

Медицинские науки

УДК 616.345

**Шамова Ксения Павловна**

аспирант

ФГБУ «Уральский научно-исследовательский  
институт охраны материнства и младенчества»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
г. Екатеринбург

**Чистякова Гузель Нуховна**

доктор медицинских наук, профессор

ФГБУ «Уральский научно-исследовательский  
институт охраны материнства и младенчества»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
г. Екатеринбург

**Ремизова Ирина Ивановна**

кандидат биологических наук

ФГБУ «Уральский научно-исследовательский  
институт охраны материнства и младенчества»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
г. Екатеринбург

**Устьянцева Людмила Станиславовна**

аспирант

ФГБУ «Уральский научно-исследовательский  
институт охраны материнства и младенчества»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
г. Екатеринбург

**Shamova K.P.**

graduate student

The FGBI "Ural research Institute of maternity and infancy"  
of the Ministry of health of the Russian Federation,  
Ekaterinburg

**Chistyakova G. N.**

doctor of medical Sciences, Professor

The FGBI "Ural research Institute of maternity and infancy"  
of the Ministry of health of the Russian Federation,  
Ekaterinburg

**Remizova I.I.**

candidate of biological Sciences

The FGBI "Ural research Institute of maternity and infancy" of the  
Ministry of health of the Russian Federation, Ekaterinburg

**Ustyantseva L.S.**

graduate student

The FGBI "Ural research Institute of maternity and infancy"  
of the Ministry of health of the Russian Federation,

Ekaterinburg

## **ХАРАКТЕР МИКРОБНОЙ КОЛОНИЗАЦИИ И ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ У ДЕТЕЙ С ЭКСТРЕМАЛЬНО НИЗКОЙ МАССОЙ ТЕЛА В ДИНАМИКЕ ПОСТНАТАЛЬНОГО ПЕРИОДА**

**Аннотация:** В данной работе проведена оценка изменения микрофлоры кишечника и содержания цитокинов в копрофильтратах у 47 детей с экстремально низкой массой тела при рождении (ЭНМТ), имеющих гестационный возраст 22-28 недель в динамике постнатального периода.

**Ключевые слова:** недоношенные дети, микрофлора, иммунитет.

**Annotation.** In this paper we evaluated the changes of intestinal microflora and the content of cytokines in coprofiltrates in 47 children with extremely low birth weight (ELBW), with gestational age of 22-28 weeks.

**Keywords:** premature babies, microflora, immunity.

**Введение.** Антигенная нагрузка, создаваемая кишечной микробиотой, играет важную роль в созревании иммунной системы у новорожденных детей. Нормофлора обладает выраженными иммуногенными свойствами и способствует развитию лимфоидной ткани кишечника и местного иммунитета [4, с. 86-89]. Недоношенные дети с экстремально низкой массой тела при рождении имеют бедный видовой состав кишечной микробиоты. Данная категория пациентов нуждается в массивном проведении антибактериальной терапии и длительном периоде

нахождения в условиях стационара, что оказывает негативное влияние на формирование кишечной микрофлоры [2, с. 25; 3, с. 29-33]. При нарушениях микроэкологии кишечника, дефиците бифидофлоры и лактобацилл, беспрепятственном бактериальном заселении кишечника условно-патогенной микрофлорой возникают условия для снижения иммунной резистентности организма и развития воспалительных процессов в кишечнике [4, с. 86-89]. Становление и функциональное развитие кишечной экосистемы новорожденного начинается с момента рождения и динамично меняется с возрастом [1, с. 20-24]. Работ, посвященных изучению формирования кишечного микробиоценоза у детей с ЭНМТ, в литературе встречается редко, поэтому данная проблема является весьма актуальной.

**Цель исследования.** Оценить изменение микрофлоры кишечника и содержание цитокинов в копрофильтратах у детей с экстремально низкой массой тела (ЭНМТ) в раннем, позднем неонатальном периоде и по достижению постконцептуального возраста 38-40 недель.

**Материалы и методы.** Проведено иммунологическое и бактериологическое обследование 47 детей с ЭНМТ, родившихся на 22-28 неделе гестации.

Иммунологическое обследование включало в себя оценку продукции про- и противовоспалительных цитокинов на локальном (копрофильтраты) уровне. Исследование копрофильтратов проводилось на 5-7 сутки, в 1 месяц жизни и в постконцептуальном возрасте 38-40 недель.

