

UNIVERSITATEA „OVIDIUS” DIN CONSTANȚA

ȘCOALA DOCTORALĂ DE MEDICINĂ

DOMENIUL MEDICINĂ

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**PARTICULARITĂȚI ALE MICROBIOTEI
INTESTINALE LA SUGAR ȘI COPILUL MIC**

CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:

PROF. UNIV. DR. CAMBREA SIMONA CLAUDIA

DOCTORAND:

PANTAZI ALEXANDRU-COSMIN

CONSTANȚA

2025

CUPRINS

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII.....	1
CAPITOLUL I. INTRODUCERE. IMPORTANȚA TEMEI DE CERCETARE.....	2
CAPITOLUL II. MICROBIOTA INTESTINALĂ ÎN PRIMELE 1000 DE ZILE DE VIAȚĂ.....	3
II. 1. Variabilitatea microbiotei intestinale în primele zile de viață și implicațiile acesteia.....	3
II. 2. Colonizarea inițială a microbiotei intestinale la nou-născut și sugar.....	7
II.3. Factori materni și impactul asupra microbiotei intestinale în primele 1000 de zile de viață...	9
CAPITOLUL III. FACTORII DE MEDIU ȘI IMPACTUL ASUPRA MICROBIOTEI INTESTINALE ÎN PRIMELE 1000 DE ZILE DE VIAȚĂ.....	12
CAPITOLUL IV. COMPOZIȚIA MICROBIOTEI INTESTINALE ȘI IMPLICAȚIILE ACESTEIA ÎN ALERGIILE SUGARULUI ȘI COPILULUI MIC.....	15
IV. 1. Dermatita atopică și microbiota intestinală la sugar și copilul mic.....	15
IV. 2. Alergiile alimentare și microbiota intestinală la sugar și copilul mic.....	19
CAPITOLUL V. TULBURĂRILE GASTROINTESTINALE FUNCȚIONALE ȘI MICROBIOTA INTESTINALA ÎN PRIMII 3 ANI DE VIAȚĂ.....	21
V. 1. Colicile abdominale.....	22
V. 2. Refluxul gastroesofagian.....	25
V. 3. Constipația funcțională.....	29
V. 4. Diareea funcțională.....	31
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ.....	33
CAPITOLUL VI. ARGUMENTELE ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRII.....	34
CAPITOLUL VII. STUDIU CLINIC - MICROBIOTA INTESTINALĂ ȘI FACTORII DE RISC AI DISBIOZEI ÎN PRIMII TREI ANI DE VIAȚĂ.....	35
VII. 1. Introducere.....	35
VII. 2. Material și metodă.....	36
VII. 3. Rezultate și discuții.....	37
VII. 4. Concluzii.....	47
CAPITOLUL VIII. STUDIU CLINIC – PROFILUL MICROBIOTEI INTESTINALE ȘI DERMATITA ATOPICĂ ÎN PRIMUL AN DE VIAȚĂ.....	48
VIII. 1. Introducere.....	48

VIII. 2. Material și metodă.....	49
VIII. 3. Rezultate.....	50
VIII. 4. Discuții.....	53
VIII. 5. Concluzii.....	55
CAPITOLUL IX. STUDIU CLINIC - PROFILUL MICROBIOTEI INTESTINALE ȘI TULBURĂRILE GASTROINTESTINALE FUNCȚIONALE LA SUGAR.....	56
IX. 1. Introducere.....	56
IX. 2. Material și Metodă.....	57
IX. 3. Rezultate.....	60
IX. 4. Discuții.....	63
IX. 5. Concluzii.....	66
CAPITOLUL X. STUDIU CLINIC – CALPROTECTINA FECALĂ ȘI MANIFESTĂRI CLINICE ALE DISBIOZEI INTESTINALE LA COPILUL MIC.....	67
X. 1. Introducere.....	67
X. 2. Material și metodă.....	67
X. 3. Rezultate și discuții.....	68
X. 4. Concluzii.....	145
CAPITOLUL XI. CONCLUZII ALE CERCETĂRII ȘI ELEMENTE DE ORIGINALITATE..	147
BIBLIOGRAFIE.....	151

Cuvinte-cheie: microbiota intestinală; sugar; copil mic

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

CAPITOLUL I. Introducere

Studiul microbiotei intestinale umane a devenit în ultimii ani un subiect de interes datorită rolului său în menținerea sănătății și în patogeniza multor afecțiuni.(1) Microbiota intestinală influențează dezvoltarea sistemului imun, metabolismul și numeroase procese fiziologice ale gazdei, având efecte care depășesc tractul gastrointestinal.(1) În pediatrie, primele 1000 de zile de viață reprezintă o fereastră critică pentru creșterea și dezvoltarea copilului; în această perioadă se formează și se stabilizează microbiota intestinală, echilibrul acesteia având un rol important în determinismul stării de sănătate sau boală.(2) Un profil microbial intestinal optim în primii ani este asociat cu o dezvoltare armonioasă, pe când dezechilibrul compoziției microbiene poate predispune la diverse patologii atât în copilărie, cât și la vârsta adultă.(2)

CAPITOLUL II. Microbiota intestinală în primele 1000 de zile de viață

În primele etape ale vieții, colonizarea tractului gastrointestinal al nou-născutului este un proces dinamic și complex, influențat de factori perinatali precum tipul nașterii și alimentația.(3) Alimentația naturală favorizează dezvoltarea unei microbiote benefice, laptele matern furnizând prebiotice și microorganisme cu efect protector, ce promovează colonizarea cu bifidobacterii și alte bacterii comensale, contribuind la maturarea sistemului imunitar.(3) În schimb, expunerea precoce la antibiotice poate perturba echilibrul microbial, determinând disbioză intestinală și creșterea susceptibilității la afecțiuni, precum alergii, tulburări metabolice sau gastrointestinale funcționale.(4)

Colonizarea inițială a intestinului începe la naștere și progresează rapid; în doar câteva zile după naștere, densitatea microorganismelor intestinale atinge niveluri de 10^{10} pe gram de materii fecale.(5) În această fază timpurie predomină bacteriile anaerobe facultative, precum enterobacterii, care consumă oxigenul și creează un mediu favorabil instalării ulterioare a microorganismelor benefice.(5) Ulterior, pe măsura creșterii sugarului, compoziția microbiotei este dinamică, bifidobacteriile devin dominante în primele săptămâni, iar odată cu diversificarea alimentației apar în număr tot mai mare familii bacteriene anaerobe precum *Bacteroidaceae*.(5)

Până la vârsta de 3 ani, microbiota intestinală a copilului atinge o structură și diversitate comparabile cu cele ale adultului.(6) Această evoluție subliniază importanța de a înțelege caracteristicile și variabilitatea microbiotei în fereastra primelor 1000 de zile de viață, fundament necesar pentru dezvoltarea unor intervenții profilactice și terapeutice împotriva patologiilor asociate disbiozei la copilul mic.

