

Кишечная микробиота и антибиотики: польза, вред и возможные последствия (обзор литературы)

Нетребенко О.К.¹, Щеплягина Л.А.²

¹ ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России

² ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва

В обзоре литературы представлены современные данные о роли антибиотиков в развитии ожирения у детей. Приведен анализ факторов, влияющих на состав кишечной микробиоты (КМ) у детей, а также механизмы влияния КМ на риск развития ожирения. Рассмотрены вопросы влияния антибиотикотерапии на риск развития резистентности к антибиотикам. Клинические и микробиологические данные свидетельствуют о раннем развитии резистомы (микробиоты, резистентной ко многим или всем используемым антибиотикам). Приводится анализ факторов, влияющих на риск развития резистомы у детей, а также возможные механизмы предупреждения антибиотикорезистентности.

Ключевые слова: антибиотики, антибиотикорезистентность, кишечная микробиота, младенцы, ожирение.

Intestinal microbiota and antibiotics: good, bad and possible consequences (literature review)

Netrebenko O.K., Schceplyagina L.A.

The review of the modern data on intestinal microbiota action is presented. The role of microbiota and it's depletion and disorders due to antibiotic therapy in weight gain and obesity is revealed. There are a lot of clinical data linking microbiota disorders during early stages of development with obesity. The factors influences microbiota depletion are analyzed. The mechanisms of this influences relate to changing of gene expression due to changes of SCFA, produced by microbiota.

Another important issue in antibiotic usage is increasing of quantity of antibiotic-resistant gene in intestine with possibility of gene transfer through transposome to other bacteria.

Keywords: antibiotics, antibiotic resistancy, intestinal microbiota, infants.

История антибиотиков (АБ) началась с открытия А. Флемингом пенициллина в 1928 году. Началась «Эра Антибиотиков» и с этого момента многие тяжелые инфекционные заболевания перестали угрожать здоровью и жизни детей и взрослых. Параллельно с этим процессом увеличился интерес исследователей к состоянию, функции кишечной микробиоты, как места действия антибиотиков.

Открытия последних лет позволяют считать кишечную микробиоту (КМ) отдельным органом, обладающим метаболической активностью и целым рядом функций. Нарушения кишечной микробиоты, связанные с антибиотикотерапией, на ранних этапах развития увеличивает риск развития ряда заболеваний: [1]

- Иммуно-патологические состояния
 - Аллергия
 - Атопия, включая бронхиальную астму
 - Аутоиммунные заболевания
- Метаболические нарушения
 - Ожирение
 - Избыточный вес
 - Диабет 1 и 2-го типа
 - Метаболический синдром
- Нарушения ЦНС
 - Аутизм
 - Депрессия
 - Тревожные состояния
- Сердечно-сосудистые заболевания
- Нарушения роста и развития костной ткани
- Целиакия

Нетребенко Ольга Константиновна, д.м.н., профессор
ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России
117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1
e-mail: olga.netrebenko@ru.nestle.com

Одним из ключевых факторов нарушения состояния КМ на ранних этапах развития, помимо оперативного родоразрешения (Кесарево сечение), отсутствия грудного вскармливания, является антибиотикотерапия матери во время беременности и ребенка на первом году жизни. Нарушения в КМ проявляются, в основном, снижением уровня защитных бактерий – бифидобактерий и лактобацилл, и повышением уровня условно-патогенной микробиоты [2].

В этом обзоре мы остановимся на роли антибиотикотерапии, механизмах влияния на метаболизм и риск развития ожирения и формирования антибиотикорезистентности.

