

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Северный государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Малыгина Ольга Геннадьевна

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ МИКРОБИОТЫ НЕДОНОШЕННЫХ  
ДЕТЕЙ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВЫХАЖИВАНИИ В СТАЦИОНАРЕ

03.02.03 – микробиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук,  
профессор Бажукова Т.А.

Архангельск – 2019

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
Актуальность темы исследования.....	5
Степень разработанности темы исследования.....	7
Цель исследования.....	8
Задачи исследования.....	8
Научная новизна .....	8
Теоретическая и практическая значимость .....	9
Методология и методы исследования.....	11
Материалы исследований.....	14
Микробиологические методы исследования.....	15
Молекулярно-генетический метод (ПЦР-диагностика) исследования .....	19
Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам.....	20
Методы статистической обработки данных.....	21
Личное участие автора в получении результатов.....	22
Основные положения диссертации, выносимые на защиту.....	22
Степень достоверности и апробация результатов исследования.....	23
ГЛАВА 1. Обзор литературы.....	25
1.1. Роль нормальной микрофлоры.....	25
1.2. Формирование микрофлоры основных биотопов у новорожденных детей....	34
1.3 Факторы, влияющие на становление микробиоты новорожденного ребенка.....	39
РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	53
ГЛАВА 2. Формирование микробиоты основных биотопов недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела в динамике.....	53
2.1. Формирование микроэкологии толстой кишки.....	55

2.2. Формирование микробной экологии верхних дыхательных путей.....	65
2.3. Формирование микробной экологии мочевыделительной системы.....	72
ГЛАВА 3. Корреляционный и факторный анализ представителей микробиоценозов основных биотопов и факторы, влияющие на формирование микробиоты.....	78
3.1. Корреляционный анализ представителей микрофлоры верхних дыхательных путей, мочевыделительной системы и толстой кишки, срока гестации, массы тела ребенка при рождении, возраста при поступлении и при выписке из стационара.....	78
3.2. Факторный анализ основных показателей микробиоты организма ребенка...91	
3.2.1. Факторный анализ основных показателей микробиоты при поступлении и при выписке детей из стационара.....	91
3.2.2. Факторный анализ микрoэкологических показателей верхних дыхательных путей, мочевыделительной системы и толстой кишки от длительности госпитализации детей в стационаре.....	95
3.2.3. Факторный анализ микрoэкологических показателей верхних дыхательных путей, мочевыделительной системы и толстой кишки у детей в возрасте 6 месяцев.....	101
3.2.4. Факторный анализ микрoэкологических показателей верхних дыхательных путей, мочевыделительной системы и толстой кишки у детей в возрасте 12 месяцев.....	102
3.2.5. Факторный анализ микрoэкологических показателей верхних дыхательных путей, мочевыделительной системы и толстой кишки в зависимости от вскармливания.....	103
ГЛАВА 4. Влияние антибиотикотерапии на формирование микробиоты верхних дыхательных путей, мочевыделительной системы и толстой кишки у недоношенных детей.....	108
4.1. Формирование микробиоты основных биотопов недоношенных детей в зависимости от количества применяемых антибактериальных препаратов.....	108

4.2. Факторный анализ микробиоты зева, мочевыделительной системы и толстой кишки от вида и количества применяемых антибактериальных препаратов.....	112
4.3. Антибиотикорезистентность коагулазоотрицательных стафилококков, энтерококков, грамотрицательных энтеробактерий и неферментирующих грамотрицательных бактерий.....	119
Глава 5. Микробиологический мониторинг микробиоты недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела.....	122
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	129
ВЫВОДЫ.....	139
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	140
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	141
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	142
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	144

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность темы исследования**

Макроорганизм и его микрофлора представляют собой единую, открытую, способную к саморегуляции систему [126]. Микробиота человека включает более 10000 видов микроорганизмов, которую предлагают рассматривать в качестве «суперорганизма» или «надорганизма» [44, 89].

Поверхности организма человека, контактирующие с внешней средой, покрыты биопленкой из разнообразных микроорганизмов, формирующие микробиоценозы. Ведущими микробиоценозами являются кишечный, урогенитальный, респираторный [16, 44].

Микроэкосистемы организма человека формируются после рождения в процессе роста и развития ребенка. Процесс формирования нормальной микрофлоры представляет собой микробную сукцессию. Образование конечного, устойчивого биоценоза проходит в несколько этапов, что обусловлено становлением иммунной и ферментативной систем, изменением гормонального фона [15, 29, 44, 126].

Нормальная микрофлора выполняет множество жизненно важных функций и необходима для полноценной жизнедеятельности организма [2, 23, 66, 137, 144, 145, 158, 160]. Нарушение состояния нормальной микрофлоры приводит к существенным метаболическим и иммунологическим сдвигам в организме-хозяине, что впоследствии способствует развитию хронических заболеваний сердечно-сосудистой, эндокринной системы и косвенно связаны с психическими и аутоиммунными процессами [11].

Формирование микробиологической системы новорожденного - сложный и индивидуальный процесс, зависящий от многих факторов: состава микробиоценозов матери, способа родоразрешения, характера вскармливания, антимикробной терапии и различных воздействий окружающей среды [18, 60, 63, 81, 89, 106, 107, 137, 167, 170, 178, 181, 182, 189, 196, 199, 204, 210, 211].

С введением приказа МЗ РФ от 27 декабря 2011 года N 1687н «О медицинских критериях рождения, форме документа о рождении и порядке

его выдачи» основными медицинскими критериями рождения являются – срок беременности 22 недели и более и масса тела ребенка при рождении 500 грамм и более. Согласно данному документу стало приоритетным направлением выхаживание недоношенных детей, особенно с очень низкой (менее 1500 г) и экстремально низкой (менее 1000 г) массой тела при рождении [136].

Учитывая, что глубоконедоношенные дети рождаются «незрелыми», поэтому они наиболее подвержены влиянию неблагоприятных факторов внешней среды. Им, как правило, требуются реанимационные мероприятия, интенсивная и антибактериальная терапия, искусственное вскармливание и длительное пребывание в стационаре, поэтому физиологическое заселение индигенной микрофлорой значительно запаздывает, особенно её облигатными представителями. Недостаточность микробного разнообразия предрасполагает к нарушению физиологических процессов резидентной микрофлоры в процессе колонизации, приобретению устойчивых к антибиотикам штаммов микроорганизмов и к развитию гнойно-септических инфекций, обусловленных факультативной и транзитной микрофлорой [28, 44, 59, 81, 85, 106, 166].

Самым представительным и сложным в организме человека является кишечный микробиоценоз. Около 60% микрофлоры заселяет желудочно-кишечный тракт. Избыточный рост условно-патогенной флоры и нарушения кишечного барьера способствуют бактериальной транслокации кишечных бактерий во внутреннюю среду организма, что может сопровождаться развитием сепсиса и воспалительных заболеваний [121].

Несмотря на большое количество исследований, посвященных микробной экологии у новорожденных детей, в научной литературе недостаточно данных о механизме становления микрофлоры основных биоценозов (кишечный, урогенитальный и респираторный) у недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела в динамике. Важно определение основных факторов, влияющих на становление микрофлоры основных биотопов организма недоношенного ребенка. Необходима разработка и внедрение алгоритмов обследования и наблюдения недоношенных детей с массой тела менее 1500 грамм

с целью предупреждения и раннего выявления соматической и воспалительной патологии.

### **Степень разработанности темы исследования**

Представления о симбионтной микрофлоре, роли микробиоценозов, характере взаимоотношений между макро – и микроорганизмам интересовали ученых достаточно давно. Первые учения принадлежат отечественным исследователям, в частности И.И. Мечникову, который в своей книге «Этюды о природе человека» затронул тему взаимоотношений человека и микроорганизмов. Глобальные международные проекты активно занимаются изучением микробиоты и её изменений при различных заболеваниях. С внедрением молекулярно-генетических технологий активно стала изучаться микробиота человека (Human Microbiome Project и Российский Метагеномный проект). В 2012 г. опубликовано полное описание состава и разнообразия микробиомов пяти локализаций человеческого организма (кишечник, кожа, носовая полость, полость рта, влагалище). Изучение микробиома проводилось преимущественно у взрослого населения. Показано, что общий геном бактерий, обнаруженных в желудочно-кишечном тракте в 12 раз превышает геном человека.

Представления о формировании микробиоты новорожденных детей были получены в основном при обследовании доношенных новорожденных, при этом большая часть исследований посвящена изучению формирования микрофлоры толстой кишки. Подробно описана динамика формирования микроэкологии доношенных новорожденных в зависимости от микробного статуса матери [131], с проведением молекулярного и микробиологического мониторинга становления микрофлоры кишечника [46]. Проведены исследования по формированию микроэкологического статуса у новорожденных доношенных детей в зависимости от вида родоразрешения при естественных [76] и оперативных родах [18]. Приводятся сведения о характере микрофлоры кишечника в динамике и путях её коррекции [60, 61]. Изучение микрофлоры респираторного [58, 119] и урогенитального тракта [116] новорожденных детей проводилось при развитии инфекционно-воспалительных процессов.

Среди работ по изучению микрофлоры у недоношенных детей определенное внимание исследователей уделено микробному биоценозу кишечника при различных видах вскармливания [4]; клинко-иммунологическим особенностям [147] и роли госпитальных штаммов условно-патогенных микроорганизмов в развитии гнойно-септических инфекций [85, 98].

Наряду с проведенными исследованиями вопросы формирования микробиоты (кишечного, урогенитального и респираторного тракта) организма ребенка с очень низкой и экстремально низкой массой тела в динамике остаются неизученными.

**Цель исследования** – провести анализ формирования микробиоты основных биотопов у недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела при динамическом наблюдении и выявить основные факторы, влияющие на процесс становления микрофлоры организма ребенка.

**Задачи исследования:**

1. Изучить характер микробиоты верхних дыхательных путей (отделяемое зева), мочевой системы, толстой кишки недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела.
2. Установить динамику становления микробного состава кишечного, урогенитального и респираторного биоценозов у недоношенных детей.
3. Определить факторы, влияющие на формирование микробиоты основных биотопов у данной группы детей.
4. Оценить влияние длительной антибиотикотерапии на формирование облигатной микрофлоры и носительства патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.
5. Разработать алгоритмы микробиологического мониторинга и наблюдения за недоношенными детьми, с целью раннего выявления возможной патологии, связанной с воздействием условно-патогенных микроорганизмов.

**Научная новизна исследования**

На основе микробиологического обследования установлено, что для недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела на этапе



выхаживания в стационаре характерны выраженные нарушения микроэкологии желудочно-кишечного и респираторного тракта, представленные дефицитом *Lactobacillus spp.* (91,4%), *E.coli* с сохраненными свойствами (94,8%), *Bifidobacterium spp.* (51,7%) и *Enterococcus spp.* (44,8%) в толстой кишке; зеленающих стрептококков (91,4%) и отсутствие *Lactobacillus spp.* в отделяемом зева, на фоне роста контаминации условно-патогенными представителями во всех изучаемых биотопах.

Динамика наблюдения показала, что у недоношенных детей к 12 месяцам их жизни микробиота основных биотопов является несформированной: в толстой кишке сохраняется дефицит лактофлоры, особенно у детей с массой тела менее 1000 грамм; в отделяемом зева - зеленающих стрептококков, при увеличении дрожжеподобных грибов *Candida (C.tropicalis)*; прослеживается общая негативная тенденция к сохранению высокой частоты представителей семейства *Enterobacteriaceae*.

При проведении корреляционного и факторного анализа получены новые данные о мультифакторном воздействии на процесс становления микробиоты (реанимационные мероприятия, длительность выхаживания в стационаре и антибактериальная терапия), что в последующем может привести к развитию патологии, требующей персонализированного подхода ведения и наблюдения за недоношенными детьми.

Использование факторного анализа позволило установить особенности формирования микробиоты основных биотопов на фоне антимикробной терапии при длительном выхаживании детей в условиях неонатального стационара и контаминации изучаемой группы детей антибиотикорезистентными штаммами коагулазотрицательных стафилококков и неферментирующих грамотрицательных бактерий, что может стать причиной длительного течения гнойно-воспалительных заболеваний.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Совокупность полученных данных исследования доказывает положения, вносящие вклад в расширение представлений о микробиоценозах толстой кишки,

ротоглотки и мочевой системы недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела на протяжении первого года жизни.

Доказано, что массивная антибиотикотерапия способствует задержке формирования облигатной микрофлоры основных биотопов (толстая кишка, зев, мочевыделительная система) у недоношенных детей при длительной госпитализации в стационаре.

Изучены корреляционные взаимосвязи между представителями микробиоты толстой кишки и смежных биотопов, установлены основные факторы, влияющие на контаминацию основных биотопов условно-патогенными микроорганизмами, что позволяет разработать модели противоэпидемических мероприятий в неонатальном стационаре, направленных на разобщение недоношенных младенцев, находившихся на лечении в реанимационном отделении и не пребывающих в нем.

Модернизированный бактериологический метод диагностики микробиоты толстой кишки с введением исследования цельного материала для выявления энтеробактерий (*E.coli*) и первого разведения фекалий для обнаружения бифидобактерий, лактобактерий, энтерококков, энтеробактерий; гемолитических форм микроорганизмов у недоношенных детей в неонатальном периоде позволяет обнаружить микробиологические изменения облигатной микрофлоры для осуществления персонализированной биокоррекции нарушений нормофлоры.

Результаты проведенной работы позволили обосновать необходимость микробиологического мониторинга за микробиотой основных биотопов у недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела на этапе выхаживания в стационаре и на протяжении первого года жизни ребенка. На основании проведенного динамического мониторинга микробиоты разработаны алгоритмы обследования и наблюдения за недоношенными детьми на протяжении первого года жизни «Микробиологический мониторинг микробиоты недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела», которые внедрены в работу перинатального центра города Архангельска

(утверждены ЦКМС ФГБОУ ВО СГМУ (г.Архангельск) Минздрава России, протокол №2 от 25.10.2018 года, акт внедрения 6.11.2018 года).

Полученные данные антибиотикорезистентности условно-патогенных микроорганизмов в городе Архангельске в составе микробиоценозов необходимы для разработки протоколов антимикробной терапии в неонатальных отделениях перинатального центра. Постоянный контроль за появлением и циркуляцией антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов требует создания локального формуляра использования антибиотиков и формирования оптимального плана закупок антимикробных препаратов.

Материалы диссертации используются в педагогическом процессе в лекционном материале и на практических занятиях по микробиологической диагностике микробиоты для врачей – бактериологов и студентов педиатрического факультета, факультета медико-профилактического дела и медицинской биохимии, проводимых на кафедре клинической биохимии, микробиологии и лабораторной диагностики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (акт внедрения от 1.03.2017 года).

### **Методология и методы исследования**

Методология научной работы спланирована в соответствии с поставленными задачами исследования. Теоретической основой исследования являются данные научной литературы (статьи, монографии, авторефераты), посвященные микрофлоре новорожденных детей, как доношенных, так и недоношенных младенцев и влияние факторов на ее формирование. Планирование и проведение исследований осуществлялось на основе общенаучных и специфических методов: микробиологических, молекулярно-генетических и методов статистической обработки результатов. Объектом исследования явились облигатные, условно-патогенные бактерии, грибы, выделенные из биологических материалов.

Для решения поставленных задач было проведено динамическое обследование 58 недоношенных детей с очень низкой массой тела и экстремально низкой массой тела в течение первого года жизни в период с 2010 – 2013 гг.

Забор клинического материала проводился на базе отделения патологии новорожденных и недоношенных детей Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Архангельской области «Архангельская детская клиническая больница имени П.Г. Выжлецова». Подбор пациентов проводился совместно с работниками кафедры неонатологии и перинатологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (заведующий кафедрой доктор медицинских наук, профессор Чумакова Г.Н.). Микробиологические и молекулярно-генетические исследования проводили в лаборатории кафедры клинической биохимии, микробиологии и лабораторной диагностики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Описание обследованных пациентов приведено в таблице 1.

Таблица 1 - Характер обследованных детей

Факторы		Показатели
Способ родоразрешения	естественный	41% (n=24)
	кесарево сечение	59% (n=34)
Масса тела при рождении	1500 -1000 грамм	82,8% (n=48)
	Менее 1000 грамм	17,2% (n=10)
Госпитализация в ОРН	присутствие	57% (n=33)
	отсутствие	43% (n=25)
Характер вскармливания при поступлении в отделение	грудное	29% (n=17)
	искусственное	71% (n=41)
Характер вскармливания при выписке из стационара	грудное	45% (n=26)
	искусственное	55% (n=32)

## Продолжение таблицы 1

Характер вскармливания в 6 месяцев	грудное	13,8% (n=8)
	искусственное	69% (n=40)
	смешанное	17,2% (n=10)
Характер вскармливания в 12 месяцев	грудное	6,9% (n=4)
	искусственное	86,2% (n=50)
	смешанное	6,9% (n=4)
Длительность госпитализации детей в стационаре	до 30 дней	24,1% (n=14)
	31 - 40 дней	32,8% (n=19)
	41 - 50 дней	25,9% (n=15)
	Более 51 дня	17,2% (n=10)

Проведен сравнительный анализ микрофлоры основных биотопов в зависимости от: массы тела при рождении, вида родоразрешения; внутриутробного инфицирования; характера вскармливания; длительности госпитализации в стационаре и от интенсивности проведенной антибактериальной терапии. В зависимости от количества назначенных антимикробных препаратов дети были распределены на две группы: получившие от 1-3 групп препаратов (36 детей, 62%) и принимавшие от 4–6 групп антибактериальных препаратов (22 ребенка, 38%). Всем детям (100%) назначались  $\beta$ -лактамы антибиотики, аминогликозиды - 87,9%, гликопептиды – 77,6%, нитроимидазолы – 24,1%, хинолоны – 15,5%, макролиды и оксазолидиноны - 12,1% детей.

Среди  $\beta$ -лактамов антибиотиков чаще использовали цефалоспорины (46,9%), реже пенициллины (35%) и карбапенемы (18,1%). Из антибиотиков цефалоспоринового ряда большая часть (75%) приходилась на препараты третьего поколения, в том числе защищенные (цефоперазон/сульбактам – 56,9%, цефтазидим, цефотаксим, цефтриаксон), второго поколения (цефуроксим) – 19,7% и четвертого (цефепим) – 5,3%. Из препаратов группы пенициллинов дети чаще получали ингибиторзащищенные пенициллины (76,4%) –

амоксициллин/клавуланат (90,5%) и ампициллин/сульбактам (9,5%); пенициллины расширенного спектра (ампициллин) - 23,6%. Среди карбапенемов преобладал меропенем (93,1%), тиенам назначался только в 6,9% случаев.

Из аминогликозидов детям чаще (78,5%) назначались препараты второго поколения (нетилмицин и гентамицин), третье поколение (амикацин) применялось в 21,6% случаев.

С одинаковой частотой (44,4%) детям назначались 15- (азитромицин) и 16-членные (спирамицин) макролиды. 14-членные макролиды (эритромицин) получил только один ребенок, что составило 11,2%.

### **Материалы исследований**

Наблюдение за формированием микробиоты основных биотопов происходило в динамике - при поступлении детей в отделение патологии новорожденных и недоношенных детей Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Архангельской области «Архангельская детская клиническая больница имени П.Г. Выжлецова», при выписке из стационара, в возрасте 6 и 12 месяцев. Исследовали микрофлору зева, толстой кишки и мочу. Сбор биологического материала для бактериологического метода осуществлялся в соответствии с методическими указаниями МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории» [138].

В результате бактериологического метода из биологических материалов выделено 2088 штаммов микроорганизмов. Для контроля качества бактериологического исследования использовали типовые штаммы *E.aerogenes* ATCC 13048, *E.coli* ATCC 8739, *E.faecalis* ATCC 19433, *E.faecium* ATCC 35667, *K.pneumoniae* ATCC 13883, *P.aeruginosa* ATCC 9027, *P.vulgaris* ATCC 13315, *S.aureus* ATCC 12600, *S.epidermidis* ATCC 12228, *S.pneumoniae* ATCC 49150 (Thermo Fisher Scientific, США).

Для молекулярно-генетического исследования проводили забор венозной крови (плазма), отделяемого верхних дыхательных путей, мочи согласно приложению 2 методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при

работе с материалом, содержащим микроорганизмы I – IV групп патогенности» [113]. При поступлении в отделение исследовали отделяемое зева (или смыв верхних дыхательных путей), венозную кровь, мочу. В отделяемом зева и моче определяли ДНК: *Chlamydia trachomatis*, *Cytomegalovirus*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*. В крови выявляли наличие ДНК: *Candida albicans*, *Cytomegalovirus*, *Epstein-Barr virus*, *Herpes simplex virus* тип -1, 2; *Human herpes virus* тип 6, 8. При выписке из стационара исследовали мочу на наличие ДНК *Cytomegalovirus*. В результате молекулярно-генетического метода выделено 32 ДНК микроорганизмов.

Объем проведенных микробиологических и молекулярно-генетических исследований представлен в таблице 2.

Таблица 2 - Объем проведенных исследований

Вид исследования	Число исследований
Бактериологические исследования, в том числе определение антибиотикочувствительности	696 241
Молекулярно-генетические методы	870

### **Микробиологические методы исследования**

Микробиологические исследования биологического материала проводили согласно нормативным документам [109]. Контроль качества питательных сред проводили согласно методических указаний МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» [95].

#### Исследование отделяемого верхних дыхательных путей

Для изучения микрофлоры ВДП исследовали отделяемое зева. Процедуру забора материала от пациентов проводили натошак. Материал забирали сухими одноразовыми стерильными зондами-тампонами (МиниМед, Россия) с задней стенки ротоглотки. Пробирки доставляли в лабораторию кафедры клинической биохимии, микробиологии и лабораторной диагностики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северный государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации в течение 2 часов после его взятия. Транспортировали в сумках-термосах при температуре 37°C.

Исследуемый материал засевали на 5% кровяной агар на основе ГРМ-агара (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), маннит-солевой агар (Conda «Pronadisa», Испания), шоколадный агар (основа колумбийского агара), Сабуро декстрозный агар (Conda «Pronadisa», Испания), среда Эндо-ГРМ (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), тиогликолевую среду (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск) по методу Gould и инкубировали в термостате при температуре 37°C в течение 24 - 48 часов. Посевы с 5% кровяным и шоколадным агаром инкубировали в CO<sub>2</sub>-инкубаторе (5% CO<sub>2</sub>). Определяли количество микрофлоры в исследуемом материале (КОЕ/г).

Исследование мочи. Для исследования использовали среднюю порцию свободно выпущенной мочи, взятой в количестве 3 мл в стерильный контейнер после тщательного туалета наружных половых органов. Контейнеры с материалом доставляли в течение 2 часов после его взятия. Посев мочи проводили методом секторных посевов на чашки Петри с плотной питательной средой – 5% кровяной агар, среду Эндо-ГРМ (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), HiCromeUTI агар (Himedia, Индия). Чашки инкубировали при 37°C 18-24 часа. Степень бактериурии оценивали по количеству выделенных колоний ( $\geq 10^4$  КОЕ/мл).

Исследование содержимого толстой кишки. Количественный и качественный микробный пейзаж просветной микрофлоры толстой кишки проводили в соответствии с информационным письмом «Совершенствование методов диагностики дисбактериоза толстого кишечника» Санкт-Петербург 2002 [134]. Навеску фекалий (0,5 г) разводили в 4,5 мл стерильного 0,9% раствора NaCl. Для приготовления серийных разведений использовали 11 стерильных пробирок. Из пробирки с уже имеющимся (первым) разведением переносили 0,5 мл гомогенной взвеси к 0,9% раствору NaCl во второй пробирке. Содержимое второй пробирки тщательно перемешивали пипеткой, которую затем сбрасывали в дезинфицирующий раствор. Аналогичным образом готовились остальные разведения. Из полученных разведений производили посевы на питательные среды: 5% кровяной агар, агар Эндо (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), маннит-



солевой агар (Conda «Pronadisa», Испания), Сабуро декстрозный агар (Conda «Pronadisa», Испания), Шадлера агар (Conda «Pronadisa», Испания), MRS агар (Conda «Pronadisa», Испания), железосодержащий сульфитный агар (Himedia, Индия), бифидум – среда (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), энтерококкагар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), агар с фенилаланином (Conda «Pronadisa», Испания). Количественный учет проводили путем мерного высева из стандартных разведений на поверхность плотных питательных сред в количестве 0,03 мл бактериологической петлей d 0,3 см и на жидкие питательные среды (бифидум – среда, железосодержащий сульфитный агар, агар Шадлера) по 1,0 мл разведения. В связи с отсутствием высева микрофлоры в разведениях  $10^3$ , нами были добавлены для посева  $10^1$  и цельный материал (Таблица 3). Посевы инкубировали при 37°C в течение 48 - 72 часов. Чашки Петри с MRS средой инкубировали при атмосфере 5% CO<sub>2</sub> в течение 48 часов. Оценку результатов бактериологического исследования проводили в соответствии с отраслевым стандартом 91500.110004-2003. «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника». Приказ МЗ РФ №231 от 9.06.2003 г. Количественное содержание микрофлоры выражали в Ig КОЕ/г [125].

Идентификацию микроорганизмов проводили по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам. Культуральные свойства микроорганизмов определяли по характеру роста на питательных средах. Морфологические и тинкториальные свойства микроорганизмов изучали с помощью окраски по методу Грама, которую проводили согласно инструкции производителя (НИЦФ, Санкт-Петербург). Окрашенные мазки просматривали с использованием светового микроскопа Olympus VX40 (Япония) (объектив Olympus Plan 100× (1,25 oil); окуляр WH 10 х/22). Биохимическую активность микроорганизмов проводили, используя признаки дифференциации, приведенные в руководствах и справочниках по микробиологической технике [45, 96, 112, 197].

Для дифференциации микроорганизмов использовали основу бульона с феноловым красным (Conda «Pronadisa», Испания) с применением дисков для определения ферментации углеводов («Himedia», Индия).

Таблица 3 - Схема посева фекалий на питательные среды

Питательные среды	Исследуемые группы микроорганизмов	Разведения фекалий											
		цельный материал	1 10 <sup>-1</sup>	2 10 <sup>-2</sup>	3 10 <sup>-3</sup>	4 10 <sup>-4</sup>	5 10 <sup>-5</sup>	6 10 <sup>-6</sup>	7 10 <sup>-7</sup>	8 10 <sup>-8</sup>	9 10 <sup>-9</sup>	10 10 <sup>-10</sup>	11 10 <sup>-11</sup>
Среда Эндо-ГРМ	энтеробактерии	+	+		+		+						
Маннит-солевой агар	стафилококки		+		+								
Декстрозный агар Сабуро	дрожжеподобные грибы		+		+								
5% кровяной агар	гемолитические формы		+		+		+						
Агар Шадлера	бактероиды				+		+		+				
MRS среда	лактобактерии		+		+		+						
Железосодержащий сульфитный агар	клостридии			+		+							
Бифидум-среда	бифидобактерии		+		+		+		+		+		+
Энтерококкагар	энтерококки				+		+		+		+		
Агар с фенилаланином	протей		+										

Для видовой идентификации *S.pyogenes* и *S.pneumoniae* дополнительно использовали тесты чувствительности к бацитрацину («Himedia», Индия) и оптохину (НИЦФ, Санкт-Петербург).

Определение видовой принадлежности микроорганизмов к семейству *Enterobacteriaceae* проводили с использованием агара Клигlera с железом (ферментация углеводов и выделение сероводорода); цитратного агара Симмонса для определения способности ассимилировать цитраты (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), Sim среду (дифференциация по образованию сульфида, индола и подвижности) (Conda «Pronadisa», Испания) и набор реагентов № 2: системы индикаторные бумажные для межродовой и видовой дифференциации энтеробактерий («Микроген» НПО ФГУП, Россия).

Грибы рода *Candida* идентифицировали на Сабуро декстрозном агаре. Рост микроорганизмов отмечался на 2-3 сутки. Идентификацию грибов рода *Candida* проводили по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам.

#### **Молекулярно-генетический метод (ПЦР-диагностика) исследования**

Выделение ДНК из клинического материала проводили с помощью комплекта реагентов («Проба-ГС» ООО «НПО ДНК – Технология», Россия) в соответствии с инструкцией по применению. Пробы очищенных ДНК хранили в замороженном виде при минус 20°C. Выявление и дифференциацию специфических фрагментов генома *S.albicans* (Канд-ген), *Cytomegalovirus* (ЦМВ-ген), *S.trachomatis* (Хлами-ген), *EBV*, *HSV* 1,2 типов (ВПГ-ген), *HHV6*, *HHV8*, *M.hominis* (Плазмоген-Мх), *U.urealyticum* (Плазмоген-УП) в клиническом материале, полученном от пациентов осуществляли методом ПЦР (формат “Real-time”) с использованием набора реагентов (ООО «НПО ДНК – Технология», Россия) в соответствии с инструкцией по его применению. Амплификацию осуществляли с помощью прибора ДТ-322 (ООО «НПО ДНК – Технология», Россия). Анализ и интерпретацию результатов проводили с помощью программного обеспечения прибора ДТ-322 (ООО «НПО ДНК – Технология», Россия).

## Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам

Исследование проводилось согласно критериям EUCAST ([http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)), Клиническим рекомендациям Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» версия 2015-02 [110] и методическим указаниям МУК «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» 4.2.1890-04 [110]. Использовали контрольные штаммы *E.coli* ATCC 25922, *E.faecalis* ATCC 29212, *K.pneumoniae* ATCC 700603, *P.aeruginosa* ATCC 27853, *S.aureus* ATCC 29213 (Thermo Fisher Scientific, США).

Применяли диско-диффузионный метод с использованием стандартных бумажных дисков с антибиотиками («Bio-Rad», Франция); бумажные диски с котримаксозолом («Himedia», Индия). Использовали агар Мюллера-Хинтона (Conda «Pronadisa», Испания) и агар Мюллера-Хинтона с добавлением 5% крови для труднокультивируемых микроорганизмов (*Streptococcus spp.*). Плотность бактериальной суспензии соответствовала 0,5 по стандарту МакФарланда. Аппликацию дисков производили с помощью диспенсера. Инокулированные чашки инкубировали в термостате при температуре 35<sup>0</sup> С в течение 16 - 20 часов. Чашки с агаром Мюллера-Хинтона с добавлением 5% крови инкубировали при температуре 35<sup>0</sup> С, атмосфера 5% CO<sub>2</sub>, 16 - 20 часов.

Чувствительность стафилококков определяли к следующим антибактериальным препаратам: гентамицин, клиндамицин, триметоприм-сульфаметаксазол, цефокситин, ципрофлоксацин, эритромицин. Чувствительность энтерококков определяли к ампициллину, ванкомицину, гентамицину, норфлоксацину. Чувствительность стрептококков - к клиндамицину, норфлоксацину, триметоприм-сульфаметаксазол, эритромицину. Антимикробную чувствительность бактерий семейства *Enterobacteriaceae* определяли к амикацину, гентамицину, имипенему, цефотаксиму, цефтазидиму, ципрофлоксацину. Неферментирующих грамотрицательных бактерий

(*P.aeruginosa*) - амикацину, гентамицину, имипенему, цефтазидиму, ципрофлоксацину.

Учет результатов производили с помощью линейки («Himedia», Индия) – лекало для измерения зон антибиотикочувствительности. Измерение зоны подавления роста микроорганизмов вокруг дисков с антибиотиками проводили с точностью до 1мм. Интерпретировали результаты согласно нормативным документам [110, 111].

### **Методы статистической обработки данных**

Все данные о пациентах были внесены в электронную базу для хранения и обработки информации. Количественные данные микрофлоры переведены в десятичный логарифм.

Статистическая обработка результатов осуществлялась с помощью программы SPSS (v.18.0). Проверка на нормальность распределения данных проводилась с использованием статистических критериев (Шапиро-Вилка) и графически (гистограммы и квантильные диаграммы). С учетом, что большая часть данных не подчинялась закону нормального распределения, для описания применяли медиану (Me) и процентилю (P 25;75). Для сравнения количественных данных в двух связанных выборках использовался непараметрический критерий Вилкоксона. При сравнении количественных данных в двух независимых группах применялся непараметрический критерий Манна-Уитни, при сравнении качественных данных в двух связанных выборках – критерий Мак-Нимара, в двух несвязанных выборках – точный критерий Фишера, хи-квадрат Пирсона [35, 36, 38, 39].

Для определения характера взаимоотношений между изучаемыми переменными проведены корреляционный и факторный анализы. Для выявления взаимосвязи между переменными, имеющими скошенное распределение был вычислен коэффициент корреляции Спирмена ( $r_s$ ). Определялось направление и сила связи между переменными. Сильная связь оценивалась при значении коэффициента корреляции от 0,7 до 0,99; средняя сила от 0,3 до 0,69 и слабая связь от 0,01 до 0,29 [37].

Факторный анализ проведен методом главных компонент с вращением Варимакс с нормализацией Кайзера. Критический уровень значимости  $p$  при проверке статистических гипотез принимали менее 0,05.

### **Личное участие автора в получении результатов**

Личный вклад автора заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования: от разработки дизайна научного исследования, проведения обзора литературы по теме работы, выполнения всего объема бактериологических, молекулярно-генетических исследований, статистического анализа полученных данных. Подбор пациентов проводился совместно с сотрудниками кафедры неонатологии и перинатологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации – д.м.н., профессором Чумаковой Г.Н., Лобановой Е.В. Микробиологические и молекулярно-генетические исследования выполнены совместно с сотрудниками кафедры клинической биохимии, микробиологии и лабораторной диагностики – к.б.н., доцентом Лисишниковой Л.П., к.б.н., доцентом Симоновой Г.В. Автор провел систематизацию полученных результатов, сформулировал выводы, практические рекомендации и перспективы дальнейшего исследования.

### **Основные положения диссертации, выносимые на защиту:**

1. В неонатальном периоде у недоношенных детей с массой тела менее 1500 г микробиота верхних дыхательных путей, мочевыделительной системы и толстой кишки характеризуется выраженным дефицитом облигатного пула, преимущественно за счет лактобактерий и появлением гемолизинпродуцирующих кишечных палочек, с постоянным изменением видового состава условно-патогенных представителей на фоне длительной госпитализации в стационаре (свыше 50 дней).
2. На становление микробиоты ребенка ведущую роль оказывают госпитализация в реанимационном отделении и массивная антибактериальная терапия, что приводит к контаминации условно-патогенными и патогенными

госпитальными антибиотикорезистентными представителями и требует длительного микробиологического мониторинга за данной группой детей.

### **Степень достоверности и апробация результатов исследования**

Достоверность полученных результатов основана на достаточном объеме материала и современных методиках сбора и обработки информации. В работе применяли бактериологические и молекулярно-генетические методы исследований. Изучено 2088 штаммов, выделенных из клинических материалов недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела; 241 определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Статистический анализ данных осуществляли с помощью компьютерной программы SPSS (v.18.0).

Диссертация апробирована на расширенном заседании кафедр клинической биохимии, микробиологии и лабораторной диагностики; неонатологии и перинатологии; инфекционных болезней Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол №1 от 10 марта 2017 года).