CAPITOLUL III. Factorii de mediu și impactul asupra microbiotei intestinale în primele 1000 de zile de viață

Factorii externi au o influență majoră asupra compoziției microbiotei intestinale a sugarului în primele luni de viață, un factor determinant fiind tipul nașterii.(7) Sugarii născuți pe cale naturală dobândesc o microbiotă dominată de bacterii provenite din flora vaginală maternă, precum *Lactobacillus*, în timp ce sugarii născuți prin operație cezariană prezintă o colonizare întârziată și diferită, microbiota intestinală fiind compusă predominant din microorganisme de origine cutanată și ambientală, precum *Staphylococcus* și *Corynebacterium*.(7-11) Astfel, nou-născuții prin operație cezariană prezintă frecvent o diversitate microbiană mai redusă și niveluri scăzute de bacterii benefice precum *Bacteroides* și *Bifidobacterium*, însoțite de o abundență relativ crescută a unor bacterii oportuniste, precum specii de *Clostridium*.(2,12,13) S-a observat că această colonizare asociată nașterii prin operație cezariană se corelează cu un risc crescut de a dezvolta în copilărie alergii și astm bronșic, comparativ cu copiii născuți pe cale naturală.(2,12)

Administrarea de antibiotice în primele luni de viață reprezintă un alt factor cu impact semnificativ asupra microbiotei intestinale.(14,15) Expunerea precoce la antibiotice determină diminuarea semnificativă a diversității microbiene intestinale, fiind însoțită de abundența crescută a bacteriilor din filumul *Proteobacteria*, precum *Enterobacteriaceae*, și de reducerea populațiilor de *Actinobacteria* benefice, în special *Bifidobacterium*.(14,15) Un dezechilibru microbian astfel indus poate perturba modularea normală a sistemului imun al gazdei și a fost asociat cu o incidență crescută a unor afecțiuni alergice, metabolice sau inflamatorii cronice, pe termen lung.(7,16)

Alimentația are, de asemenea, un rol important în modelarea microbiotei intestinale. Momentul diversificării alimentației, cu introducerea solidelor, determină modificări semnificative ale ecosistemului microbian intestinal, iar odată cu trecerea de la alimentația exclusiv lactată la cea mixtă, are loc o scădere a predominanței bifidobacteriilor și o creștere a diversității microbiene,

incluzând creșteri ale unor grupuri bacteriene precum *Bacteroidaceae*, *Lachnospiraceae* și *Ruminococcaceae*.(5,17)

CAPITOLUL IV. Compoziția microbiotei intestinale și implicațiile acesteia în alergiile sugarului și copilului mic

Microbiota intestinală timpurie are un rol esențial în modularea sistemului imun al gazdei, influențând susceptibilitatea pentru boli alergice în copilărie.(18) Dermatita atopică, una dintre cele mai frecvente afecțiuni alergice la sugar, având o prevalență de peste 20% la copii în țările dezvoltate, a fost corelată cu particularități ale microbiotei intestinale.(18) Studiile au arătat faptul că sugarii cu dermatită atopică prezintă o diversitate a microbiotei intestinale redusă, această scădere a biodiversității fiind asociată cu o severitate crescută a manifestărilor cutanate.(18) S-a conturat astfel ipoteza existenței unei relații între axa intestin-piele, conform căreia disbioza intestinală poate contribui la inflamația cronică de la nivelul pielii caracteristică dermatitei atopice.(18,19) În sprijinul acestei ipoteze, cercetări recente au evidențiat că pacienții pediatrici cu dermatită atopică au modificări specifice în compoziția florei intestinale, cu diminuarea semnificativă a unor genuri benefice precum *Lactobacillus* și *Bifidobacterium*, concomitent cu supracolonizarea unor bacterii oportuniste, precum *Escherichia coli* și *Clostridioides difficile*.(19,20)

În cazul alergiilor s-a demonstrat importanța compoziției microbiotei intestinale timpurii, metaanalizele evidențiind faptul că sugarii și copiii mici cu alergii prezintă o biodiversitate microbială intestinală semnificativ mai scăzută, alături de diferențe de profil taxonomic, cu o abundență crescută a bacteriilor *Firmicutes* și din familia *Bacteroidaceae*.(18,21) Apariția dermatitei atopice, astmului și alergiilor alimentare s-a asociat cu modificări în structura microbiotei intestinale în primii ani de viață.(18,21,22) Un factor important cu rol protector împotriva dezvoltării alergiilor este alimentația naturală, alăptarea exclusivă cu lapte matern, prin efectele benefice ale laptelui matern asupra microbiotei sugarului, fiind asociată cu un risc semnificativ mai scăzut de alergii alimentare la copii.(23) În ansamblu, disbioza intestinală este tot mai des incriminată ca factor ce contribuie la creșterea incidenței alergiilor pediatrice, deși relația cauzală exactă și mecanismele implicate rămân încă incomplet elucidate.(18) Dezechilibrul

microbiotei intestinale în primii ani poate influența negativ maturarea și reglarea sistemului imun, favorizând un răspuns alergic.(18) Anumite bacterii comensale cu rol imunomodulator, precum lactobacilii și bifidobacteriile, sunt esențiale pentru dezvoltarea toleranței imunologice; reducerea numărului acestor microorganisme benefice poate favoriza apariția unui mediu proinflamator care promovează sensibilizarea alergică, prin intermediul interleukinelor proinflamatorii.(18,24)

CAPITOLUL V. Tulburările gastrointestinale funcționale și microbiota intestinală în primii 3 ani de viață

Tulburările gastrointestinale funcționale constituie un grup de afecțiuni frecvente în pediatrie, caracterizate prin simptome digestive cronice sau recurente în absența unor anomalii organice identificabile, conform criteriilor Roma IV.(25) În primele luni de viață, până la jumătate dintre sugari pot prezenta cel puțin un episod de tulburare gastrointestinală funcțională, cele mai comune fiind colicile infantile, refluxul gastroesofagian și constipația.(25,26) Etiologia tulburărilor gastrointestinale funcționale este recunoscută ca fiind multifactorială, ce include factori alimentari, de exemplu tipul alimentației (lapte matern sau formulă de lapte) și regimul de diversificare, motilitatea gastrointestinală și sensibilitatea viscerală, precum și compoziția microbiotei intestinale.(26)

Colicile infantile se manifestă prin episoade paroxistice de plâns intens și agitație, în primele luni de viață.(27,28) Unele studii au evidențiat asocierea colicilor cu un profil microbial intestinal dezechilibrat; sugarii cu colici prezintă adesea niveluri reduse de bacterii benefice, în special *Bifidobacterium* și *Lactobacillus*, și o abundență crescută de bacterii potențial patogene coliforme, precum *Escherichia coli* și *Klebsiella*.(26,27) În acord cu această ipoteză, s-a raportat că administrarea unor probiotice specifice, de exemplu *Lactobacillus reuteri*, are efecte benefice, reducând durata și severitatea episoadelor de plâns la sugarii cu colici.(27) Astfel, intervențiile care vizează echilibrul microbiotei pot reprezenta o opțiune terapeutică în managementul colicilor infantile, fiind important profilul microbiotei intestinale pentru strategia terapeutică personalizată.