Антибиотики на ранних этапах развития и нарушения состояния КМ

Антибиотикотерапия (АБ-терапия) беременной женщины и ребенка на первом году жизни вызывает выраженные нарушения состояния КМ у младенца. После АБ-терапии у младенца снижается разнообразие бактерий, задерживается созревание КМ, повышается уровень фирмикутов, энтеробактерий и энтерококков и снижается уровень бифидобактерий. Некоторые антибиотики (ванкомицин) повышают экспрессию генов, связанных с резистентностью к этим АБ. Повышение экспрессии генов антибиотикорезистентности (АР) тесно связано с увеличением количества некоторых микроорганизмов. Например, использование ампициллина значительно увеличивает количество *Klebsiella pneumoniae*, с одновременным увеличением АР. Использование АБ в период родов для профилактики стрептококковой инфекции, значительно снижает разнообразие КМ, число бифидобактерий и повышает уровень фирмикутов и протеобактерий [3]. Эти нарушения состояния КМ приводят к усилению ферментации, нарушают целостность кишечного барьера, повышают продукцию провоспалительных цитокинов [4].

Бифидобактерии не повышают продукцию провоспалительных цитокинов за счет низкой активации ядерного фактора $\kappa\beta$ (NF $\kappa\beta$). Поэтому снижение уровня бифидобактерий увеличивает активность NF $\kappa\beta$ с повышением продукции провоспалительных цитокинов. Одновременно с этим снижается целостность эпителиального барьера кишечника, за счет снижения экспрессии белков плотных сочленений. Нарушение барьера увеличивает число циркулирующих цитокинов, проникающих в кровь и другие органы и системы. Одновременно изменяется уровень бактериальных метаболитов – короткоцепочечных жирных кислот.

Каким образом нарушения состояния КМ влияют на метаболизм и ожирение?

Здесь следует напомнить, что ожирение – это процесс хронического воспаления, протекающего в адипоцитах и окружающих тканях. Повышение уровня провоспалительных цитокинов предрасполагает к болезням, связанным с хроническим воспалением. Экспериментальные исследования влияния АБ на ранних этапах развития показали, что помимо нарушения состояния КМ, у животных отмечалось появление избыточного веса и ожирения, а также изменялась экспрессия генов, связанных с жировым и углеводным метаболизмом [5]. Нарушения в КМ создают условия для появления избыточного веса и ожирения. Есть разные механизмы действия КМ на риск развития ожирения. Прежде всего, КМ влияет на продукцию гормонов кишечника, регулирующих аппетит и чувство насыщения, на продукцию инсулина и метаболизм глюкозы, стимулирует процесс подострого хронического воспаления и увеличивает количество энергии, ферментируемой из неперевариваемых компонентов рациона. Доказано, что микробиота людей с ожирением содержит большее количество ферментов, метаболизирующих непереваренные пищевые волокна [6]. Два других фактора – это изменение экспрессии белка Fiaf (Fasting-Induced Adipose Factor). Этот белок – мощный регулятор липидного обмена, снижающий накопление жира в организме, стимулирует липолиз и выработку фермента АМПК (клеточная протеинкиназа, контролирующая энергетический баланс клетки). Эти механизмы формируют направленность липидного обмена и активность процессов воспаления, связанных с накоплением жировой массы тела.

В настоящее время проводится много исследований связи нарушений в КМ с риском развития ожирения. АБ-терапия у взрослых способствует нарушению КМ, но КМ быстро восстанавливается и не влечет за собой увеличение риска развития ожирения.

Однако у детей грудного и раннего возраста, т.е. в период развития КМ, АБ могут серьезно нарушить этот процесс.

В работах группы авторов из Финляндии было показано, что снижение уровня бифидобактерий в первые 6 месяцев жизни является значимым фактором появления избыточного веса у детей в возрасте 7 лет [7].

В работе Azad (2014) с соавторами выявлено, что дети, получавшие антибиотики на первом году жизни, в возрасте 9 и 12 лет имели избыточный вес.

Важно отметить, что наиболее достоверные данные касались мальчиков, а не девочек. Эти данные повторялись в других исследованиях [8]. Мета-анализ по оценке связи АБ-терапии у детей с риском развития избыточного веса и ожирения показал, что пренатальная АБ-терапия увеличивала риск избыточного веса на 27%, АБ-терапия в возрасте 6-12 мес – на 25%, причем риск появления избыточного веса для мальчиков увеличивался на 48%, для девочек – на 17% [9].