Содержание IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-6 и IL-8 определяли с помощью коммерческих тест-систем «Вектор-Бест» (Россия).

Детекцию проводили на иммуноферментном анализаторе «Multiskan MCC/340» фирмы Labsystems (Финляндия).

Исследование микрофлоры кишечника проводили на 5-7 и 26-30 сутки жизни, а также в постконцептуальном возрасте 38-40 недель.

Микробиологическое исследование фекалий проводили по методике количественного посева Ю. М. Фельдман и соавт. Идентификацию выделенных культур проводили с помощью коммерческих биохимических тест-систем фирмы «LACHEMA» (Чехия). Определение чувствительности к антибиотикам клинически значимых штаммов микроорганизмов осуществляли диск-диффузионным методом согласно МУК 4.2.1890-04.

Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием пакетов прикладных программ Excel.

**Результаты.** В результате бактериологического исследования фекалий у детей с ЭНМТ выявлено, что к концу раннего неонатального периода у 37 детей (95,3%) не выделялась полостная кишечная микрофлора. Только у 4,7 % (10 детей) кишечник был колонизирован. При этом монокультура определялась у большинства новорожденных (90%). У одного ребенка (10%) выделялась микст-флора (*Enterobacter cloacae*  $10^4$  и *Candida albicans*  $10^5$  КОЕ/л). Коагулаза-отрицательные стафилококки (*Staphylococcus epidermidis* –  $10^3$  КОЕ/г) в монокультурах, выделены в 10% случаев, в 20% наблюдений в копрофильтратах определялся *Staphylococcus haemolyticus*  $10^7$  КОЕ/г. Грамотрицательные микроорганизмы: *Klebsiella pneumoniae* –  $10^3$ - $10^7$  КОЕ/г, *Enterobacter cloacae* –  $10^4$  КОЕ/г, *Escherichia coli*  $10^5$  КОЕ/г в 50% случаев. Грибы рода *Candida* в 20% наблюдений. Оценивая вышеизложенное можно заключить, что микробный пейзаж кишечной микрофлоры у детей с ЭНМТ в возрасте 5-7 суток жизни был представлен в равном соотношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов.

К возрасту 1 месяца число детей, у которых не наблюдался рост микрофлоры, сократилось в 1,6 раза (46,8%). Ассоциация микроорганизмов была обнаружена только у 1 ребенка (2,1%). В данном случае микст-флора была представлена: *Candida crusei*  $10^5$  КОЕ/г и

*Staphylococcus epidermidis*  $10^5$  КОЕ/г. Грамотрицательные микроорганизмы (*Klebsiella pneumoniae*  $10^4$ - $10^7$  КОЕ/г, *Escherichia coli*  $10^4$ - $10^7$  КОЕ/г, *Enterobacter cloacae*  $10^6$  КОЕ/г, *Pseudomonas spp.*  $10^4$ - $10^6$  КОЕ/г, *Stenotrophomonas maltophilia*  $10^5$  КОЕ/г) у детей с ЭНМТ выделялись в 25,5% случаев. Грамположительные микроорганизмы (*Staphylococcus epidermidis*  $10^3$ - $10^5$  КОЕ/г, *Enterococcus faecium*  $10^4$  и  $10^6$  КОЕ/г) встречались с частотой 23,4%. У одного ребенка (1,2% случаев) высевалась *Candida albicans*  $10^4$  КОЕ/г.

На момент достижения постконцептального возраста 38-40 недель, кишечная микрофлора не выявлена у 36,1% детей (17 новорожденных), смешанная – в 12,7% случаев (6 детей). Чаще всего в микст-флоре выделялись *Staphylococcus epidermidis* в титрах  $10^3$ - $10^4$  КОЕ/г (66,6% случаев), *Klebsiella pneumoniae*  $10^4$ - $10^7$  КОЕ/г (50%), *Enterococcus faecium*  $10^4$ - $10^7$  КОЕ/г (50%). У одного ребенка (1,6%) выявлена ассоциация двух грамположительных микроорганизмов (*Enterococcus faecium*  $10^5$  КОЕ/г и *Staphylococcus epidermidis*  $10^3$  КОЕ/г). В большинстве случаев (40,6%) полостная кишечная микрофлора была представлена грамотрицательными микроорганизмами (*Klebsiella pneumoniae*  $10^5$ - $10^7$  КОЕ/г, *Pseudomonas spp.*  $10^4$ - $10^6$  КОЕ/г, *Klebsiella oxytoca*  $10^7$  КОЕ/г, *Escherichia coli*  $10^4$ - $10^7$  КОЕ/г, *Enterobacter cloacae* –  $10^6$  КОЕ/г, *Enterobacter aerogenes*  $10^4$ - $10^7$  КОЕ/г). Грамположительные микроорганизмы выделялись в 10,6% случаев и в большинстве случаев были представлены видом *Enterococcus faecium*  $10^3$ - $10^7$  КОЕ/г.