Refluxul gastroesofagian la sugar este o altă tulburare funcțională frecvent întâlnită, manifestată prin regurgitarea conținutului gastric.(28,29) Aproximativ 40% dintre sugari prezintă regurgitări recurente în primele 3–4 luni, însă frecvența episoadelor de reflux scade considerabil până la vârsta de un an.(28,29) Pe lângă factorii mecanici implicați (incompleta maturizare a

mecanismelor anti-reflux), dovezi recente sugerează că și microbiota intestinală are un rol important în patogeniza refluxului: o colonizare intestinală anormală ar putea contribui la apariția și severitatea refluxului gastroesofagian.(29) Cercetările au indicat faptul că suplimentarea orală cu anumite microorganisme probiotice conform profilului microbiotei intestinale determină reducerea semnificativă a episoadelor de regurgitație la sugari și îmbunătățirea timpului de golire gastrică, prin diminuarea inflamației și modularea motilității intestinale.(29,30,31) Acestea subliniază legătura dintre microbiota intestinală și reflux, deschizând calea către noi abordări terapeutice pentru ameliorarea simptomelor refluxului la copilul mic.

Constipația funcțională în primii ani de viață este, de asemenea, frecvent întâlnită, cu o prevalență estimată de până la 30% în populația pediatrică.(28,31,32) Această afecțiune este definită prin scaune rare și de consistență crescută, în absența unei cauze organice și este adesea agravată de factori dietetici precum aport insuficient de fibre, comportamentali sau emoționali.(31,32) Studiile sugerează că dezechilibrele microbiotei intestinale pot contribui la patogeniza constipației cronice la copii.(32,33) Analizele compoziției microbiotei intestinale au evidențiat diferențe semnificative la copiii cu constipație, cu concentrații crescute de bacterii din filumul *Firmicutes*, inclusiv specii de *Clostridium*, concomitent cu scăderea nivelului de *Bacteroidetes*.(33) Acestea sugerează existența unei disbioze asociate constipației, care ar putea afecta motilitatea intestinală și consistența scaunelor, însă rolul precis al microbiotei în constipația funcțională pediatrică rămâne insuficient clarificat, unele studii raportând rezultate contradictorii. În prezent, se explorează utilizarea unor intervenții terapeutice care să modifice flora intestinală în constipația la copii, având ca scop îmbunătățirea tranzitului intestinal și reducerea simptomelor.(32,33)

Diareea funcțională la copil presupune eliminarea frecventă, a scaunelor moi, ce se poate asocia cu modificări ale microbiotei intestinale.(34) Disbioza intestinală la copiii cu scaune diareice a fost caracterizată prin creșterea bacteriilor potențial patogene, precum *Escherichia coli*, enterococi și scăderea microorganismelor benefice, precum bifidobacterii și lactobacili, fiind asociată cu inflamația intestinului, mediată de citokine proinflamatorii.(35,36) Suplimentarea orală cu microorganisme precum *Lactobacillus* au redus episoadelor diareice prin restabilirea echilibrului microbiotei intestinale, diminuarea inflamației intestinale și îmbunătățirea funcției de barieră a epiteliului intestinal.(37) Totuși, implicațiile microbiotei intestinale în diareea funcțională la copil rămân parțial neelucidate, necesitând studii suplimentare.

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

CAPITOLUL VI. Argumentele și obiectivele cercetării

La naștere și în primii ani de viață, colonizarea tractului gastrointestinal formează microbiota intestinală, cu impact asupra sistemului imun și determinismul numeroaselor patologii în primii ani de viață.(7,38) Perioada de sugar și copil mic, reprezentând primele 1000 de zile de viață, este o fereastră critică pentru stabilizarea microbiotei intestinale, compoziția acesteia având o dinamică și variabilitate care influențează semnificativ starea de sănătate atât pe termen scurt, cât și pe termen lung.(6, 7, 38) Factorii perinatali și de mediu pot modula profilul microbial în această fereastră de timp, precum tipul nașterii, tipul alimentației, expunerea la antibiotice și alți factori de mediu.(7,38,39)

În acest context, cercetarea pe care am realizat-o, a analizat compoziția microbiotei intestinale, în primii 3 ani de viață, în Dobrogea, din zona de sud-est a României, identificând factorii de risc ai disbiozei intestinale și evaluând implicațiile acesteia în patologia frecvent întâlnită a copilului și sugarului, precum dermatita atopică și tulburările gastrointestinale funcționale. De asemenea, a fost analizată relația dintre disbioză și inflamația intestinală prin determinarea calprotectinei fecale și asocierea cu indicele florei intestinale pentru stabilirea severității disbiozei și asocierea cu manifestările clinice.

Cercetarea pe care am realizat-o a cuprins studii clinice, desfășurate pe loturi de pacienți pediatrici, cu vârsta 0-3 ani, din zona de sud-est a României (Dobrogea). Am realizat atât analize retrospective, cât și prospective, cu avizul Comisiei de Etică din cadrul Facultății de Medicină, a Universității Ovidius din Constanța. Pentru evaluarea microbiotei intestinale s-au colectat probe din materii fecale, analizate bacteriologic prin culturi pe medii selective, urmărind bacterii proteolitice, unele din familia Enterobacteriaceae, precum *Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, alături de *Hafnia alvei*, *Serratia*, *Providencia*, *Morganella morganii*, *Kluyvera*, *Citrobacter*, *Pseudomonas* și *Clostridium*, bacterii acidifiante precum *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bacteroides* și specii fungice precum *Candida* și *Geotrichum*. Am analizat indicele florei intestinale pentru a evalua gradul disbiozei și manifestările clinice, corelate cu calprotectina fecală, marker neinvaziv al inflamației intestinale. Datele clinice și de laborator au fost analizate statistic, considerând semnificativ valoarea p sub 0,05.

CAPITOLUL VII. Studiu clinic – Microbiota intestinală și factorii de risc ai disbiozei în primii trei ani de viață

Studiul retrospectiv, realizat în perioada 2020-2022, a inclus 82 de copii cu vârsta între 0 și 36 de luni, diagnosticați cu disbioză intestinală, în scopul identificării factorilor care influențează disbioza intestinală. Studiul pe care l-am realizat a evidențiat faptul că distribuția pe sexe a fost aproximativ egală (48% sex masculin, 52% sex feminin), sugerând că riscul de disbioză este similar. Vârsta a influențat semnificativ prevalența disbiozei intestinale, 63% din cazuri au fost la grupa 0-12 luni, comparativ cu 37% la 1-3 ani, indicând susceptibilitatea mai mare a sugarilor. Această predominanță la vârste mici poate fi explicată de tranziția alimentară din jurul vârstei de 6 luni, când introducerea alimentelor solide produce schimbări majore în compoziția microbiotei. (38,40-42) Alte studii au evidențiat faptul că diversificarea alimentației determină scăderea abundenței bacteriilor benefice, precum *Bifidobacterium* și creșterea diversității microbiene, favorizând colonizarea cu *Bacteroides*.(41,42)

Un alt factor semnificativ asociat disbiozei observat în studiul meu a fost prematuritatea, 70% dintre sugari fiind născuți prematur, această categorie având frecvent microbiota dezechilibrată, cu diversitate redusă și deficit de bifidobacterii, conform literaturii.(43,44) De asemenea, tipul nașterii a influențat compoziția microbiotei intestinale, 72% dintre copiii din lotul studiat fiind născuți prin operație cezariană, această proporție ridicată fiind corelată statistic cu disbioza intestinală ($p = 0,035$). Operația cezariană privează nou-născutul de expunerea la flora vaginală maternă, ceea ce favorizează colonizarea intestinală cu bacterii potențial patogene în detrimentul celor benefice.(45) Literatura confirmă faptul că nașterea prin operație cezariană se asociază cu riscul de disbioză intestinală, caracterizat prin abundență scăzută de *Bacteroidetes* și bifidobacterii și cu niveluri crescute de *Firmicutes* în primele luni de viață, contribuind la un risc crescut pentru alergii și atopie.(46)