Механизмы влияния нарушений в КМ на риск развития ожирения лежат в сфере эпигенетики. Нарушения состояния КМ изменяют продукцию короткоцепочечных жирных кислот, которые способны влиять на процессы метилирования ДНК, ацетилирования гистонов и изменения продукции некодируемых РНК. А.С. Vidal показал влияние АБ в период беременности на снижение массы тела новорожденного и изменение метилиции генов в локусах IGF-2 (рост плода и накопление жировой ткани); H19 (ограничение пролиферации клеток и снижение массы тела); PLAG1 (повышение экспрессии IGF-1, MEG2); ген MEG2 экспрессируется у матери и является импринтинг-геном; снижение его экспрессии у плода изменяет ангиогенез, рост скелетной мускулатуры и формирование кости; PEG3 контролирует фетальный рост [10].

Последствия антибиотикотерапии неплохо изучены. Это не только нарушение метаболизма и увеличение риска развития иммуннозависимых заболеваний. Непосредственное влияние АБ-терапии связано с повышенным риском новых инфекционных заболеваний. Не все виды бактерий, способных подавить патогены, сохраняются в кишечнике после приема антибиотиков. Поэтому новые инфекции или рекуррентные старые вызывают повторно клиническую картину. Примером заболеваний, вызванных АБ-терапией, является *Cl. difficile*-инфекция у взрослых, пример того, как снижение богатства штаммов не способно предотвратить развитие диареи. Нарушение состояния КМ снижает активность врожденного иммунитета против вирусных и грибковых инфекций.

Восстановление здоровой КМ после антибиотикотерапии происходит медленно и постепенно. При этом скорость восстановления различна у детей разных возрастных групп. Есть случаи отсутствия полного восстановления КМ в течение нескольких лет после проведенной АБ-терапии.

Разные антибиотики по-разному влияют на состояние кишечной микробиоты. Клиндамицин особенно активен против анаэробов,

активно повышает уровень резистентных генов. Макролиды снижают общую диверсификацию бактерий, включая бифидобактерии и лактобациллы, одновременно повышается уровень протеобактерий [11]. Амоксициллин, цефалоспорины снижают уровень фирмикутов, бифидобактерий, повышают уровень протеобактерий [12].

В настоящее время появились данные о влиянии антибиотиков на некоторые физиологические параметры организма человека. Например, было выявлено достоверное повышение свободно радикальных процессов с повышением уровня свободных радикалов. Повышение продукции свободных радикалов увеличивает уровень провоспалительных цитокинов и процессы воспаления. Наиболее неблагоприятным в этом отношении был левофлоксацин, менее выраженное повышение уровня свободных радикалов отмечено при использовании кларитромицина [13]. Доказано, что длительное использование бактерицидных АБ (аминогликозида, β -лактамы кинолоны) в клинических дозах вызывают дисфункцию митохондрий и гиперпродукцию свободных радикалов. Эти процессы вызывают повреждение ДНК, белковых молекул и липидов клеточных мембран с одновременным повышением экспрессии генов, участвующих в антиоксидантной защите [14]. АБ-терапия индуцирует продукцию токсических метаболитов – малоновый диальдегид, окисленные нуклеотиды и разрушение двойной структуры ДНК [15].

Нарушения КМ после антибиотикотерапии, в частности, снижение уровня фирмикутов и бактериоидов, изменяют метаболический гомеостаз с нарушением сигнальных систем, связывающих кишку с другими органами и тканями [16].

Одним из самых обсуждаемых последствий АБ-терапии является развитие антибиотикорезистентности (АР). Появилось мнение, что человечество может вернуться к доантибиотиковой эре. Современная база данных по АР говорит о наличии 20000 потенциально антибиотикорезистентных генов [17].