Результаты исследования представлены и обсуждены на III Архангельской международной медицинской научной конференции молодых ученых и студентов (Архангельск, апрель 2010), итоговой научной сессии СГМУ и СНЦ СЗО РАМН «Медицинские школы Европейского Севера: от науки к практике» (Архангельск, ноябрь 2010), IV Архангельской международной медицинской научной конференции молодых ученых и студентов (Архангельск, апрель 2011), на 13-ом Славяно-Балтийском научном форуме «Санкт-Петербург - Гастро-2011» (Санкт-Петербург, май 2011), итоговой научной сессии СГМУ и СНЦ СЗО РАМН «Северная медицинская школа: история и современность» (Архангельск, октябрь 2011), V Архангельской международной медицинской научной конференции молодых ученых и студентов (Архангельск, май 2012), итоговой научной сессии СГМУ и СНЦ СЗО РАМН «Северная медицинская школа: к 80-летию АГМИ-АГМА-СГМУ» (Архангельск, ноябрь 2012), итоговой научной сессии СГМУ и

СНЦ СЗО РАМН «Северная хирургическая школа: к 100-летию со дня рождения Н.М. Амосова» (Архангельск, ноябрь 2013), научно-практической конференции «Новые технологии лабораторного анализа и их клиническое применение» в рамках Лабораторных дней в Архангельске (Архангельск, март 2015), итоговой научной сессии Северного государственного медицинского университета «Идеи М.В. Ломоносова и развитие Российской медицины» (Архангельск, ноябрь 2015), итоговой научной сессии Северного государственного медицинского университета «М.В. Ломоносов и традиции Арктической медицины, посвященная 305-летию со дня рождения М.В.Ломоносова» (Архангельск, ноябрь 2016), итоговой научной сессии Северного государственного медицинского университета «Актуальные вопросы жизнедеятельности человека в Арктике: экологические, медицинские и социальные аспекты» (Архангельск, ноябрь 2017).



## ГЛАВА 1. Обзор литературы

### 1.1. Роль нормальной микрофлоры

Организм человека является сложнейшим комплексом органов и систем, функционирующих в строгом взаимодействии, и служитместищем различных микроорганизмов, сопровождающих человека от рождения до смерти [20]. Установлено, что количество микробных клеток в десятки раз превышает количество клеток организма хозяина и с внедрением генетических методов было показано, что микробиота человека включает более 10000 видов микроорганизмов, которую предлагают рассматривать в качестве «суперорганизма» или «надорганизма» [2, 89].

Человек и окружающая среда представляют единую экологическую систему, находящуюся в состоянии биологического равновесия между макро- и микроорганизмами, строго адаптированными друг другу. В процессе эволюции в результате взаимодействия между организмом хозяина и населяющими его микроорганизмами происходит отбор определенных видов микробов, способных к колонизации слизистых соответствующих экологических ниш. Так формируются симбиотические ассоциации, составляющие нормальную микрофлору человека [16, 107, 139, 174].

Ведущими микробиоценозами человека являются кишечный, урогенитальный, респираторный. Совокупность микробных ассоциаций тела человека принято называть собирательным термином «микробиота» [9, 44, 126]. Микробиота (нормофлора) человека – это эволюционно сложившаяся экологическая система разнообразных микроорганизмов, населяющих открытые полости организма и поддерживающих биохимическое, метаболическое, иммунологическое равновесие, необходимое для сохранения здоровья [16].

Микроэкосистемы организма человека формируются после рождения в процессе роста и развития ребенка, происходит последовательная смена микробных популяций и сообществ в экосистемах – микробная сукцессия [126].

Формирование нормальной микрофлоры в биотопе зависит от специфики участка, степени его защищенности от микробов. В разных биотопах функцию защиты хозяина осуществляют различные субстраты: в полости носа – дипептид карнозин, в женской репродуктивном тракте – лактоферрин, в зеве – лизоцим, в ЖКТ – лизоцим, секреторные иммуноглобулины А и другие. Поэтому нормальная микрофлора должна уметь преодолевать основной физиологический барьер биотопа, чтобы закрепиться и выжить [26].

В микробиоценозе различают микрофлору: индигенную (резидентная, облигатная), факультативную (непостоянную), случайную (транзиторную) [44]. Индигенная микрофлора детерминирована генетически. К факультативным микробам относится большинство условно-патогенных форм, количество которых в норме ограничено. Случайная микрофлора не приспособлена к длительному существованию в биотопах человека и в норме быстро элиминируется из них [44]. В биоценозах происходит процесс информационного обмена бактериальных клеток между собой (Quorum Sensing или «чувство кворума»), тем самым микроорганизмы осваивают окружающую их среду – макроорганизм. Взаимодействие микрофлоры друг с другом и с клетками хозяина происходит посредством низкомолекулярных сигнальных молекул – аутоиндукторов, благодаря которым происходит обмен информацией и координируется деятельность биотопа [15].

Нормальная микрофлора выполняет различные функции: создание колонизационной резистентности; регуляция газового состава; продукция ферментов, участвующих в метаболизме белков, углеводов, липидов; участие в водно-солевом обмене; детоксикационная; продукция биологически активных соединений (аминокислоты, пептиды, гормоны, жирные кислоты, витамины); иммуногенная; участие в канцеролитических реакциях (способность индигенных представителей нормальной микрофлоры нейтрализовывать вещества, индуцирующие канцерогенез) [23, 66, 137, 158, 160].

Чем сложнее состав биоценоза, тем длительнее период его формирования и выше его стабильность. Степень стабильности биоценоза определяется

способностью восстанавливаться после воздействия факторов, нарушающих равновесие между микроорганизмами [9]. Если микробиоценоз взрослых людей относительно стабилен, то у детей процесс смены микробного сообщества с образованием конечного, устойчивого биоценоза проходит в несколько этапов и совпадает со сроками изменения характера вскармливания и сменой пищевого рациона, критическими периодами развития в детском и подростковом возрасте, обусловленными становлением иммунной и ферментативной систем, изменением гормонального фона [15].

Микрофлора ВДП человека локализуется в трех биотопах: носовые ходы, носоглотка, ротоглотка.

Полость носа относительно бедна микрофлорой. Вместе с воздухом в носовую полость проникают бактерии, вирусы. Часть этих микроорганизмов удаляется с воздухом, часть – при чихании [126]. Индигенная микрофлора представлена *Micrococcus*, *Staphylococcus spp.*, *Neisseria spp.* и *Corynebacterium spp.* Реже встречаются *Streptococcus spp.* и *Haemophilus spp.* [29, 57, 126, 157].

Микрофлора носоглотки, как и носовых ходов, представлена *Micrococcus*, КОС, *Neisseria spp.* Реже выделяются *Branhamella*, *Haemophilus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Veillonella spp.*, *Bacteroides spp.* Качественный и количественный состав зависит от возраста человека и микрофлоры окружающей среды. На слизистой носоглотки может формироваться носительство *N.meningitidis*, *S.pneumoniae*, *H.influenzae*. У 30% населения имеется носительство *S.aureus* [29, 57, 126, 157].

В ротоглотке облигатная микрофлора представлена стрептококками (*S.salivarius*, *S.mitis*, *S.sanguis*, *S.mutans*), нейссериями (*N.subflava*, *N.flava*, *N.sicca*), которые обнаруживаются у 96-100% в количествах от 4,8 lg КОЕ/г до 2,8 lg КОЕ/г, соответственно. Добавочная микрофлора представлена КОС, *Corynebacterium spp.* и *Haemophilus spp.* (25–50%, в количестве 1-4 lg КОЕ/г). Транзиторная микрофлора встречается у 5-20% населения, представлена бактериями родов *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Proteus*, а также представителями родов *Micrococcus*, *Branhamella*, *Moraxella*, *Acinetobacter*,

*Pseudomonas* и грибов рода *Candida*. Среди анаэробной флоры в ротоглотке обнаруживаются *Fusobacterium spp.*, *Peptostreptococcus spp.* [29, 57, 126, 157].

Таким образом, преобладающей микрофлорой верхних дыхательных путей являются КОС,  $\alpha$ -зеленящие стрептококки и *Neisseria spp.*

У здоровых людей почки, мочеточники и мочевого пузыря свободны от микроорганизмов. Бактерии обычно выделяются из нижних отделов уретры - КОС, *Enterococcus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Bacteroides spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Mycoplasma spp.* (авирулентные виды), *Neisseria spp.*, сапрофитные трепонемы [57, 126].

Особенностью заболеваний почек у новорожденных детей является своеобразный фон – морфологическая и функциональная незрелость нефронов. Отмечено замедление темпов нефрогенеза структурных элементов коры почек, снижение удельного объема канальцев у недоношенных новорожденных, особенно с ОНМТ и ЭНМТ при рождении. Поэтому у данной группы детей достаточно часто обнаруживается ИМС. Так же преобладание ИМС в структуре нефрологической патологии новорожденных можно объяснить возрастными особенностями иммунитета, большой частотой контаминации условно-патогенной и госпитальной флорой в неонатальных стационарах, а также развитием дисбиотических нарушений как результата антибактериальной терапии [94]. Преобладающим возбудителем ИМС в неонатальном периоде является *E.coli* (до 80%), *K.pneumoniae*, *P.mirabilis*, *P.aeruginosa*, *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus spp.* У недоношенных детей на первое место выступает *K.pneumoniae* (60%), в отделениях интенсивной терапии превалирует *S.albicans* (15%) [153]. Однако по данным [93, 94] этиологически значимым уропатогеном отмечен *E.faecalis* (до 75%) за счет высоких адгезивных свойств и его природной резистентности к цефалоспорином, которые часто используются в стартовой терапии любых инфекций. Второй по частоте выявления группой уропатогенов являются *E.coli* (33,2%) и представители *Enterobacter spp.*

Таким образом, микрофлора в норме колонизирует, в основном, дистальный отдел уретры и представлена микроорганизмами семейства *Enterobacteriaceae* (*E.coli*), КОС, *Corynebacterium spp.*

В настоящее время микробиоту пищеварительного тракта расценивают как единое целое, сбалансированную экосистему, «суперорганизм».

Полость рта является идеальной средой для микрофлоры (влажность, постоянная температура, остатки пищи), которая представлена многочисленными видами. Насчитывается около 800 видов микроорганизмов. Сразу же после рождения полость рта человека колонизируют множество различных видов микроорганизмов: *Streptococcus spp.*, *Neisseria spp.*, *Veillonella spp.*, *Actinomyces spp.*, *Lactobacillus spp.* До начала процесса прорезывания зубов микрофлора полости рта младенца представлена в основном аэробами или факультативными анаэробами. С появлением первых зубов в тканях десен начинает заселяться анаэробная флора: *Bacteroides spp* и *Fusobacterium spp.* Концентрация аэробных бактерий в 1 мл слюны составляет  $10^7$  КОЕ/мл, а анаэробных -  $10^8$  КОЕ/мл [29, 57, 126, 157].

Основная микрофлора ЖКТ сосредоточена в толстой кишке в пристеночном слое слизи. Состав просветной микрофлоры может значительно отличаться от микробного пейзажа мукозального слоя, но между ними происходит постоянный обмен микроорганизмами, в результате чего формируется индивидуальный вариант нормальной кишечной микрофлоры [20, 89]. Кишечный микробиоценоз каждого человека обладает относительной стабильностью за счет некоторого набора присущих ему индигенных штаммов [89], но в зависимости от возраста, пола, климатогеографических условий, образа жизни и характера питания видовой состав микробиоты кишечника человека может изменяться [9, 123].

Количество микроорганизмов толстой кишки составляет  $10^{10}$ - $10^{11}$  КОЕ на 1г фекалий. В кишечнике преобладают два филотипа: *Firmicutes* и *Bacteroidetes*. Третье положение в иерархии кишечной флоры занимают *Acinobacteria* (семейство *Bifidobacterium*) [1, 204]. На протяжении всей жизни у здорового человека преобладают анаэробные виды бактерий (90-95%): *Bifidobacterium spp.*,

*Bacteroides spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Eubacterium spp.*, *Veillonella spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Clostridium spp.* От 5 до 10% микрофлоры толстой кишки составляют аэробные микроорганизмы: *E.coli*, *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, ГОЭБ, НГОБ, дрожжеподобные грибы рода *Candida* [16, 33, 144, 214].

Длительный процесс приспособления микробов к существованию в определенных условиях привел к тому, что каждому отделу ЖКТ человека присуща своя относительно постоянная микрофлора, которая характеризуется определенной качественной и количественной специфичностью, обусловленная морфофункциональными особенностями соответствующих отделов ЖКТ [48].

Согласно нормативных документов [125] качественный и количественный состав микрофлоры толстой кишки у здоровых людей зависит от возраста (Таблица 4).

Таблица 4 - Качественный и количественный состав основной микрофлоры толстого кишечника у здоровых людей (КОЕ/г фекалий)

Виды микроорганизмов	Возраст, годы		
	< 1 года	1-60 лет	> 60 лет
Бифидобактерии	$10^{10}-10^{11}$	$10^9-10^{10}$	$10^8-10^9$
Лактобактерии	$10^6-10^7$	$10^7-10^8$	$10^6-10^7$
Бактероиды	$10^7-10^8$	$10^9-10^{10}$	$10^{10}-10^{11}$
Энтерококки	$10^5-10^7$	$10^5-10^8$	$10^6-10^7$
Фузобактерии	$<10^6$	$10^8-10^9$	$10^8-10^9$
Эубактерии	$10^6-10^7$	$10^9-10^{10}$	$10^9-10^{10}$
Пептострептококки	$<10^5$	$10^9-10^{10}$	$10^{10}$
Клостридии	$\leq 10^3$	$\leq 10^5$	$\leq 10^6$
<i>E.coli</i> типичные	$10^7-10^8$	$10^7-10^8$	$10^7-10^8$
<i>E.coli</i> лактозонегативные	$<10^5$	$<10^5$	$<10^5$
<i>E.coli</i> гемолитические	0	0	0
Другие условнопатогенные энтеробактерии <*>	$<10^4$	$<10^4$	$<10^4$
Стафилококк золотистый	0	0	0
Стафилококки (сапрофитный, эпидермальный)	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$
Дрожжеподобные грибы <i>Candida</i>	$\leq 10^3$	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$
Неферментирующие бактерии <***>	$\leq 10^3$	$\leq 10^4$	$\leq 10^4$

Примечание: <\*> - представители родов *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, *Citrobacter*.

<\*\*\*> - *Pseudomonas*, *Acinetobacter* и другие

Облигатная микрофлора представлена *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *E.coli*, *Enterococcus spp.*, *Bacteroides spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Eubacterium spp.* [125, 144].

*Bifidobacterium spp.* – наиболее значимые представители в кишечнике детей и взрослых. Типичными представителями у детей являются виды: *B.bifidum*, *B.breve*, *B.parvulorum* и другие. У взрослых – *B.longum*, *B.adolescentis*, *B.bifidum*. Доминирующее положение у здоровых новорожденных детей, находящихся на естественном вскармливании, *Bifidobacterium spp.* начинает занимать к 5-20-му дню после рождения. Отсутствие или резкое снижение уровня *Bifidobacterium spp.* является одним из патогенетических факторов длительных кишечных дисфункций у детей и взрослых [16, 25, 61, 125, 144].

*Bacteroides spp.* – составляют от 24,8 до 43,0% всей микрофлоры. Принимают участие в пищеварении, расщепляют желчные кислоты, участвуют в процессах липидного обмена. Заселение кишечника *Bacteroides spp.* происходит постепенно. К концу первого месяца жизни *Bacteroides spp.* обнаруживаются у 35% детей. В последующем частота возрастает до 48,0% у детей в возрасте 2 месяцев [16, 61, 82, 125].

*Lactobacillus spp.* – наиболее типичные виды: *L.acidophilus*, *L.fermentum*, *L.plantarum*. Средой их обитания являются различные отделы ЖКТ, начиная с полости рта и кончая толстой кишкой. Лактофлору удается обнаружить в молоке человека и животных. Данные представители обеспечивают колонизационную резистентность, в результате чего подавляются УПБ (*P.aeruginosa*, *Staphylococcus spp.*, *Serratia spp.*), продуцируют лизоцим и вещества с антибиотической активностью, разлагают углеводы с образованием молочной кислоты [10, 16, 82, 103, 125]. По данным литературы имеются географические различия видового состава представителей *Lactobacillus spp.* у грудных детей, это имеет значение при выборе определенного пробиотического препарата [102].

*E.coli* – экологическая ниша – толстая кишка и дистальные отделы тонкой кишки. Физиологическая роль заключается в гидролизе лактозы, участвуют в продукции витаминов К и В, аминокислот, вырабатывают бактериоцины и

микроцины. Микроцины оказывают подавляющее действие на патогенные и УПБ. В кишечнике человека эшерихии появляются в первые дни после рождения и сохраняются на протяжении жизни [16, 82, 125].

Энтерококки – основные виды *E.faecalis*, *E.faecium*. Количество в кишечнике энтерококков в норме не должно превышать общее количество кишечных палочек. Осуществляют метаболизм бродильного типа, сбраживают углеводы с образованием молочной кислоты. Играют существенную роль в стимуляции местного гуморального и клеточного иммунитета. У новорожденных энтерококки обнаруживаются уже с первых дней, в количестве от  $10^6$  до  $10^9$  КОЕ/г [16, 82, 125].

Микрофлора пищеварительного тракта выполняет множество функций, необходимых для нормальной жизнедеятельности организма человека [1, 2, 47, 144, 145].

Первая - это трофическая и энергетическая функции. Obligатная микрофлора толстой кишки в норме обеспечивает конечный гидролиз белков, омыление жиров, сбраживание высокомолекулярных углеводов, которые не абсорбировались в тонкой кишке.

Вторая функция – защитная или колонизационная резистентность, заключается в предотвращении колонизации ЖКТ условно-патогенными и патогенными микроорганизмами, обеспечивается конкуренцией за питательные вещества и рецепторы адгезии, а также за счет выработки органических кислот, перекиси водорода, антибиотикоподобных веществ – бактерицинов и других метаболитов, препятствующих росту патогенных микроорганизмов.

Третья функция – иммунная и противовоспалительная. Нормальная микрофлора подавляет воспалительные реакции и тормозит пути передачи сигнала с TLR (toll-подобные рецепторы) и молекул NOD/CARD (Nucleotidebinding oligomerization domain/caspase recruitment domain – нуклеотидсвязывающий домен олигомеризации/домен, привлекающий каспазы). Дендритные клетки участвуют в иммунном надзоре, они могут поглощать и



задерживать живые непатогенные бактерии и переносить их в брыжеечные лимфоузлы, где формируется местный иммунный ответ.

Особое место следует уделить пищеварительной функции микробиоты, осуществляющей симбионтное бактериальное пищеварение.

Многообразное физиологическое действие микробиоты реализуется опосредованно через метаболит, который представляет собой комплекс биологических веществ, вырабатываемых кишечной микрофлорой. Посредством кишечного метаболита осуществляется трофическая, энергетическая, нервная, эндокринная функции микробиоты [2].

Факультативная и транзиторная микрофлора толстой кишки представлена пептококками, стафилококками, бациллами, НГОБ, дрожжеподобными грибами и ГОЭБ [125].

Многие негемолитические стафилококки попадают в организм из объектов окружающей среды. *S.epidermidis* колонизирует кишечник с первых дней жизни новорожденного и присутствует во всех отделах ЖКТ, с последующим уменьшением [16].

Спорообразующие микроорганизмы могут быть представлены аэробными (*B.subtilis*, *B.pumilis*, *B.cereus*) и анаэробными видами (*C.difficile*, *C.perfringens*, *C.novyi*, *C.septicum*, *C.histolyticum*). Наибольший интерес представляют *C.difficile*, которые могут обнаруживаться в кишечнике здоровых детей и взрослых [16, 125]. *C.difficile* первыми колонизируют кишечник новорожденных (90,0%), у детей старшего возраста встречаются в 14,0 – 50,0%, у взрослых 3,0 - 6,0%. *Clostridium spp.* продуцируют многочисленные ферменты, способствующие распространению микробов в тканях [61, 82].

Семейство *Enterobacteriaceae* включает представителей родов *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *Proteus*, *Morganella*, *Citrobacter* и др. Условно-патогенные энтеробактерии встречаются в ассоциациях, количество бактерий каждого вида в норме до  $10^4$  КОЕ/г [16].

Дрожжеподобные грибы рода *Candida* (*C.albicans*, *C.pseudotropicalis*, *C.tropicalis* и другие) могут встречаться во всех отделах ЖКТ [16]. Ребенок

получает их от матери при прохождении через родовые пути, позднее с кожи соска при кормлении, с рук персонала и оборудования. Данный представитель может ингибировать рост облигатной микрофлоры (лактобактерий), повышать вирулентность бактериальных патогенов (*E.faecalis*, *Staphylococcus spp.*, *Serratia spp.*) и приводить к тяжелым заболеваниям у иммунокомпромитированных людей, к которым относят недоношенных детей [82, 132, 193].

Таким образом, микробиота кишечника выполняет важные функции, активно участвует во всех видах обмена веществ и при изменении спектра микрофлоры приводит к развитию заболеваний кишечника [66, 205].

## **1.2. Формирование микрофлоры основных биотопов у новорожденных детей**

Новорожденный ребенок не имеет ни сформированного биоценоза, ни развитой системы барьерной, в том числе иммунологической защиты [65]. Сразу после рождения организм ребенка колонизируется сложными микробными сообществами. Микрофлора постепенно заселяет кожу, ЖКТ, мочеполовой тракт и дыхательные пути [1].

С биологических позиций важным моментом видовой целостности макроорганизма служит колонизация сразу после рождения тем набором штаммов микроорганизмов, которые являются присущими ареалу его обитания в физиологических условиях [20].

Прикладывание новорожденного к телу матери и к груди впервые минуты жизни способствует заселению различных ниш (кожные покровы, слизистые оболочки) его организма материнской микрофлорой. Получение первых капель молозива содействует быстрому заселению «условно стерильного» кишечника новорожденного и физиологическому течению сложнейших процессов постнатальной адаптации ребенка к условиям внеутробной жизни. Отсроченное прикладывание к груди (через 2-3 ч) менее эффективно, так как в этот период происходит активная первичная колонизация организма ребенка госпитальными штаммами [44].

Микрофлора носа у новорожденных впервые недели жизни состоит из представителей микробиоценоза матери и окружающей среды, в том числе госпитальных штаммов родильного дома [29, 126].

Впервые сутки жизни слизистая ротоглотки колонизируется аэробами (у 83,4% детей) с их нарастанием к 5 суткам (100%). Основными представителями являются эпидермальные стафилококки (60,8%), альфа-стрептококки (33,3%) и энтерококки (50,2%). К 5-7 суткам только 37% новорожденных имеют нормально сформированную микрофлору данного биотопа. К 30 суткам отмечается рост контаминации стрептококками (альфа стрептококки – 80,5%; негемолитические стрептококки 34,2%); возрастает обсеменение ротоглотки КОС (92,7%), коринебактериями (61%) и энтерококками (*E.faecalis* 85,4%, *E.faecium* 56,1%). К окончанию неонатального периода происходит рост *S.aureus* (19,5%) и грибов рода *Candida* (34,2%) [29, 76].

Имеются данные, что у младенцев, которые были колонизированы в периоде новорожденности *S.pneumoniae*, *H.influenzae* и / или *Moraxella* spp. значительно чаще возникают пневмонии и бронхолиты к возрасту 3 лет [183].

Таким образом, имеются немногочисленные сведения о формировании микрофлоры дыхательной системы у доношенных детей и практически единичные сведения о микробиоценозе данного биотопа у недоношенных младенцев с ОНМТ и ЭНМТ при рождении.

До настоящего времени считалось, что ребенок рождается стерильным и процесс колонизации кишечника микроорганизмами начинается в первые дни и недели внеутробного развития. Современные методы молекулярной биологии позволили определить общие характеристики микробиоты, обнаруженной в плаценте, амниотической жидкости и меконии, поэтому процесс формирования кишечной микробиоты начинается еще во внутриутробном периоде. При этом, патологический состав микробиоты плаценты рассматривается в качестве фактора риска преждевременных родов [12, 24, 44, 99, 163, 168, 177, 178, 181, 186, 210]. Так у недоношенных детей, рожденных до 33 недели меконий в 75% был нестерильным и преобладала грамположительная флора, после 33 недели у 25% в

меконии была грамотрицательная флора [168]. В постнатальных условиях именно пара мать-ребенок, является пусковым моментом в формировании иммунологической защиты младенца от агрессивных микробиологических средовых факторов [44].

Массивная колонизация кишечника здорового доношенного младенца начинается в момент рождения и состоит из нескольких последовательных стадий. Первыми колонизаторами выступают факультативные аэробы: *Staphylococcus spp.*, *E.coli* и *Enterococcus spp.*, далее происходит смена с преобладанием анаэробной флоры - *Bifidobacterium spp.*, *Bacteroides spp.* и *Clostridium spp.* [44, 49, 50, 63, 99, 105, 106, 137, 163, 189, 199]. По данным [135, 170] к 6 суткам в микрофлоре толстой кишки устанавливается равновесие аэробной и анаэробной флоры, далее происходит нарастание лакто- и бифидофлоры, и к 2 месяцам жизни ребенка она достигает значений  $10^9$ - $10^{10}$  КОЕ/г.

Все факторы, влияющие на формирование нормальной кишечной микрофлоры, можно разделить на 3 группы: антенатальные, интранатальные, постнатальные. К 1 группе относят осложнения во время беременности (гестозы, угроза прерывания), заболевания матери (инфекции) и применение антибиотиков. Вторая группа включает состояние микробиоценоза родовых путей, длительность безводного промежутка, вид родоразрешения, применение реанимационных мероприятий в родах. К 3-й группе относятся факторы, связанные с ребенком: степень зрелости и состояние его здоровья, время прикладывания ребенка к груди, совместное или раздельное пребывание новорожденного с матерью, характер вскармливания, особенности микробной контаминации окружающей среды [21, 51, 63, 100, 173].

У детей, рожденных от матерей с дисбиозом кишечника и влагалища отмечены более грубые нарушения со стороны *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.*, появляются лактозонегативные и гемолитические *E.coli*, *Klebsiella spp.*, грибы рода *Candida*, чаще выявляются ассоциации УПБ состоящих из трех (56,6%) и четырех (26,7%) представителей [75, 76, 131].

В дальнейшем микрофлора толстой кишки претерпевает изменения под влиянием ряда факторов, так к 30 суткам у 86% детей отмечаются дисбиотические изменения - *Lactobacillus spp.* встречаются у 23,0 - 79,1%, численность лакто- и бифидофлоры не достигает возрастной нормы (5,6 lg КОЕ/г, 7,5 lg КОЕ/г соответственно), типичные *E.coli* регистрируются от 18,2% до 81,4% в численности 6,8 lg КОЕ/г и отмечается рост УПЭБ (до 62,0%), дрожжеподобных грибов *Candida* (30,2%), *S.aureus* (37,2 – 61,4%) и анаэробной флоры за счет *Bacteroides spp.* (2,3 – 65,1%) [53, 78, 169, 182, 195].

Формирование микрофлоры длительный процесс, протекающий в течение года и более. Основные отклонения от нормы проявляются дисбалансом микробиоты, в основном, дефицитом облигатной микрофлоры и нарастанием УПБ [105]. В возрасте детей до года в домашних условиях происходит нарастание количества как анаэробной, так и аэробной флоры. Частота выделения, видовое разнообразие условно-патогенной флоры в значимых количествах ( $> 10^5$  КОЕ/г) и обнаружение их в ассоциациях по 3, 4 и более вида нарастает в период сукцессий и достигает своего пика в возрасте от одного месяца до одного года, а далее происходит снижение частоты выделения условно-патогенных микроорганизмов [135]. В возрасте 12 месяцев у детей состав и количество анаэробных микроорганизмов в толстом кишечнике приближается к показателям взрослых людей [118]. Однако имеются данные [170], что у детей первого года имеются нарушения микрофлоры кишечника за счет снижения облигатной микрофлоры: выраженный дефицит отмечен в отношении лактобактерий (более 75%), бифидобактерий (40%) и кишечной палочки с нормальными ферментативными свойствами (39,4%), при повышении уровня патогенных стафилококков (47,4%), условно-патогенных энтеробактерий (27,3%) и грибов рода *Candida* (12,5%). В исследовании [31] у детей первого года жизни так же выражены качественные и количественные изменения микрофлоры толстой кишки, обусловленные высокой частотой встречаемости бактерий рода *Klebsiella spp.* (47%) и дрожжеподобных грибов рода *Candida* (20%).

В научной литературе имеются многочисленные сведения о микрофлоре у доношенных детей и недостаточно исследований проведено у недоношенных детей [169, 187, 211]. У недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела при рождении формирование микрофлоры происходит иначе с отклонениями от нормы.

Становление кишечной микрофлоры проявляется поздней колонизацией кишечника облигатными микроорганизмами, недостаточным видовым разнообразием кишечных бактерий и высокой частотой выделения УПБ. Доминирующими разновидностями микроорганизмов становятся *Bacteroides spp.*, *E.faecalis*, *E.coli*, *E.cloacae*, *K.pneumoniae* (8-68%), КОС (50-100%). Бифидобактерии, являясь основными представителями микрофлоры доношенных новорожденных, не выявляются в кишечной флоре недоношенных детей в первые 1-2 недели после рождения и не занимают доминирующего положения до трехнедельного возраста. Стабильная популяция бифидобактерий устанавливается только после 33 недели гестации, что объясняется формированием гликолизированных рецепторов эпителия кишки. Более интенсивное заселение кишечника *E.coli* происходит у детей, рожденных до 31 недели гестации [4, 67, 68, 70, 88, 106, 114, 126, 141, 169, 178, 179, 182, 186, 194, 195, 207, 210]. Так же у недоношенных новорожденных более медленно происходит выработка гормонов кишечника, а также увеличена длительность реакции центральной нервной системы на болевые импульсы, не скоординирована моторика желудка и двенадцатиперстной кишки, что усугубляется избыточной колонизацией условно-патогенной микрофлоры – это приводит к развитию более стойких и длительных функциональных нарушений пищеварения [129].

Таким образом, заселение нормофлорой толстой кишки - это сложный и длительный процесс, особенно у недоношенных детей, который зависит от множества факторов, в первую очередь от материнской микрофлоры и времени выхаживания детей с низкой и экстремально низкой массой тела в условиях стационара.

### 1.3. Факторы, влияющие на становление микробиоты новорожденного ребенка

На процесс становления микрофлоры новорожденного ребенка влияют множество факторов: вид родоразрешения, характер вскармливания, длительная госпитализация в стационаре, антибактериальная терапия и различные воздействия окружающей среды [81, 89, 137, 170, 178, 181, 182, 189, 196, 199, 204, 210, 211].

В становлении микробиологической системы организма новорожденного немаловажным является способ родоразрешения.

При рождении естественным путем кишечник ребенка преимущественно заселяется бактериями вагинальной, кишечной флоры матери и кожных покровов, среди которых доминируют *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Corynebacterium spp.*, реже *Streptococcus spp.*, *E.coli* [29, 41, 48, 76, 163, 186, 199] при более обильном разнообразии микрофлоры [204].

Заселение облигатной микрофлоры слизистой ротоглотки у новорожденных детей на 5-7 сутки после естественных родов происходит интенсивнее, чем после оперативных родов, так *Lactobacillus spp.* регистрируются у 43,1% в сравнении с 33,3%; альфа-стрептококки у 35,3% и негемолитические стрептококки 41,2% в сравнении с 56,6% [17, 18, 76].

Родоразрешение путем кесарева сечения искажает биологические взаимоотношения в системе мать-плод-новорожденный. Эти дети не контактируют с родовыми путями матери и у них ограничена возможность заселения кишечника *Lactobacillus spp.* и *Bifidobacterium spp.*. Первыми «колонизаторами» кишечника у них являются *Clostridium spp.* и *Streptococcus spp.* Наряду с дефицитом лакто- и бифидофлоры у них отмечена высокая частота встречаемости УПБ (до 40%). Основным источником микроорганизмов для этих детей является окружающая среда (инструментарий, микрофлора родильного зала, палат, медицинского персонала) [5, 19, 21, 41, 48, 50, 65, 106, 163, 181, 182, 188, 214].

К окончанию неонатального периода формирование микробиоценоза кишечника у доношенных детей после кесарева сечения не завершено, только у 10,1% детей отмечен нормальный уровень индигенной микрофлоры. Несмотря на то, что на 30 сутки жизни количество *Bifidobacterium spp.* соответствует возрастной норме, количество *Lactobacillus spp.* не достигает данных значений (17,4%-100%). Количество типичных эшерихий достигает возрастной нормы у 90,0%. Частота УПБ (гемолитическая *E.coli*, *S.aureus*, энтеробактерии, грибы *Candida*) в кишечнике значительно увеличивается до 92,8% [18, 56, 107]. Различия связанные со способом родоразрешения, постепенно уменьшаются – к 4 и 12 месяцам, но микробиота младенцев после кесарева сечения остается более разнородной [13], но менее разнообразной [204].

Становление микробиоценоза слизистой ротоглотки к окончанию неонатального периода после кесарева сечения так же не завершено, характеризуется увеличением облигатной микрофлоры и уменьшением КОС с нарастанием частоты колонизации слизистой зева УПБ (*S.aureus*, *Candida spp.*, *E.coli*, *Serratia spp.*).

Таким образом, у детей, рожденных путем кесарева сечения отмечаются более выраженные изменения микрофлоры во всех основных биотопах, характеризующиеся более низкой частотой и численностью облигатных представителей и увеличению УПБ, за счет воздействия комплекса факторов.

Важнейшим фактором, под воздействием которого происходит становление нормальной микрофлоры, является питание новорожденного ребенка [118]. Грудное молоко особенно важно в первые недели жизни ребенка, когда происходит его адаптация к условиям внешней среды, формирование кишечной микрофлоры и дети в этот период не имеют факторов местной защиты против патогенных микроорганизмов [126, 178, 189, 194].

Грудное молоко – единственный вид питания, полностью соответствующий потребностям в пищевых нутриентах детей грудного возраста. В грудном молоке выявлено более 700 видов бактерий, преобладают представители родов *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Propionibacterium* и *Bifidobacterium*, которые



выполняют роль пробиотика [77, 145, 163]. Предполагаемые пути формирования микробиоты грудного молока – энтеромаляк (через лимфоидную ткань кишечника) и эндоцитоз (повышенная проницаемость кишечника во время родового стресса) [172]. В женском молоке содержатся защитные факторы (секреторный иммуноглобулин, лизоцим, лактоферрин, комплекс олигосахаридов, фосфаты), что способствует формированию нормального микробиоценоза ЖКТ. Олигосахариды осуществляют протективное действие по отношению к широкому спектру патогенных микробов, оказывают пребиотическое действие, способствуя стабилизации индигенной микрофлоры [11, 44, 52, 63, 91, 97, 140, 159].

Таким образом, грудное молоко является естественным симбиотиком, так как содержит и про-, и пребиотики.

Микробное обсеменение пищеварительной системы зависит от характера вскармливания и срока прикладывания ребенка к груди матери [41]. Микробиота младенцев, питающихся исключительно материнским молоком, менее разнообразна, доминантная микрофлора представлена *Bifidobacterium spp.* и *Lactobacillus spp.* [22, 62, 208]. Микробиоценоз с преобладанием *Bifidobacterium spp.* устанавливается к концу первой недели жизни.

При вскармливании смесью процесс становления микробиоценоза кишечника нарушается. Микрофлора более разнообразна и представлена преимущественно аэробами и условно-патогенными анаэробами при одновременном снижении количества *Bifidobacterium spp.* [20, 21, 44, 51, 65, 84, 90, 105, 106, 142, 181, 182, 186, 187, 188, 199, 211, 214].

К концу первого месяца жизни бифидобактерии занимают доминирующее положение у детей с любым типом вскармливания [163, 214].

