314. Trends in *Campylobacter* incidence in broilers and humans in six European countries, 1997–2007 / S. Jore, H. Viljugrein, E. Brun [et al.]. – Текст : непосредственный // Preventive veterinary medicine. – 2010. – Vol. 93, № 1. – P. 33-41.

315. Two respiratory enzyme systems in *Campylobacter jejuni* NCTC 11168 contribute to growth on L-lactate / M. T. Thomas, M. Shepherd, R. K. Poole [et al.]. – Текст : непосредственный // Environmental microbiology. – 2011. – Vol. 13, № 1. – P. 48-61.

316. Unique roles in health promotion of dietary flavonoids through gut microbiota regulation: Current understanding and future perspectives / Z. Li, Z. Ren, L. Zhao [et al.]. – Текст : непосредственный // Food Chemistry. – 2023. – Vol. 399. – P. 133959.

317. Use of the potential probiotic strain *Lactobacillus salivarius* SMXD51 to control *Campylobacter jejuni* in broilers / M. J. Saint-Cyr, N. Haddad, B. Taminiau [et al.]. – Текст : непосредственный // International journal of food microbiology. – 2017. – Vol. 247. – P. 9-17.

318. Vaccine-mediated protection against *Campylobacter*-associated enteric disease / B. K. Quintel, K. Prongay, A. D. Lewis [et al.]. – Текст : непосредственный // Science Advances. – 2020. – Vol. 6, N 26. – P. 1-13.

319. Validation of an ELISA for the diagnosis of recent *Campylobacter* infections in Guillain–Barré and reactive arthritis patients / C. W. Ang, K. Krogfelt, P. Herbrink [et al.]. – Текст : непосредственный // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2007. – Vol. 13, № 9. – P. 915-922.
320. Virulence factors of foodborne pathogen *Campylobacter jejuni* / G. V. Lopes, T. Ramires, N. R. Kleinubing [et al.]. – Текст : непосредственный // *Microbial pathogenesis*. – 2021. – Vol. 161. – P. 105265.
321. Virulence gene expression, adhesion and invasion of *Campylobacter jejuni* exposed to oxidative stress (H₂O₂) / L. Koolman, P. Whyte, C. Burgess, D. Bolton. – Текст : непосредственный // *International Journal of Food Microbiology*. – 2016. – Vol. 220. – P. 33-38.
322. Vondrakova, L. Detection, identification and quantification of *Campylobacter jejuni*, coli and lari in food matrices all at once using multiplex qPCR / L. Vondrakova, J. Pazlarova, K. Demnerova. – Текст : непосредственный // *Gut pathogens*. – 2014. – Vol. 6, № 1. – P. 1-9.
323. Wachira, V. K. Systematic review of factors associated with the development of Guillain–Barré syndrome 2007–2017: what has changed? / V. K. Wachira, H. M. Peixoto, M. R. F. de Oliveira. – Текст : непосредственный // *Tropical Medicine & International Health*. – 2019. – Vol. 24, № 2. – P. 132-142.
324. Whyte, L. Guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe / L. Whyte, R. Al-Araji, L. McLoughlin. – Текст : непосредственный // *Archives of Disease in Childhood-Education and Practice*. – 2015. – Vol. 100, №20. – P. 308-312.
325. Young, K. T. *Campylobacter jejuni*: molecular biology and pathogenesis / K. T. Young, L. M. Davis, V. J. DiRita. – Текст : непосредственный // *Nature Reviews Microbiology*. – 2007. – Vol. 5, № 9. – P. 665-679.
326. Zawistowska-Rojek, A. How to Improve Health with Biological Agents—Narrative Review / A. Zawistowska-Rojek, S. Tyski. – Текст : непосредственный // *Nutrients*. – 2022. – Vol. 14, № 9. – P. 1700.