Антибиотикорезистентность: механизмы развития и последствия

С классической клинической точки зрения, бактерия является резистентной или чувствительной, в зависимости от возможности или невозможности лечения инфекционного агента. Существует популяционное экологическое определение: АР характеризуется наличием или отсутствием приобретенной или мутационной резистентности к инфекционному агенту.

Механизмы действия основных семейств антибиотиков [19]

Семейство антибиотиков	Механизм действия
Пенициллины, цефалоспорины	Ингибирование синтеза бактериальной стенки
Тетрациклины, аминогликозиды, макролиды, линкозамиды	Ингибирование синтеза протеинов
Флюорокинолоны	Ингибирование синтеза ДНК
Сульфонамиды	Конкурентное ингибирование синтеза фолатов
Рифампицин	Ингибирование синтеза РНК

Можно ли считать, что АР связана с широким использованием АБ? Исследования 50-х годов, до широкого использования АБ, показали, что из 30 штаммов *E.coli* 4 обладали АР; из 433 штаммов *Enterobact.* 24% переносили плазмиды и обладали АР. То есть АР существовала и до начала использования антибиотиков.

Источники генов антибиотикорезистентности

Первым источником генов АР является окружающая среда. Антибиотикорезистентные бактерии и гены обнаруживаются в почве, водоемах, у птиц и животных. АР обеспечивала защиту от эндогенных антибиотиков, от натуральных антибиотиков. Есть большое количество бактерий – изначально носителей генов антибиотикорезистентности, например, бактерии, продуцирующие антибиотики (стрептомицеты и др), гены-носители АР защищают эти бактерии от тех антибиотиков, которые они продуцируют. Во многих экологических наблюдениях можно проследить развитие современной АР из бактерий окружающей среды [18].

Широкое использование АБ в сельском хозяйстве при выращивании крупного рогатого скота, а также на птицефабриках, приводит к появлению АБ в продуктах питания в небольших дозах. Попадая в организм человека, АБ увеличивают пул антибиотикорезистентных генов и возможность их передачи другим бактериям кишечника. В современном мире одним из главных источников АР является использование АБ для лечения инфекционных заболеваний. Разные АБ обладают различными механизмами действия на бактерии (табл.) [19].

Каждый из этих механизмов может быть блокирован антибиотикорезистентными генами. Есть данные, что в настоящее время существует резистентность практически ко всем имеющимся в арсенале врачей антибиотикам.

Биологические механизмы антибиотикорезистентности

Бактерии легко адаптируются к условиям внешней среды и могут выживать и расти в присутствии

антибиотиков. Механизмы устойчивости к действию антибиотиков варьируют. Некоторые механизмы направлены на сам антибиотик. Например, фермент β-лактамаза разрушает пенициллины и цефалоспорины. Другие ферменты могут инактивировать хлорамфеникол и аминогликозиды.

Одним из механизмов является изменение мишени, на которую изначально направлено действие антибиотика (модификация, замещение, защита мишени) [18]. Возможно также снижение концентрации АБ или полное выведение с помощью так называемой выводящей помпы. Бактерии с генами АР могут передавать эти гены через плазмиды или транспозоны любым другим бактериям кишечника. Появилось понятие «резистом» – как совокупность всех генов антибиотикорезистентности у микроорганизмов [20]. Распространение АР привело к появлению нового понятия – множественная АР – то есть резистентность ко многим (возможно, всем существующим) антибиотикам [18]. Примером множественной АР является *Mycobacterium tuberculosis*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* и некоторые другие. АР присутствует не только у патогенов, но также гены АР обнаружены у непатогенных бактерий, находящихся в КМ. Эти микроорганизмы являются своеобразным резервуаром генов АР и их роль интенсивно изучается в настоящее время [21].

Существуют 2 вида АР: естественная и приобретенная. Примером естественной АР является наличие внешней мембраны у грамотрицательных бактерий, что делает их нечувствительным к целому ряду препаратов. Приобретенная АР связана с мутациями или горизонтальной передачей генов АР через плазмиды или транспозоны [22].