По данным литературы [60, 61, 104] даже на фоне грудного вскармливания не происходит формирование кишечной микрофлоры. Лактобактерии обнаруживаются у 66,6% детей, в количестве 6,8 lg КОЕ/г. В 94,7% случаев происходит колонизация толстой кишки различными видами УПБ, среди которых преобладают *S.aureus*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, грибы рода *Candida*. Ряд авторов [104] предполагают, что микроэкологические нарушения могут быть

связаны с воздействием неблагоприятных факторов (кесарево сечение, позднее начало грудного вскармливания, антибактериальная терапия).

Однако, у недоношенных детей с ОНМТ отмечается значительно меньший эффект влияния грудного молока на становление нормальной микрофлоры толстой кишки [126]. Антипова И.П. [4] показала, что у недоношенных детей (средний гестационный возраст 30 недель, масса тела 2 кг) на грудном вскармливании в возрасте 20 дней у 14,3% детей было снижено количество *Bifidobacterium spp.* (менее  $7 \lg$  КОЕ/г) и у 7,2% *Lactobacillus spp.* (менее  $5 \lg$  КОЕ/г). Частым нарушением микрофлоры был рост гемолитической *E.coli* (42,9%). При искусственном вскармливании более выражен дефицит *Lactobacillus spp.* (29,2%) и *Bifidobacterium spp.* (41,7%). Частота выявления дрожжеподобных грибов почти в 2 раза выше у детей на грудном вскармливании (7,2%).

К возрасту 4 месяцев отмечаются явные различия между детьми на исключительно грудном вскармливании. У первых отмечается повышенный уровень микроорганизмов-пробиотиков – *L.johnsonii* / *L.gasseri*, *L.paracasei* / *L.casei* и *B.longum*. У детей на искусственном вскармливании повышены уровни *C.difficile*, УПБ (выше  $10^6$  КОЕ/г), таких как - *Citrobacter spp.*, *E.cloacae* [13].

Таким образом, в физиологических условиях развития младенца грудное вскармливание оптимальным образом обеспечивает формирование нормофлоры и устойчивого доминирования в кишечной микробиоте *Bifidobacterium spp.* и *Lactobacillus spp.*

В доступной литературе практически нет данных о влиянии вида вскармливания на микрофлору других биотопов как у доношенных, так и недоношенных детей.

Высокая инфицированность взрослого населения вирусами, бактериями определяет значительную распространенность внутриутробных инфекций [69].

На формирование микробиоценозов основных биотопов большое влияние оказывает внутриутробное инфицирование, особенно вирусы герпеса (*HSV-1,2*, *EBV*, *CMV*, *HHV-6*, *HHV-8*), *C.trachomatis*, *M.hominis*, *U.urealyticum*, *C.albicans*.

Термин «перинатальные инфекции» принято применять к инфекциям, передаваемым от матери ребенку в период внутриутробного развития, во время родов или непосредственно после родов. К числу инфекционных агентов, которые могут передаваться трансплацентарным путем и вызывать серьезное заболевание плода и новорожденного, относятся вирусы иммунодефицита человека, гепатитов В и С, цитомегалии, герпеса, краснухи, парвовирус В19, вирус варицелла-зостер, возбудители сифилиса, токсоплазмоза и листериоза. У недоношенных детей чаще выявляется вирусная инфекция, у доношенных – бактериальная. Внутриутробное инфицирование чаще становится причиной преждевременных родов, приводящее к гибели младенцев (85,7%) [108, 120, 130].

По литературным данным ВУИ развивается у 27,6% детей, рожденных живыми, а внутриутробное инфицирование у 66,6% [42, 128].

Цитомегаловирусная инфекция является одной из самых распространенных врожденных вирусных инфекций. Недоношенные новорожденные дети представляют группу высокого риска по развитию ЦМВИ [80]. По данным ряда авторов [8, 42, 115, 151, 154] выявлено, что у 27–30% недоношенных детей обнаруживаются генетические маркеры *CMV*. Чаще ДНК *CMV* выявляется в клеточном осадке мочи (10,6–22,5%). В сыворотке крови *CMV* маркеры выявляются от 0 до 13,3%; в слюне - 11,5%; в ликворе – 8,2%. В моче так же выявляются *C.trachomatis* (4,0%), *M.hominis* (38,8%), *U.urealyticum* (4,1%).

Обнаружение ЦМВ прямыми лабораторными методами у ребенка в течение первых 3 недель жизни свидетельствует о внутриутробной передаче вируса от матери к ребенку. Выделение вируса после 3-й недели жизни ребенка может отражать как врожденную, так и постнатальную инфекцию. Инфицирование новорожденных ЦМВ может происходить в неонатальном периоде (при гемотрансфузиях, при вскармливании младенцев инфицированным грудным молоком) [115].

ЦМВ оказывает иммунодепрессивное действие, следствием которого является наложение вторичной инфекции. У каждого четвертого ребенка констатируют бактериальный сепсис, энтероколит и у каждого пятого – локальные ГСИ [14]. У

детей с ЦМВИ нарушения в биоценозе кишечника выявлены у 68,0% детей с преобладанием кандидозной и стафилококковой форм дисбактериоза. При поражении органов дыхания очень частое развитие микст-инфекции наряду со специфическим ЦМВ-поражением легочной ткани. Особенностью болезней органов мочевого выделения, ассоциированных с ЦМВИ является развитие интерстициального поражения почек и мочевыводящих путей, которое сочетается с врожденными аномалиями и микст-инфекцией, преимущественно кандидозного характера [127].

*U.urealyticum* встречается как представитель вагинальной флоры у 40-80% здоровых женщин. Передача возбудителя новорожденному ребенку может происходить при внутриутробном развитии или во время родов. Данный представитель является этиологическим агентом тяжелых заболеваний у детей, таких как бронхопальмональная дисплазия, внутрижелудочковые кровоизлияния и некротизирующий энтероколит. Колонизация ротоглотки младенцев *U.urealyticum* чаще встречается при естественных родах. У недоношенных детей регистрируют данного представителя у 30,0 – 40,0% [213].

По данным других авторов [58] наиболее часто встречающейся инфекцией у новорожденных детей была герпесвирусная инфекция (39,7%).

У новорожденных из группы высокого риска по внутриутробному инфицированию имеются характерные особенности микробной колонизации, проявляющиеся преобладанием грамотрицательной флоры, возрастанием роли грибковой колонизации, высокой устойчивостью микроорганизмов к большинству антибактериальных препаратов [3].

Следовательно, внутриутробное инфицирование и развитие внутриутробных инфекций накладывает серьезный отпечаток на микрофлору, особенно дыхательной и мочевыделительной систем. Внутриутробное инфицирование является одной из причин рождения детей раньше срока и поэтому важно изучение формирования микрофлоры у недоношенных детей на фоне ВУИ.

Препараты-пробиотики представляют собой живые микроорганизмы, предназначенные для направленного воздействия на кишечную микробиоту

человека, оказывают благоприятное действие путем модуляции иммунного ответа и конкурентного действия с патогенной и условно-патогенной микрофлорой [15, 34, 68, 89, 184, 190, 214].

При выборе препаратов обязательно следует учитывать взаимосвязь микробов в естественном биоценозе кишечника. Бифидобактерии обеспечивают условия для роста и метаболической деятельности лактобактерий. Лактобактерии способствуют росту бифидобактерии, а так же росту и развитию полноценной кишечной палочки [162]. Одним из важнейших показателей здоровья ребенка – это высокий уровень бифидофлоры, поэтому бифидобактерии наиболее популярны в качестве пробиотиков [61, 81].

Для подавления патологических процессов в кишечнике необходимо нормализовать ткани в очаге воспаления, в том числе и эпителиальный слой слизистой кишечника, и восстановить местную толерантность организма к облигатной микрофлоре, что достигается применением пробиотических препаратов [135]. На фоне пробиотиков происходит улучшение целостности кишечного барьера у недоношенных детей. Данные показывают эффективность использования пробиотиков в питании детей с рождения, что особенно важно для детей, получавших антибиотикотерапию в раннем постнатальном периоде [13, 67].

Нормализация кишечной флоры у недоношенных детей за счет профилактического применения пробиотиков, приводит к снижению частоты некротизирующего энтероколита, за счет стабилизации слизистой оболочки, конкурентного вытеснения патогенной флоры и стимулирования иммунного ответа через toll-подобные рецепторы [165]. Но не оказывает положительного влияния на развития сепсиса и других внутрибольничных инфекций [176, 178, 186, 210].

При использовании у недоношенных младенцев пищевой добавки, содержащей бифидобактерии выявлено положительное влияние на кишечную микробиоту, так уровень *Bifidobacterium spp.* достоверно выше и отмечается снижение степени колонизации *Clostridium spp.* и микроорганизмами рода *Enterobacteriaceae* [67, 88]. Так же положительный эффект выявлен в применении пробиотического

штамма *E.faecium* L3 недоношенным детям, что способствует сохранению индигенной кишечной микробиоты, сдерживание роста нозокомиальной флоры и ведет к снижению частоты проявлений инфекционных осложнений [79, 80]. Использование лактобактерина в коррекции дисбиотических отклонений у новорожденных детей оказывает положительное влияние, как и при использовании *Bifidobacterium spp.* и *E.faecium* L3. После курса лечения отмечается повышение уровня бифидобактерий и лактобактерий в два раза, снижается частота выявления *S.aureus* и *Klebsiella spp.* [41].

Таким образом, пробиотики оказывают благоприятное влияние на микрофлору желудочно-кишечного тракта, но нет данных о влиянии данных препаратов на микрофлору других биотопов.

На фоне длительного пребывания в стационаре возможна контаминация детей госпитальной флорой и развитие гнойно-воспалительных заболеваний. Бактерии, подвергающиеся селективному давлению факторов внешней среды, приобретают новые свойства: устойчивость к внешним воздействиям, повышение вирулентности, резистентность к антибиотикам [122, 158].

Внутрибольничная флора родильного дома в результате чрезмерной контаминации объектов внешней среды играет значительную роль в патологической колонизации кишечника новорожденного с последующим развитием инфекционного процесса. Каждый пятый изучаемый объект внешней среды акушерского стационара контаминирован биологическими вариантами микроорганизмов. Наиболее обсемененными предметами являются перчатки и руки персонала (66,0%). К моменту выписки из родильного дома происходит нарастание частоты колонизации младенцев стафилококками, кишечной палочкой, дрожжеподобными грибами и расширение спектра УПБ [53, 156].

В последние годы во всех странах мира отмечается увеличение частоты госпитальных инфекций у новорожденных, особенно у детей находящихся в отделениях реанимации и интенсивной терапии. По данным исследований [64] у новорожденных детей в ОРН при исследовании биосубстратов чаще обнаруживали *S.epidermidis* (40,0%), *S.haemolyticus* (21,3%), *E.coli* (18,1%),

*E.faecium* (16,1%) и *E.faecalis* (14,2%). На 1 сутки жизни в зеве доношенных новорожденных ОРИТ отмечаются оральные стрептококки (36,6%) и *Enterococcus spp.* (27,2%) преимущественно в монокультуре (12,9%). Отсутствует микрофлора у 22,2–35,4% детей. К 5-7 суткам выявляются изменения в увеличении ассоциаций микроорганизмов (26,0%), КОС (до 60,0%), энтеробактерий (5,9%), грибов *Candida* (6,1 - 8,9%) и уменьшения оральных стрептококков (4,9-17,9%). При кожных, легочных и глазных формах инфекционно-воспалительных процессах преобладает грамположительная кокковая флора (42,7–81,0%), удельный вес грамотрицательной флоры – 8,1-23,3%. Отсутствие микрофлоры в толстой кишке отмечается у 39,2%. Дисбиотические изменения обусловлены отсутствием лакто- и бифидофлоры. Характерна высокая частота выявления грибов *Candida* (6,2 – 15,9%) и грамположительной флоры (КОС – 40,0%, *Enterococcus spp.* – 30,0-80%), *P.aeruginosa* регистрируется у 1,4% детей [40, 58, 124, 156, 161].

Выявление госпитальных инфекций выше у недоношенных с ОНМТ и ЭНМТ при рождении и прямо зависит от степени тяжести состояния ребенка [101]. Инфекционно-воспалительные заболевания у недоношенных детей в ОРН наблюдаются у 65%, основной колонизирующей микрофлорой ротоглотки и толстой кишки является грамположительная флора - КОС (20–47%), *Enterococcus spp.* (6,2–30%) и ГОЭБ (*E.coli*, *K.pneumoniae*, *E.cloacae*) и НГОб 15-18,0% (*P.aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*). На фоне антибактериальной терапии у четверти детей отмечается рост грибов *Candida*. При длительной госпитализации происходит смена грамположительной флоры на грамотрицательную [71, 72, 85, 86, 87, 101, 146, 147, 150, 164, 171, 176, 191, 192, 211].

Среди инфекционно-воспалительных заболеваний чаще регистрируются пневмонии, некротизирующий энтероколит, сепсис, ИМС [32, 55, 98, 101, 133, 203].

Недоношенным детям с ОНМТ и ЭНМТ часто требуется проведение ИВЛ в результате дефицита сурфактанта и как следствие отмечается развитие ИВЛ-

ассоциированной пневмонии (10,0% до 37,6%). Этиологическим агентом на первый план выступают ГОЭБ (69%) с преобладанием *E.coli* (21,4-26%), *K.pneumoniae* (21,4-24,0%) и НГОБ - *P.aeruginosa* (14,1-35%). Грамположительные возбудители представлены стафилококками (*S.epidermidis* – 30,0%) и *Enterococcus spp.* (26,0%). В 1% выделяли *S.pneumoniae*, чаще микроорганизмы находились в ассоциации [73, 92, 119, 164, 202].

При развитии раннего неонатального сепсиса доминирующей флорой являются грамположительные кокки (КОС 45,0%), которые попадают с поверхности кожи и через венозные катетеры. Этиологическими агентами вызывающими поздний сепсис являются ГОЭБ (54,4-95,0%) и НГОБ (63,3%) [98, 173, 178, 198, 206, 209, 211].

У 20-59,3% обследованных новорожденных выявляется ИМС. Чаще инфекция распространяется гематогенным путем при инфекционных поражениях легких и из толстой кишки путем транслокации, поэтому наиболее частыми возбудителями (80%) являются представители семейства *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella spp.*, *E.coli*, *Enterobacter spp.*) и НГОБ (*Pseudomonas spp.*). Грамположительная кокковая флора (*Enterococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*) встречаются реже 10-20,0%. Так же в отделениях интенсивной терапии кроме бактериальной флоры у недоношенных детей на первое место выходят грибы *Candida* с различной частотой встречаемости от 15-18,4% до 55,5% [8, 83, 116, 149, 151, 153, 200].

В ОРН постоянно циркулируют госпитальные штаммы микроорганизмов, способные вызвать фатальные инфекции у глубоконедоношенных новорожденных [86].

Таким образом, длительная госпитализация детей в стационаре способствует развитию ГСИ различных органов и систем, особенно этому подвержены недоношенные дети. Достаточно полно в литературе описаны возбудители инфекционных заболеваний, но нет данных о влиянии их на формирование нормофлоры у детей в условиях длительного выхаживания в стационаре.

Широкое применение антибиотиков является одним из факторов, нарушающих эволюционно-сложившееся равновесие между человеком и микрофлорой.



Необоснованная или нерациональная антибактериальная терапия напрямую влияет на микроорганизмы и существенно изменяет «микробный пейзаж» ЖКТ [7, 12, 82, 100, 118, 137, 188, 203].

Антибактериальные препараты подавляют рост не только патогенных микроорганизмов, но и нормальной микрофлоры кишечника. В результате размножаются сапрофитные микробы с высокой устойчивостью к лекарственным препаратам, приобретающие патогенные свойства. При этом способ введения антибактериальных средств не имеет особого значения [118]. Наибольшее влияние на состав и активность микрофлоры человека оказывают –  $\beta$ -лактамы (в том числе цефалоспорины, карбапенемы), макролиды, тетрациклины, гликопептиды, фторхинолоны, производные нитромидазола [29].

На фоне антибактериальной терапии происходит подавление всех анаэробных бактерии, за исключением *Clostridium spp.* [163, 182, 188]. Большая часть антибиотиков подавляет рост облигатной микрофлоры (бифидо- и лактобактерий). Макролидные антибиотики и амоксициллин умеренно угнетают рост симбиотной микрофлоры, а цефалоспорины значительно подавляют рост *E.coli*, что приводит к повышению уровня *Klebsilla spp.*, *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.*, *Pseudomonas spp.* [118, 180, 182, 185, 199, 211] и грибов рода *Candida* [7, 29, 82, 137].

У недоношенных детей высок риск развития воспалительных процессов, что требует широкого использования антибактериальной терапии. Нерациональное применение антибактериальных препаратов, нарушение схем лечения приводят к формированию и распространению антибиотикоустойчивых бактериальных штаммов. Одним из важнейших путей предотвращения и лечения инфекционных осложнений у новорожденных является рациональное применение антибактериальных препаратов [3, 133, 162].

Чем ниже вес детей при рождении, тем чаще они колонизируются полирезистентными штаммами энтеробактерий (72,0%). Недоношенные дети – своеобразное поле для селекции госпитальных штаммов посредством многократных пассажей через восприимчивый организм [85, 87, 101]. Появление

штаммов микроорганизмов резистентных к антибактериальным препаратам, чаще возникает при госпитализации в отделение реанимации новорожденных [182].

Многие микроорганизмы к настоящему времени сформировали резистентность к основным антибиотикам. *Staphylococcus spp.* в 100% сохраняют чувствительность к линезолиду, в 80-100% к ванкомицину, в 45–79% к рифампицину, 17-45% аминогликозидам, от 20-100% к ципрофлоксацину, 63–90% к оксациллину, в 60% к клиндамицину. Высокий процент резистентности выявлен в отношении макролидов 40–80%, пенициллина 57-100%, в 80% ко-тримаксозола и цефалоспоринов 2 поколения [27, 58, 72, 73, 117, 201, 209].

*Enterococcus spp.* устойчивы к большому числу антибиотиков, в 100% к цефалоспорином, пенициллинам; в 85-100% аминогликозидам; фторхинолонам и макролидам (72,0%). Чувствительность к ванкомицину по данным литературы значительно отличается (50-100%) [117, 124, 155, 161, 191].

Энтеробактерии чувствительны к карбапенемам, цефалоспорином III, IV поколений и амикацину [73]. Имеются особенности формирования антибиотикорезистентности у различных энтеробактерий, так *Klebsiella spp.* устойчива к ампициллину (95,0%), канамицину (68,1%), аминогликозидам до 96% и в 75% к цефепиму и чувствительна к ципрофлоксацину (98,5%), цефтриаксону (90,7%) и имипинему. Для отдельных штаммов *Klebsiella spp.* характерна множественная лекарственная устойчивость (74,4%) [92, 148, 161].

Отмечено выявление *E.coli* у недоношенных детей с очень низкой массой тела с высоким уровнем резистентности к ампициллину (88,8%) и ампициллин/клавуланату (62,2%), к триметоприму (34,4%), в 17,7% отмечалась полирезистентность. *E.coli* сохраняла чувствительность к тигициклину и пиперациллину [175].

*P.aeruginosa* в 100% чувствительна к колистину, в 60-100% к амикацину, цефепиму и карбапенемам [73, 92, 209].

Микрофлора новорожденных в условиях стационара формируется под жестким прессингом антибиотиков [3, 54]. Следовательно, у недоношенных детей назначение антибактериальных препаратов широкого спектра действия приводит

к процессу патологической колонизации кишечника, выраженному дефициту *Bifidobacterium spp.*, избыточному увеличению уровня *Enterococcus spp.* и *Staphylococcus spp.* [46].

По данным [212] определено четыре основных типа антибиотиксвязанного дисбиоза, являющегося основой ряда дальнейших заболеваний: потеря ключевых микробных таксонов; снижение разнообразия микробиоты; «сдвиг» метаболической активности микробиоты и преобладание патогенных микроорганизмов.

В период восстановления новорожденный ребенок наиболее уязвим в связи с низким содержанием индигенных микробов, необходимых для подавления потенциальных патогенных микроорганизмов и патобионтов [212]. Учитывая нестабильность микробиоты у новорожденного ребенка, воздействие антибиотиков может вызвать глубокие изменения микробного сообщества с долгосрочными последствиями [167, 212].

Установлено, что антибиотики могут вызывать как транзиторные, так и персистирующие повреждения кишечной микрофлоры, которые сопряжены с иммунными сдвигами (в том числе с нарушениями секреции иммуноглобулинов А, уменьшением барьерной функции слизистой оболочки, замедленным созреванием пейеровых бляшек и Т-клеток), нарушениями метаболического гомеостаза, колонизацией условно-патогенными микробами [212].

В доступной литературе мы не нашли сведений о формировании микробиоценозов основных биотопов у недоношенных новорожденных с очень низкой и экстремально низкой массой тела на фоне длительной и интенсивной антибиотикотерапии в условиях стационара, что представляет большое научно-практическое значение в современных условиях.

Состав кишечной микробиоты в первые дни жизни может быть очень важным фактором для достижения и поддержания хорошего здоровья в будущем. Естественная траектория формирования микробной экологии является залогом длительного здоровья и высокого качества жизни растущего человеческого организма [43, 208]. При нарушении сбалансированного взаимодействия между

индигенной интестинальной микрофлорой и макроорганизмом происходит стойкое изменение микрофлоры в неонатальном периоде, что приводит в последствии к негативным иммунным и метаболическим последствиям, повышая риск развития тяжелых хронических заболеваний (аллергии, ожирение, сахарного диабета 1 типа, целиакии), обсуждаются связи с повышением риска развития аутизма и онкопатологии [2, 11, 22, 163, 167, 187, 189, 212].

**Резюме.** Таким образом, накопленные данные о характере микробиоты и ее роли на организм человека остаются изученными недостаточно, особенно у недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела. Механизм становления микрофлоры основных биотопов находится под влиянием мультифакторных воздействий, при этом нарушения в формировании микробиоты в детском возрасте ведут к разобщению метаболических, иммунных и нейрогуморальных процессов. Проживание в особых климатических условиях, продолжающееся ухудшение экологической ситуации усугубляет нарушение биологического равновесия между макроорганизмом и микробной флорой, что требует более пристального и детального изучения микробиоты организма новорожденного ребенка в современных условиях.

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

## ГЛАВА 2. Формирование микробиоты основных биотопов недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела в динамике

Организм человека и населяющие его микроорганизмы — это единая экосистема. Нормальная микрофлора сопутствует своему хозяину на протяжении всей его жизни, влияя на процессы развития и жизнедеятельности.

В результате микробиологического и молекулярно-генетического исследований биоматериалов от недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела (ОНМТ и ЭНМТ) нами было получено 2088 штаммов микроорганизмов и 32 ДНК микроорганизмов (Таблица 5, 6).

Таблица 5 - Штаммы микроорганизмов, выделенные из клинического материала от недоношенных детей

№	Вид микроорганизма	Количество выделенных штаммов
1.	<i>Acinetobacter spp.</i>	4
2.	<i>Bacteroides spp.</i>	105
3.	<i>Bifidobacterium spp.</i>	201
4.	<i>Candida albicans</i>	28
5.	<i>Candida kefyr</i>	2
6.	<i>Candida krusei</i>	3
7.	<i>Candida tropicalis</i>	64
8.	<i>Citrobacter freundii</i>	16
9.	<i>Citrobacter koseri</i>	8
10.	<i>Clostridium spp.</i>	32
11.	<i>Corynebacterium xerosis</i>	14
12.	<i>Enterobacter aerogenes</i>	13
13.	<i>Enterobacter cloacae</i>	4
14.	<i>Enterobacter gergoviae</i>	3
15.	<i>Enterococcus faecalis</i>	225

## Продолжение таблицы 5

16.	<i>Enterococcus faecium</i>	237
17.	<i>Escherichia coli</i>	325
18.	<i>Haemophilus influenzae</i>	9
19.	<i>Hafnia alvei</i>	5
20.	<i>Kingella kingae</i>	1
21.	<i>Klebsiella oxytoca</i>	24
22.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	83
23.	<i>Lactobacillus spp.</i>	98
24.	<i>Moraxella catarrhalis</i>	8
25.	<i>Neisseria lactamica</i>	28
26.	<i>Proteus mirabilis</i>	2
27.	<i>Proteus vulgaris</i>	28
28.	<i>Providencia rettgeri</i>	2
29.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26
30.	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1
31.	<i>Serratia liquefaciens</i>	17
32.	<i>Serratia odorifera</i>	32
33.	<i>Staphylococcus aureus</i>	45
34.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	203
35.	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	46
36.	<i>Staphylococcus hominis</i>	7
37.	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	19
38.	<i>Streptococcus 'milleri'</i>	3
39.	<i>Streptococcus mitis</i>	5
40.	<i>Streptococcus mutans</i>	20
41.	<i>Streptococcus oralis</i>	19
42.	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	7
43.	<i>Streptococcus pyogenes</i>	6
44.	<i>Streptococcus salivarius</i>	40
45.	<i>Streptococcus sanguis</i>	20
	ИТОГО	2088

Таблица 6 - ДНК выделенные из клинического материала от недоношенных детей

	Вид выделенных ДНК	Количество выделенных ДНК
1.	<i>Cytomegalovirus</i>	18
2.	<i>Mycoplasma hominis</i>	4
3.	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	10
	ИТОГО	32

### 2.1. Формирование микроэкологии толстой кишки

Микрофлора желудочно-кишечного тракта представляет собой сложную экосистему. Распределение микроорганизмов в пищеварительной системе человека неравномерное – наиболее заселенным биотопом является толстая кишка [21]. Нами проанализирован процесс формирования микробиоты толстой кишки у недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ в динамике (Таблица 7).

Бактериологическое исследование микрофлоры толстой кишки у недоношенных детей при поступлении в отделение выявило выраженный дефицит облигатных представителей. Типичные *E.coli* регистрировали у 5,2% детей в очень низком количестве 1,6 lg КОЕ/г; *Bifidobacterium spp.* определяли у 28 детей (48,3 %) в низкой численности 3,0 lg КОЕ/г; *Lactobacillus spp.* выявляли только у 8,6% обследованных, но количество их соответствовало возрастной норме (7,1 lg КОЕ/г). Следует заметить, что *Lactobacillus spp.* не обнаруживали у детей с массой тела менее 1000 г.

В кишечном микробиоме преобладал рост факультативно-анаэробных микроорганизмов: энтерококки выделяли у 55,2% обследованных детей в большом количестве (9,1 lg КОЕ/г). Видовой состав представлен: *E.faecium* и *E.faecalis*. Вторыми по частоте выявления были представители рода *Staphylococcus* (48,3%; 6,8 lg КОЕ/г), с преобладанием *S.epidermidis*. В 36,2% случаев высевали грибы рода *Candida* в численности 5,6 lg КОЕ/г, которые были представлены тремя видами, с преобладанием *C.tropicalis*.

Таблица 7 - Характер микробной флоры толстой кишки у недоношенных детей в динамике (частота встречаемости %, lg КОЕ/г)

Микроорганизмы	Поступление в отделение		Выписка из отделения		6 месяцев		12 месяцев	
	%	Me (P25;75)	%	Me (P25;75)	%	Me (P25;75)	%	Me (P25;75)
<i>Bifidobacterium spp.</i>	48,3	3,0 (2,0; 5,0)	98,3***	9,0 (7,0; 9,0)***	100	11,0 (11,0;11,0) ***	100	11,0 (11,0;11,0)
<i>Lactobacillus spp.</i>	8,6	7,1 (5,7; 7,5)	29,3**	6,9 (6,4; 7,9)	74,1***	6,0 (4,9;7,3)	56,9	6,5 (5,3;7,3)
<i>Enterococcus</i> (общее количество)	55,2	9,1 (7,9;10,3)	94,8***	10,8 (8,2;11,5)	100	8,4 (6,9;10,2) ***	100	7,3 (6,6;8,5) *
<i>E.faecalis</i>	13,8	8,7 (7,4;9,6)	60,3***	10,9 (8,5;11,89)*	89,6*	8,5 (6,5;11,1) **	79,3	7,1 (6,6;8,8)
<i>E.faecium</i>	43,1	9,1 (8,3;10,3)	86,2***	10,5 (7,9;11,2)	82,7	8,8 (7,8;10,8)	82,7	7,0 (6,1;7,8) ***
<i>E.coli</i> лактоза «+»	5,2	1,6 (1,5)	60,3***	8,1 (6,9;8,4)***	93,1**	8,8 (8,3;9,4)	100	8,3 (7,4;9,0)
<i>E.coli</i> лактоза «-»	-	-	22,4	8,2 (7,4;8,4)	25,9	8,8 (8,5;9,1)	22,4	7,4 (6,5;7,5)
<i>E.coli</i> гемолиз «+»	-	-	3,4	7,6 (7,2)	13,8	7,0 (4,6;9,1)	29,3	8,5 (6,9;8,9)
<i>Bacteroides spp.</i>	3,4	4,5 (3,0)	34,5***	5,7 (4,5;6,5)	60,3	7,0 (3,0;7,0)	82,7*	7,0 (7,0;9,0) **
<i>Clostridium spp.</i>	-	-	24,1	4,0 (4,0)	13,8	3,0 (2,0;4,0)	17,2	4,0 (3,0;4,0)
КОС (общее количество)	48,3	6,8 (5,9;7,7)	18,9**	6,7 (6,0;7,4)	10,3	3,0	13,8	7,9 (5,4;8,7)
<i>S.epidermidis</i>	37,9	6,8 (5,6;7,7)	15,5*	6,8 (6,2;7,6)	10,3	3,0	6,9	6,8 (4,8)
<i>S.haemolyticus</i>	12,1	6,8 (5,8;7,1)	0	0	-	-	3,4	7,2
<i>S.hominis</i>	1,7	7,9	0	0	-	-	-	-
<i>S.saprophyticus</i>	-	-	3,4	5,4 (4,8)	-	-	10,3	8,8
<i>S.aureus</i>	-	-	6,9	4,4 (3,3;5,7)	10,3	3,6 (2,5)	10,3	4,8 (4,5)
ГОЭБ (общее количество)	19,0	5,7 (3,7;8,4)	69,0***	7,8 (5,4;8,4)**	63,8	6,8 (6,1;8,6)	67,2	6,7 (5,1;7,5)
<i>K.pneumoniae</i>	5,2	5,7 (4,5)	20,7**	8,1 (7,7;8,5) **	24,1	8,2 (6,2;8,8)	13,8	7,6 (6,8;8,3)



Продолжение таблицы 7

<i>K.oxytoca</i>	-	-	3,4	3,8 (3,0)	10,3	6,5 (4,8)	3,4	3,0
<i>E.gergoviae</i>	-	-	1,7	8,0	-	-	-	-
<i>E.cloacae</i>	-	-	3,4	8,1 (7,9)	-	-	3,4	6,8
<i>E.aerogenes</i>	3,4	6,7 (4,5)	10,3	6,2 (3,0;8,5)	-	-	6,9	6,3 (5,4)
<i>C.freundii</i>	-	-	5,2	3,0 (3,0)	6,9	3,8 (3,0)	10,3	8,1 (6,5)
<i>C.koseri</i>	3,4	2,6 (1,5)	-	-	3,4	3,0	-	-
<i>S.odorifera</i>	1,7	8,4	24,1**	7,0 (3,0;8,4)	3,4	6,5	10,3	7,0 (3,0)
<i>S.liquefaciens</i>	1,7	3,7	1,7	7,7	-	-	6,9	6,2 (5,2)
<i>P.vulgaris</i>	1,7	6,5	3,4	5,5 (3,0)	13,8	7,8 (6,2;9,1)	17,2	5,0 (3,0;6,8)
<i>H.alvei</i>	1,7	6,7	-	-	3,4	6,8	-	-
<i>P.rettgeri</i>	-	-	3,4	7,9 (7,7)	-	-	-	-
НГОБ (общее количество)	17,2	7,4 (6,5;8,0)	3,4**	7,7 (7,0)	-	-	-	-
<i>P.aeruginosa</i>	12,1	7,5 (7,3;8,1)	3,4	7,7 (7,0)	-	-	-	-
<i>P.stutzeri</i>	1,7	6,3	-	-	-	-	-	-
<i>Acinetobacter spp.</i>	3,4	7,1 (5,7)	-	-	-	-	-	-
<i>Candida</i> (общее количество)	36,2	5,6 (3,3;6,5)	5,2***	4,8 (3,4)	10,3	4,4 (3,1)	25,9	3,0 (2,6;4,9)
<i>C.albicans</i>	10,3	5,19 (3,0;7,3)	-	-	3,4	5,1	17,2	3,2 (2,0;4,8)
<i>C.tropicalis</i>	22,4	5,6 (2,8;6,5)	5,2*	4,8 (3,4)	3,4	3,1	13,8	3,1 (2,6;4,7)
<i>C.krusei</i>	5,2	6,4 (4,8)	-	-	-	-	-	-
<i>C.kefyr</i>	-	-	-	-	3,4	4,4	-	-

Примечание: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$

Представители семейства *Enterobacteriaceae* и НГОБ обнаружены у 19,0% и 17,2% детей, соответственно, в численности превышающей возрастную норму. ГОЭБ представлены шестью родами, среди которых выделяли *K.pneumoniae* (5,2%, 5,7 lg КОЕ/г), *E.aerogenes* (3,4%, 6,7 lg КОЕ/г), *C.koseri* (3,4%, 2,6 lg КОЕ/г), *S.odorifera* (1,7%, 8,4 lg КОЕ/г), *S.liquefaciens* (1,7%, 3,7 lg КОЕ/г), *P.vulgaris* (1,7%, 6,5 lg КОЕ/г), *H.alvei* (1,7%, 6,7 lg КОЕ/г). НГОБ - двумя родами (*Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.*), с преобладанием *P.aeruginosa* (12,1%, 7,5 lg КОЕ/г).

Выделение анаэробных микроорганизмов в раннем неонатальном периоде было на низком уровне, представлены только *Bacteroides spp.* (3,4%).

За период госпитализации в стационаре отмечено постепенное заселение толстой кишки облигатными представителями, но сформированной микроэкологии данного биотопа не было. Типичные *E.coli* выявлялись у 60,3% ( $p < 0,001$ ) в количестве соответствующей возрастной норме ( $Me = 8,1$  lg КОЕ/г,  $Q1 = 6,9$ ;  $Q3 = 8,4$ ), различия были статистически значимы ( $T = 2,0$ ;  $Z = -5,201$ ;  $p < 0,001$ ); *Bifidobacterium spp.* регистрировали практически у всех детей (98,3%;  $p < 0,001$ ) в количестве 9,0 lg КОЕ/г ( $Me = 9,0$  lg КОЕ/г,  $Q1 = 7,0$ ;  $Q3 = 9,0$ ;  $T = 7,00$ ;  $Z = 6,357$ ;  $p < 0,001$ ). Частота встречаемости *Lactobacillus spp.* возросла в 3 раза до 29,3% ( $p = 0,012$ ), без изменения количества данных представителей. Практически в два раза (94,8%;  $p < 0,001$ ) отмечен рост энтерококков, с одновременным увеличением их средней численности (10,8 lg КОЕ/г), при этом видовой пейзаж остался без изменений. Обратная ситуация отмечена в отношении КОС, произошло статистически значимое снижение данных представителей до 18,9% ( $p = 0,002$ ) за счет *S.haemolyticus* и *S.hominis*. Однако, отмечено обсеменение толстой кишки *S.aureus* у 6,9 % детей в численности 4,4 lg КОЕ/г.

Частота выявления *Bacteroides spp.* возросла в 10 раз (34,5%;  $p < 0,001$ ), у 24,1% (4,0 lg КОЕ/г) детей появились *Clostridium spp.*

Наблюдалась тенденция к снижению выделения грибов *Candida* в 7 раз до 5,2% ( $p < 0,001$ ), с уменьшением их численности (4,8 lg КОЕ/г).