### Частота выявления условно-патогенной микрофлоры в копрофильтратах у детей с ЭНМТ

Таблица 1

Микроорганизм	Возрастной период					
	5-7 сутки		30-е сутки		ПКВ 38-40 недель	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
<i>Enterobacter spp.</i>	0	0	3	6,3	4	8,5
<i>Klebsiella</i>	1	2,1	3	6,3	8	33,2

E. Coli	1	2,1	2	4,2	3	6,3
Pantoea spp.	1	2,1	0	0	0	0
Stenotr. maltophilia	0	0	1	2,1	0	0
Pseudomonas spp.	0	0	3	6,3	0	0
S. epidermidis	1	2,1	6	12,7	1	2,1
S. haemolyticus	1	2,1	0	0	0	0
E. faecium	0	0	4	8,5	3	6,3
Lactobacillus spp.	0	0	1	2,1	0	0
Грибы рода Candida	2	4,2	1	2,1	0	0

Исследования цитокинового статуса в кишечнике показали, что в возрасте 5-7 суток жизни у 14,8% детей в копрофильтратах был обнаружен IFN- $\gamma$ . В конце позднего неонатального периода IFN- $\gamma$  стал определяться чаще (в 19,1% случаев), а к возрасту доношенного ребенка, снижаться (10,6%). Выявление IL-4, напротив, в постконцептуальном возрасте 38-40 недель наблюдалось в 1,7 раза чаще, чем в возрасте 30 суток жизни. Цитокины IL-6 и IL-8 были обнаружены в поздний неонатальный период в 6,3% и 2,1 % случаев, а к возрасту доношенного ребенка данные цитокины определялись с одинаковой частотой (10,6%).

**Заключение.** Таким образом, у большинства детей с ЭНМТ на 5-7 сутки жизни, кишечник стерилен. Условно-патогенная микрофлора выявляется в единичных случаях. К завершению позднего неонатального периода у большинства детей кишечник колонизирован. Отмечается увеличение числа микробных ассоциаций, расширяется видовой состав микроорганизмов, грамотрицательные и грамположительные микроорганизмы присутствуют в кишечнике в равной степени. К моменту достижения возраста доношенного ребенка число детей с выделенной микрофлорой увеличивается, наблюдается смена микробного пейзажа, кокковая микрофлора кишечника вытесняется условно-патогенными микроорганизмами. В свою очередь, расширение видового спектра микроорганизмов и увеличение степени заселенности кишечника микрофлорой у недоношенных детей с ЭНМТ в конце позднего неонатального, а затем в постконцептуальном возрасте 38-40 недель коррелирует с повышением частоты обнаружения провоспалительных и

противовоспалительных цитокинов в копрофильтратах, что свидетельствует о формировании иммунного ответа на локальном уровне.

### **Литература:**

1. Кешишян Е. С., Бердникова Е. К. Микробиоценоз кишечника у детей раннего возраста: факторы, влияющие на его становление, роль видов вскармливания. *Российский вестник перинатологии и педиатрии* 2009; 5: 20–24.
2. Любасовская Л. А. Видовой состав госпитальных штаммов условно-патогенных микроорганизмов и их роль в развитии инфекций у новорожденных с очень низкой и экстремально низкой массой тела: автореф. дис. канд. мед. наук. Москва 2013; 25.
3. Малыгина О.Г. и соавт. Формирование микробиоценоза толстой кишки у недоношенных детей с низкой и экстремально низкой массой тела в условиях стационара. *Экология человека* 2013; 03: 29 – 33.
4. Хавкин А.И. Микрофлора и развитие иммунной системы. *Вопросы современной педиатрии* 2012; 11 (5): 86–89.