Антибиотики, развивающийся микробиом младенца и резистом

По данным Zang, антибиотики получают 50% детей в возрасте от рождения до 18 месяцев; в большинстве случаев назначаются амоксициллин и азитромицин. Антибиотики нарушают естественное развитие кишечной микробиоты у младенца и,

как уже упоминалось, имеют долговременные последствия для здоровья ребенка. Также важно отметить, что АБ-терапия в младенчестве потенциально увеличивает резервуар антибиотикорезистентных генов (резистом), делая их доступными для передачи патогенам [23].

Резистом младенца устанавливается в течение первой недели жизни, даже при отсутствии антибиотикотерапии. Исследования показывают, что у абсолютно здоровых детей первого года жизни резистом [24, 25] устанавливается рано и сохраняется в последующем. Из 18 исследованных антибиотиков, только резистентность к гентамицину коррелировала с использованием препарата на первом году жизни. Дети старше 12 месяцев, получавшие на первом году жизни гентамицин, имели более высокий уровень резистентности, по сравнению с детьми, не получавшими гентамицин [26].

Известно, что грудное молоко содержит бактерии материнского организма. Это объясняет факт наличия в грудном молоке небольших количеств антибиотикорезистентных (АР) бактерий и АР генов [27]. По-видимому, именно эти АР бактерии и являются основой формирования резистома ребенка. Повторяющаяся антибиотикотерапия ребенка на первом году жизни может формировать резистентность ко многим, возможно – ко всем антибиотикам [28].

АБ-терапия способствует выживанию резистентных бактерий или тех, которые способны к приобретению АР генов. Персистенция этих популяций после прекращения АБ-терапии влечет за собой дополнительные риски развития патофизиологических состояний, т.к. эти популяции бактерий могут включать условно-патогенные штаммы бактерий, а также служить резервуаром для АР генов. Например, у взрослых, получавших макролиды, в 1000 раз увеличивалось число АР генов; это увеличение сохранялось через 4 года после лечения [29].

Антибиотики относятся к наиболее часто используемым препаратам в педиатрической практике, однако не всегда принимается во внимание, что АБ-терапия сопровождается часто побочными эффектами, включая антибиотико-ассоциированную диарею (ААД). Практически любой антибиотик, принимаемый перорально или внутривенно, может вызывать диарею у ребенка, однако риск АДД выше при приеме антибиотиков, направленных против анаэробов. АДД развивается у 11-26% детей и практически у 80% детей раннего возраста [30]. Развитие АДД связано с несколькими механизмами: есть прямое токсическое действие антибиотиков на кишечную стенку; снижение концентрации благоприятных

бактерий и повышение уровня условно-патогенной микробиоты [31]. Есть ли способы снизить риск развития осложнений антибиотикотерапии?

В ряде клинических исследованиях проводилась оценка превентивного действия различных пробиотиков на развитие АДД. Установлено, что снижения частоты развития АДД можно достигнуть высокими дозами пробиотиков – 5×10^9 - 40×10^9 . Положительный эффект был показан для *L.rhamnosus*. Долговременный прием *L.rhamnosus* достоверно снижал частоту симптомов гастроэнтерита у детей. К сожалению, *L.rhamnosus* обладает выраженной чувствительностью к антибиотикам, что ограничивает возможность ее использования [32].

Клинические исследования совместного действия *B.lactis* и *Str.thermophilus* у детей 6-36 месяцев показали снижение риска АДД на 47,8% [33]. В настоящее время проводятся клинические исследования эффективности *L.reuteri* в профилактике АДД у детей [34].

В целом, по общему мнению, пробиотики могут снижать симптомы побочного действия антибиотиков у детей и взрослых [35].

Заключение: есть ли способы снизить АР и снизить распространенности генов АР?

Антибиотикорезистентность представляет собой серьезную угрозу для здоровья детей и взрослых, по мнению многих исследователей это «вновь появляющаяся смертельная болезнь» [22]. Представляется маловероятным в настоящее время снизить распространенность АР генов в окружающей среде.