Следует отметить, что интенсивность обсеменения толстой кишки недоношенных детей условно-патогенными энтеробактериями к выписке из стационара была достоверно выше (69,0%;  $p < 0,001$ ) по сравнению с поступлением детей в отделение с одновременным ростом количества данных представителей ( $Me=7,8$  lg КОЕ/г,  $Q1=5,4$ ;  $Q3=8,4$ ;  $T=104,00$ ;  $Z=-2,366$ ;  $p=0,018$ ) и расширением видового спектра до 10 микроорганизмов. В 12,5 % случаев регистрировались одновременно два вида ГОЭБ. Наиболее значимый рост отмечен в отношении *Klebsiella spp.* ( $p=0,007$ ) за счет *K.pneumoniae* и *Serratia spp.* ( $p=0,002$ ) за счет *S.odorifera*. У 22,4% детей появились лактозонегативные и у 3,4% гемолитические штаммы эшерихий в значительном количестве (8,2 и 7,6 lg КОЕ/г, соответственно). На фоне проводимого лечения частота НГОБ снизилась до 3,4 % ( $p=0,006$ ), но численность данных микроорганизмов сохранялась на высоком уровне (7,7 lg КОЕ/г).

В возрасте 6 месяцев со 100% частотой определялись *Bifidobacterium spp.* (11,0 lg КОЕ/г;  $p < 0,001$ ) и энтерококки (8,4 lg КОЕ/г;  $p=0,001$ ). Вместе с тем произошло увеличение типичных *E.coli* до 93,1% ( $p=0,012$ ) случаев (8,8 lg КОЕ/г), а *Lactobacillus spp.* до 74,1% ( $p < 0,001$ ).

Частота встречаемости КОС продолжала снижаться до 10,3% и представлена монокультурой (*S.epidermidis*). Кроме того происходило увеличение контаминации толстой кишки *S.aureus* (10,3%) в численности 3,6 lg КОЕ/г. Дрожжеподобные грибы рода *Candida* были также обнаружены у 10,3% детей в численности 4,4 lg КОЕ/г. Видовой пейзаж представлен тремя видами *C.albicans* (5,1 lg КОЕ/г), *C.tropicalis* (3,1 lg КОЕ/г), *C.kefyr* (4,4 lg КОЕ/г).

Обнаружение лактозонегативных штаммов *E.coli* осталось на прежнем уровне (25,9%), при значительном увеличении в 4 раза гемолизинпродуцирующих эшерихий (13,8%) в сравнении с показателями на момент выписки из стационара. Частота выявления других энтеробактерий осталась без изменений (63,8%). Анализ видового спектра показал сужение разнообразия микроорганизмов до 7 представителей. Наиболее часто (в 34,4% случаев) идентифицированы *Klebsiella* (*K.pneumoniae* - 24,1%, *K.oxytoca* - 10,3%) со средней микробной

обсемененностью 7,5 lg КОЕ/г (6,2; 8,8 lg КОЕ/г). У 10,3% детей были обнаружены представители рода *Citrobacter* (*C.freundii* и *C.koseri*). Значительно снизился процент выделения представителей рода *Serratia* (3,4%) при увеличении *P.vulgaris* (13,8%) и отсутствие регистрации представителей рода *Enterobacter*. К 6-месячному возрасту НГОБ полностью элиминированы из отделяемого толстой кишки.

Увеличивался анаэробный пул микроорганизмов. *Bacteroides spp.* выделялись у 60,3% детей в количестве 7,0 lg КОЕ/г; *Clostridium spp.* у 13,8% детей в средней численности 3,0 lg КОЕ/г.

Микрофлора кишечника у детей в возрасте 12 месяцев не имела значимых отличий от показателей микробиоты толстой кишки в 6 месяцев. Однако, следует заметить, что типичные эшерихии выявлялись уже у всех детей, при этом продолжали значительно нарастать гемолизинпродуцирующие штаммы *E.coli* (29,3%). Представители семейства *Enterobacteriaceae* оставались без изменений (67,2%), но происходила постоянная сукцессия видового разнообразия. Схожая картина отмечена и в отношении КОС. Частота выявления осталась на прежнем уровне (13,8%) при изменении видового спектра – появление *S.saprophyticus*.

Продолжалось дальнейшее увеличение анаэробных микроорганизмов, *Bacteroides spp.* регистрировали у 82,7% детей, *Clostridium spp.* – 17,2%. Так же отмечен рост частоты грибов рода *Candida* (25,9%) с преобладанием *C.albicans* (3,2 lg КОЕ/г).

Таким образом, у недоношенных детей происходит замедленное формирование облигатного пула микрофлоры толстой кишки и к первому году жизни полной сформированной микробиоты данного биотопа не происходит. Выявлены качественные и количественные изменения, как облигатной, так и условно-патогенной микрофлоры, поэтому мы попытались определить основные факторы, влияющие на микробиологическое формирование «главного» биотопа организма человека.

Проведенный анализ микрофлоры (облигатной и условно-патогенной) толстой кишки выявил особенности в зависимости от веса детей при рождении. В

неонатальном периоде у всех детей, независимо от массы тела отмечен дефицит бифидофлоры. К моменту выписки из стационара у 78,3% детей с ОНМТ бифидобактерии регистрировались в количестве  $10^9$  КОЕ/г, у 17,4% показатели были ниже нормы и у 4,4% данные представители не выявлялись. У детей с ЭНМТ бифидобактерии в количестве  $10^9$  КОЕ/г отмечены у 71,4% и у 28,6% были ниже нормы. В дальнейшем происходит формирование пула бифидобактерии у всех детей к 6 месяцам (Рисунок 1).

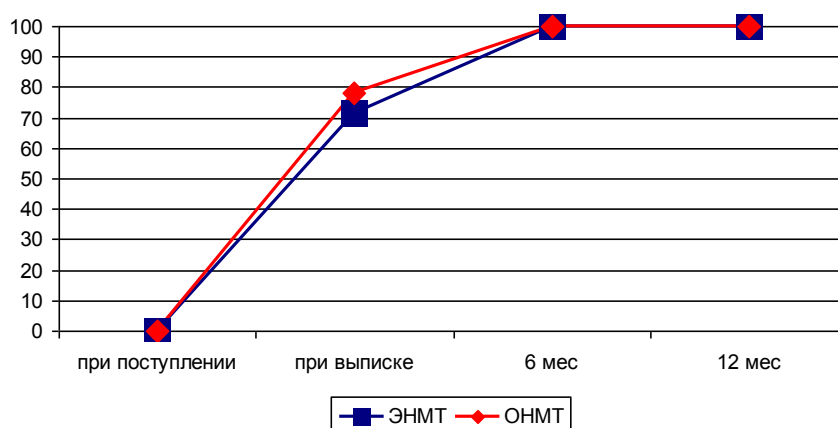


Рисунок 1 – Частота встречаемости бифидобактерий в толстой кишке у детей в динамике в количестве  $\geq 10^9$  КОЕ/г

Формирование лактофлоры значительно запаздывает по сравнению с бифидобактериями. У детей с массой тела менее 1000г лактобактерии в неонатальном периоде не выявлялись, в сравнении с детьми с очень низкой массой тела, у которых отсутствие данных представителей отмечено у 86,9%; у 4,4% детей показатели были ниже нормы и у 8,7% лактобактерии регистрировали в количестве  $10^6 - 10^7$  КОЕ/г. К выписке из стационара у детей с ЭНМТ лактобактерии в толстой кишке выявлялись чаще (28,6%), в сравнении с детьми с очень низкой массой тела (17,4%). В возрасте 6 и 12 месяцев лактобактерии в количестве  $10^6 - 10^7$  КОЕ/г формируются у детей с большей массой тела у 47,8% и 43,5%, в сравнении с детьми с экстремально низкой массой тела – 28,6% и 14,3%, соответственно (Рисунок 2).

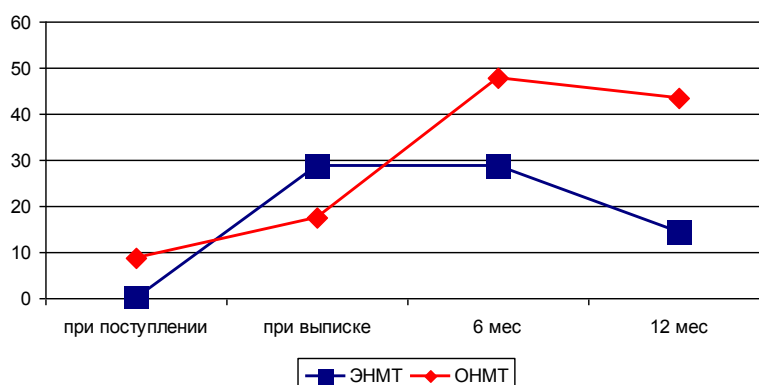


Рисунок 2 – Частота встречаемости лактобактерий в толстой кишке у детей в динамике в количестве  $10^6 - 10^7$  КОЕ/г

В неонатальном периоде отмечался выраженный дефицит типичных эшерихии у всех детей, особенно с ОНМТ. К выписке из стационара отмечен рост выявления типичных *E.coli* в количестве  $10^7 - 10^8$  КОЕ/г, которые регистрировались с одинаковой частотой – у 28,6% детей с ЭНМТ и у 26,1% детей с ОНМТ, однако дефицит данных микроорганизмов более выражен у детей с ОНМТ (39,1%), в сравнении с 28,6% у детей с ЭНМТ. Обратная закономерность выявлена в отношении *E.coli* количество которых составляло  $\geq 10^9$  КОЕ/г, которые чаще регистрировали у детей с ЭНМТ (42,8%), в сравнении с 26,1% у детей с ОНМТ. К возрасту 6 месяцев дефицит *E.coli* становится меньше у всех детей, более выражен (в 3 раза) у детей с ЭНМТ (14,3%) при этом отмечается увеличение числа детей, как с ЭНМТ, так и с ОНМТ с *E.coli* более  $\geq 10^9$  КОЕ/г (71,4% и 73,9%, соответственно). В 12 месяцев *E.coli* регистрируются у всех детей, но в пределах возрастной нормы у 57,1% с ЭНМТ и у 30,4% у детей с ОНМТ (Рисунок 3).

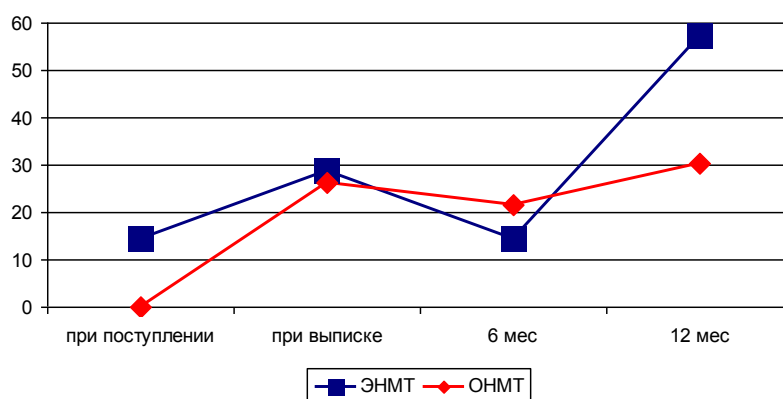


Рисунок 3 – Частота встречаемости типичных эшерихий в толстой кишке у детей в динамике в количестве  $10^7 - 10^8$  КОЕ/г

В неонатальном периоде дефицит энтерококков более выражен у детей с ЭНМТ (57,1%), в сравнении с детьми с ОНМТ (43,5%). К выписке из стационара уменьшилось число детей с отрицательными значениями до 21,7% у детей с ЭНМТ. Все положительные значения энтерококков были выше  $10^7$  КОЕ/г. Следует обратить внимание на видовой пейзаж энтерококков, так у детей с ЭНМТ в неонатальном периоде преобладал *E.faecium*, в дальнейшем превалировал *E.faecalis*, при этом у детей с ОНМТ на протяжении всего периода наблюдения в толстой кишке доминировал *E.faecium* (Рисунок 4).

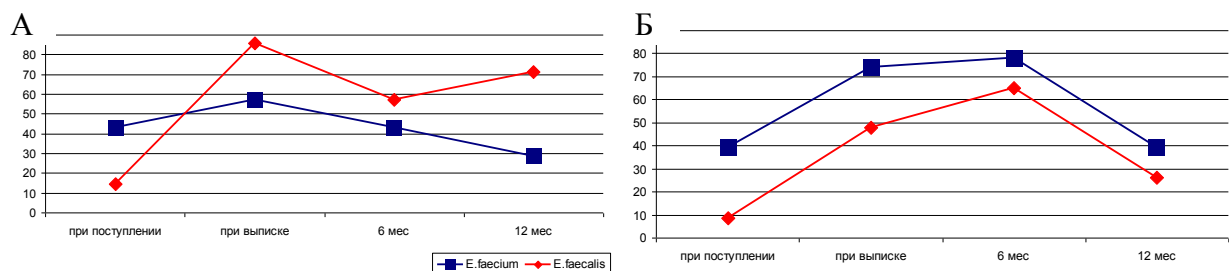


Рисунок 4 – Видовой пейзаж энтерококков толстой кишки у детей в динамике (А – дети с ЭНМТ, Б – дети с ОНМТ)

УПМ (ГОЭБ, НГОБ, грибы *Candida*) в толстой кишке в неонатальном периоде в количестве  $\geq 10^4$  КОЕ/г регистрировали чаще у детей с ЭНМТ (57,1%). В дальнейшем (к выписке из стационара и в 6 месяцев) данные представители выделялись чаще у детей с ОНМТ, а в возрасте 12 месяцев отмечалась высокая частота выявления УПМ у всех детей независимо от массы тела (85,7% - ЭНМТ и 86,9% - ОНМТ) рисунок 5.

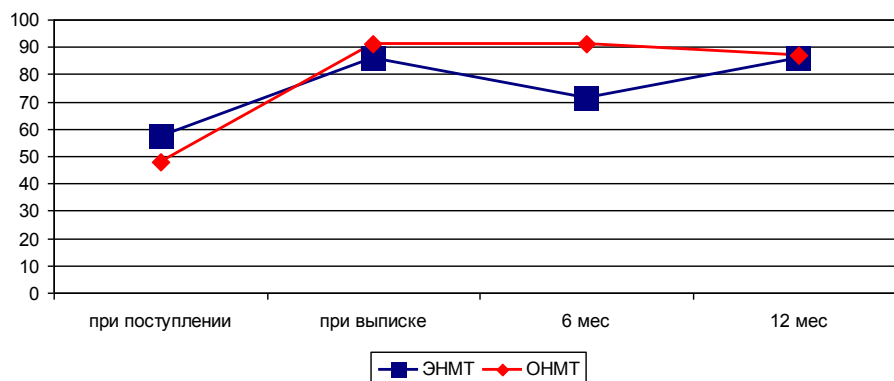


Рисунок 5 – Частота встречаемости УПМ в толстой кишке у детей в динамике в количестве  $\geq 10^4$  КОЕ/г

Таким образом, у всех детей имеются выраженные изменения микрофлоры толстой кишки, так у детей с ЭНМТ отмечается замедление формирования лактофлоры, а у детей с ОНМТ – типичных эшерихий. На фоне этого у всех детей, независимо от массы тела при рождении, отмечается контаминация кишечника УПМ (в количестве  $\geq 10^4$  КОЕ/г), которые сохраняются к возрасту 12 месяцев.

В результате исследования микробиоты толстой кишки у недоношенных детей в зависимости от способа родоразрешения нами не выявлено существенных различий в облигатной микрофлоре, но имеются различия в частоте встречаемости грамотрицательных энтеробактерий, неферментирующих грамотрицательных бактерий и грибов рода *Candida*. После родоразрешения через естественные родовые пути у детей в толстой кишке была выше частота (25,0%) и численность (6,6 lg КОЕ/г) грамотрицательных энтеробактерий с широким видовым спектром (5 представителей); в три раза чаще регистрировали неферментирующие грамотрицательные бактерии (33,3%) и грибы *Candida* (41,7%) в сравнении с детьми после оперативного родоразрешения.

Показано, что на фоне инфицирования *CMV*, *M.hominis* *U.urealyticum* облигатные представители (бифидо, лактобактерии, энтерококки, кишечная палочка) толстой кишки встречались чаще. При этом численность данных микроорганизмов была одинаковая независимо от инфицирования, в отличие от *E.coli*, в 5 раз количество больше на фоне инфицирования (8,2 lg КОЕ/г). Грамотрицательные энтеробактерии чаще выявлялись на фоне инфицирования, однако расширение видового спектра отмечено у детей без инфицирования. На фоне инфицирования чаще регистрировались неферментирующие грамотрицательные бактерии и грибы рода *Candida*. Частота встречаемости *P.aeruginosa* отмечена в 33,3% на фоне инфицирования и 8,7% случаев без инфицирования ( $p=0,049$ ) в равнозначной численности (7,4; 7,6 lg КОЕ/г, соответственно). Среди грибов *Candida* статистически значимо чаще выявлялась *C.albicans* ( $p=0,014$ ) на фоне инфицирования (Рисунок 6).



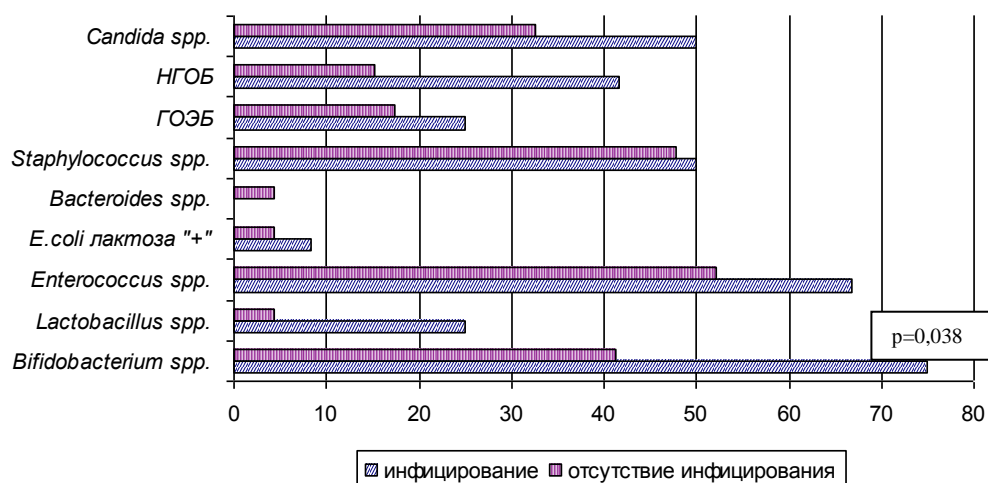


Рисунок 6 - Характер микробиоценоза толстой кишки недоношенных детей при поступлении в отделение на фоне инфицирования (%)

Таким образом, на фоне инфицирования *CMV*, *M.hominis* *U.urealyticum* происходит контаминация толстой кишки грамотрицательными энтеробактериями, НГОБ и грибами рода *Candida*.

## 2.2. Формирование микробной экологии верхних дыхательных путей

Микробный биоценоз верхних дыхательных путей является наиболее сложным и малоизученным, особенно у недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ. Показатели микробного пейзажа отделяемого зева у обследуемой группы детей в динамике отражены в таблице 8.

Исследуя микрофлору зева отмечено, что микробный пейзаж верхних дыхательных путей при поступлении в отделение был скудным и представлен в основном кокковой флорой. Преобладали КОС, выделенные у 74,1% (*S.epidermidis*; *S.haemolyticus*) в средней численности 5,0 lg КОЕ/г.

Частота встречаемости  $\alpha$ -зеленящих стрептококков была низкая (8,6%), представлены 4 видами (*S.mutans*, *S.sanguis*, *S.oralis*, *S.mitis*) при оптимальном количестве (5,0 lg КОЕ/г). Уровень энтерококков был незначительным 6,9% (4,5 lg КОЕ/г), с одинаковой частотой изолировали *E.faecium* и *E.faecalis*. Еще ниже (1,7%) отмечалась частота обнаружения представителей семейства *Neisseriaceae* (*N.lactamica*) и *Corynebacterium* (*C.xerosis*), которые не регистрировали у детей с экстремально низкой массой тела.

Таблица 8 - Характер микробиоценоза ВДП у недоношенных детей в динамике (частота встречаемости %, Ig КОЕ/г)

Микроорганизмы	Поступление в отделение		Выписка из отделения		6 месяцев		12 месяцев	
	%	Me (P25; 75)	%	Me (P25; 75)	%	Me (P25; 75)	%	Me (P25; 75)
КОС (общее количество)	74,1	5,0 (4,0; 5,7)	48,3**	4,0 (4,0;5,0) **	63,8	4,0 (3,0;4,7)	39,7	4,0 (3,5;4,5)
<i>S.epidermidis</i>	46,5	5,0 (4,0; 6,0)	44,8	4,0 (4,0;5,0)	60,3	4,0 (3,0;4,2)	29,3	4,0 (3,5;4,4)
<i>S.haemolyticus</i>	25,9	5,0 (5,0;5,0)	3,4***	3,5 (3,0)	-	-	3,4	3,7
<i>S.hominis</i>	-	-	-	-	3,4	5,0	-	-
<i>S.saprophyticus</i>	-	-	-	-	-	-	10,3	4,0 (3,0)
<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	24,1	3,8 (2,0;4,3)	25,9	3,0 (2,8;3,8)
α-зеленящие стрептококки (общее количество)	8,6	5,0 (3,7; 5,7)	41,4***	4,7 (4,0; 5,0)	79,3**	4,0 (4,0;5,0)	53,4	4,0 (4,0;4,7)
<i>S.sanguis</i>	1,7	5,7	6,9	5,0 (4,0; 6,5)	25,9	5,4 (5,0;5,5)	-	-
<i>S.salivarius</i>	-	-	10,3	4,5 (4,0; 5,2)	29,3	4,0 (3,5;4,9)	29,3	4,0 (3,5;4,7)
<i>S.mutans</i>	3,4	4,2 (3,5)	10,3	4,0 (4,0; 4,7)	6,9	4,0	13,8	4,0 (4,0;4,5)
<i>S.mitis</i>	1,7	4,0	3,4	5,4 (4,7)	-	-	3,4	4,0
<i>S.oralis</i>	1,7	5,7	6,9	5,0 (4,3; 5,0)	17,2	4,0 (4,0)	6,9	4,4 (4,0)
<i>N.lactamica</i>	1,7	4,0	3,4	4,0	6,9	4,0 (4,0)	36,2	4,0 (4,0;5,0)
<i>C.xerosis</i>	1,7	3,0	1,7	4,0	10,3	4,0 (4,0)	10,3	4,0 (4,0)
<i>Enterococcus</i> (общее количество)	6,9	4,5 (3,3; 5,0)	24,1**	4,0 (3,9; 5,0)	25,9	3,9 (3,0;4,8)	46,5	4,9 (4,0;4,5)
<i>E.faecium</i>	3,4	4,5 (4,0)	19,0*	4,0 (3,7; 5,0)	20,7	3,9 (2,8;4,3)	24,1	4,0 (3,7;5,0)
<i>E.faecalis</i>	3,4	4,0 (3,0)	5,2	4,7 (4,0)	6,9	4,0 (3,0)	24,1	5,0 (4,7;5,0)
Грибы <i>Candida</i> (общее количество)	8,6	3,56 (3,2;4,0)	20,7	3,59 (3,1;4,1)	10,3	1,5 (1,5;2,0)	29,3	3,0 (1,8;3,1) *
<i>C.albicans</i>	3,4	3,9 (3,5)	5,2	3,5 (3,2)	-	-	3,4	3,0
<i>C.tropicalis</i>	5,2	3,6 (3,0)	15,5	3,7 (2,3;4,1)	10,3	1,5 (1,5;2,0)	25,9	2,8 (1,6;3,1)
<i>S.pneumoniae</i>	5,2	5,0 (4,0)	6,9	5,5 (5,0; 6,0)	-	--	-	-
<i>S.pyogenes</i>	1,7	6,7	5,2	6,7 (6,0)	3,4	4,0	-	-

Продолжение таблицы 8

<i>S. 'milleri'</i>	-	-	5,2	5,0 (4,0)	-	-	-	-
<i>H influenzae</i>	-	-	1,7	3,48	-	-	13,8	4,7 (4,2;4,7)
<i>Enterobacteriaceae</i> (общее количество)	5,2	3,48 (2,0)	50,0***	3,7 (3,0; 5,0)	25,9*	2,0 (2,0;4,7)	17,2	3,7 (2,5;4,9)
<i>E.coli</i>	-	-	19,0	3,0 (2,0; 5,0)	10,3	2,0 (2,0)	17,2	3,7 (2,5;4,9)
<i>K.pneumoniae</i>	3,4	2,7 (2,0)	20,7**	3,4 (2,3; 4,0)	10,3	2,0 (2,0)	-	-
<i>S.liquefaciens</i>	-	-	1,7	3,6	3,4	5,0	-	-
<i>S.odorifera</i>	-	-	5,2	5,0 (3,5)	-	-	-	-
<i>E.aerogenes</i>	1,7	3,7	-	-	-	-	-	-
<i>C.freundii</i>	-	-	1,7	4,7	-	-	-	-
<i>H.alvei</i>	-	-	1,7	5,7	-	-	-	-
<i>P.mirabilis</i>	-	-	-	-	3,4	2,0	-	-
НГОБ (общее количество)	13,8	5,0 (3,5;5,7)	5,1	4,0 (3,0)	-	-	6,9	5,0 (5,0;5,5)
<i>P.aeruginosa</i>	12,1	5,0 (3,0; 5,7)	1,7	5,0	-	-	3,4	5,7
<i>M.catarrhalis</i>	-	-	3,4	3,5 (3,0)	-	-	10,3	5,0 (5,0)
<i>K.kingae</i>	1,7	5,0	-	-	-	-	-	-

Примечание. \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$

Среди транзиторных микроорганизмов на слизистой ВДП чаще регистрировали НГОБ (13,8%; 5,0 lg КОЕ/т), представленные *P.aeruginosa*, *K.kingae* (только у детей с массой менее 1000г). Исходный уровень ГОЭБ был невысоким (5,2%; 3,5 lg КОЕ/т), с узким видовым спектром (*K.pneumoniae*, *E.aerogenes*). Носительство *S.pneumoniae* отмечено у 5,2% случаев; *S.pyogenes* - у 1,7% в значительном количестве (5,0 lg КОЕ/т и 6,7 lg КОЕ/т, соответственно). Грибы рода *Candida* выделяли у 8,6%, с преобладанием *C.tropicalis*.

За период госпитализации в стационаре происходило постепенное формирование микроэкологии ВДП за счет уменьшения частоты встречаемости КОС (*S.haemolyticus*) в 1,5 раза до 48,3% ( $p=0,003$ ) с одновременным снижением количества (4,0 lg КОЕ/т) и увеличением  $\alpha$ -зеленящих стрептококков в 4,5 раза до 41,4% ( $p=0,001$ ) с расширением видового спектра до 5 представителей. Отмечено увеличение частоты выявления энтерококков в 3 раза ( $p=0,013$ ) со значительным преобладанием *E.faecium*. Частота встречаемости представителей семейства *Neisseriaceae* увеличилась в 2 раза 3,4 % без изменения их количества. *S.xerosis* остались к выписке на прежнем уровне.

Обращает на себя внимание, что к выписке из стационара произошли изменения состава микрофлоры отделяемого зева, за счет резкого увеличения ГОЭБ (50,0%;  $p=0,001$ ) с расширением видового спектра до 6 представителей (*K.pneumoniae*, *E.coli*, *S.liquefaciens*, *S.odorifera*, *C.freundii*, *H.alvei*) без значимого изменения численности данной группы микроорганизмов. Также в 2,5 раза произошло увеличение контаминации слизистой зева грибами *Candida*, особенно у детей с ЭНМТ.

Пребывание детей в стационаре приводило к формированию носительства условно-патогенных стрептококков группы 'milleri' (5,2%) и *H.influenzae* (1,7%). На фоне этого мы обнаружили снижение удельного веса *P.aeruginosa* до 1,7%, но появление бактерий рода *Moraxella*.

У 5 детей (8,6%) слизистая ВДП в раннем неонатальном периоде была стерильная, к выписке из стационара отсутствовал рост микрофлоры у 3,4% детей. Монокультура встречалась у 62,1% при поступлении, к выписке этот

показатель уменьшился в три раза до 19,0% ( $p < 0,001$ ). За период госпитализации отмечен рост ассоциаций микроорганизмов. Так, сочетание двух представителей возросло с 22,4% до 46,6% ( $p = 0,016$ ); трех с 6,9% до 24,1% ( $p = 0,031$ ) и только при выписке высевали ассоциации из четырех микроорганизмов (6,9%).

В возрасте 6 месяцев в отделяемом зева у обследуемой группы детей преобладала кокковая флора, за счет увеличения  $\alpha$ -зеленящих стрептококков до 79,3% ( $p = 0,008$ ). Значительный рост отмечен в отношении *S.salivarius* (29,3%), *S.sanguis* (25,9%) и *S.oralis* (17,2%). Отмечен рост КОС (63,8%) при сохранении прежней численности (4,0 lg КОЕ/т), в сравнении с данными при выписке из стационара. Лидирующее положение сохранялось за *S.epidermidis* (60,3%), элиминирован *S.haemolyticus*, на фоне этого заселяется *S.hominis* (3,4%). Отмечено, что в домашних условиях у 24,1% детей происходит контаминация ВДП *S.aureus* в средней численности 3,8 КОЕ/т.

Энтерококки в возрасте 6 месяцев остались на прежнем уровне, как в количественных, так и в видовых характеристиках.

Грамотрицательные кокки (*Neisseriaceae spp.*) незначительно возросли и регистрировали у 6,9% детей. Однако, отмечен значительный рост *C.xerosis* до 10,3% без изменения численности данного представителя.

Положительная тенденция наблюдалась в отношении снижения контаминации ВДП ГОЭБ (25,9%;  $p = 0,035$ ) с одновременным значительным уменьшением численности данных представителей (2,0 lg КОЕ/т) и сужением спектра до 4 видов. Несмотря на положительную динамику, доминирующими представителями остаются госпитальные штаммы (*K.pneumoniae*, *E.coli*). Так же произошло снижение в 2 раза частоты и численности обсеменения ВДП грибами *Candida*, с выделением только *C.tropicalis*.

У детей в возрасте 6 месяцев не выделяли из ВДП стрептококки группы 'milleri', *H.influenzae* и *S.pneumoniae*, что свидетельствует о транзитном носительстве данных микроорганизмов.

К году микроэкология ВДП у недоношенных детей не сформирована, это подтверждается тем, что КОС и  $\alpha$ -зеленящие стрептококки выявляли только у

половины обследуемых детей. У четверти детей выделяли *S.aureus*. В 5 раз чаще регистрировали представителей семейства *Neisseriaceae spp.* (36,2%); в 2 раза чаще энтерококки (46,5%) без различий в видовом пейзаже.

Отмечен значительный рост дрожжеподобных грибов *Candida*, за счет *C.tropicalis* (25,9%; 2,8 lg КОЕ/т). У 13,8% детей произошла контаминация ВДП *H.influenzae* в средней численности 4,7 lg КОЕ/т.

Продолжалась намеченная положительная динамика в возрасте 6 месяцев в снижении выявления ГОЭБ (17,2%) при уменьшении видового спектра до 1 представителя (*E.coli*). НГОБ представлены *P.aeruginosa* (3,4%) и *M.catarrhalis* (10,3%).

Таким образом, доминирующей флорой на слизистой ВДП во всех возрастных периодах является грамположительная кокковая флора, которая регистрируется только у половины детей. Наряду с кокками при выписке из стационара значительную роль имеют ГОЭБ, с постепенным снижением данных микроорганизмов к возрасту 1 года и дрожжеподобные грибы *Candida*, рост которых к году возрастает, вследствие низкой иммунной реактивности организма ребенка в данном возрасте.

Анализ микрофлоры зева в зависимости от веса тела ребенка при рождении выявил, что у детей с ЭНМТ на протяжении первого года жизни значительно преобладают условно-патогенные представители (НГОБ – *P.aeruginosa*; ГОЭБ – *K.pneumoniae*, *E.coli*; *H.influenzae*; *E.faecalis*, *S.aureus*, дрожжеподобные грибы *Candida*) в сравнении с детьми с ОНМТ (*S.haemolyticus*; *S.pneumoniae*, *S.pyogenes*, *S."milleri"*; *E.faecalis*, *E.faecium*; ГОЭБ – *K.pneumoniae*, *E.coli*, *S.odorifera*; *H.influenzae*; *S.aureus*; НГОБ – *M.catarrhalis*; дрожжеподобные грибы *Candida*) (Рисунок 7). При этом прослеживается общая динамика изменения микрофлоры в течение года. В неонатальном периоде выявление УПБ в зеве было практически у половины обследованных детей (42,9%) с ЭНМТ, в сравнении с детьми с ОНМТ – 26,1%. К моменту выписки из стационара процент обнаружения данных микроорганизмов увеличился у всех детей – до 71,4% у детей с ЭНМТ и до 52,2% у детей с ОНМТ. В возрасте 6 месяцев происходит снижение выявления УПМ

(57,1% - ЭНМТ и 26,1% - ОНМТ) с последующим вновь нарастанием к 12 месяцам жизни ребенка (85,7% - ЭНМТ; 65,2% - ОНМТ).

Следовательно, дети с ЭНМТ имеют более выраженные изменения микрофлоры ВДП на протяжении первого года, в сравнении с детьми с ОНМТ при рождении.

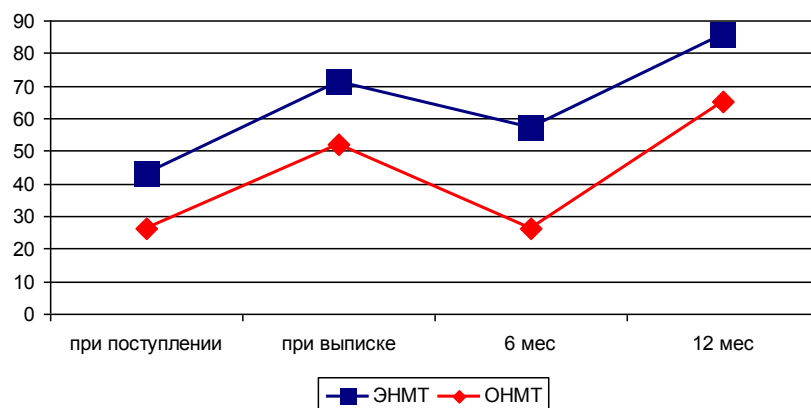


Рисунок 7 – Частота встречаемости УПМ на слизистой зева у детей в динамике (%)

Проанализирована микрофлора ВДП у детей в раннем неонатальном периоде в зависимости от способа родоразрешения. Отмечено, что после родоразрешения через естественные родовые пути у детей в отделяемом зева ниже частота выявления КОС (66,7%), присутствовали три вида с преобладанием *S.epidermidis* (50,0%) и ГОЭБ (4,7%); в 2,5 раза чаще регистрировали  $\alpha$ -зеленящие стрептококки (12,5%) и энтерококки (8,3%). Однако после естественных родов в ВДП у недоношенных детей в 5 раз чаще выявляли грибы *Candida* (16,7%), *S.pneumoniae* и *S.pyogenes* (Рисунок 8).