Un alt factor important pe care studiul meu l-a observat este alimentația în primul an: în lotul studiat majoritatea sugarilor (53%) au fost alimentați artificial, cu formula de lapte, doar 25% cu lapte matern și 22% mixt cu formulă de lapte și lapte matern. Alimentația artificială în primul an s-a asociat cu disbioză mai frecventă, confirmând datele conform cărora sugarii alimentați cu formulă prezintă diversitate microbiană redusă și o încărcătură crescută de bacterii potențial patogene, comparativ cu cei alimentați cu lapte matern.(47) Laptele matern conține factori prebiotici ce susțin proliferarea bacteriilor benefice precum *Bifidobacterium* și *Lactobacillus*, ce

explică predispoziția la disbioză a sugarilor alimentați cu formulă de lapte.(42,47) Expunerea la antibiotice a fost de asemenea frecventă în antecedentele sugarilor cu disbioză din lotul pe care l-am studiat (51% din cazuri au primit cel puțin un antibiotic în primul an). În studiul meu, am observat faptul că antibioterapia, în special cu cefalosporine sau aminopeniciline, a precedat adesea disbioza intestinală, antibioticele determinând scăderea diversității microbiene cu rol protector precum bifidobacteriile și proliferarea excesivă a unor genuri oportuniste, precum *Enterobacter* și *Enterococcus*, descrise în literatură.(48,49) În lotul analizat în studiul meu, statusul ponderal al sugarilor cu disbioză a fost predominant eutrofic (54%), însă la grupa de vârstă 1-3 ani am remarcat o asociere între disbioză și suprapondere în 23% din cazuri, literatura sugerând implicațiile microbiotei intestinale în funcțiile metabolismului și riscul de obezitate.(50)

Din punct de vedere clinic, disbioza intestinală la sugari s-a manifestat printr-o varietate de simptome gastrointestinale precum scaune diareice sau, dimpotrivă, constipație, prezența mucusului în scaun, dureri abdominale și meteorism abdominal, iar severitatea disbiozei intestinale, evaluată prin indicele florei intestinale, s-a corelat cu intensitatea acestor simptome. În studiul efectuat, 42% dintre sugari au prezentat disbioză moderată, având indicele florei intestinale între 6-12, iar 11% disbioză severă, cu valoarea medie a pH-ului materiilor fecale de 6,5, indicând reducerea acidității intestinale. De asemenea, am observat în studiul realizat, creșterea semnificativă a concentrației bacteriilor proteolitice *Escherichia coli*, *Klebsiella* și *Enterobacter* și scăderea bacteriilor acidifiante *Lactobacillus* și *Bifidobacterium* la copiii cu formă severă de disbioză, aceste modificări fiind însoțite de alcalinizarea mediului intestinal.

Simptomele digestive precum scaunele diareice, constipația, meteorismul abdominal și durerile abdominale au fost mai accentuate la pacienții cu disbioză severă. O caracteristică observată în studiul meu a fost asocierea între disbioză și alergia la proteina laptelui de vacă, 68% dintre sugarii cu alergie alimentară au prezentat disbioză, sugestiv prin pH fecal acid și suprapopulare cu bacterii proteolitice. Această asociere este susținută de studii care au arătat la copiii cu alergie la proteinele laptelui de vacă modificări ale florei intestinale și afectarea integrității barierei intestinale.(51,52)

În concluzie, studiul pe care l-am realizat a evidențiat faptul că factorii perinatali precum prematuritatea, nașterea prin operație cezariană, tipul alimentației și utilizarea timpurie a antibioticelor joacă un rol important în disbioza intestinală la sugari. Disbioza intestinală în primii

ani se manifestă prin simptome digestive variate și poate coexista cu afecțiuni precum alergiile alimentare, având potențial impact asupra creșterii și dezvoltării.

CAPITOLUL VIII. Studiu clinic – Profilul microbiotei intestinale și dermatita atopică în primul an de viață

Studiul prospectiv pe care l-am realizat, în perioada aprilie 2023 – mai 2024, a comparat compoziția microbiotei intestinale la sugari cu dermatită atopică față de sugarii sănătoși. Lotul a inclus 121 de subiecți cu vârsta între 1 lună și 12 luni, dintre care 91 diagnosticați cu dermatită atopică și 30 de cazuri fără dermatită atopică. Criteriile de includere au reprezentat absența infecțiilor acute sau a altor boli cronice și lipsa tratamentelor cu antibiotice ori probiotice în ultimele 4 săptămâni. Au fost analizate probe din materii fecale, prin metode bacteriologice de cultură, cuantificând speciile bacteriene proteolitice, acidifiante și fungice.

Caracteristicile generale ale celor două loturi au evidențiat diferențe notabile: procentul sugarilor alimentați natural a fost mai mic în grupul cu dermatită atopică față de martori, iar frecvența nașterilor prin operație cezariană a fost ușor mai mare la sugarii cu dermatită atopică. Aceste observații sugerează faptul că factorii care predispun la disbioză precum operația cezariană și alimentația artificială, ar putea contribui și la riscul de dermatită atopică, observații menționate în literatură.(53,54)

Analiza compoziției microbiotei intestinale a evidențiat diferențe semnificative între sugarii cu dermatită atopică și grupul martor; grupul cu dermatită atopică a prezentat o abundență crescută a filumului *Proteobacteria*, în principal familia *Enterobacteriaceae* gram-negative, anaerobe facultative și valori relativ scăzute pentru *Firmicutes* și *Actinobacteria*. De asemenea, studiul pe care l-am realizat a evidențiat faptul că sugarii cu dermatită atopică au avut concentrații semnificativ mai mari de bacterii proteolitice precum *Escherichia coli*, *Enterobacter* și *Klebsiella* ($p < 0,05$) și o creștere semnificativă a genului *Bacteroides* ($p = 0,036$). Pe de altă parte, nivelurile bacteriilor benefice acidifiante au fost semnificativ reduse la sugarii cu dermatită atopică: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* și *Enterococcus* au prezentat concentrații semnificativ mai mici față de sugarii sănătoși, cu diferențe semnificative ($p < 0,05$). Studiul nu a identificat diferențe notabile în ceea ce privește flora fungică comensală (*Candida* spp., *Geotrichum* spp.), aceste microorganisme fiind prezente în limite normale în ambele grupuri.