Перспективным направлением можно считать снижение использования антибиотиков в сельском хозяйстве.

В клинической практике есть возможности снижения АР: назначение антибиотиков только по четким показаниям, избегать чрезмерного использования антибиотиков, контролировать продолжительность лечения. Особенно важно контролировать назначение антибиотиков в педиатрии и неонатологии.

Литература

1. Vangay P, Ward T, Gerber J, Knight D. Antibiotics, pediatric dysbiosis and disease. *Cell Host Microbe*. 2015; 13(5):553-564
2. Dethlefsen L, Huse S, Sogin M, Relman D. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota as revealed by deep 16SrRNA sequencing. *PLoS Biololgy*. 2008;6(11):2383-2393
3. Chong C, Bloomfield F, O'Sullivan, Factors affecting gastrointestinal microbiome development. *Nutrients*, 2018;10:274-291
4. Yoon M, Yoon S. Disruption of the gut ecosystem by antibiotics. *Yonsey Medicine*, 2018;59(1):4-12

5. Cox L, Blaser M. Antibiotics in early life and obesity. *Nat.Rev. Endocrin.* 2015;11(3):182-190
6. Sanmiguél C, Gupta A, Mayer E. Gut microbiome and obesity: a plausible explanation for obesity. *Curr.Obes.Rep.* 2015;4(2):250-261
7. Kalliomaki M, Collado C, Salminen S, et al. Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight. *Am. J. Clin. Nutr.* 2008; 87: 534-538.
8. Azad M, Bridgman S, Becker A, Kozirsky A. Infant antibiotic exposure and the development of childhood overweight and central adiposity. *Int. J. of Obesity*, 2014;(28): 1290-1298
9. Shao X, Ding X, Wang B, Li L, An X, Yao Q, Song R, Zhang J. Antibiotic exposure in early life increases risk of childhood obesity: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Endocrin.* 2017;8:article170
10. Vidal A, Murphy S, Murphy A, Schildkraut J, Soubry A, Huang Z, Neelon S, Fuemmeler B, Iversen E, Wang F, Kurtzberg J, Jirtle R, Hoyo C. Association between antibiotic exposure during pregnancy, birth weight and aberrant methylation at imprinted genes among offspring. *Int. J. of Obesity*, 2013;37:907-913
11. Rashid M, Zaura F, Buijs M. Determining the long-term effect of antibiotic administration on the human normal intestinal microbiota using culture and pyrosequencing methods. *Clin. Infect.Dis.* 2015;60(Suppl):577-584
12. Arboleya S, Sanchez B, Solis G. Impact of prematurity and perinatal antibiotics on the developing intestinal microbiota: a functional inference study. *Int.J.Mol.Sci.* 2016;17:pii:E649
13. Kohanski M, Tharakan A, Lane A, Ramanathan M. Bactericidal antibiotics promote reactive oxygen species formation and inflammation in human sinonasal epithelial cells. *Int.Forum Allergy Rhinol.* 2016 6(2):191-20014
14. Kalghatqi S, Spina C, Costello J, Leisa M, Morones-Ramires J, Slomovic S, Molina A, Shirihau O, Collins J. Bactericidal antibiotics induce mitochondrial dysfunction and oxidative damage in Mammalian cells. *Sci.Transl. Med.* 2013; 3(5):192 ra85. DOI: a. 10.1126/scitranslmed.3006055
15. Belenky P, Porter C, Cohen N, Lobritz M, Ferrante T, Jain S, Korry B, Schwarz E, Waker G, Collins J. Bactericidal antibiotics induce toxic metabolic perturbations that lead to cellular damage. *Cell.Rep.* 2015;13(5):968-980
16. Zarrinpar A, Chax A, Xu Z, Chang M, Marotz C, Saghatelyan A, Knight R, Panda S. Antibiotic-induced microbiome depletion alters metabolic homeostasis by affecting gut signaling and colonic metabolism. *Nature Com.* 2018:2872 on-line doi:10.1038/s41467-018-05336-9.