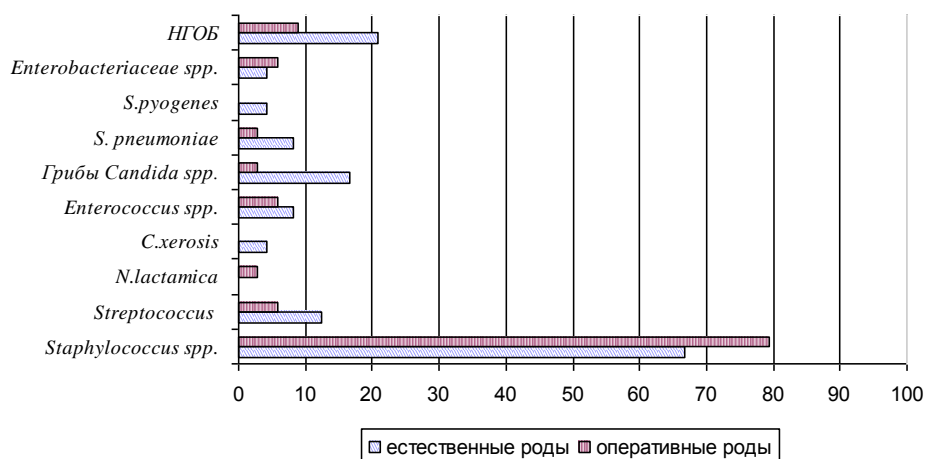


Рисунок 8 - Микрофлора ВДП у недоношенных детей в раннем неонатальном периоде в зависимости от вида родоразрешения (%)

Формирование микробного пейзажа слизистой ВДП зависело от наличия инфицирования, так в отделяемом ротоглотки чаще выявляли *U.urealyticum* (66,7%), *CMV* (33,3%), *M.hominis* (11,1%). У одного ребенка выявлена ассоциация *U.urealyticum* и *M.hominis*. Отмечено, что на фоне данных представителей преимущественно формируется контаминация условно-патогенной флорой: очень высокий уровень грибов *Candida* 44,4% ( $p=0,001$ ) с повышенной численностью данного представителя ( $Me=3,6$  lg КОЕ/т;  $U=127$ ,  $Z=-4,1$ ,  $p=0,001$ ); НГОБ, энтерококков и *S.pneumoniae*. Основные представители ВДП ( $\alpha$ -зеленящие стрептококки) не регистрировали в указанном биотопе, однако представители семейства *Neisseriaceae spp.* и *Corynebacterium spp.* заселяли данный биотоп на фоне инфицирования (Рисунок 9).

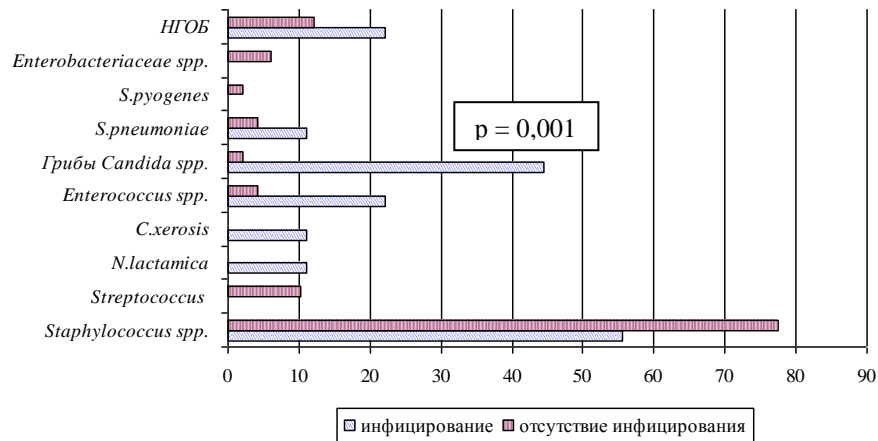


Рисунок 9 - Характер микробиоценоза ВДП у недоношенных детей при поступлении в отделение в зависимости от инфицирования (%)

Таким образом, на фоне инфицирования *U.urealyticum*, *CMV*, *M.hominis* на слизистой зева формируются преимущественно представители условно-патогенной флоры.

### 2.3. Формирование микробной экологии мочевыделительной системы

Нами изучен микробный пейзаж МВС у недоношенных детей при поступлении, при выписке из отделения патологии новорожденных и недоношенных детей ГБУЗ АО «АДКБ», возрасте 6 и 12 месяцев (Таблица 9).



Таблица 9 – Микробный пейзаж МВС у недоношенных детей в динамике (частота встречаемости %, Ig КОЕ/мл)

Микроорганизмы	Поступление в отделение		Выписка из отделения		6 месяцев		12 месяцев	
	%	Me (P25;75)	%	Me (P25;75)	%	Me (P25;75)	%	Me (P25;75)
Наличие микроорганизмов	37,9	3,5 (2,0;5,0)	94,8***	4,0 (3,5;5,0) ***	100	4,0 (4,0;5,0)	93,1	4,0 (3,5;4,7)
<i>Staphylococcus</i> (общее количество)	13,8	3,2 (3,0;4,7)	36,2***	3,5 (2,0;4,0) *	36,2	3,6 (3,0;4,0)	39,6	3,5 (3,0;3,9)
<i>S.epidermidis</i>	8,6	3,0 (2,5;4,0)	29,3**	3,0 (2,0;4,0) *	24,1	3,0 (3,0;3,7)	20,7	3,2 (2,0;4,0)
<i>S.haemolyticus</i>	1,7	3,5	5,2	3,7 (3,0)	13,8	4,0 (3,3;4,0)	10,3	3,7 (3,0)
<i>S.saprophyticus</i>	3,4	4,5 (4,0)	1,7	5,0	-	-	3,4	3,0
<i>Enterococcus</i> (общее количество)	10,3	3,8 (2,5;5,5)	44,8***	3,2 (3,0;4,2)	53,4	4,0 (3,0;4,0)	43,1	4,0 (3,0;4,4)
<i>E.faecium</i>	6,9	3,8 (2,4;4,7)	29,3	4,0 (3,0;4,7) **	10,3	3,0 (3,0)	-	-
<i>E.faecalis</i>	3,4	4,5 (3,0)	15,5**	3,0 (2,5;4,0)	43,1*	4,0 (3,0;4,0)	43,1	4,0 (3,0;4,4)
<i>Enterobacteriaceae</i> (общее количество)	3,4	3,0 (2,0)	75,9***	4,0 (2,2;4,7)***	79,3	5,0 (4,0;5,5) *	50,0*	4,0 (3,0;5,0) **
<i>E.coli</i>	3,4	3,0 (2,0)	34,5***	3,2 (2,0;5,0)***	63,8	5,0 (3,0;5,0) *	36,2	3,7 (3,0;5,0)
<i>K.pneumoniae</i>	-	-	24,1	4,0 (3,0;4,2)	17,2	5,0 (4,4;5,9)	3,4	4,7
<i>K.oxytoca</i>	-	-	-	-	20,7	3,5 (3,0;4,0)	3,4	3,0
<i>S.liquefaciens</i>	-	-	3,4	4,5 (4,0)	3,4	4,0	6,9	3,0
<i>S.odorifera</i>	-	-	10,3	4,0 (3,0;4,2)	-	-	-	-
<i>C.freundii</i>	-	-	1,7	6,0	-	-	3,4	3,0
<i>C.koseri</i>	-	-	-	-	6,9	3,0	-	-
<i>E.gergoviae</i>	-	-	-	-	-	-	3,4	4,0
<i>P.vulgaris</i>	-	-	-	-	10,3	4,0 (3,5)	6,9	4,7
НГОВ (общее количество)	3,4	5,3 (5,0)	5,2	4,7 (3,5)	3,4	4,7	3,4	4,0
<i>P.aeruginosa</i>	3,4	5,3 (5,0)	5,2	4,7 (3,5)	3,4	4,7	-	-
<i>Acinetobacter spp.</i>	-	-	-	-	-	-	3,4	4,0
Грибы <i>Candida</i> (общее количество)	13,8	2,7 (2,0;4,0)	-	-	-	-	-	-

Примечание. \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$

Наличие микроорганизмов в моче у детей в неонатальном периоде отмечалось у 37,9% детей, при этом бактериурия выявлена у 15,5%. В среднем ОМЧ составило 3,5 lg КОЕ/мл. Микробный пейзаж МВС представлен в основном грамположительными кокками – КОС (13,8%) и энтерококками (10,3%). Среди КОС преобладал *S.epidermidis* (8,6%), с меньшей частотой регистрировали *S.saprophyticus* (3,4%) и *S.haemolyticus* (1,7%). По численности доминировал *S.saprophyticus* (4,5 lg КОЕ/мл). Среди энтерококков лидирующее положение занимал *E.faecium* (6,9%), но в количественном составе преобладал *E.faecalis* (4,5 lg КОЕ/мл). Условно-патогенные энтеробактерии представлены одним видом - *E.coli* (3,4%, в количестве 3,0 lg КОЕ/мл), НГОб - *P.aeruginosa* (3,4%, в количестве 5,3 lg КОЕ/мл). У 13,8% детей регистрировали грибы рода *Candida*, преобладала *C.tropicalis* (8,6%), *C.albicans* выделяли у 5,2% детей.

За период выхаживания в стационаре у недоношенных детей в МВС отмечен рост частоты встречаемости микрофлоры (94,8% детей,  $p < 0,001$ ) с одновременным количественным увеличением ( $Me = 4,0$  lg КОЕ/мл,  $Q1 = 3,48$ ;  $Q3 = 5,0$ ), различия были статистически значимы ( $T = 83,00$ ;  $Z = -5,277$ ;  $p < 0,001$ ). Отмечен рост всей изучаемой бактериальной флоры, так процент выявления КОС увеличился почти в 3 раза и составил 36,2% ( $p < 0,001$ ) с сохранением прежнего видового состава; в 4 раза произошло увеличение частоты встречаемости энтерококков ( $p < 0,001$ ) с сохранением лидирующих позиций *E.faecium* (29,3%). Следует отметить резкое увеличение штаммов грамотрицательных энтеробактерий (75,9%,  $p < 0,001$ ) с расширением видового состава до 6 представителей. Наиболее часто выделяли из мочи *E.coli* (34,5%,  $p < 0,001$ ), *K.pneumoniae* (24,1%), *S.odorifera* (10,3%), в меньшем проценте случаев регистрировали *S.liquefaciens* (3,4%), *H.alvei* (1,7%) и *C.freundii* (1,7%). НГОб (*P.aeruginosa*) выявляли у 5,2% детей в количестве (4,7 lg КОЕ/мл).

Положительная динамика отмечена в элиминации из МВС грибов рода *Candida*.

В возрасте 6 месяцев у всех обследованных детей в моче выделялась микрофлора, в среднем количестве 4,0 lg КОЕ/мл. Частота выявления КОС

осталась на прежнем уровне (36,2%, 3,6 lg КОЕ/мл) как и при выписке детей из стационара, с сохранением доминирующих позиций *S.epidermidis* (24,1%). Энтерококки регистрировали у половины обследуемых детей (53,4%, 4,0 lg КОЕ/мл). Стоит отметить, что произошла смена доминирующего вида, так в 4 раза чаще стал выделяться *E.faecalis* (43,1%,  $p=0,035$ ). ГОЭБ, как и КОС остались на прежнем уровне (79,3%) при увеличении численности данных представителей ( $Me=5,0$  lg КОЕ/мл,  $Q1=4,0$ ;  $Q3=5,5$ ), различия были статистически значимы ( $Z=-2,174$ ;  $p=0,030$ ). Произошла сукцессия видового состава, так чаще других выделяли *E.coli* (63,8%), клебсиеллы представлены двумя видами - *K.pneumoniae* (17,2%) и *K.oxytoca* (20,7%), с прежней частотой регистрировали *S.liquefaciens* и появились новые штаммы - *C.koseri* (6,9%) и *P.vulgaris* (10,3%).

К возрасту 1 года у 93,1% детей в моче присутствовали микроорганизмы, преобладала кокковая флора. Отмечено расширение видового состава КОС до 4 представителей, наряду с постоянно регистрируемыми *S.epidermidis* (20,7%) и *S.haemolyticus* (10,3%) стали выделяться штаммы *S.saprophyticus* (3,4%) и *S.hominis* (6,9%). Энтерококки представлены только одним видом - *E.faecalis* (43,1%). Положительная тенденция отмечена в отношении ГОЭБ, снизился процент выявления данных представителей (50,0%,  $p=0,049$ ) с одновременным снижением численности ( $Me=4,0$  lg КОЕ/мл,  $Q1=3,0$ ;  $Q3=5,0$ ), различия были статистически значимы ( $Z=-2,708$ ;  $p=0,016$ ) при сохранении разнообразного видового пейзажа (7 представителей). Выделение из МВС *E.coli* (36,2%), *K.pneumoniae* (3,4%) и *S.liquefaciens* (6,9%) было с момента выписки из стационара, что может свидетельствовать о госпитальном характере данной микрофлоры. Среди НГОБ произошла смена *P.aeruginosa* на *Acinetobacter spp.* (3,4%, 4.0 lg КОЕ/мл).

Таким образом, в МВС практически у всех детей присутствуют микроорганизмы. Микробиота мочи представлена кокковой флорой (КОС и *Enterococcus spp.*) уровень которой остается без значительных колебаний с возраста 2 месяцев, что нельзя сказать про ГОЭБ. Отмечен значительный рост ГОЭБ за период госпитализации в стационаре с сохранением высокого уровня

данной группы микрофлоры до возраста 6 месяцев. Значительных колебаний в отношении НГОБ не выявлено. Дрожжеподобные грибы регистрировали только в неонатальном периоде с последующей их элиминацией из МВС.

В зависимости от веса при рождении выявлены некоторые различия в микрофлоре МВС, так на этапе лечения и выхаживания детей в стационаре из мочи УПБ (*P.aeruginosa*, *E.faecalis*, *C.albicans*) выделяли чаще у младенцев с ОНМТ (Рисунок 10). В неонатальном периоде частота выявления УПМ была небольшая - 14,3% дети с ЭНМТ и 17,4% дети с ОНМТ. К выписке из стационара у всех детей отмечен выраженный подъем обнаружения данных микроорганизмов, при этом у детей с ОНМТ практически в 2 раза чаще происходила контаминация УПМ с преобладанием ГОЭБ (73,9%). Во втором полугодии жизни (в 6 и 12 месяцев) УПМ (ГОЭБ) из мочи чаще высевались уже у детей с ЭНМТ (85,7%). К году отмечено снижение регистрации УПМ в моче у всех детей (57,1% - ЭНМТ; 43,5% - ОНМТ).

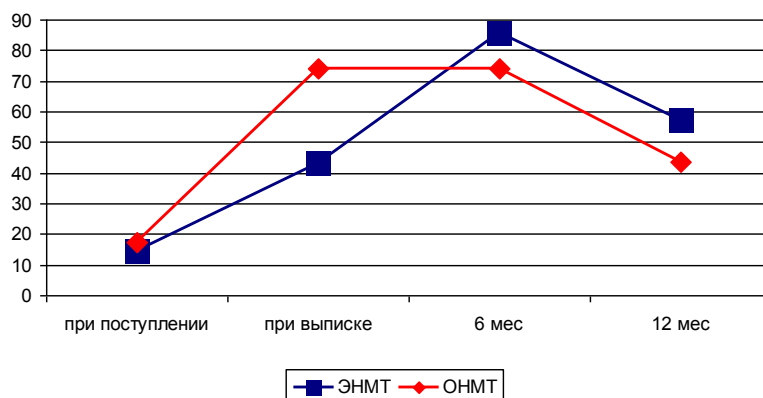


Рисунок 10 - Частота встречаемости УПМ в МВС у детей в динамике (%)

Нами изучена микрофлора МВС недоношенных детей на момент поступления в отделение патологии новорожденных и недоношенных детей на фоне инфицирования представителями *U.urealyticum*, *CMV*, *M.hominis*. Чаще из мочи выделяли *CMV* (33,3%), *U.urealyticum* (33,3%) и *M.hominis* (25,0%). Установлено, что на фоне инфицирования в 5 раз чаще у данной группы детей выявляли грибы рода *Candida* (40,0%,  $p=0,024$ ) и НГОБ (10,0%). Различий в частоте обсеменения МВС кокковой флорой (*Staphylococcus spp.* и *Enterococcus spp.*) не выявлено, но количество энтерококков было в 2 раза выше у детей на фоне инфицирования (6,0

1g КОЕ/мл), за счет *E.faecalis*. ГОЭБ (*E.coli*) выделяли у детей без признаков ВУИ (Рисунок 11).

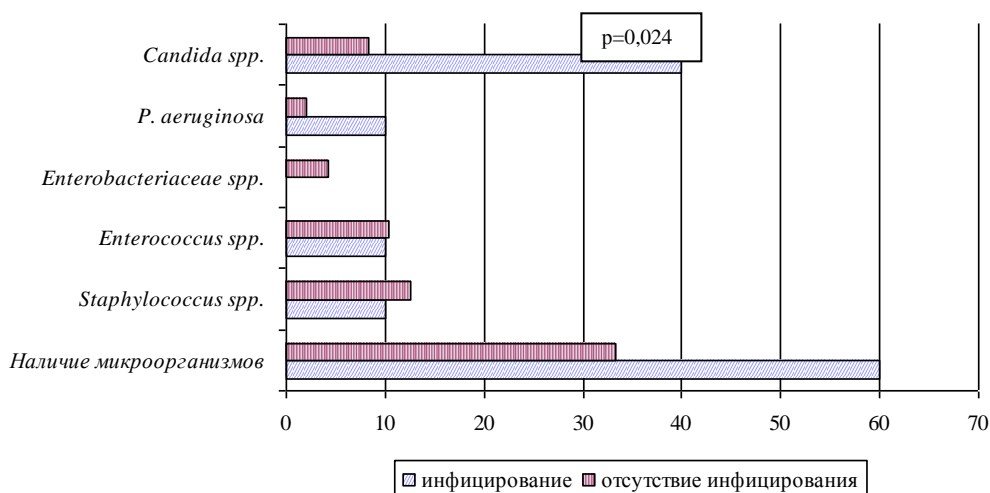


Рисунок 11 - Характер микробиоценоза мочевыделительной системы у недоношенных детей при поступлении в отделение на фоне инфицирования (%)

К моменту выписки из стационара у 10 детей (17,2%) в моче выделялся *CMV*, на этом фоне в два раза чаще регистрировали КОС (60,0%), за счет *S.epidermidis* ( $p=0,028$ ) и *P.aeruginosa* (10,0%).

Следовательно, на фоне инфицирования *U.urealyticum*, *CMV*, *M.hominis* происходит контаминация мочи грибами *Candida spp.* и *P.aeruginosa*.

**Резюме.** Формирование микробиоты основных биотопов, особенно толстой кишки у недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела имеет сложный и длительный процесс. Настораживает факт сохранения дефицита лактобактерий в толстой кишке у 43,1% к 12 месяцам жизни, особенно у детей с экстремально низкой массой тела при рождении. На слизистой зева выражен дефицит  $\alpha$ -зеленящих стрептококков, коагулазоотрицательных стафилококков более чем у половины обследованных детей. Прослеживается общая негативная тенденция к сохранению грамотрицательных энтеробактерий с высокой частотой встречаемости в толстой кишке и мочевыделительной системе.

### **ГЛАВА 3. Корреляционный и факторный анализ представителей микробиоценозов основных биотопов и факторы, влияющие на формирование микробиоты**

Для более полного понимания взаимоотношений между микроорганизмами в различных биотопах и действия основных факторов нами был проведен корреляционный и факторный анализ.

#### **3.1. Корреляционный анализ представителей микрофлоры верхних дыхательных путей, мочевыделительной системы и толстой кишки, срока гестации, массы тела ребенка при рождении, возраста при поступлении и при выписке из стационара**

Проведенный корреляционный анализ формирования основных микробиоценозов у недоношенных детей при поступлении в отделение выявил общие тенденции, так чем меньше срок гестации, тем чаще происходит контаминация *P.aeruginosa* ВДП ( $r_s = -0,38$ ,  $p=0,003$ ) и толстой кишки ( $r_s = -0,32$ ,  $p=0,015$ ) при этом имеется обратная связь слабой силы в отношении *E.coli* мочи ( $r_s = -0,28$ ,  $p=0,031$ ). Выявлены прямые корреляционные связи средней силы с возрастом детей при поступлении в отделение и НГОБ на слизистой ВДП ( $r_s = 0,38$ ,  $p=0,003$ ), толстой кишки ( $r_s = 0,32$ ,  $p=0,015$ ) и слабые связи *E.faecium* отделяемого зева ( $r_s = 0,26$ ,  $p=0,045$ ). Отмечена обратная связь слабой силы возраста детей и *Bacteroides spp.* толстой кишки ( $r_s = -0,29$ ,  $p=0,026$ ). Масса тела при рождении коррелирует с *C.tropicalis* мочи ( $r_s = 0,40$ ,  $p=0,002$ ) и *Lactobacillus spp.* толстой кишки ( $r_s = 0,26$ ,  $p=0,045$ ).

Межмикробные взаимодействия ВДП продемонстрировали, что КОС имели отрицательную связь с НГОБ, что свидетельствует о том, что при недостатке стафилококков происходит увеличение *P.aeruginosa* ( $r_s = -0,43$ ,  $p=0,001$ ), однако *S.xerosis* положительно коррелировали с НГОБ ( $r_s = 0,38$ ,  $p= 0,004$ ). Отмечена положительная связь между *E.faecalis* и *C.tropicalis* ( $r_s = 0,39$ ,  $p=0,003$ ) и конкурентные связи между представителями КОС - *S.epidermidis.* и *S.haemolyticus* ( $r_s = -0,51$ ,  $p=0,001$ ) (Рисунок 12).

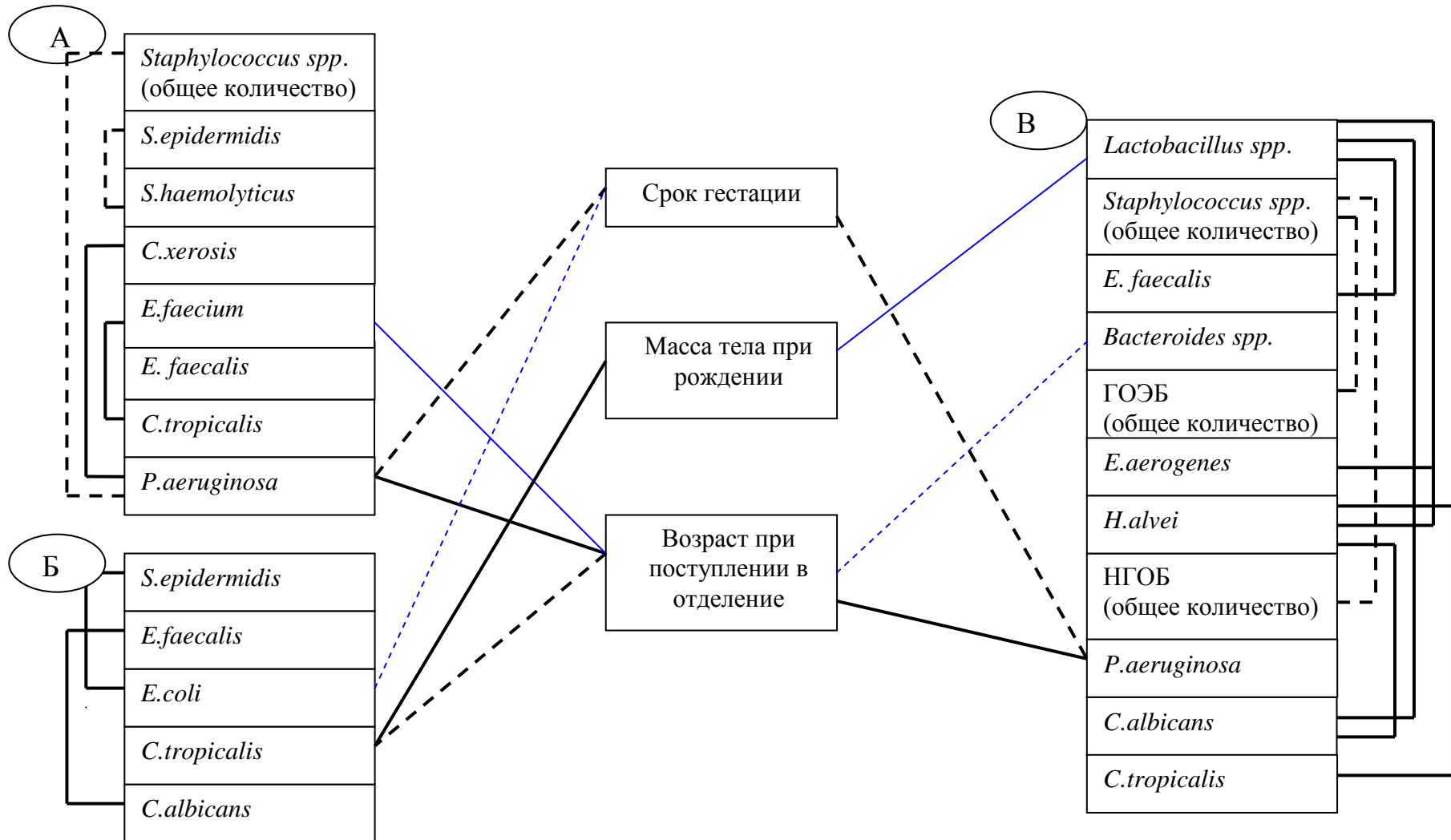


Рисунок 12 - Корреляционный анализ срока родов, массы тела, возраста при поступлении и микробиологических показателей отделяемого зева (А), мочи (Б) и фекалий (В) при поступлении в отделение

Примечания: сплошная линия – прямая корреляционная связь, пунктирная линия – обратная корреляционная связь.

$r_s$  от 0,01 до 0,29 слабая сила ———  $r_s$  от 0,3 до 0,69 средняя сила ———

На слизистой мочевых путей выявлены только положительные связи средней силы между *S.epidermidis* и *E.coli* ( $r_s = 0,31$ ,  $p=0,019$ ) и *C.albicans* и *E.faecalis* ( $r_s=0,41$ ,  $p=0,002$ ).

Наибольшее число межмикробных связей отмечено в толстой кишке, так при недостатке уровня КОС повышается частота ГОЭБ ( $r_s = - 0,39$ ,  $p= 0,002$ ) и НГОБ ( $r_s=-0,34$ ,  $p=0,010$ ). Следует отметить, что *Lactobacillus spp.* имеют большое число прямых связей средней силы с разнообразной микрофлорой, так выявлена связь с *C.albicans* ( $r_s = 0,47$ ,  $p=<0,001$ ), *E.faecalis* ( $r_s=0,38$ ,  $p=0,003$ ) и условно-патогенными энтеробактериями - *E.aerogenes* ( $r_s = 0,31$ ,  $p= 0,019$ ) и *H.alvei* ( $r_s = 0,42$ ,  $p=0,001$ ).

Таким образом, контаминация основных биотопов НГОБ (*P.aeruginosa*) происходит у детей с малым сроком гестации и большим возрастом при поступлении, эти изменения вероятнее связаны с госпитализацией детей в ОРН. Так же при недостатке облигатных КОС происходит обсеменение зева и толстой кишки ГОЭБ и НГОБ, что в дальнейшем отрицательно влияет на формирование микробиоты.

Длительная госпитализация детей в стационаре способствует контаминации ВДП грибами *Candida* ( $r_s = 0,35$ ,  $p= 0,008$ ), за счет *C.tropicalis* ( $r_s = 0,35$ ,  $p= 0,007$ ) и *S. 'milleri'* ( $r_s = 0,30$ ,  $p= 0,021$ ), а в толстой кишке с возрастом формируются *E.faecalis* ( $r_s = 0,36$ ,  $p= 0,006$ ) и *Clostridium spp.* ( $r_s = 0,28$ ,  $p= 0,036$ ).

К моменту выписки из стационара появились новые межмикробные корреляционные взаимосвязи, большое число которых выявлено на слизистой ВДП. КОС (*S.epidermidis*) коррелировали с *S. 'milleri'* ( $r_s = 0,31$ ,  $p= 0,017$ ), в свою очередь *S. 'milleri'* имели слабую связь с *K.pneumoniae* ( $r_s = 0,27$ ,  $p=0,038$ ), а *K.pneumoniae* с *C.xerosis* ( $r_s=0,31$ ,  $p=0,017$ ). Обнаружены прямые связи между энтерококками, за счет *E.faecium* и *M.catarrhalis* ( $r_s=0,36$ ,  $p=0,006$ ) и обратные связи между *Enterococcus spp.* и  $\alpha$ -зеленящими стрептококками ( $r_s=- 0,36$ ,  $p=0,005$ ). Длительная госпитализация способствует колонизации зева условно-патогенными и транзиторными микробами, так *S.pneumoniae* усиливает рост грибов *Candida*, особенно *C.albicans* ( $r_s = 0,56$ ,  $p=<0,001$ ) и *H.influenzae* ( $r_s = 0,50$ ,  $p= <0,001$ ) и наоборот. Представители рода *Serratia spp.* (*S.odorifera*) имели



прямые связи слабой и средней силы с  $\alpha$ -зеленящими стрептококками ( $r_s=0,26$ ,  $p=0,048$ ) и *N.lactamica* ( $r_s=0,33$ ,  $p=0,010$ ) (Рисунок 13).

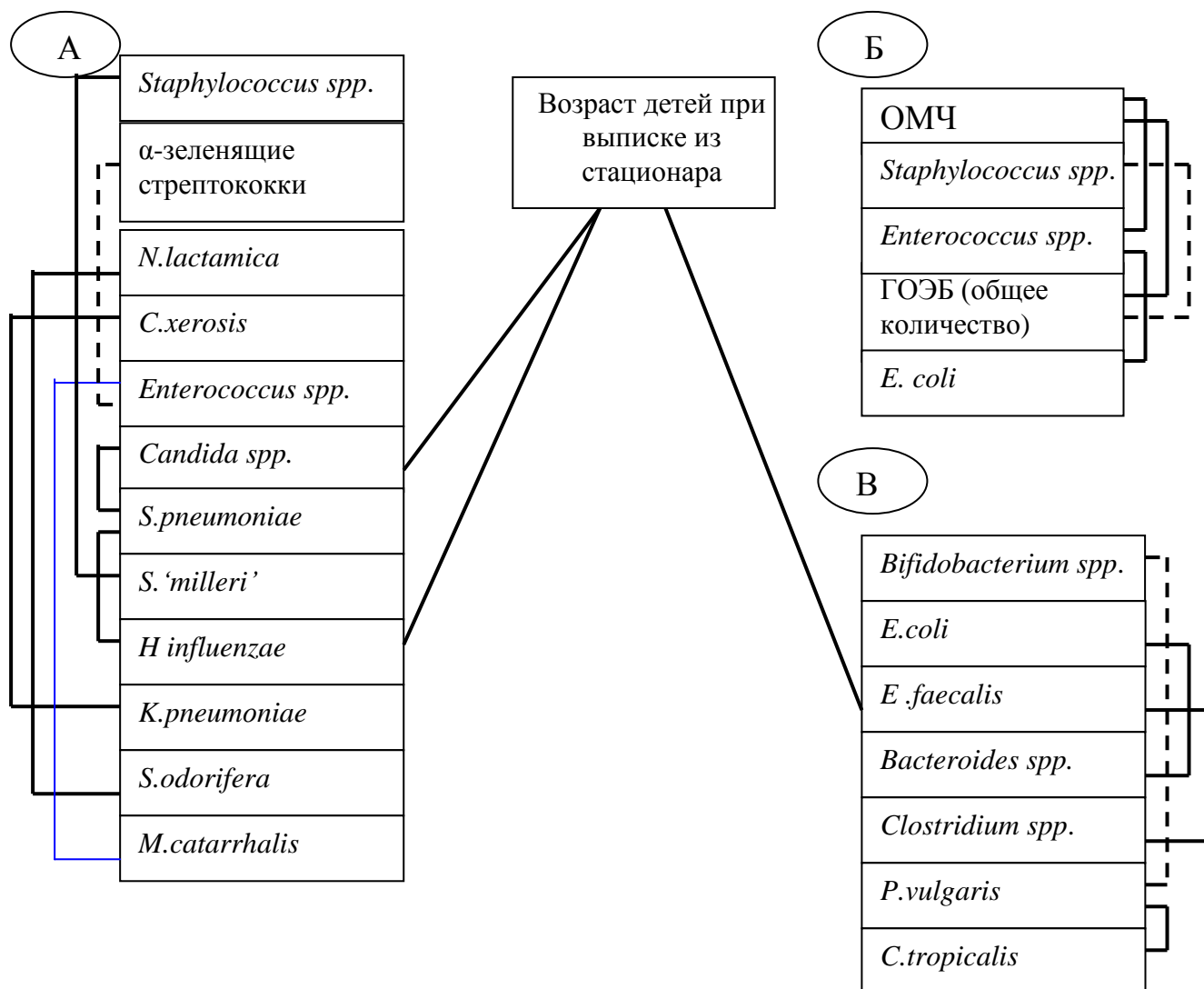


Рисунок 13 - Корреляционный анализ возраста при выписке и микробиологических показателей отделяемого зева (А), мочи (Б) и фекалий (В) при выписке из отделения

Примечания: сплошная линия – прямая корреляционная связь, пунктирная линия – обратная корреляционная связь.

$r_s$  от 0,01 до 0,29 слабая сила ———  $r_s$  от 0,3 до 0,69 средняя сила ———

К выписке меняется направленность корреляционных связей между представителями МВС, возрастает обсеменение данного биотопа ГОЭБ ( $r_s=0,53$ ,  $p= <0,001$ ) и *Enterococcus spp.* ( $r_s=0,42$ ,  $p=0,001$ ). Увеличение ГОЭБ, особенно представителей рода *Klebsiella* (*K.pneumoniae*), оказывает негативное влияние на

сохранение КОС, в частности *S.epidermidis* ( $r_s=-0,43$ ,  $p=0,001$ ). Появляется новая связь между энтерококками, за счет *E.faecalis* и *E.coli* ( $r_s=0,40$ ,  $p=0,002$ ).

Рассматривая внутрисистемные корреляции представителей микрофлоры толстой кишки, нами были выявлены отрицательные связи между *Bifidobacterium spp.* и бактериями рода *P.vulgaris* ( $r_s=-0,33$ ,  $p=0,011$ ), при этом *P.vulgaris* имеет прямую связь с *C.tropicalis* ( $r_s=0,36$ ,  $p=0,005$ ). У *Bacteroides spp.* выявлена прямая связь с типичными *E.coli* ( $r_s=0,34$ ,  $p=0,010$ ), а у *Clostridium spp.* с *E.faecalis* ( $r_s=0,30$ ,  $p=0,005$ ).

Следовательно, за период госпитализации происходит смена взаимосвязей между микроорганизмами в сообществах, появляются новые корреляции между условно-патогенными и облигатными представителями.

Учитывая, что толстая кишка является основным биотопом в организме ребенка, поэтому для более полного понимания взаимоотношений между экосистемами нами проведен корреляционный анализ микрофлоры толстой кишки и представителей микробиоценозов ВДП и МВС. Так, в неонатальном периоде (Рисунок 14) представители толстой кишки *Bifidobacterium spp.* способствуют обсеменению мочи *E.coli* ( $r_s=0,30$ ,  $p=0,022$ ). *Lactobacillus spp.* имеют большое число корреляций с представителями всех основных биотопов, так на слизистой зева и МВС усиливали рост грибов рода *Candida*, преимущественно за счет *C.albicans* ( $r_s=0,30$ ,  $p=0,021$ ;  $r_s=0,38$ ,  $p=0,003$ , соответственно) и в зеве выявляли прямые связи с *E.aerogenes* ( $r_s=0,46$ ,  $p<0,001$ ). Выявлены слабые связи между бактероидами толстой кишки и *C.tropicalis* мочи ( $r_s=0,26$ ,  $p=0,048$ ). В свою очередь грибы *Candida* кишечника имели связи с одноименными штаммами, как *C.albicans* ( $r_s=0,68$ ,  $p<0,001$ ), так и *C.tropicalis* ( $r_s=0,48$ ,  $p<0,001$ ) в МВС ( $r_s=0,53$ ,  $p<0,001$ ) и ВДП ( $r_s=0,35$ ,  $p=0,007$ ) за счет *C.albicans* ( $r_s=0,58$ ,  $p<0,001$ ).