Profilul microbial pe care l-am observat la sugarii cu dermatită atopică a evidențiat o disbioză caracterizată prin deficit de bacterii protectoare și suprapopulare cu bacterii oportuniste. Rezultatele obținute sunt în concordanță cu unele studii din literatură, care au raportat la copiii cu dermatită atopică scăderea bacteriilor benefice (bifidobacterii, lactobacili) și creșterea unor proteobacterii.(20) Alte cercetări au constatat corelații între dermatita atopică și concentrațiile crescute de *Bacteroides* și *Enterobacteriaceae*, susținând ipoteza că anumite specii microbiene precum *Bacteroides* spp. pot contribui la mecanismele patogenice ale atopiei prin producerea de lipopolizaharide proinflamatorii și afectarea permeabilității intestinale.(53,55) În studiul meu, diferențele microbiene observate la sugarii cu dermatită atopică sugerează că disbioza intestinală joacă un rol în această afecțiune alergică. Absența unor populații microbiene benefice cheie, precum bifidobacteriile, în primele luni de viață ar putea influența dezvoltarea sistemului imun, predispunând la reacții atopice. În consecință, intervențiile de modulare a microbiotei, prin administrarea de microorganisme cu rol probiotic în funcție de profilul microbiotei, menționate de alte studii, ar putea reprezenta strategii preventive sau terapeutice promițătoare pentru dermatita atopică.(56,57)

Studiul pe care l-am realizat aduce o contribuție originală prin descrierea profilului microbial la sugarii cu dermatită atopică din populația pediatrică a Dobrogei, din sud-estul României și confirmă necesitatea continuării cercetărilor privind relația microbiotă-gazdă în patologia atopică.

CAPITOLUL IX. Studiu clinic – Profilul microbiotei intestinale și tulburările gastrointestinale funcționale la sugar

Tulburările gastrointestinale funcționale includ afecțiuni precum colicile abdominale, refluxul gastroesofagian, constipația funcțională sau diareea funcțională, în absența unei cauze organice.(58) Având în vedere ipoteza conform căreia microbiota intestinală ar putea influența fiziopatologia tulburărilor gastrointestinale funcționale, am analizat profilul microbial intestinal la sugarii cu astfel de tulburări gastrointestinale, comparativ cu sugarii sănătoși.(58) Studiul a fost prospectiv, realizat în perioada aprilie – septembrie 2024 și a inclus 134 de sugari cu vârsta între 1 și 12 luni, dintre care 82 de sugari au prezentat tulburări gastrointestinale funcționale diagnosticate

conform criteriilor Roma IV și 52 de sugari au constituit grupul martor, fără tulburări gastrointestinale funcționale.(59) Grupul cu tulburări gastrointestinale funcționale a fost subdivizat în 4 subgrupuri: 23 de sugari cu colici infantile, 21 de cazuri cu constipație funcțională, 20 de cazuri cu reflux gastroesofagian și 18 cazuri cu diaree funcțională.

În studiul realizat, nu au fost observate diferențe semnificative între grupul cu tulburări gastrointestinale funcționale și lotul martor în ceea ce privește vârsta, vârsta gestațională, greutatea la naștere sau prematuritatea, însă am observat diferențe privind alimentația, doar 25,6% dintre sugarii cu tulburări gastrointestinale funcționale fiind alimentați cu lapte matern, față de 53,8% în grupul fără tulburări gastrointestinale funcționale, majoritatea sugarilor fiind alimentați artificial, cu niveluri scăzute de floră acidifiantă pentru speciile *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides* și niveluri crescute de microorganisme proteolitice precum *Escherichia coli* și *Klebsiella*, în concordanță cu datele din literatură.(60,61) În studiul meu, analiza microbiotei intestinale la sugarii cu tulburări gastrointestinale funcționale a evidențiat un profil caracterizat de scăderea bacteriilor acidifiante și creșterea bacteriilor oportuniste, comparativ cu sugarii sănătoși.

Sugarii cu colici abdominale au prezentat o reducere semnificativă a populațiilor de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides* și *Enterococcus* față de grupul martor, concomitent cu niveluri crescute de *Escherichia coli* și *Klebsiella*. Indicele florei intestinale la acești sugari a indicat predominant o disbioză moderată. Această caracteristică, cu abundență mare de proteobacterii și deficit de bacterii benefice, a fost raportată și de alte studii.(62) Studiul pe care l-am realizat a relevat o asociere semnificativă între suprapopularea cu *Escherichia coli* și apariția colicilor ($p = 0,037$), sugerând că această bacterie ar putea contribui la simptomatologia colicilor.

La sugarii cu constipație am constatat niveluri mai scăzute de *Lactobacillus*, *Enterococcus* și *Bacteroides*, comparativ cu cei fără constipație, și creșteri semnificative ale *Escherichia coli* și *Klebsiella*. Indicele de disbioză a indicat o disbioză moderată. Aceste rezultate sugerează că disbioza moderată, cu reducerea bacteriilor care stimulează motilitatea intestinală, precum lactobacilii, poate fi implicată în constipația funcțională a sugarului.

La sugarii cu reflux am observat un profil microbial caracterizat de scăderea semnificativă a *Lactobacillus* și *Bacteroides*, alături de creșteri ale *Enterococcus*, *Escherichia coli* și *Klebsiella*, cu formă moderată de disbioză intestinală. Particulară a fost creșterea *Enterococcus*, față de grupul martor.

Sugarii cu diaree funcțională au avut cele mai importante modificări, cu creșteri importante ale *Escherichia coli*, *Enterobacter* și *Klebsiella*, concomitent cu scăderea *Bacteroides*, *Lactobacillus* și *Enterococcus*. Și în acest subgrup indicele florei intestinale a indicat disbioză moderată.

În toate cazurile, speciile *Proteus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Clostridium* și fungii *Candida*, *Geotrichum* s-au menținut în valori normale, fără diferențe între sugarii cu tulburări gastrointestinale funcționale și cei fără tulburări gastrointestinale funcționale. În ansamblu, studiul realizat a arătat faptul că tulburările gastrointestinale funcționale la sugar se asociază cu un anumit grad de disbioză intestinală. Colicile abdominale, constipația, refluxul gastroesofagian și diareea funcțională au în comun o reducere a florei protectoare reprezentată de bifidobacterii și lactobacili, și o prezență relativ crescută a *Enterobacteriaceelor* (*Escherichia coli* și *Klebsiella*). Conform literaturii, colicile infantile sunt caracterizate de o microbiotă cu diversitate redusă, dominată de proteobacterii și cu nivel scăzut de lactobacili și bifidobacterii, iar administrarea de probiotice a arătat efecte benefice în reducerea simptomelor.(62,63) În cercetarea pe care am realizat-o, disbioza moderată întâlnită la mulți sugari cu colici sugerează mai degrabă existența unor diferențe microbiene specifice, precum suprapopularea cu *Escherichia coli*, decât o disbioză extinsă. În mod similar, în cazul episoadelor de agitație nu am constatat diferențe microbiene semnificative comparativ cu sugarii fără episoade de agitație.

În concluzie, studiul confirmă un rol potențial al microbiotei intestinale în tulburările gastrointestinale funcționale ale sugarului și sugerează faptul că sunt implicate mai degrabă modificări ale unor specii specifice decât dezechilibre extinse ale microbiotei.