17. Davies J, Davies D. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol. And Molecular Biology Rev.*2010; 2010;9: 417-433
18. Martinez J. General principles of antibiotic resistance in bacteria. In: *Drug Discovery today: Technologies*, 2014. Ed: K.Lam, H.Timmersman. p.31-39
19. Levy B, Marshall B. Antibacterial resistance worldwide: cause, challenges and responses *Nature Medicine Suppl.* 2004;10(12):S122-S129
20. Perry J, Westman E, Wrught G. The antibiotic resistome: what's new ? *Current Opin. In Microbiol.*2014;21:45-50
21. Wright G. Antibiotic resistance on the environment: a link to the clinic ? *Current Opinion on Microbiol.* 2010;13:589-594
22. Courvalin P. Why is antibiotic resistance a deadly emerging disease ? *Clin.Microbiol. Infect.*2016;22:405-407
23. Zhang T, Smith M, Camp P, Shajari S, MacLeod S, Carleton B. Prescription drug dispensing profiles for one million children: a population-based analysis. *Eur.J.Clin.Pharmacol.* 2013;69:581-588
24. Smith R. Antibiotic resistance: a primer call to action. *Health Commun.* 2015;30(3):309-314
25. Gibson M, Croft T, Dantas G. Antibiotics and the developing infant gut microbiota and resistome. *Curr.Opin.Microbiol.* 2015;27:51-56
26. Moore A, Patel S, Forsberg K, Wang B, Bentley G, Razia Y, Qin X, Tarr P, Dantas G. Pediatric fecal microbiota harbor diverse and novel antibiotic resistance genes. *PLOSOne*, 2013;8:e78822
27. Zhang L, Kinkelaar D, Huang Y, Li Y, Li X, Wang H. Acquired antibiotic resistance: are we born with it ? *Applied and Environ. Microbiol.* 2011;10:7134-7141
28. Lee H, Molla M, Cantor C, Collins J. Bacterial charity work leads to population-wide resistance. *Nature*;2010;467:82-85
29. Jacobson H, Jernberg C, Andersson A, Sjolund-Karlsson M, jansson J, Engstrand L. Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome/ *PLOSone*,2010;5:e9836
30. D. Turck, J.-P. Bernet, J. Marx, H. Kempf, P. Giard, O. Walbaum, A. Lacombe, F. Rembert, F. Toursel, P. Bernasconi, F. Gottrand, L.V. McFarland, K. Bloch Incidence and risk factors of oral antibiotic-associated diarrhea in an outpatient pediatric population. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*,2003; 37: 22-26
31. Mantegazza C, Molinari P, D'Uria E, Sonnino M, Morelli L. Probiotics and antibiotic-associated diarrhea in children: a review and new evidence on *Lactobacilli rhamnosus* during and after antibiotic treatment. *Res.* 2017;128:63-72
32. Goldenberg, L. Lytvyn, J. Steurich, P. Parkin, S. Mahant, B.C. Johnston. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 22 (December (12)) (2015)
33. N.B.O. Correa, L.A. Peret Filho, F.J. Pennal. A Randomized formula controlled trial of *Bifidobacterium lactis* and *Streptococcus thermophilus* for prevention of antibiotic-associated diarrhea in infants *J. Clin. Gastroenterol.*,2005; 39: 385-389
34. M. Kolodziej, H. Szajewska. *Lactobacillus reuteri* DSM17938 in the prevention of antibiotic associated diarrhoea in children: protocol of a randomised controlled trial. *BMJ Open*, 7 2017:!: e013928
35. Ouwehand A, Donglian C, Weijan X, Ni J, Stewart T, Miller L. Probiotics reduce symptoms of antibiotic use in hospital setting. A randomized dose response study. *Vaccine*,2014;32:458-463.