*S.haemolyticus* толстой кишки коррелирует с одноименными штаммами в зеве ( $r_s=0,40$ ,  $p=0,002$ ) и МВС ( $r_s=0,34$ ,  $p=0,008$ ). *E.faecium* толстой кишки способствовал обсеменению МВС одноименными представителями ( $r_s=0,40$ ,  $p=0,002$ ), а *E.faecalis* - контаминации МВС *S.haemolyticus* ( $r_s=0,36$ ,  $p=0,005$ ).

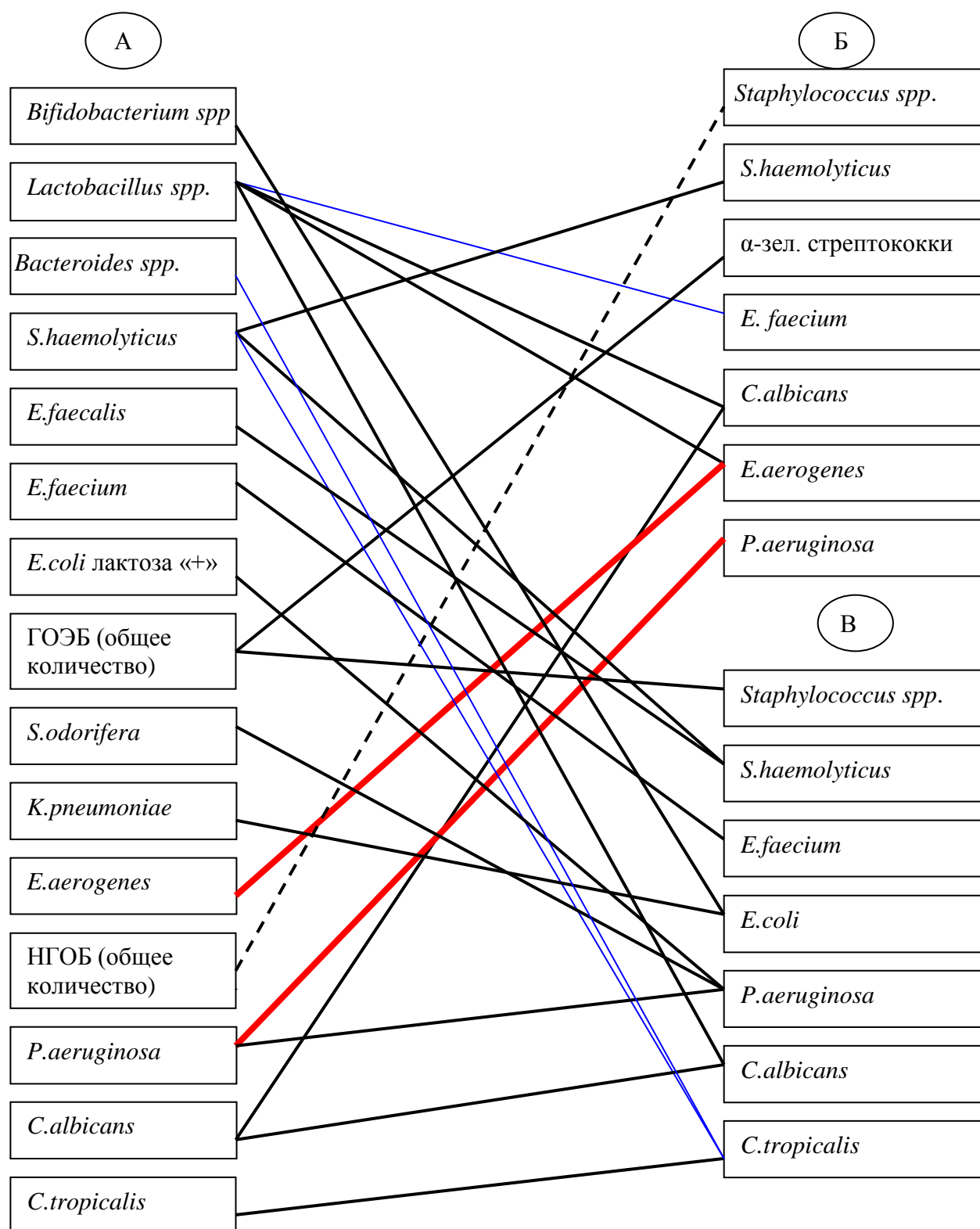


Рисунок 14 - Корреляционный анализ микрофлоры толстой кишки (А), ВДП (Б) и мочи (В) при поступлении в отделение

Примечания: сплошная линия – прямая корреляционная связь, пунктирная – обратная связь;  $r_s$  от 0,01 до 0,29 слабая сила связи —;  $r_s$  от 0,3 до 0,69 средняя сила связи —;  $r_s$  от 0,7 до 0,99 сильная сила связи —

Типичные кишечные палочки имели прямые связи средней силы с *P.aeruginosa* мочи ( $r_s=0,39$ ,  $p=0,003$ ).

Больше всего связей ГОЭБ толстой кишки отмечено с представителями МВС, так *P.vulgaris* имел прямые связи средней силы с КОС ( $r_s=0,37$ ,  $p=0,004$ ), за счет *S.epidermidis* ( $r_s=0,42$ ,  $p=0,001$ ) и *S.saprophyticus* ( $r_s=0,69$ ,  $p=<0,001$ ), а *K.pneumoniae* с *S.saprophyticus* ( $r_s=0,39$ ,  $p=0,002$ ) и *E.coli* ( $r_s=0,41$ ,  $p=0,002$ ). С представителями ВДП у ГОЭБ кишечника выявлено две значимые связи - *E.aerogenes* ( $r_s=0,33$ ,  $p=0,012$ ) и  $\alpha$ -зеленящие стрептококки ( $r_s=0,35$ ,  $p=0,007$ ).

Следует обратить внимание на прямые связи средней и сильной силы между *P.aeruginosa* толстой кишки и одноименным представителем в смежных биотопах – МВС ( $r_s=0,49$ ,  $p=<0,001$ ), ВДП ( $r_s=0,86$ ,  $p=<0,001$ ), что свидетельствует об одномоментной контаминации изучаемых биотопов *P.aeruginosa* при нахождении детей в ОРН.

Рассматривая межсистемные связи между представителями микрофлоры толстой кишки, ВДП и МВС к моменту выписки из стационара установлено появление новых корреляций (Рисунок 15). В системе микробного гомеостаза имели место отрицательные корреляции бифидобактерий с грибами *Candida* в отделяемом зева ( $r_s=-0,28$ ,  $p=0,036$ ). Отмечена прямая связь между *Bacteroides spp.* толстой кишки и *S.odorifera* ВДП ( $r_s=0,30$ ,  $p=0,022$ ) и отрицательная связь с КОС, в частности *S.epidermidis* ( $r_s=-0,39$ ,  $p=0,003$ ). Другие анаэробные представители толстой кишки - *Clostridium spp.* коррелируют с *K.pneumoniae* ( $r_s=0,36$ ,  $p=0,005$ ).

Типичные *E.coli* толстой кишки приобрели взаимосвязи с одноименными представителями верхних дыхательных путей ( $r_s=0,32$ ,  $p=0,015$ ) и МВС ( $r_s=0,32$ ,  $p=0,014$ ), а *S.odorifera* с одноименным штаммами в моче ( $r_s=0,41$ ,  $p=0,002$ ). Наряду с положительными связями, нами отмечены отрицательные корреляции типичных эшерихий кишечника и *S.epidermidis* зева ( $r_s=-0,31$ ,  $p=0,016$ ) и мочи ( $r_s=-0,28$ ,  $p=0,034$ ).

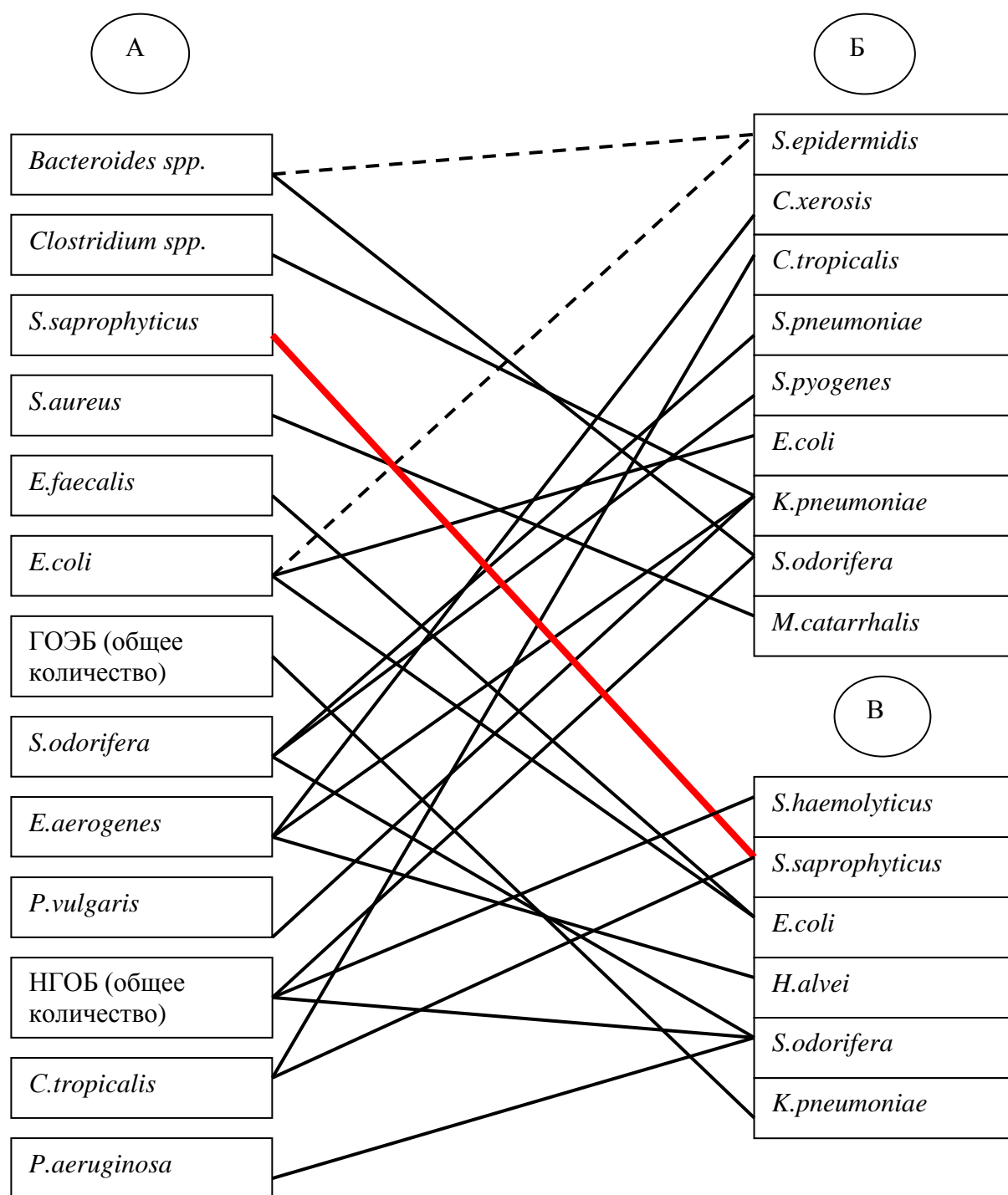


Рисунок 15 - Корреляционный анализ микрофлоры толстой кишки (А), ВДП (Б) и мочи (В) при выписке из отделения

Примечания: сплошная линия - прямая корреляционная связь, пунктирная линия - обратная корреляционная связь

$r_s$  от 0,3 до 0,69 средняя сила связи —————

$r_s$  от 0,7 до 0,99 сильная сила связи —————

К выписке появляются разнообразные корреляционные связи взаимодействия между условно-патогенными представителями толстой кишки и микроорганизмами МВС и ротоглотки, так ГОЭБ толстой кишки способствуют контаминации мочи *K.pneumoniae* ( $r_s=0,38$ ,  $p=0,003$ ); *S.odorifera* коррелирует с *H.alvei* ВДП ( $r_s=0,29$ ,  $p=0,026$ ). Одновременно с этим бактерии рода *Serratia spp.* толстой кишки имели прямые связи с патогенными стрептококками зева: *S.pneumoniae* ( $r_s=0,30$ ,  $p=0,023$ ) и *S.pyogenes* ( $r_s=0,33$ ,  $p=0,011$ ). Были зарегистрированы новые взаимосвязи *P.vulgaris* с *E.coli* зева ( $r_s=0,42$ ,  $p=0,001$ ) и была утрачена корреляция с микрофлорой МВС. Отмечено, появление прямых связей между *E.aerogenes* толстой кишки и микрофлорой ротоглотки - *K.pneumoniae* ( $r_s=0,30$ ,  $p=0,022$ ) и *C.xerosis* ( $r_s=0,31$ ,  $p=0,019$ ). Утрачены связи синегнойной палочки с одноименным представителем смежных биотопов, при этом обнаружены прямые связи *P.aeruginosa* с *S.odorifera* отделяемого зева ( $r_s=0,30$ ,  $p=0,024$ ) и мочи ( $r_s=0,37$ ,  $p=0,004$ ). Выявлены малочисленные связи грибов *Candida* толстой кишки с *S.saprophyticus* мочи ( $r_s=0,59$ ,  $p<0,001$ ) и одноименным представителем *C.tropicalis* ( $r_s=0,57$ ,  $p<0,001$ ) зева.

Оценивая динамику изменения межсистемных корреляционных связей можно утверждать, что во время длительной госпитализации в стационаре у недоношенных детей происходит увеличение условно-патогенной флоры в толстой кишке и появление их в смежных биотопах (ВДП и МВС). Утрачивается большая часть связей облигатной флоры кишечника. Положительный момент отмечен в отрицательной связи бифидобактерий и грибов *Candida* зева.

В возрасте детей 6 месяцев корреляционный анализ показал (Рисунок 16), что в системе кишечного микробного гомеостаза имели место корреляции численности типичных кишечных палочек с содержанием энтерококков обоих видов – *E.faecalis* ( $r_s=0,55$ ,  $p=0,002$ ), *E.faecium* ( $r_s=0,56$ ,  $p=0,001$ ) и данных представителей между собой ( $r_s=0,71$ ,  $p<0,001$ ). При этом *E.faecalis* коррелировал с общей численностью ГОЭБ ( $r_s=0,43$ ,  $p=0,018$ ), а ГОЭБ имели обратную связь с лактозонегативными эшерихиями ( $r_s=-0,61$ ,  $p<0,001$ ). Отмечена еще одна связь между стафилококками – КОС и *S.aureus* ( $r_s=0,56$ ,  $p=0,001$ ).

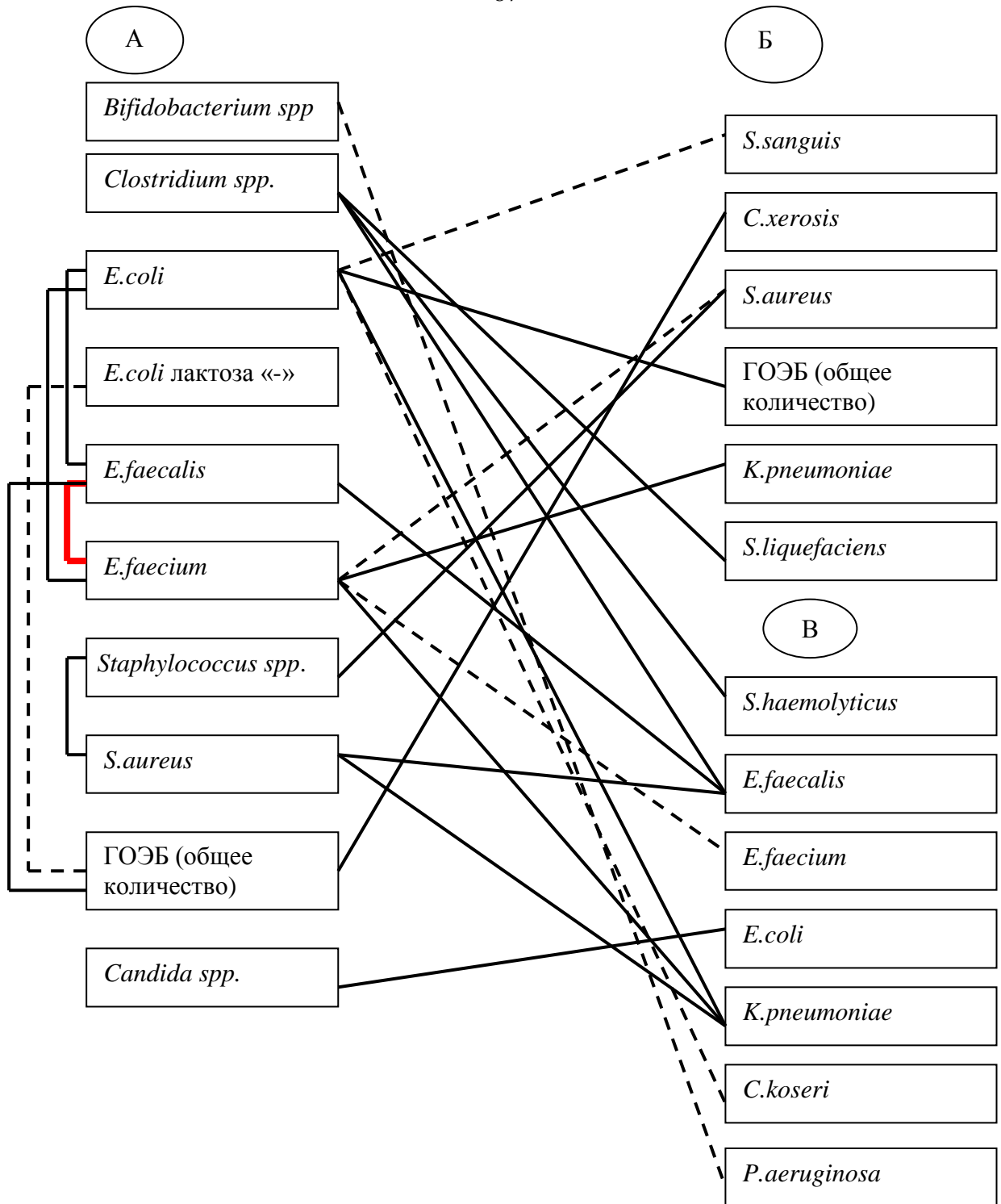


Рисунок 16 - Корреляционный анализ микрофлоры толстой кишки (А), ВДП (Б) и мочи (В) у недоношенных детей в 6 месяцев

Примечания: сплошная линия - прямая корреляционная связь, пунктирная линия - обратная корреляционная связь

$r_s$  от 0,3 до 0,69 средняя сила связи —————

$r_s$  от 0,7 до 0,99 сильная сила связи —————

Корреляционный анализ между представителями кишечной микробиоты и микроорганизмами смежных биотопов (ВДП, МВС) показал наибольшее число статистически значимых связей с микрофлорой МВС. Наблюдалась обратная связь средней силы бифидобактерий и *P.aeruginosa* ( $r_s=-0,37$ ,  $p=0,043$ ). Выявлены корреляционные взаимосвязи средней силы содержания типичных эшерихий с представителями ГОЭБ – положительная связь с *K.pneumoniae* ( $r_s=0,40$ ,  $p=0,027$ ) и обратная с *C.koseri* ( $r_s=-0,43$ ,  $p=0,017$ ). При этом с *K.pneumoniae* МВС были зарегистрированы прямые связи *E.faecium* ( $r_s=0,37$ ,  $p=0,042$ ) и *S.aureus* ( $r_s=0,49$ ,  $p=0,006$ ) толстой кишки, а *S.aureus* коррелировал с *E.faecalis* МВС ( $r_s=0,43$ ,  $p=0,018$ ). В кишечном межмикробном взаимодействии была отмечена прямая связь между видами энтерококков, а между смежными биотопами картина оказалась разноречивая. *E.faecalis* имел прямую связь с одноименным штаммом в мочевых путях ( $r_s=0,36$ ,  $p=0,050$ ), а *E.faecium* обратную ( $r_s=-0,39$ ,  $p=0,032$ ). Анаэробные представители толстой кишки – клостридии имели связь с *E.faecium* ( $r_s=0,58$ ,  $p=0,001$ ) и *S.haemolyticus* ( $r_s=0,40$ ,  $p=0,028$ ). Грибы рода *Candida* показали двустороннюю прямую связь средней силы с типичными кишечными палочками МВС ( $r_s=0,39$ ,  $p=0,035$ ).

Между микробными представителями толстой кишки и микроорганизмами зева отмечено меньшее число связей. Однако на фоне небольшого числа корреляций имелись иные связи, но и сохранялись схожие микробные взаимодействия. Нами отмечены отрицательные связи типичных эшерихий толстой кишки с *S.sanguis* зева ( $r_s=-0,44$ ,  $p=0,016$ ) и прямые связи с общим количеством ГОЭБ ( $r_s=0,43$ ,  $p=0,018$ ). *E.faecium* толстой кишки отрицательно коррелировал с *S.aureus* зева ( $r_s=-0,42$ ,  $p=0,022$ ) и имел прямую связь с *K.pneumoniae* ( $r_s=0,36$ ,  $p=0,050$ ), данная связь однотипная, как и в МВС, что указывает на взаимодействие всех основных биотопов между собой. Общее количество ГОЭБ толстой кишки поддерживает прямую связь средней силы с *C.xerosis* ( $r_s=0,43$ ,  $p=0,018$ ), а КОС с *S.aureus* ( $r_s=0,42$ ,  $p=0,021$ ), такой же характер взаимодействий был выявлен и в толстой кишке. Анаэробные представители



кишечника – клостридии имели прямую связь с *S.liquefaciens* зева ( $r_s=0,44$ ,  $p=0,016$ ).

Следовательно, к возрасту 6 месяцев происходит практически полная смена межмикробных взаимодействий между представителями толстой кишки и микроорганизмами смежных биотопов. Большая часть статистически значимых связей отмечена с микрофлорой МВС, что указывает на более тесный контакт данных биоценозов.

К возрасту 12 месяцев появляются микробные взаимосвязи облигатной микрофлоры, как внутри кишечного биотопа, так и со смежными микробиоценозами. Выявлена прямая связь средней силы между бифидофлорой и типичными кишечными палочками толстой кишки ( $r_s=0,43$ ,  $p=0,017$ ). Лактофлора коррелировала с анаэробными представителями – бактероидами ( $r_s=0,41$ ,  $p=0,023$ ). На фоне прямых связей отмечены конкурентные взаимоотношения бифидобактерий с *S.liquefaciens* ( $r_s=-0,45$ ,  $p=0,013$ ) и типичных *E.coli* с *C.albicans* ( $r_s=-0,97$ ,  $p=0,005$ ). Однако, лактозонегативные эшерихии прямо коррелировали с дрожжеподобными грибами *Candida* ( $r_s=0,40$ ,  $p=0,027$ ) и имели обратные связи с *E.faecalis* ( $r_s=-0,39$ ,  $p=0,034$ ) и с ГОЭБ ( $r_s=-0,49$ ,  $p=0,006$ ). В свою очередь *E.faecalis* прямо коррелировал с общим количеством ГОЭБ ( $r_s=0,47$ ,  $p=0,008$ ). Необходимо отметить, что последние две связи сохранились с возраста 6 месяцев, что свидетельствует о формировании прочных видов взаимоотношений к году жизни ребенка. Нами выявлены иные корреляционные связи представителей толстой кишки с микроорганизмами зева и МВС при сравнении с возрастом детей 6 месяцев. Сохранилась прежняя тенденция, что большая часть взаимосвязей была между микрофлорой толстой кишки и МВС. Так, бифидобактерии имели обратные связи средней силы с *C.tropicalis* зева ( $r_s=-0,39$ ,  $p=0,035$ ), *S.liquefaciens* ( $r_s=-0,46$ ,  $p=0,010$ ) и общим количеством КОС ( $r_s=-0,43$ ,  $p=0,018$ ) МВС. Лактобактерии имели прямые связи с *S.aureus* зева ( $r_s=0,36$ ,  $p=0,048$ ) и обратные связи с ГОЭБ МВС ( $r_s=-0,37$ ,  $p=0,045$ ). Типичные *E.coli*, как и бифидобактерии отрицательно коррелировали с *C.tropicalis* зева ( $r_s=-0,38$ ,  $p=0,036$ ) и *E.faecalis* мочи ( $r_s=-0,41$ ,  $p=0,024$ ). КОС толстой кишки имели прямую связь средней силы с

*S.mitis* зева ( $r_s=0,41$ ,  $p=0,025$ ). Наблюдались обратные связи бактериоидов с КОС зева ( $r_s=-0,41$ ,  $p=0,025$ ) и прямые связи клостридий с *E.coli* МВС ( $r_s=0,42$ ,  $p=0,022$ ). Грибы *Candida* толстой кишки имели обратную связь с КОС МВС ( $r_s=-0,39$ ,  $p=0,033$ ) рисунок 17.

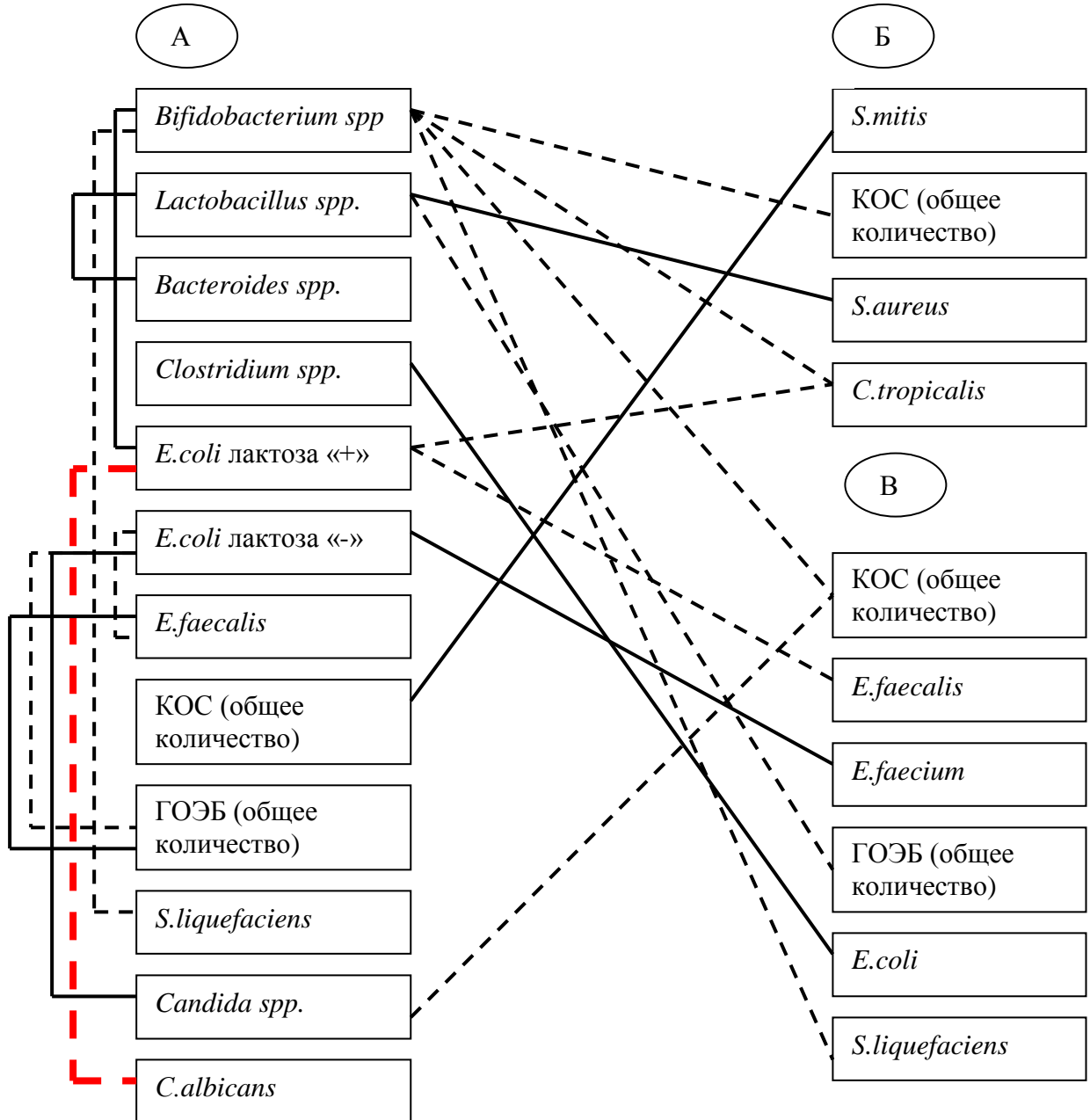


Рисунок 17 - Корреляционный анализ микрофлоры толстой кишки (А), ВДП (Б) и мочи (В) у недоношенных детей в 12 месяцев

Примечания: сплошная линия - прямая корреляционная связь, пунктирная линия - обратная корреляционная связь

$r_s$  от 0,3 до 0,69 средняя сила связи —————

$r_s$  от 0,7 до 0,99 сильная сила связи —————

Таким образом, только к возрасту детей 1 года постепенно формируется микробиота основных биотопов и появляются прямые и обратные межмикробные связи в «главном» микробиоценозе организма – толстой кишке и устойчивые связи с микроорганизмами смежных биотопов – верхние дыхательные пути и мочевыделительная система.

### 3.2. Факторный анализ основных показателей микробиоты организма ребенка

#### 3.2.1. Факторный анализ основных показателей микробиоты при поступлении и при выписке детей из стационара

Учитывая тематику проводимого исследования, нами был проведен факторный анализ основных показателей и выявлены факторы, влияющие на процесс формирования микробиоты толстой кишки, зева и мочевыделительной системы.

Факторный анализ показателей основных биотопов организма ребенка в раннем неонатальном периоде показал влияние госпитализации детей в отделение реанимации новорожденных детей (Рисунок 18).

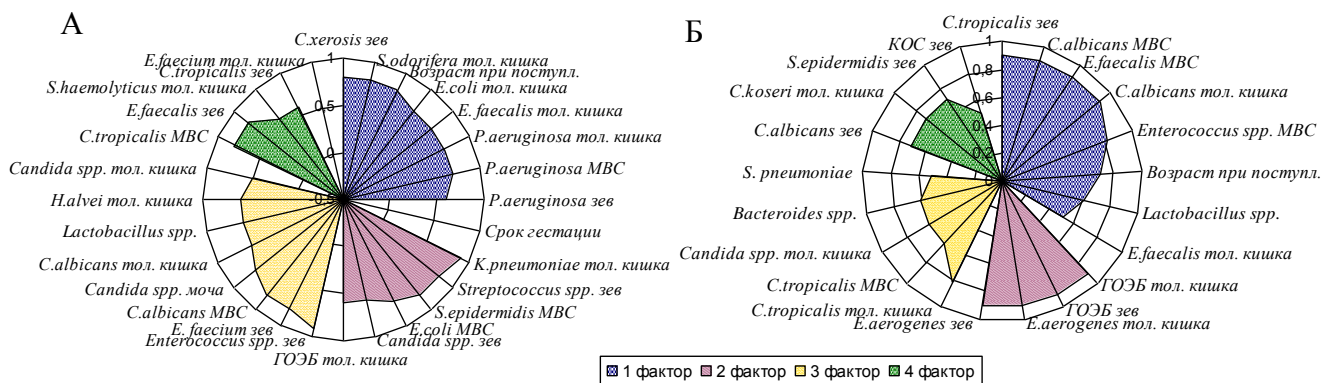


Рисунок 18 - Факторный анализ основных показателей микробиоты ВДП, МВС, толстой кишки у детей при поступлении в отделение в зависимости от госпитализации в ОРН (А – наличие госпитализации в ОРН, Б – отсутствие госпитализации в ОРН)

Первый фактор преимущественно сформирован из представителей реанимационной микрофлоры – *P.aeruginosa*, выявленной из всех основных биотопов (отделяемое зева (0,6), толстой кишки (0,7) и МВС (0,7)). При этом, чем меньше срок гестации (-0,5), тем чаще этим детям требуется длительная

госпитализация в ОРН (0,8), где и происходит контаминация основных биотопов *P.aeruginosa* с одновременным заселением кишечника *S.odorifera* (0,8), типичной *E.coli* (0,7) и *E.faecalis* (0,7).

У детей, переведенных на второй этап выхаживания из родильных домов города и области, факторный анализ имел иную картину, так во всех биотопах преобладали дрожжеподобные грибы рода *Candida* (отделяемое зева (0,9), толстой кишки (0,9) и МВС (0,9)), представленные в кишечнике и МВС *C.albicans* (0,9), а на слизистой зева *C.tropicalis* (0,9). Одновременно происходит заселение *E.faecalis* смежных биотопов (толстая кишка (0,5) и МВС (0,8)). Положительный момент отмечен в формировании лактобактерий у детей, не прошедших госпитализацию в ОРН, однако заселение данными представителями происходит медленно (0,7).

В структуре второго фактора после ОРН оказались ГОЭБ толстой кишки (0,6), представленные преимущественно *K.pneumoniae* (0,9) и МВС (*E.coli* (0,7)). На слизистой ВДП определяли дрожжеподобные грибы рода *Candida* (0,6), за счет *C.tropicalis* (0,6) и *Streptococcus spp.*(0,8).

Схожая ситуация отмечена и у детей без лечения в ОРН. Во втором факторе сосредоточились так же ГОЭБ толстой кишки (0,9) и зева (0,9), представленные одним видом *E.aerogenes* (0,9).

Третий микрoэкологический фактор, независимо от госпитализации в ОРН был представлен грибами рода *Candida*, выявленными в МВС и толстой кишке при отличительном видовом пейзаже, так после ОРН регистрировали *C.albicans* (0,8 и 0,6, соответственно), а без ОРН *C.tropicalis* (0,7 и 0,8, соответственно). Только в третьем факторе у реанимационных пациентов в кишечнике появляются лактобактерии (0,6), а у младенцев без ОРН анаэробные представители – *Bacteroides spp.* (0,6). В зеве формируются энтерококки (0,9) за счет *E.faecium* (0,8) на фоне реанимационных мероприятий и *S.pneumoniae* (0,5) у детей без ОРН.

В четвертом факторе сохраняются грибы *Candida* как у детей после госпитализации в ОРН, так и без ОРН. У детей после лечения в ОРН имеются взаимосвязи между *C.tropicalis* мочи (0,8) и зева (0,6) при одновременной связи с

*E.faecalis* (0,8). Более благоприятная ситуация отмечена у детей без лечения в ОРН, в зеве выявляется связь между КОС (0,5), за счет *S.epidermidis* (0,7) и *C.albicans* (0,7).