CAPITOLUL X. Studiu clinic – Calprotectina fecală și manifestări clinice ale disbiozei intestinale la copilul mic

Studiul prospectiv a fost realizat pe un lot de 129 de cazuri, cu vârsta 1-3 ani, care a analizat relația dintre disbioza intestinală și inflamația intestinală, fiind determinată calprotectina fecală, marker neinvaziv al inflamației intestinale. Aceștia au fost distribuiți în 2 loturi: lotul I cu manifestări clinice de disbioză intestinală și lotul II fără manifestări clinice. Am analizat manifestările clinice, precum colici abdominale, episoade de agitație, meteorism abdominal, constipație, prezența mucusului în materiile fecale, modificări de culoare ale scaunului (scaune

verzi), scaune apoase, scaune cu sânge sau cu resturi alimentare nedigerate, precum și scaune cu miros fetid. Aceste manifestări au fost analizate în relație cu profilul microbiotei intestinale și cu nivelul calprotectinei fecale. În studiul efectuat, valorile medii ale calprotectinei fecale s-au situat în intervalul normal pentru această grupă de vârstă. Am comparat valorile în funcție de prezența manifestărilor clinice:

- Colici abdominale: În cazurile care au prezentat colici abdominale nu am observat o creștere semnificativă a calprotectinei fecale față de copiii fără colici. Am observat asocierea colicilor cu un profil microbial particular, caracterizat prin suprapopulare cu *Escherichia coli* și concentrații scăzute de lactobacili.
- Episoade de agitație: În studiul efectuat nu am găsit diferențe semnificative ale florei între copiii cu episoade frecvente de agitație și cei fără agitație, și nici valori diferite ale calprotectinei fecale. Ipoteza inițială că disbioza ar putea cauza agitație nu a fost confirmată.
- Meteorism abdominal: Deși unii copii cu meteorism au prezentat ușoare creșteri ale *Klebsiella* și reducerea *Enterococcus* în flora intestinală, aceste variații nu au fost semnificative, iar calprotectina nu a prezentat diferențe între cei cu și fără meteorism.
- Constipație: Compoziția microbială nu a diferit semnificativ de cea a copiilor fără constipație, evidențiindu-se doar o tendință de reducere a lactobacililor. Nivelurile calprotectinei fecale au fost similare, sugerând că formele funcționale de constipație nu se asociază cu inflamație intestinală.
- Mucus în materii fecale: Prezența mucusului în materiile fecale s-a corelat cu formele severe de disbioză intestinală și suprapopulare de enterobacterii. Calprotectina fecală a fost crescută în aceste cazuri.
- Scaune de culoare verde: Am observat o asociere semnificativă între scaunele de culoare verde și disbioza intestinală severă, cu un profil al microbiotei intestinale dominat de proteobacterii oportuniste și concentrații scăzute de bacterii benefice. Cu toate acestea, nivelurile calprotectinei fecale nu au fost diferite semnificativ față de copiii fără scaune verzi, indicând că această manifestare clinică reflectă un dezechilibru al microbiotei intestinale decât o inflamație intestinală.
- Scaune apoase: Prezența scaunelor apoase s-a asociat cu modificări importante ale microbiotei intestinale, în special cu forme moderate sau severe de disbioză intestinală și

creșterea *Enterobacteriaceelor*, confirmând legătura dintre disbioză și scaune diareice. Cu toate acestea, nivelul mediu al calprotectinei fecale nu a diferit semnificativ între copiii cu scaune apoase și cei fără scaune apoase. Analiza distribuției valorilor a arătat o variabilitate mare, sugerând că episoadele de scaune apoase tranzitorii nu implică inflamație intestinală persistentă.

- Scaune cu sânge: Am remarcat în studiul efectuat tendința unor valori mai mari ale calprotectinei fecale la copiii cu scaune cu sânge, fără ca diferența să atingă pragul de semnificație statistică. Această observație ridică totuși suspiciunea că episoadele de colită hemoragică la copiii mici ar putea implica disbioză intestinală asociată cu inflamație.
- Scaune cu alimente nedigerate și scaune cu miros fetid: În studiul meu nu am observat corelații semnificative între scaunele cu alimente nedigerate, scaunele cu miros fetid, disbioza intestinală și calprotectina fecală.

În concluzie, în studiul pe care l-am realizat, am observat corelații semnificative statistice între gradul de disbioză intestinală, măsurat prin indicii florei intestinale și nivelul calprotectinei fecale. Copiii cu disbioză intestinală severă au tendința de a prezenta valori mai mari ale calprotectinei, ceea ce susține ipoteza că dezechilibrul microbiotei poate fi asociat cu un status inflamator intestinal. În ansamblu, valorile calprotectinei fecale la copiii mici prezintă o variabilitate individuală ridicată și pot rămâne în limite normale chiar și în prezența disbiozei sau a simptomelor, ceea ce indică necesitatea interpretării atente a acestui biomarker în context clinic și microbiologic.

CAPITOLUL XI. Concluzii ale cercetării și elemente de originalitate

Cercetarea pe care am realizat-o, prin studiile efectuate, evidențiază importanța unor factori precum nașterea prin operație cezariană, alimentația artificială și expunerea precoce la antibiotice, implicați în disbioza intestinală în primii trei ani de viață. Am observat faptul că momentul diversificării alimentației este un punct critic, modificările alimentare putând perturba echilibrul florei intestinale. Disbioza intestinală din primul an de viață se manifestă clinic prin simptome

gastrointestinale precum scaune diareice, scaune cu mucus, scaune de culoare verde, care reflectă severitatea dezechilibrului microbial.

La sugarii cu dermatită atopică am identificat un profil microbial particular, cu suprapopulare de bacterii proteolitice, precum *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter* și deficit de floră benefică precum *Lactobacillus* și *Bifidobacterium*.

La sugarii cu tulburări gastrointestinale funcționale am constatat o colonizare redusă de specii acidifiante (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*) și o creștere a *Enterobacteriaceelor* (*Klebsiella*, *Escherichia coli*), ce indică posibila implicare a acestor microorganisme în apariția simptomelor digestive funcționale. Analizele detaliate sugerează însă că, pentru unele manifestări precum colicile abdominale, diferențele microbiene sunt relativ specifice (exces de *Escherichia coli*) și nu implică întregul ecosistem intestinal. De asemenea, nu s-a confirmat o asociere între disbioza intestinală și episoadele de agitație ale sugarului. În schimb, prezența mucusului în scaun sau a scaunelor verzi la copilul mic s-a corelat cu dezechilibre microbiene accentuate, aceste semne putând indica forme severe de disbioză intestinală. În ceea ce privește relația cu inflamația intestinală, studiul a relevat faptul că majoritatea copiilor cu disbioză intestinală nu prezintă un răspuns inflamator semnificativ, calprotectina prezentând valori normale, confirmând observațiile că valorile calprotectinei fecale pot varia larg la această vârstă, fără prezența unei patologii organice. Totuși, asocierea statistică dintre un indice de disbioză crescut și valori mai mari ale calprotectinei susține existența unei legături între dezechilibrul microbiotei și inflamația intestinală. Această caracteristică subliniază importanța menținerii unei microbiote intestinale eubiotice pentru prevenirea fenomenelor inflamatorii.

Rezultatele obținute în populația pediatrică din Dobrogea completează studiile limitate până în prezent privind caracteristicile microbiotei intestinale a copiilor din această regiune geografică a României și pot avea aplicații practice în ghidarea unor strategii de medicină personalizată. Copiii cu factori de risc pentru disbioză intestinală ar putea beneficia de monitorizare și intervenții profilactice și terapeutice precoc, pentru a modula compoziția microbiotei. Similar, identificarea disbiozei la sugarii cu dermatită atopică sau tulburări gastrointestinale ar putea orienta către terapii țintite pe microbiota intestinală. În concluzie, cercetarea prezentată aduce noi dovezi asupra rolului microbiotei intestinale în primii ani de viață, și subliniază necesitatea integrării evaluării microbiotei intestinale în practica pediatrică, deschizând perspective pentru intervenții terapeutice personalizate.