У реанимационных пациентов отмечалось расширение взаимосвязей между микроорганизмами, на первом месте были НГОБ, выявленные из всех основных биотопов организма ребенка при одновременной колонизации ГОЭБ (*S.odorifera*, *K.pneumoniae*). Наблюдалось позднее формирование лактобактерий в толстой кишке, в сравнении с детьми без госпитализации в ОРН. Отмечено, что обнаружение грибов рода *Candida* не зависело от госпитализации в ОРН.

Проведенный факторный анализ при выписке детей из стационара показал появление новых взаимосвязей между основными представителями микробиоты (Рисунок 19).

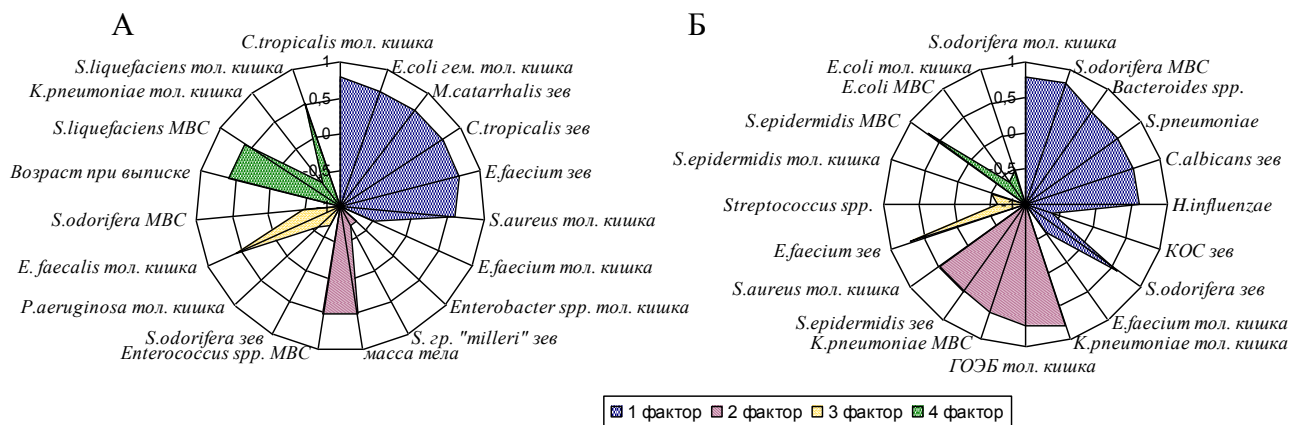


Рисунок 19 - Факторный анализ основных показателей микробиоты ВДП, MBC, толстой кишки у детей при выписке детей из стационара в зависимости от госпитализации в ОРН (А – наличие госпитализации в ОРН, Б – отсутствие госпитализации в ОРН)

По сравнению с поступлением изменился характер микробиологических взаимосвязей во всех изучаемых микробиоценозах независимо от госпитализации детей в ОРН. Факторный анализ продемонстрировал преобладание условно-патогенной флоры над облигатными представителями. В группе детей после госпитализации в ОРН на первый план (первый фактор) вышли грибы рода *Candida* (*C.tropicalis*) толстой кишки (0,8) и зева (0,7), однако у детей, не

находившихся на лечении в реанимационном отделении, в зеве присутствуют грибы вида *C.albicans* (0,6), что свидетельствует о присутствии основного представителя грибов рода *Candida*, колонизирующих человека. Наряду с грибами в первом факторе после ОРН присутствовали энтерококки зева (0,6), представленные *E.faecium* (0,7), при отрицательных значениях данного представителя в толстой кишке (-0,5), схожая ситуация отмечена и у детей без лечения в ОРН (*E.faecium* (-0,5)). По сравнению с поступлением изменился характер микробиологических взаимосвязей во всех изучаемых микробиоценозах независимо от госпитализации детей в ОРН. Факторный анализ продемонстрировал преобладание условно-патогенной флоры над облигатными представителями. В группе детей после госпитализации в ОРН на первый план (первый фактор) вышли грибы рода *Candida* (*C.tropicalis*) толстой кишки (0,8) и зева (0,7), однако у детей, не находившихся на лечении в реанимационном отделении, в зеве присутствуют грибы вида *C.albicans* (0,6), что свидетельствует о присутствии основного представителя грибов рода *Candida*, колонизирующих человека. Наряду с грибами в первом факторе после ОРН присутствовали энтерококки зева (0,6), представленные *E.faecium* (0,7), при отрицательных значениях данного представителя в толстой кишке (-0,5), схожая ситуация отмечена и у детей без лечения в ОРН (*E.faecium* (-0,5)). Вероятнее всего имеются конкурентные взаимоотношения между грибами *Candida* и энтерококками. В толстой кишке (после ОРН) так же имеются взаимосвязи между гемолизинпродуцирующими *E.coli* (0,7) и *S.aureus* (0,6). За период госпитализации в стационаре происходит сукцессия НГОБ за счет *M.catarrhalis* (0,7). Наблюдалась контаминация всех изучаемых биотопов госпитальным штаммом *S.odorifera* (толстая кишка – 0,9; МВС – 0,8; ВДП – 0,6) у детей без лечения в ОРН (при поступлении выявлялась в группе детей после ОРН). Одновременно в зеве имелись микробные связи между *S.pneumoniae* (0,6) и *H.influenzae* (0,6) при подавлении заселения КОС (-0,6).

Второй фактор (после ОРН) оказался малочисленным и представлен в основном микрофлорой МВС, так в моче доминирующей группой были

энтерококки (0,5) преимущественно у детей с низкой массой тела при рождении (0,5), в сравнении с детьми, которые не были в ОРН. У данной группы детей сохранялась схожая ситуация как и в первом факторе, в толстой кишке ГОЭБ (0,7) представлены госпитальным штаммом *K.pneumoniae* (0,8), которая одновременно колонизировала и МВС (0,6). На слизистой зева были КОС (0,5), а в кишечнике *S.aureus* (0,5).

В третьем факторе (у детей после ОРН) имели место обратные связи в отношении представителей рода *Serratia* (зев (-0,7); МВС (-0,5)) в сравнении со вторым фактором у детей при отсутствии госпитализации в ОРН. При этом третий фактор включал представителя облигатной микрофлоры толстой кишки – *E.faecalis* (0,6) при конкурентной связи с *P.aeruginosa* (-0,6). Так же наблюдались обратные связи микроорганизмов у детей без проведения реанимационных мероприятий в сравнении с показателями в раннем неонатальном периоде, что свидетельствует о влиянии госпитальной флоры на заселение биотопов облигатными представителями изучаемых микробиоценозов. Отмечена отрицательная связь между  $\alpha$ -зеленящими стрептококками зева (-0,6), КОС (-0,5) и *E.faecium* (0,7).

Четвертый микрoэкологический фактор (после ОРН) демонстрировал контаминацию МВС и толстой кишки *S.liquefaciens* (0,6; 0,5, соответственно) у детей при длительной госпитализации в стационаре, что доказывает большой возраст детей при выписке (0,6). В группе детей без проведения реанимационных мероприятий положительный момент отмечен в отношении заселения МВС КОС (*S.epidermidis* (0,7)) при отрицательных значениях типичных эшерихий толстой кишки (-0,5) и МВС (-0,6).

### **3.2.2. Факторный анализ микрoэкологических показателей верхних дыхательных путей, мочевыделительной системы и толстой кишки от длительности госпитализации детей в стационаре**

Недоношенный ребенок с ОНМТ и ЭНМТ в силу незрелости всех органов и систем вынужден длительное время находится на этапе выхаживания в стационаре, что может достигать несколько месяцев. Нами проведен факторный

анализ микробиологических показателей основных биотопов на момент выписки детей из стационара. Все дети были разделены на четыре группы, в зависимости от длительности госпитализации в отделении патологии новорожденных и недоношенных детей (Рисунок 20).

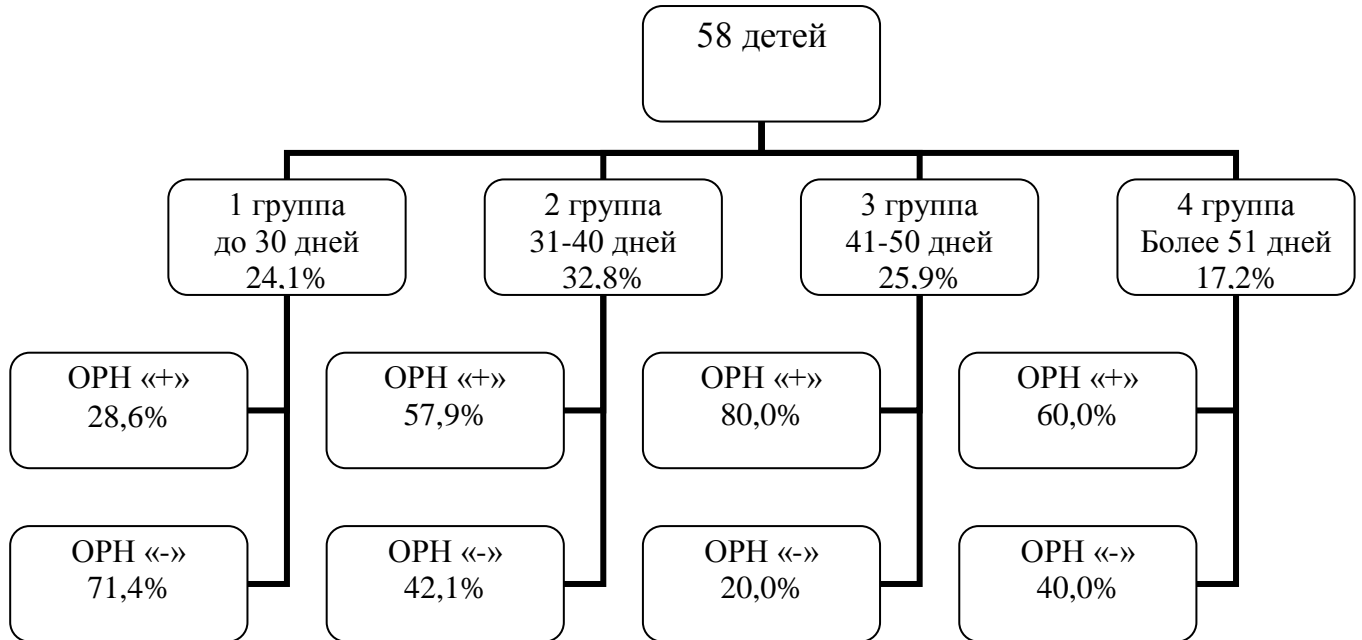


Рисунок 20 - Распределение детей по группам в зависимости от длительности госпитализации и пребывания детей в ОРН (%)

Факторный анализ продемонстрировал, что в первой группе (первый фактор) – при наименьшей продолжительности госпитализации детей в стационаре в толстой кишке заселяются лактобактерии (0,5), в зеве *N.lactamica* (0,8). При этом не происходит формирование *Enterococcus spp.* в толстой кишке (-0,8) и МВС (-0,5), при заселении *S.epidermidis* (0,5). Следует обратить внимание, что даже при наименьшем сроке госпитализации основные биотопы (зев (0,8), МВС (0,7), толстая кишка (0,7)) обсеменяются условно-патогенным представителем *S.odorifera*.

Во второй фактор вошли преимущественно представители условно-патогенной флоры - *E.coli* (МВС (0,9), ВДП (0,5)), лактозонегативные эшерихии толстой кишки (0,6). Происходит заселение кишечника *E.faecalis* (0,8) при отрицательных значениях данного представителя на слизистой зева (-0,5).

Третий фактор был представлен облигатной микрофлорой толстой кишки (бифидобактерии (0,8)) и КОС (*S.epidermidis* (0,6)). Наличие данных



микроорганизмов отражает защитную роль микрофлоры кишечника (колонизационная резистентность) в препятствии контаминации ГОЭБ ротоглотки (*H. alvei* (-0,8)), МВС (*K. pneumoniae* (-0,7)) и толстой кишки (-0,5).

Четвертый микроэкологический фактор включал в себя представителей госпитальной флоры - *K.pneumoniae*, которая выявлялась в кишечнике (0,7) и зеве (0,6). Однако на фоне этого в зеве формируются КОС (*S.epidermidis* (0,8)), а в толстой кишке происходит контаминация *S.aureus* (0,7), при подавлении роста типичных эшерихий (-0,5).

При госпитализации детей до 40 дней (2 группа) первый фактор представлен условно-патогенной флорой, преимущественно ротоглотки: *H.influenzae* (0,9), *S.pneumoniae* (0,9), *S.liquefaciens* (0,9) и *C.albicans* (0,9). В толстой кишке и МВС - *S.odorifera* (0,7), при отсутствии формирования облигатного пула – бифидобактерий (-0,6).

Во втором факторе сосредоточены в основном отрицательные значения микробиоты, так в зеве не формируется кокковая флора (*S.epidermidis* (-0,7) и *E.faecium* (-0,6)), в МВС и толстой кишке условно-патогенные представители: *K.pneumoniae* (-0,6) и *S.aureus* (-0,6) на фоне формирования облигатного пула - *E.coli* (0,6) и *Bacteroides spp.* (0,6).

Третий фактор продемонстрировал конкурентные взаимоотношения между энтерококками (0,7) и *S.epidermidis* (-0,6) толстой кишки и КОС и *P.aeruginosa* (-0,6) МВС.

К четвертому фактору относились *Clostridium spp.* (0,7) и *E.aerogenes* (0,6) – толстой кишки; *K.pneumoniae* (0,7) и *S. 'milleri'*(0,6) – ВДП.

В группе детей при госпитализации до 50 дней на первый план (первый фактор) выступили как представители условно-патогенной флоры, так и облигатные представители. На слизистой зева имелась взаимосвязь между *S.pneumoniae* (0,8) и *E.faecalis* (0,5). В толстой кишке формируется облигатный пул за счет *Bacteroides spp.* (0,7) и *Clostridium spp.* (0,6) при одновременном заселении типичных эшерихий (0,6), однако на фоне этого происходит контаминация *K.pneumoniae* (0,8), в МВС - *P.aeruginosa* (0,8).

Во втором факторе имелись прямые связи *C.tropicalis* в двух основных биотопах: толстая кишка (0,8) и зев (0,6), на фоне этого имело место наличие отрицательных связей бифидобактерий (-0,6) и ГОЭБ толстой кишки (-0,6) и прямой связи с *E.faecium* (0,6) зева. Так же одновременно в двух смежных биотопах (МВС и толстая кишка) выявлялись *S.saprophyticus* (0,8).

В структуре третьего фактора были ГОЭБ МВС (0,7), представленные штаммами рода *Serratia spp.*(0,5) при отрицательной связи с *H.alvei* (-0,5). Имеется прямая взаимосвязь между *E.faecalis* МВС и толстой кишки (0,6) при формировании лактозонегативных *E.coli* (0,6) и подавления контаминации *E.aerogenes* (-0,7).

Имелись прямые взаимосвязи между *S.epidermidis* и энтерококками, как в толстой кишке, так и в МВС, что еще раз доказывает о контаминации микроорганизмами кишечника смежных биотопов, в частности мочевыделительной системы. Только в четвертом факторе отмечено появление  $\alpha$ -зеленящих стрептококков (0,5).

Проведенный факторный анализ микрoэкологических показателей при длительной госпитализации недоношенных детей в стационаре (более 51 дня) продемонстрировал, что в «главном» биотопе (толстая кишка) организма ребенка преобладают связи между условно-патогенной флорой: гемолизинпродуцирующими эшерихиями (0,9), *S.aureus* (0,9), *C.tropicalis* (0,6) и облигатно-анаэробными бактероидами (0,9), при отрицательных значениях ГОЭБ (-0,6). Вероятнее всего конкурентная связь возникает между дрожжеподобными грибами и ГОЭБ, так как подобная картина отмечалась в группе детей при госпитализации до 50 дней. Так же в первом факторе были НГОБ зева, представленные штаммами *M.catarrhalis* (0,9) и *S.epidermidis* (0,7) МВС, при отсутствии взаимосвязей с другими представителями в данных биотопах.

Во втором факторе появляются облигатные представители микробиоты кишечника – бифидобактерии (0,9) и энтерококки двух видов (*E.faecalis* (0,8) и *E.faecium* (0,7)) при антагонистическом влиянии на *P.vulgaris* (-0,9).

Третий фактор продемонстрировал доминирующее влияние формирования условно-патогенной флоры в МВС, в первую очередь энтерококков (0,7), за счет *E.faecalis* (0,6) и ГОЭБ, с преобладанием *E.coli* (0,7) и *K.pneumoniae* (0,5). Обращает на себя внимание, что при длительной госпитализации детей в условиях стационара в толстой кишке облигатные микробиологические показатели имеют отрицательное значение – КОС (-0,8), за счет *S.epidermidis* (-0,8), клостридии (-0,7) и лактобактерии (-0,5), на фоне этого выявлена конкурентная связь между *S.odorifera* (0,6) и *K.pneumoniae* (-0,6).

В четвертом факторе еще больше показателей имеют отрицательные значения, как и облигатной, так и условно-патогенной флоры. Схожая ситуация (как и в 3 группе детей) отмечена в отношении  $\alpha$ -зеленящих стрептококков, которые появляются значительно позже (0,6).

Таким образом, факторный анализ продемонстрировал влияние длительности госпитализации на формирование микробиоты основных микробиоценозов недоношенного ребенка. Отмечено, что при наименьшей госпитализации (до 30 дней) в составе микроэкологического фактора облигатные представители присутствовали в большом количестве: в толстой кишке (лакто-, бифидобактерии), ВДП (*N.lactamica*, КОС). Становление других облигатных представителей кишечника (*E.coli*, *Bacteroides spp.*) и зева (*Streptococcus spp.*) замедлено.

Установлено, что у детей всех групп, независимо от длительности госпитализации и лечения в отделении реанимации имелись связи между условно-патогенными представителями во всех биоценозах, что свидетельствует о госпитальном характере данных представителей (Рисунок 21).

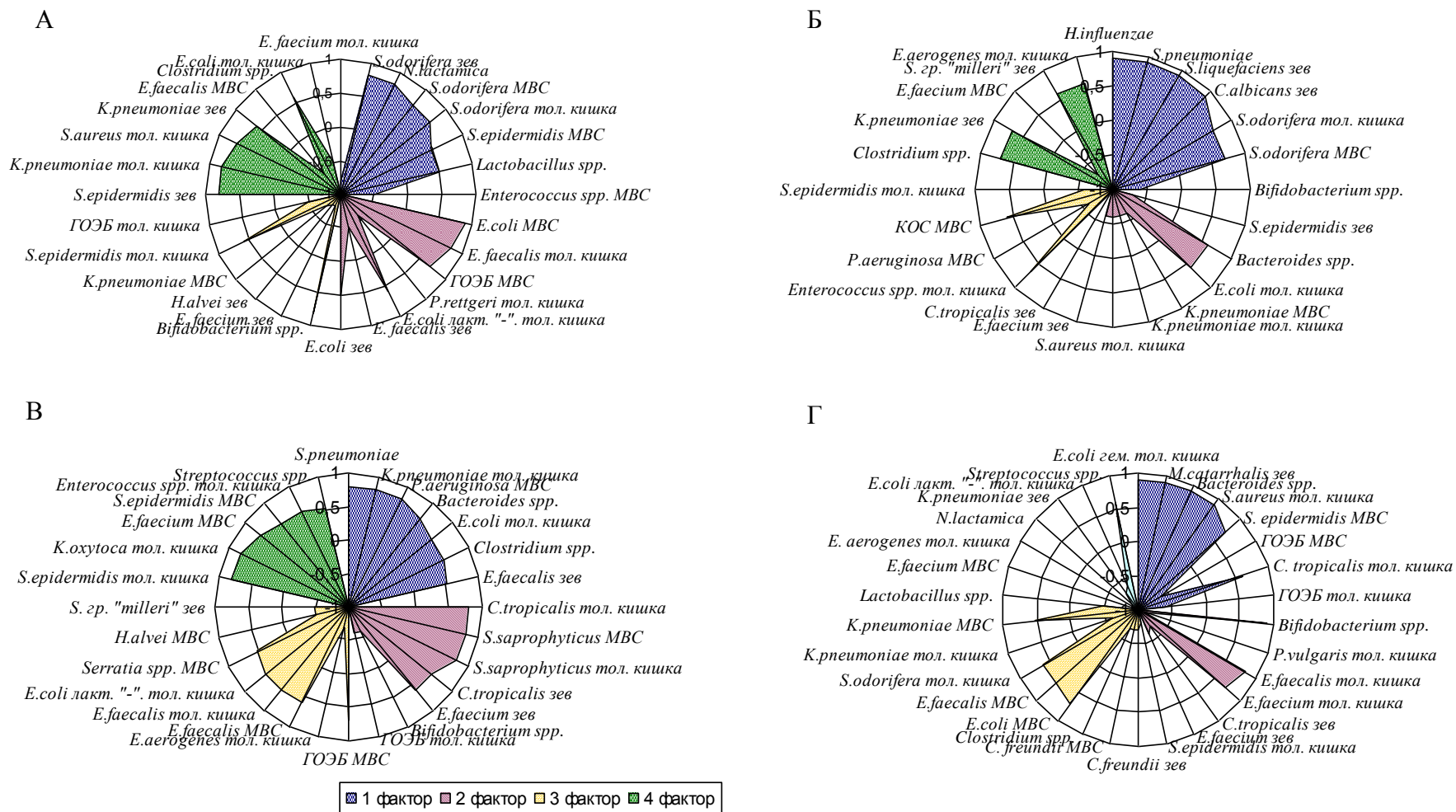


Рисунок 21 - Факторный анализ основных показателей микробиоты ВДП, МВС, толстой кишки у недоношенных детей на момент выписки из стационара от длительности госпитализации (А – 1 группа, Б – вторая группа, В – третья группа, Г – четвертая группа)

### 3.2.3. Факторный анализ микрoэкологических показателей верхних дыхательных путей, мочевыделительной системы и толстой кишки у детей в возрасте 6 месяцев

Проведенный нами факторный анализ продемонстрировал, что в структуре первого фактора были преимущественно представители дыхательных путей - *E.coli* (0,7), *C.tropicalis* (0,6), *E.faecalis* (0,6), *N.lactamica* (0,6), а также один показатель МВС - *K.pneumoniae* (0,5), что свидетельствует о сохранении и преобладании условно-патогенной флоры, вероятнее госпитального характера.

Второй фактор представлен микрофлорой толстой кишки – ГОЭБ (0,6), *E.coli* (0,6), *E.faecalis* (0,5) при наличии отрицательной связи лактозонегативных эшерихий (-0,6) и МВС - *E.faecalis* (0,7) при отрицательных значениях *C.koseri* (-0,5).

В третьем факторе имелись отрицательные связи между представителями МВС – ГОЭБ (0,8) за счет *E.coli* (0,5) и КОС (*S.haemolyticus* (-0,5)), в зеве картина была обратная - *S.epidermidis* (0,5) и *S.liquefaciens* (-0,6).

Четвертый микрoэкологический фактор схож со вторым фактором, показано, что имеется связь между *Enterococcus spp.* толстой кишки, в частности *E.faecium* (0,6) и *P.vulgaris* (0,5) при отрицательном значении *E.faecium* (-0,5) МВС (Рисунок 22).

Таким образом, в возрасте 6 месяцев сохраняется напряженность микрoэкологических показателей с преобладанием преимущественно условно-патогенной флоры.

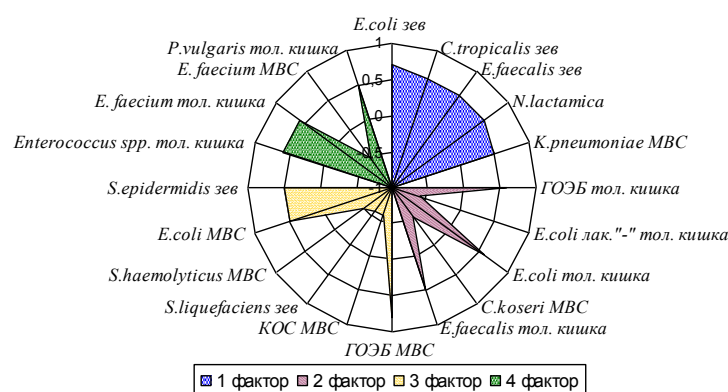


Рисунок 22 - Факторный анализ микробиологических показателей ВДП, МВС и толстой кишки у детей в возрасте 6 месяцев

### 3.2.4. Факторный анализ микрoэкологических показателей верхних дыхательных путей, мочевыделительной системы и толстой кишки у детей в возрасте 12 месяцев

Формирование микробиоты основных микробиоценозов длительный процесс, поэтому нами проведен факторный анализ в возрасте 12 месяцев (Рисунок 23).

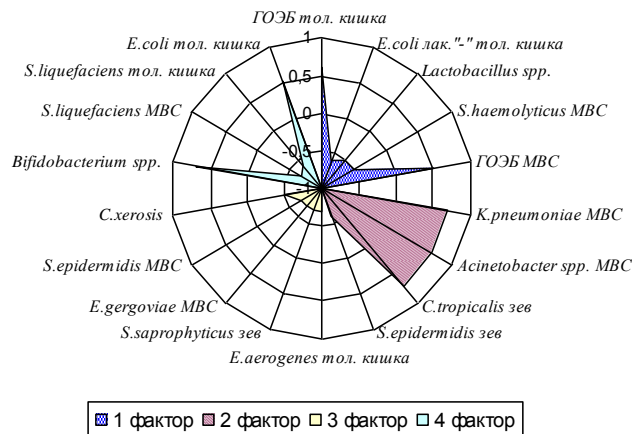


Рисунок 23 - Факторный анализ микробиологических показателей ВДП, МВС и толстой кишки у детей в возрасте 12 месяцев

Первый фактор составили ГОЭБ толстой кишки (0,6) и МВС (0,5) при этом происходит антагонистическое влияние на лактобактерии (-0,5), лактозонегативные эшерихии (-0,6) кишечника и *S. haemolyticus* (-0,5) МВС. Это еще раз доказывает о взаимосвязи между двумя смежными биотопами.

Второй фактор продемонстрировал наличие положительной связи между ГОЭБ (*K. pneumoniae* (0,7)) и НГОБ (*Acinetobacter spp.* (0,7)) МВС и отрицательной связи между *C. tropicalis* (0,7) и *S. epidermidis* (-0,6) ВДП.

В третьем факторе все связи имели отрицательный характер - *S. epidermidis* (-0,7), *E. gergoviae* (-0,7) в МВС; *E. aerogenes* (-0,7) толстой кишки; *S. saprophyticus* (-0,7) и *C. xerosis* (-0,5) зева.

В четвертом факторе появляются облигатные представители толстой кишки – бифидобактерии (0,7), *E. coli* (0,5) при подавлении *S. liquefaciens* одновременно в МВС (-0,7) и толстой кишке (-0,6).

Вышеуказанные изменения показали, что к возрасту 1 года появляются антагонистические взаимосвязи между облигатными представителями толстой

кишки, при сохранении значимой роли условно-патогенных представителей. Это свидетельствует о появлении колонизационной резистентности нормофлоры.

### 3.2.5. Факторный анализ микрoэкологических показателей верхних дыхательных путей, мочевыделительной системы и толстой кишки в зависимости от вскармливания

Характер вскармливания играет важную роль в формировании микробиома кишечника, как в количественном, так и в качественном отношении, поэтому нами проведен факторный анализ микрoэкологических показателей основных биотопов организма недоношенного ребенка в разные возрастные периоды (Рисунок 24).

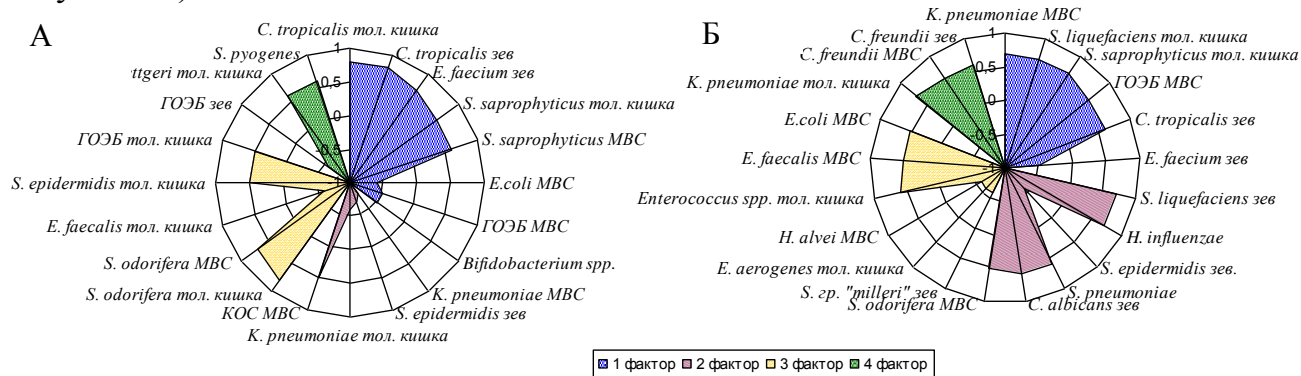


Рисунок 24 - Факторный анализ основных показателей ВДП, МВС, толстой кишки у недоношенных детей на момент выписки из стационара при грудном (А) и искусственном вскармливании (Б)

Характер микробных взаимосвязей к выписке из стационара на фоне вскармливания грудным молоком продемонстрировал, что в первом факторе были дрожжеподобные грибы рода *Candida*, представленные *C. tropicalis* толстой кишки (0,8) и зева (0,8), *S. saprophyticus* толстой кишки (0,6) и МВС (0,6), а так же *E. faecium* ВДП (0,7). На фоне этого имеются обратные связи *E. coli* МВС (-0,6) с бифидобактериями толстой кишки (-0,5).

На искусственном вскармливании в первом факторе сосредоточены так же преимущественно представители условно-патогенной флоры – *GOЭБ* МВС (0,6), представленные *K. pneumoniae* (0,7), *S. liquefaciens* толстой кишки (0,7), *C. tropicalis* зева (0,6) и *S. saprophyticus* кишечника (0,7).

Во втором факторе на фоне естественного вскармливания большая часть связей имела отрицательный характер - *K.pneumoniae* МВС (-0,8) и толстой кишки (-0,6), КОС дыхательных путей (-0,6) за счет *S.epidermidis* (-0,7) и одна положительная связь КОС мочевыделительной системы (0,5).

Второй фактор на фоне искусственного кормления представлен микрофлорой зева - *S.liquefaciens* (0,7), *H.influenzae* (0,7), *S.pneumoniae* (0,6) и *C.albicans* (0,6) при наличии конкурентной связи с *S.epidermidis* (-0,6).

В третий фактор (грудное вскармливание) вошли ГОЭБ, представленные *S.odorifera* толстой кишки (0,8) и МВС (0,7), так же *S.epidermidis* (0,5) при отрицательной связи *E.faecalis* кишечника (-0,6).

При искусственном вскармливании в третьем факторе имелись антагонистические связи микроорганизмов, как в толстом кишечнике (*E.aerogenes* (-0,6) и *Enterococcus spp.* (0,6)), так и в МВС (*H.alvei* (-0,6), *E.faecalis* (0,5) и *E.coli* (0,5)).

В четвертый фактор на естественном кормлении вошли три представителя, при этом имела конкурентная связь ГОЭБ (-0,6) и *S.pyogenes* (0,5) зева и отмечен один представитель толстой кишки - *P.rettgeri* (0,6).

На искусственном кормлении в четвертом факторе так же были три представителя, но связи имели положительный характер. Выявлен синергизм *C.freundii* МВС (0,6) и ВДП (0,6) на фоне *K.pneumoniae* кишечника (0,7).

Следовательно, на момент выписки из стационара не зависимо от вида вскармливания отсутствовали взаимосвязи облигатных представителей во всех изучаемых биотопах. Имели место взаимосвязи, как прямого, так и обратного характера условно-патогенных представителей, что свидетельствует о доминировании данного пула микрофлоры в микробиоценозах.

У детей в возрасте 6 месяцев при различных видах вскармливания возникли новые взаимосвязи между микробиологическими показателями в микробиоценозах. Наблюдалось, на фоне грудного кормления, отсутствие связей грибов *Candida*, при этом в первом факторе доминирующей группой были энтерококки - *E.faecium* зева (0,9) и МВС (0,9), а в кишечнике *E.faecalis* (0,8),



*K.oxytoca* МВС (0,9) и толстой кишки (0,9) и *S.aureus* зева (0,5) при отрицательном влиянии данных представителей на  $\alpha$ -зеленящие стрептококки (-0,9) ВДП, *S.haemolyticus* (-0,6) МВС и *P.vulgaris* (-0,6) кишечника.

На смешанном вскармливании в первом факторе появляются облигатные представители кишечника – бифидобактерии (0,9), энтерококки (*E.faecium* (0,9) и *E.faecalis* (0,9)), однако в МВС между *E.faecium* (-0,9) и *E.faecalis* (0,9) отмечены антагонистические связи.

На искусственном вскармливании в первом факторе были - *S.liquefaciens* зева (0,7), *C.koseri* (0,7) и клостридии (0,7) толстой кишки, *S.haemolyticus* МВС (0,7).

Во втором факторе при кормлении грудным молоком появляются облигатные представители, в первую очередь толстой кишки (бифидобактерии (0,8), клостридии (0,7)), что свидетельствует о формировании микробиоты данного биотопа, однако имели место прямые связи с условно-патогенными представителями как кишечника - ГОЭБ (0,9), так и МВС - *E.coli* (0,9).

На смешанном вскармливании наблюдались связи облигатного пула зева (*Streptococcus spp.*(0,9), *S.epidermidis* (0,7)), кишечника (*E.coli* (0,7)) с условно-патогенными представителями - *K.pneumoniae* (-0,9) кишечника и *S.aureus* одновременно в толстой кишке (-0,6) и зеве (-0,9), что свидетельствует о проявлении колонизационной резистентности.

На искусственном кормлении во втором факторе доминировали представители толстой кишки - *K.pneumoniae* (0,6), *E.faecalis* (0,6), *E.faecium* (0,5), *E.coli* (0,6) и выявлен один показатель МВС - *E.faecalis* (0,7).

В третьем факторе на естественном вскармливании продолжают появляться связи облигатной микробиоты (лактобактерии (0,9)) при отрицательных значениях *H.alvei* (-0,9) кишечника, что свидетельствует о формировании микробиоты за счет лактобактерий.

На смешанном вскармливании наблюдалась схожая картина, что при кормлении грудным молоком, больше становится облигатных представителей (бактероиды (0,8), *C.xerosis* (0,8)), которые имеют конкурентные связи с *C.tropicalis* (-0,7) *K.pneumoniae* МВС (-0,7), при сохранении прямых связей с

*K.pneumoniae* зева (0,8), *K.oxytoca* МВС (0,8) и толстой кишки (0,8). Данные прямые связи могут указывать на сохранение госпитальных штаммов микроорганизмов. В четвертом факторе лактобактерии (0,9) и энтерококки МВС (0,7) имеют конкурентные связи с *P.vulgaris* кишечника (-0,9) и МВС (-0,9).

В третьем и четвертом факторах на искусственном вскармливании отсутствуют облигатные представители толстой кишки, в сравнении с показателями на грудном и смешанном вскармливании. Наблюдаются преимущественно взаимосвязи условно-патогенной флоры, что указывает на количественный и качественный дисбаланс микробиоты основных биотопов обследуемых детей (Рисунок 25).