BIBLIOGRAFIE

1. Zhuang L, Chen H, Zhang S, Zhuang J, Li Q, Feng Z. Intestinal Microbiota in Early Life and Its Implications on Childhood Health. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2019;17(1):13-25.
2. Munyaka PM, Khafipour E, Ghia JE. External influence of early childhood establishment of gut microbiota and subsequent health implications. *Front Pediatr*. 2014;2:109.
3. Bakshi S, Paswan VK, Yadav SP, Bhinchhar BK, Kharkwal S, Rose H, et al. A comprehensive review on infant formula: nutritional and functional constituents, recent trends in processing and its impact on infants' gut microbiota. *Front Nutr*. 2023;10:1194679.
4. Cox LM, Blaser MJ. Antibiotics in early life and obesity. *Nat Rev Endocrinol*. 2015;11(3):182-90.
5. Laursen MF. Gut Microbiota Development: Influence of Diet from Infancy to Toddlerhood. *Ann Nutr Metab*. 2021;79(3-4):1-14.
6. Yao Y, Cai X, Ye Y, Wang F, Chen F, Zheng C. The Role of Microbiota in Infant Health: From Early Life to Adulthood. *Front Immunol*. 2021;12:708472.
7. Pantazi AC, Balasa AL, Mihai CM, Chisnoiu T, Lupu VV, Kassim MAK, et al. Development of Gut Microbiota in the First 1000 Days after Birth and Potential Interventions. *Nutrients*. 2023;15(16).
8. Lai C, Huang L, Wang Y, Huang C, Luo Y, Qin X, et al. Effect of different delivery modes on intestinal microbiota and immune function of neonates. *Sci Rep*. 2024;14(1):17452.
9. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(26):11971-5.
10. Korpela K. Impact of Delivery Mode on Infant Gut Microbiota. *Ann Nutr Metab*. 2021:1-9.
11. Selma-Royo M, Tarrazo M, Garcia-Mantrana I, Gomez-Gallego C, Salminen S, Collado MC. Shaping Microbiota During the First 1000 Days of Life. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1125:3-24.
12. Stokholm J, Thorsen J, Chawes BL, Schjorring S, Krogfelt KA, Bonnelykke K, et al. Cesarean section changes neonatal gut colonization. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;138(3):881-9 e2.
13. Darabi B, Rahmati S, Hafezi Ahmadi MR, Badfar G, Azami M. The association between caesarean section and childhood asthma: an updated systematic review and meta-analysis. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2019;15:62.

14. Morreale C, Giaroni C, Baj A, Folgieri L, Barcellini L, Dhami A, et al. Effects of Perinatal Antibiotic Exposure and Neonatal Gut Microbiota. *Antibiotics (Basel)*. 2023;12(2):e113.
15. Tanaka S, Kobayashi T, Songjinda P, Tateyama A, Tsubouchi M, Kiyohara C, et al. Influence of antibiotic exposure in the early postnatal period on the development of intestinal microbiota. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2009;56(1):80-7.
16. Zhu J, He M, Li S, Lei Y, Xiang X, Guo Z, et al. Shaping oral and intestinal microbiota and the immune system during the first 1,000 days of life. *Front Pediatr*. 2025;13:1471743.
17. Differding MK, Benjamin-Neelon SE, Hoyo C, Ostbye T, Mueller NT. Timing of complementary feeding is associated with gut microbiota diversity and composition and short chain fatty acid concentrations over the first year of life. *BMC Microbiol*. 2020;20(1):56.
18. Pantazi AC, Mihai CM, Bălașa AL, Chisnoiu T, Lupu A, Frecuș CE, et al. Relationship between Gut Microbiota and Allergies in Children: A Literature Review. *Nutrients*. 2023;15(11):e2448.
19. Wrzesniewska M, Wołoszczak J, Świrkosz G, Szyller H, Gołńska K. The Role of the Microbiota in the Pathogenesis and Treatment of Atopic Dermatitis – A Literature Review. *Int J Mol Sci*. 2024;25(12):6785.
20. Abrahamsson TR, Jakobsson HE, Andersson AF, Björkstén B, Engstrand L, Jenmalm MC. Low diversity of the gut microbiota in infants with atopic eczema. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129(2):434-40, 40 e1-2.
21. Melli LC, do Carmo-Rodrigues MS, Araujo-Filho HB, Solé D, de Moraes MB. Intestinal microbiota and allergic diseases: A systematic review. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2016;44(2):177-88.
22. Gensollen T, Blumberg RS. Correlation between early-life regulation of the immune system by microbiota and allergy development. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;139(4):1084-91.
23. Wang S, Wei Y, Liu L, Li Z. Association Between Breastmilk Microbiota and Food Allergy in Infants. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11:770913.
24. De Filippis F, Paparo L, Nocerino R, Della Gatta G, Carucci L, Russo R, et al. Specific gut microbiome signatures and the associated pro-inflammatory functions are linked to pediatric allergy and acquisition of immune tolerance. *Nat Commun*. 2021;12(1):5958.
25. Hofman D, Kudla U, Miqdady M, Nguyen TVH, Moran-Ramos S, Vandenplas Y. Fecal Microbiota in Infants and Young Children with Functional Gastrointestinal Disorders: A Systematic Review. *Nutrients*. 2022;14(5):1077.

26. Rhoads JM, Collins J, Fatheree NY, Hashmi SS, Taylor CM, Luo M, et al. Infant Colic Represents Gut Inflammation and Dysbiosis. *J Pediatr*. 2018;203:55-61.e3.
27. Capozza M, Laforgia N, Rizzo V, Salvatore S, Guandalini S, Baldassarre M. Probiotics and Functional Gastrointestinal Disorders in Pediatric Age: A Narrative Review. *Front Pediatr*. 2022;10:805466.
28. van Tilburg MA, Hyman PE, Walker L, Rouster A, Palsson OS, Kim SM, et al. Prevalence of functional gastrointestinal disorders in infants and toddlers. *J Pediatr*. 2015;166(3):684-9.
29. Foster JP, Dahlen HG, Fijan S, Badawi N, Schmied V, Thornton C, et al. Probiotics for preventing and treating infant regurgitation: A systematic review and meta-analysis. *Matern Child Nutr*. 2022;18(1):e13290.
30. Indrio F, Di Mauro A, Riezzo G, Civardi E, Intini C, Corvaglia L, et al. Prophylactic Use of a Probiotic in the Prevention of Colic, Regurgitation, and Functional Constipation: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Pediatr*. 2014;168(3):228-33.
31. Weh CAM, Schoterman MHC, Vaughan EE, Belzer C, Benninga MA. The effect of fiber and prebiotics on children's gastrointestinal disorders and microbiome. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;11(11):1031-45.
32. Avelar Rodriguez D, Popov J, Ratcliffe EM, Toro Monjaraz EM. Functional Constipation and the Gut Microbiome in Children: Preclinical and Clinical Evidence. *Front Pediatr*. 2020;8:595531.
33. de Meij TG, de Groot EF, Eck A, Budding AE, Kneepkens CM, Benninga MA, et al. Characterization of Microbiota in Children with Chronic Functional Constipation. *PLoS One*. 2016;11(10):e0164731.
34. Weber TK, Polanco I. Gastrointestinal microbiota and some children diseases: a review. *Gastroenterol Res Pract*. 2012;2012:676585.
35. Qin F, Wu H, Li X, Han JA-OX. Correlation between changes in gut flora and serum inflammatory factors in children with noninfectious diarrhea. (1473-2300 (Electronic)).
36. Li L, Yan Q, Ma N, Chen X, Li G, Liu M. Analysis of intestinal flora and inflammatory cytokine levels in children with non-infectious diarrhea. *Transl Pediatr*. 2021;10(5):1340-5.
37. Szajewska H, Skórka A Fau - Ruszczyński M, Ruszczyński M Fau - Gieruszczak-Białek D, Gieruszczak-Białek D. Meta-analysis: Lactobacillus GG for treating acute diarrhoea in children. (0269-2813 (Print)).

38. Pantazi AC, Kassim MAK, Nori W, Mihai CM, Chisnoiu T, Balasa AL, et al. Interplay between intestinal microbiota and risk factors in the first three years of life. *Romanian Journal of Oral Rehabilitation*. 2023;15(3).
39. Bokulich NA, Chung J, Battaglia T, Henderson N, Jay M, Li H, et al. Antibiotics, birth mode, and diet shape microbiome maturation during early life. *Sci Transl Med*. 2016;8(343):343ra82.
40. Catassi G, Aloï M, Giorgio V, Gasbarrini A, Cammarota G, Ianiro G. The Role of Diet and Nutritional Interventions for the Infant Gut Microbiome. *Nutrients*. 2024;16(3).
41. Noles DL, Matzeller KL, Frank DN, Krebs NF, Tang M. Complementary Feeding and Infant Gut Microbiota: A Narrative Review. *Nutrients*. 2025;17(5).
42. Parkin K, Christophersen CT, Verhasselt V, Cooper MN, Martino D. Risk Factors for Gut Dysbiosis in Early Life. *Microorganisms*. 2021;9(10).
43. Chernikova DA, Madan JC, Housman ML, Zain-Ul-Abideen M, Lundgren SN, Morrison HG, et al. The premature infant gut microbiome during the first 6 weeks of life differs based on gestational maturity at birth. *Pediatr Res*. 2018;84(1):71-9.
44. Yang S, He J, Shi J, Xie L, Liu Y, Xiong Y, et al. Characteristics of intestinal microbiota in preterm infants and the effects of probiotic supplementation on the microbiota. *Front Microbiol*. 2024;15:1339422.
45. Wernroth ML, Peura S, Hedman AM, Hetty S, Vicenzi S, Kennedy B, et al. Development of gut microbiota during the first 2 years of life. *Sci Rep*. 2022;12(1):9080.
46. Neu J, Rushing J. Cesarean versus vaginal delivery: long-term infant outcomes and the hygiene hypothesis. *Clin Perinatol*. 2011;38(2):321-31.
47. Azad MB, Konya T, Fau - Maughan H, Maughan H, Fau - Guttman DS, Guttman Ds, Fau - Field CJ, Field Cj, Fau - Chari RS, Chari Rs, Fau - Sears MR, et al. Gut microbiota of healthy Canadian infants: profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months. (1488-2329 (Electronic)).
48. Zimmermann P, Curtis N. The effect of antibiotics on the composition of the intestinal microbiota - a systematic review. (1532-2742 (Electronic)).
49. Qiu J, Wu S, Huang R, Liao Z, Pan X, Zhao K, et al. Effects of antibiotic therapy on the early development of gut microbiota and butyrate-producers in early infants. *Front Microbiol*. 2024;15:1508217.
50. Cho KY. Association of gut microbiota with obesity in children and adolescents. *Clin Exp Pediatr*. 2023;66(4):148-54.

51. Xu J, Sheikh TMM, Shafiq M, Khan MN, Wang M, Guo X, et al. Exploring the gut microbiota landscape in cow milk protein allergy: Clinical insights and diagnostic implications in pediatric patients. *Journal of Dairy Science*. 2025;108(1):73-89.
52. Zubeldia-Varela E, Barker-Tejeda TC, Mera-Berriatua L, Bazire R, Cabrera-Freitag P, Ubeda C, et al. Further Insights into the Gut Microbiota of Cow's Milk Allergic Infants: Analysis of Microbial Functionality and Its Correlation with Three Fecal Biomarkers. *Int J Mol Sci*. 2023;24(11).
53. Wrześniewska M, Wołoszczak J, Świrkosz G, Szyller H, Gomułka K. The Role of the Microbiota in the Pathogenesis and Treatment of Atopic Dermatitis-A Literature Review. *Int J Mol Sci*. 2024;25(12).
54. Xue Y, Zhang L, Chen Y, Wang H, Xie J. Gut microbiota and atopic dermatitis: a two-sample Mendelian randomization study. *Front Med (Lausanne)*. 2023;10:1174331.
55. Leo S, Cetiner OF, Pittet LF, Messina NL, Jakob W, Falquet L, et al. The association between the composition of the early-life intestinal microbiome and eczema in the first year of life. *Frontiers in Microbiomes*. 2023;2.
56. Chu DK, Koplin JJ, Ahmed T, Islam N, Chang CL, Lowe AJ. How to Prevent Atopic Dermatitis (Eczema) in 2024: Theory and Evidence. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2024;12(7):1695-704.
57. Wang F, Wu F, Chen H, Tang B. The effect of probiotics in the prevention of atopic dermatitis in children: a systematic review and meta-analysis. *Transl Pediatr*. 2023;12(4):731-48.
58. Rasquin A, Di Lorenzo C, Forbes D, Guiraldes E, Hyams JS, Staiano A, et al. Childhood functional gastrointestinal disorders: child/adolescent. *Gastroenterology*. 2006;130(5):1527-37.
59. Zeevenhooven J, Koppen IJ, Benninga MA. The New Rome IV Criteria for Functional Gastrointestinal Disorders in Infants and Toddlers. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*. 2017;20(1):1-13.
60. Di Profio E, Magenes VC, Fiore G, Agostinelli M, La Mendola A, Acunzo M, et al. Special Diets in Infants and Children and Impact on Gut Microbioma. *Nutrients*. 2022;14(15)
61. Aparicio M, Alba C, Cam Public Health Area P, Rodríguez JM, Fernández L. Microbiological and Immunological Markers in Milk and Infant Feces for Common Gastrointestinal Disorders: A Pilot Study. *Nutrients*. 2020;12(3).
62. Dubois NE, Gregory KE. Characterizing the Intestinal Microbiome in Infantile Colic: Findings Based on an Integrative Review of the Literature. *Biol Res Nurs*. 2016;18(3):307-15.

63. Garcia-Santos JA, Nieto-Ruiz A, Garcia-Ricobaraza M, Cerdo T, Campoy C. Impact of Probiotics on the Prevention and Treatment of Gastrointestinal Diseases in the Pediatric Population. *Int J Mol Sci.* 2023;24(11).