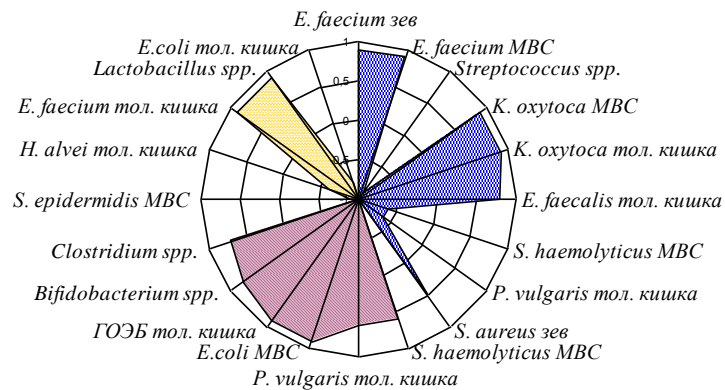
К 12 месяцам 86,2% обследуемых детей находились на искусственном вскармливании, поэтому проведение корректного факторного анализа не представлялось возможным.

Следовательно, проведенный факторный анализ микрoэкологических показателей на фоне различных видов вскармливания демонстрирует положительное влияние грудного и смешанного кормления на становление микробиоты.

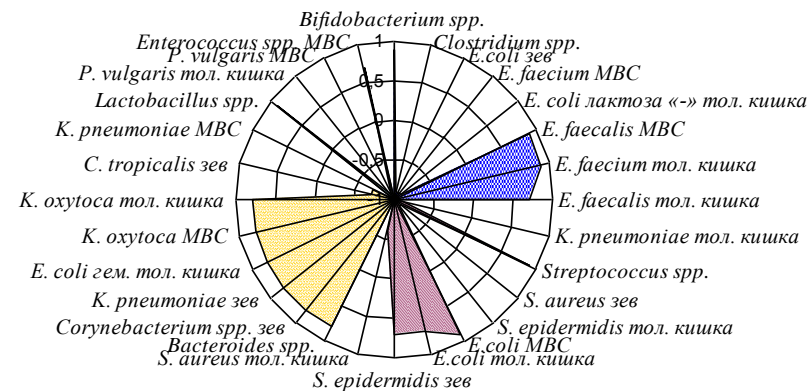
**Резюме.** Используя метод корреляционного и факторного анализа, установлено, что во время госпитализации в стационаре происходит постоянная сукцессия микроорганизмов во всех изучаемых биотопах с преобладанием условно-патогенных госпитальных штаммов микроорганизмов. Показаны достоверные корреляционные связи между микробиотой толстой кишки и микрофлорой смежных биотопов (ВДП, МВС). Только к году наблюдаются антогонистические связи облигатных представителей толстой кишки с условно-патогенной флорой дыхательных и мочевых путей, что свидетельствует о формировании колонизационной резистентности.

Динамическое наблюдение за микробиотой организма недоношенного ребенка с ОНМТ и ЭНМТ выявило сохранение напряженности становления нормальной микрoэкологии, что требует продления наблюдения за процессом формирования микробиоты до 3 летнего возраста, особенно у детей с ЭНМТ при рождении.

А



Б



В

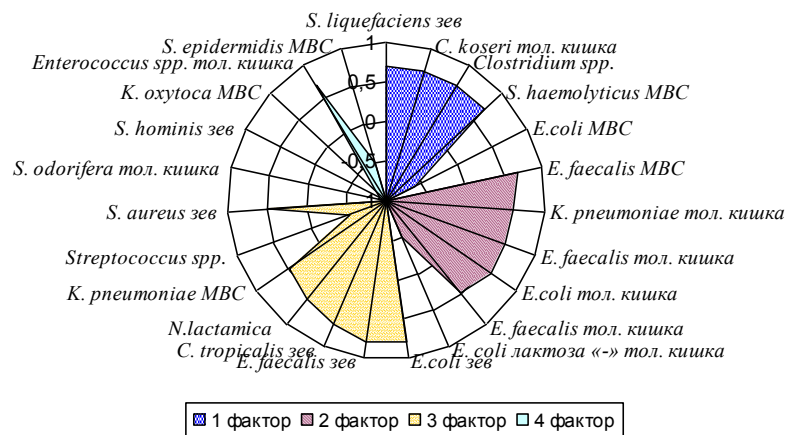


Рисунок 25 - Факторный анализ основных показателей ВДП, МВС, толстой кишки у детей в возрасте 6 месяцев при грудном (А), смешанном (Б) и искусственном вскармливании (В)

## ГЛАВА 4. Влияние антибиотикотерапии на формирование микробиоты верхних дыхательных путей, мочевыделительной системы и толстой кишки у недоношенных детей

### 4.1. Формирование микробиоты основных биотопов недоношенных детей в зависимости от количества применяемых антибактериальных препаратов

Учитывая, что все обследованные дети с рождения принимали антибактериальные препараты, нами проведен анализ формирования микрофлоры на фоне данной терапии. Дети разделены на две группы – первая группа (36 детей, 62%) включала детей, принимавших от 1 до 3 групп препаратов, вторая группа (22 ребенка, 38%) – от 4 до 6 групп антибактериальных препаратов.

Среди облигатной микрофлоры толстой кишки лактобактерии наиболее подвержены негативному влиянию массивной антибактериальной терапии, частота встречаемости была в три раза ниже (13,6%,  $\chi^2 = 4,203$ ,  $df=1$ ,  $p=0,040$ ) в сравнении с детьми первой группы после лечения от 1-3 групп препаратов (38,9%). Облигатные анаэробы (клостридии и бактероиды) наоборот чаще регистрировались после массивной терапии, при этом показатели клостридиальной флоры были статистически значимы ( $\chi^2 = 5,444$ ,  $df=1$ ,  $p=0,020$ ) (Рисунок 26).

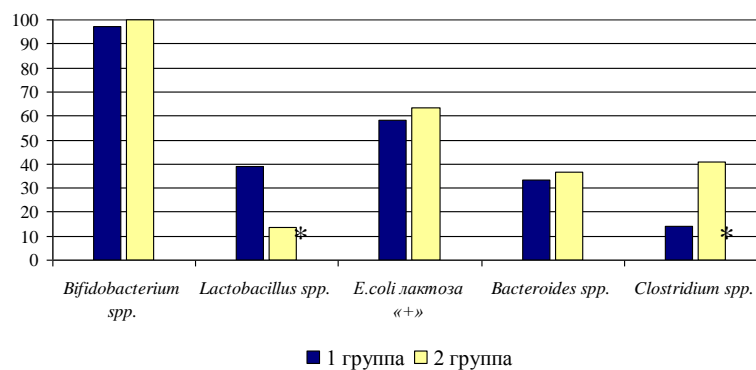


Рисунок 26 - Микробная колонизация толстой кишки недоношенных детей бифидобактериями, лактобациллами, бактероидами и клостридиями в зависимости от количества групп антибактериальных препаратов (%)

В отделе зева частота регистрации  $\alpha$ -зеленящих стрептококков была без значимых различий в зависимости от количества антибактериальных препаратов,

однако выявлены изменения в видовом пейзаже. Более широкий спектр  $\alpha$ -зеленящих стрептококков (пять представителей) отмечен у детей при наименьшем количестве использования антибактериальных препаратов (Рисунок 27). Процент встречаемости *N.lactamica* и *C.xerosis* был не высокий, при этом последний представитель выявлялся только у детей 1 группы (2,8%).

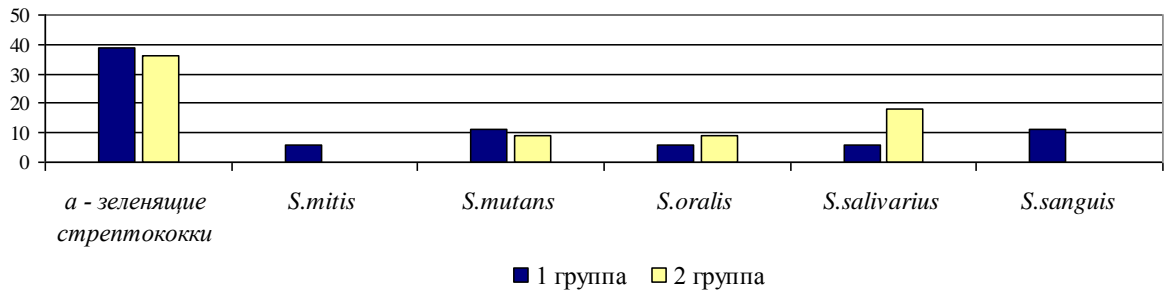


Рисунок 27 - Микробная колонизация зева недоношенных детей  $\alpha$ -зеленящими стрептококками в зависимости от количества групп антибактериальных препаратов (%)

Анализ микробной колонизации зева, МВС и толстой кишки продемонстрировал, что КОС значительно преобладали у детей на фоне наименьшего приема препаратов. В отделяемом зева частота выявления КОС составила 58,3% в сравнении с 31,8% у детей второй группы ( $\chi^2 = 3,84$ ,  $df=1$ ,  $p=0,050$ ), в МВС – 44,4% в сравнении с 22,7%, а в толстой кишке – 25,0% в отличие от 9,1%. Доминирующую позицию занимал *S.epidermidis*. (Рисунок 28).

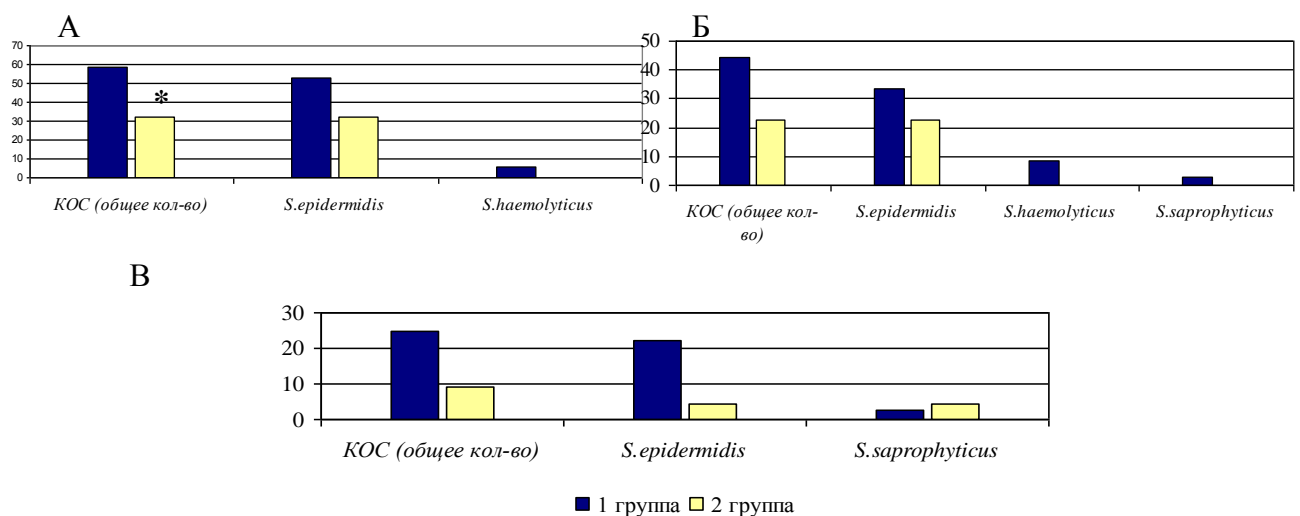


Рисунок 28 - Микробная колонизация зева (А), МВС (Б) и толстой кишки (В) КОС недоношенных детей в зависимости от количества групп антибактериальных препаратов (%)

Энтерококки так же как и КОС преобладали у детей на фоне меньшего количества назначаемых антибактериальных препаратов во всех изучаемых микробиоценозах, особенно различия видимы в отделяемом зева (27,8% - 1 группа и 18,2% - 2 группа) и МВС (47,2% - 1 группа, 31,8% - 2 группа) (Рисунок 29). Независимо от количества групп препаратов доминировал *E.faecium*.

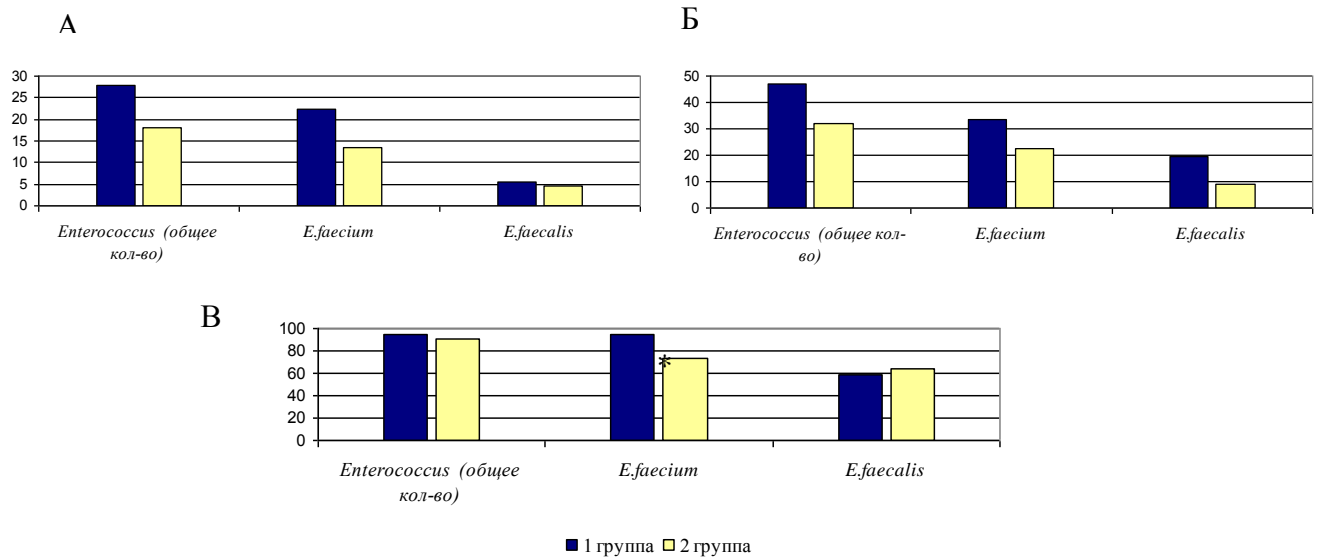


Рисунок 29 - Микробная колонизация зева (А), МВС (Б) и толстой кишки (В) недоношенных детей энтерококками в зависимости от количества групп антибактериальных препаратов (%)

Отмечены значительные различия в контаминации зева *S.pneumoniae* и *S. 'milleri'*, в 4 раза чаще (13,6% и 9,1%, соответственно) данные представители регистрировались у детей после лечения большим количеством антибактериальных препаратов, чего не отмечено в отношении *S.pyogenes* (1 группа - 5,6%, 2- 4,5%).

Выявлены схожие тенденции контаминации ГОЭБ, так чаще данные представители регистрировали у детей после массивной антибактериальной терапии в МВС (72,7% - 2 группа и 61,1% - 1 группа) и толстой кишке (86,4% - 2 группа и 58,3% - 1 группа,  $\chi^2 = 5,013$ ,  $df=1$ ,  $p=0,025$ ). Детальное рассмотрение видового состава показало, что в зева и МВС на фоне меньшего числа препаратов отмечалось более скудное видовое разнообразие, при этом в толстой кишке получена обратная ситуация в отношении видового состава ГОЭБ. Гемолизинпродуцирующие *E.coli* толстой кишки чаще регистрировали после

использования большего числа антибиотиков (2 группа - 4,5%, 1 группа - 2,8%), при этом различий лактозонегативных эшерихий от количества антибактериальных препаратов не выявлено. Полученные данные указывают на негативное формирование основных биотопов организма ребенка антибиотикорезистентными штаммами ГОЭБ (Рисунок 30).

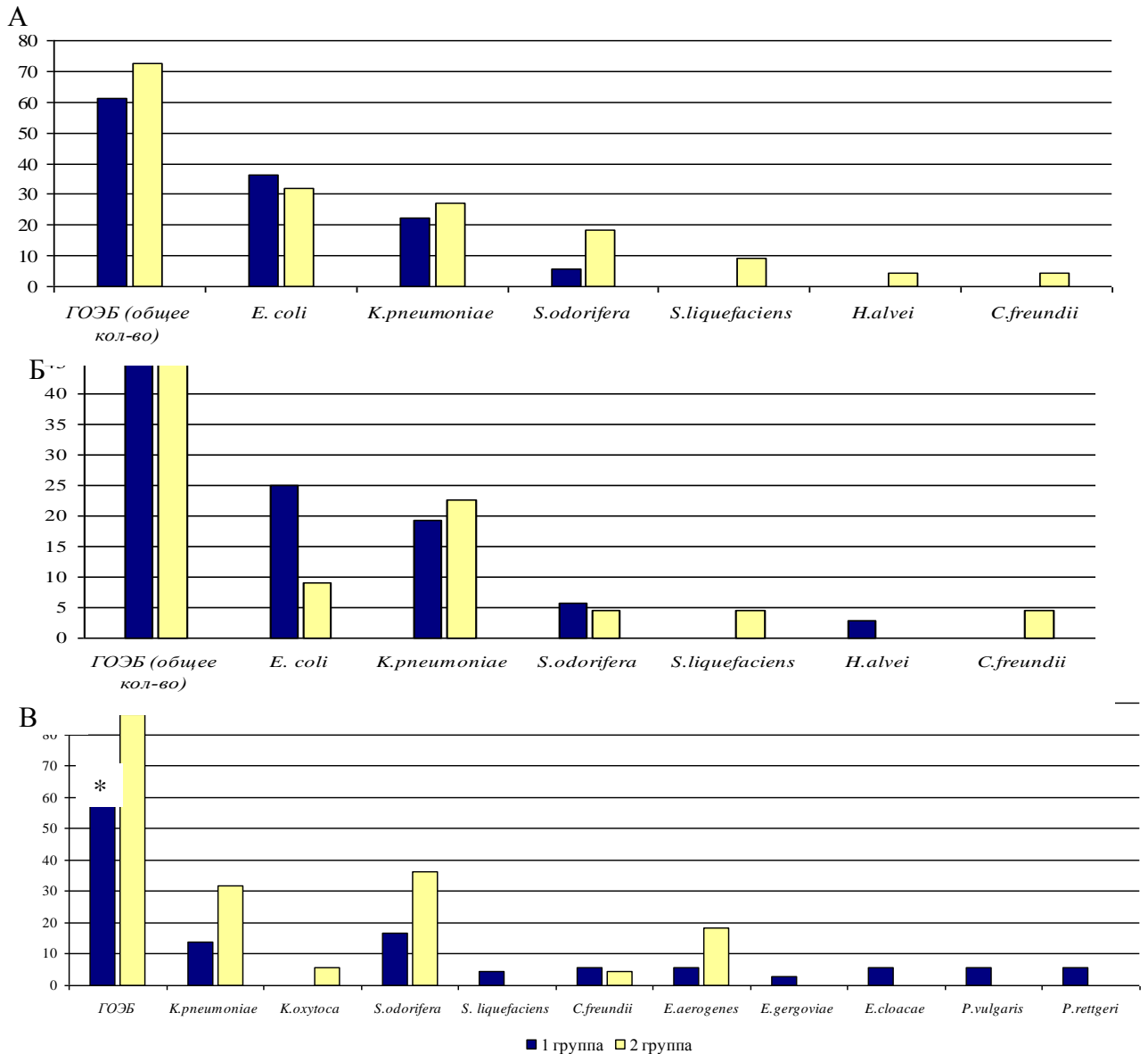


Рисунок 30 - Микробная колонизация зева (А), МВС (Б) и толстой кишки (В) ГОЭБ недоношенных детей в зависимости от количества групп антибактериальных препаратов (%)

Синегнойную палочку чаще выделяли из мочи (9,1%) и толстой кишки (4,5%) у детей второй группы, что указывает на формирование контаминации указанных биотопов резистентными штаммами. Обратная ситуация отмечена в зеве, где

синегнойная палочка регистрировалась у незначительного процента детей первой группы (2,8%), при выявлении *M.catarrhalis* (9,1%) у детей второй группы.

Массивная антибактериальная терапия способствует значительному обсеменению зева грибами рода *Candida* (31,8%), за счет *C.tropicalis* (Рисунок 31). В толстой кишке значимого различия в заселении грибами от количества групп антибиотиков не выявлено (1 группа – 5,6%, 2- 4,5%).

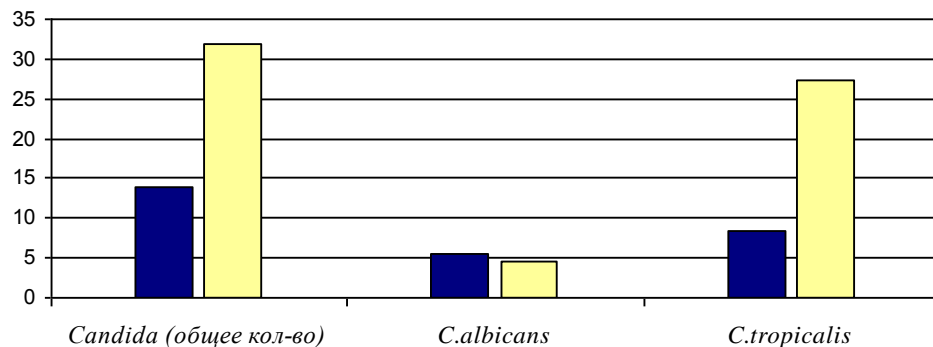


Рисунок 31 - Микробная колонизация зева недоношенных детей грибами *Candida* в зависимости от количества групп антибактериальных препаратов (%)

Таким образом, массивная антибактериальная терапия способствует дисбалансу в формировании основных микробиоценозов, в первую очередь это касается лактобактерий толстой кишки, кокковой флоры (КОС и энтерококков) во всех изучаемых биотопах, на фоне этого происходит коатаминация ГОЭБ (МВС и толстой кишки) и грибами рода *Candida* отделяемого зева.

#### **4.2. Факторный анализ микробиоты зева, мочевыделительной системы и толстой кишки от вида и количества применяемых антибактериальных препаратов**

Факторный анализ микрофлоры основных биотопов у недоношенных детей при выписке из стационара в зависимости от вида применяемых антибактериальных препаратов установил, что использование  $\beta$ -лактамов не оказывает выраженного отрицательного влияния на заселение толстой кишки *E.coli* (0,60) и *Bacteroides spp.* (0,46). Однако, отмечается колонизация слизистой зева условно-патогенной флорой: *S.pneumoniae* (0,71), *H.influenzae* (0,56) и грибами *Candida* (0,51), при отсутствии КОС (-0,64) – первый фактор. В состав второго фактора вошли представители, отражающие



контаминацию толстой кишки грибами *Candida* (0,62) и *S.aureus* (0,42), слизистой зева *Enterococcus spp.* (0,54) и НГОБ (0,40), при отсутствии  $\alpha$ -зеленящих стрептококков (-0,46); в МВС происходит заселение КОС (0,51) при отсутствии в данном биотопе ГОЭБ (-0,58) и *Enterococcus spp.* (-0,45). Отмечается появление на слизистой толстой кишки эшерихий с измененными свойствами (лактозонегативные – 0,71; гемолитические – 0,56) – третий фактор. В четвертый фактор вошли облигатные представители кишечника: бифидо- и лактобактерии (0,56, 0,49), что свидетельствует о влиянии  $\beta$ -лактамов на запаздывание формирования данных представителей нормофлоры. На слизистой зева отмечается одновременное появление *Neisseria spp.* (0,42) и ГОЭБ (0,58) (Рисунок 32).

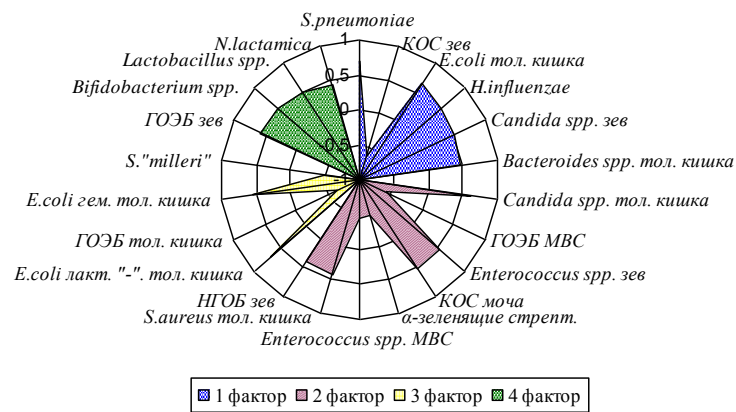


Рисунок 32 - Факторный анализ микрофлоры зева, МВС и толстой кишки на фоне  $\beta$ -лактамовых антибиотиков

Структуру первого фактора на фоне терапии антибактериальными препаратами из группы аминогликозидов составляют: УПБ толстой кишки – *E.coli* с гемолитическими свойствами (0,75), грибы *Candida* (0,69) и *S.aureus* (0,64); на слизистой зева – *Enterococcus spp.* (0,56) и НГОБ (0,53); только в МВС присутствовали КОС (0,52). Положительный эффект отмечен в отсутствии заселения ГОЭБ толстой кишки (-0,44) и МВС (-0,42). Ко второй группе факторов относились только УПБ зева - грибы рода *Candida* (0,76), *S.pneumoniae* (0,67), *H.influenzae* (0,56), и МВС – *P.aeruginosa* (0,41). Третий фактор представлен *E.coli* толстой кишки, как с сохраненными (0,79), так и с измененными свойствами (0,54). На фоне аминогликозидов не происходит формирования в зеве КОС (-0,53)

и *S."milleri"* (-0,52). В состав четвертого фактора вошли представители толстой кишки – *Lactobacillus spp.* (0,46), *Bacteroides spp.* (0,41) и представители зева - *Neisseria spp.* (0,50) и ГОЭБ (0,65) (Рисунок 33).

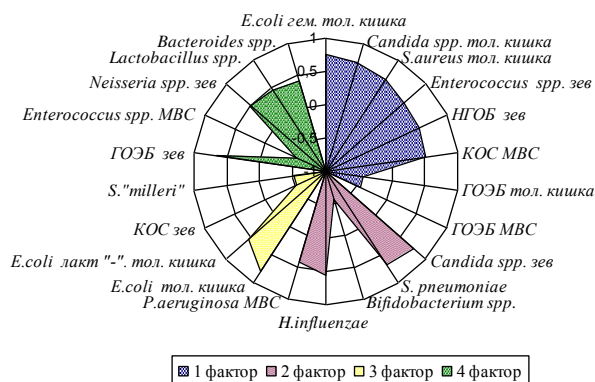


Рисунок 33 - Факторный анализ микрофлоры зева, МВС и толстой кишки на фоне аминогликозидов

Препараты из группы гликопептидов формируют схожий характер микрофлоры основных биотопов недоношенных детей, как и аминогликозиды (Рисунок 34).

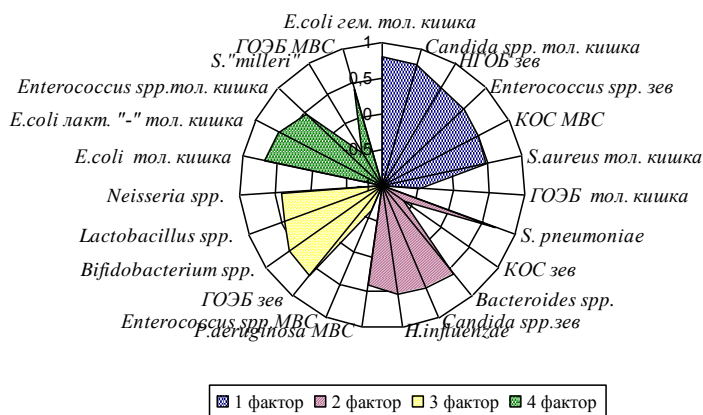


Рисунок 34 - Факторный анализ микрофлоры зева, МВС и толстой кишки на фоне гликопептидов.

Учитывая, что  $\beta$ -лактамы, аминогликозиды и гликопептиды назначались недоношенным детям чаще остальных антибактериальных препаратов нами отмечены общие признаки формирования микрофлоры. Так, на слизистой зева регистрируются *Enterococcus spp.*, НГОБ; грибы *Candida*, *S.pneumoniae*, *H.influenzae*, *Neisseria spp.* и ГОЭБ, при этом данный биотоп не заселяют КОС и *S."milleri"*. Происходило постепенное формирование

*Bifidobacterium spp.* (кроме аминогликозидов) и *Lactobacillus spp.*, с контаминацией грибами *Candida*, *S.aureus* и *E.coli* с патогенными свойствами при отрицательных значениях ГОЭБ. В МВС формируется пул КОС при снижении *Enterococcus spp.* (кроме гликопептидов).

На фоне лечения антибиотиками из группы макролидов в состав первого фактора вошли грамположительные кокки, представленные на слизистой зева – КОС (0,98) и  $\alpha$ -зелеными стрептококками (0,98), а в МВС – КОС (0,98) и *Enterococcus spp.* (0,56). При этом не формируется облигатный пул толстой кишки: *E.coli* (-0,96) и *Bifidobacterium spp.* (-0,75). Второй фактор свидетельствовал о препятствии заселения грибами *Candida* (-0,90) и *Enterococcus spp.* (-0,90) слизистой зева, в то время как в толстой кишке появлялись *Enterococcus spp.* (0,78), а в МВС доминировали ГОЭБ (0,76). Третий фактор представлен микрофлорой только толстой кишки: *Lactobacillus spp.* (0,84), КОС (0,64) с одновременным ростом ГОЭБ (0,71). Анаэробные представители толстой кишки – *Clostridium spp.* (0,58) и *Bacteroides spp.* (0,86) и ГОЭБ зева (0,74) формируют четвертый фактор (Рисунок 35).

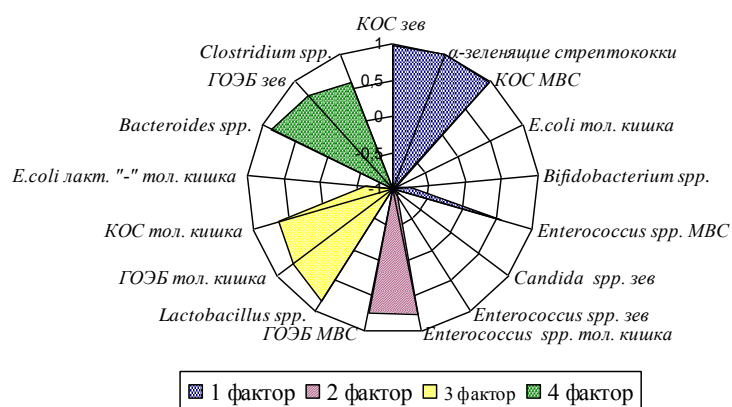


Рисунок 35 - Факторный анализ микрофлоры зева, МВС и толстой кишки на фоне макролидов

Проведенный факторный анализ микробных представителей основных биотопов после терапии метронидазолом продемонстрировал, что в состав первого фактора с наибольшими факторными нагрузками вошли представители толстой кишки, такие как – *S.aureus* (0,96), грибы *Candida* (0,96), *E.coli* с измененными свойствами (гемолитические – 0,96 и лактозонегативные – 0,60).

Наряду с этим на слизистой зева появляются НГОБ (0,67) и *Enterococcus spp.* (0,57), а в МВС – КОС (0,58), при снижении уровня ГОЭБ (-0,64). Второй фактор характеризует формирование в толстой кишке *E.coli* с сохраненными свойствами (0,83) и *Clostridium spp.* (0,60). При использовании метронидазола происходит контаминация слизистой зева ГОЭБ (0,74) и грибами *Candida* (0,53) при подавлении пула КОС (-0,70) – второй фактор. Метронидазол оказывает отрицательное влияние на заселение *Bifidobacterium spp.* (-0,61) толстой кишки и *Enterococcus spp.* (-0,41) в моче, но не оказывает влияния на контаминацию зева *S.pneumoniae* (0,64) – третий фактор. Четвертый фактор показал, что толстая кишка постепенно заселяется *Lactobacillus spp.* (0,69) и КОС (0,65) (Рисунок 36).

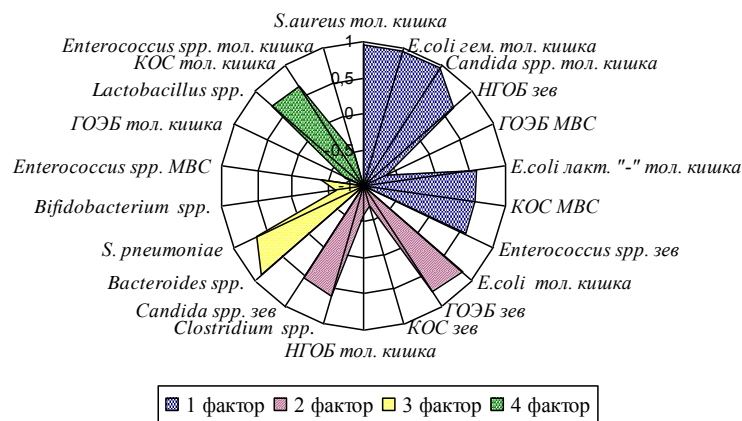


Рисунок 36 - Факторный анализ микрофлоры зева, МВС и толстой кишки на фоне метронидазола

Терапия препаратами из группы хинолонов способствует контаминации МВС *P.aeruginosa* (0,96), зева *Enterococcus spp.* (0,96) и грибами рода *Candida* (0,91), при низком уровне КОС (-0,68) – первый фактор. Второй микробиологический фактор был представлен: лактозонегативной *E.coli* (0,68) в толстой кишке, ГОЭБ (0,81) на слизистой зева и КОС (0,80) в моче. Третий фактор отразил только облигатных представителей кишечника с увеличением содержания *Clostridium spp.* (0,87), *Bacteroides spp.* (0,86) и *Lactobacillus spp.* (0,62). В состав четвертого фактора вошли представители зева ( $\alpha$ -зеленящие стрептококки 0,74) и толстой кишки (*Enterococcus spp.* 0,69). На другом полюсе данного фактора находятся УПБ МВС (0,62) и *Enterococcus spp.* (0,56) (Рисунок 37).

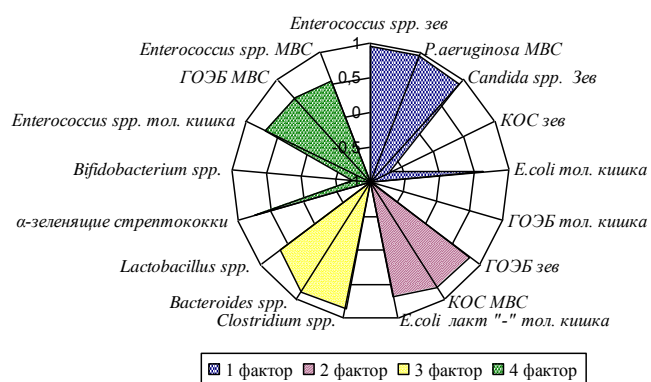


Рисунок 37 - Факторный анализ микрофлоры зева, МВС и толстой кишки на фоне хинолонов

Оксазолидиноны, как и хинолоны способствуют контаминации МВС *P.aeruginosa* (0,95); зев *Enterococcus spp.* (0,92) и грибами *Candida* (0,90) и препятствуют заселению ГОЭБ (-0,74) МВС и *Enterococcus spp.* (-0,83) в кишечнике – первый фактор. Второй фактор показал, что в кишечнике формируется физиологическая микрофлора, представленная *Bifidobacterium spp.* (0,85) и *E.coli* (0,79), чего не происходит в зеве – отсутствие  $\alpha$ -зеленящих стрептококков (-0,86) при обсеменении данного биотопа ГОЭБ (0,65). Третий фактор представлен только облигатными анаэробами кишечника – *Bacteroides spp.* (0,95) и *Clostridium spp.* (0,80). Четвертый фактор показал связь между *Lactobacillus spp.* (0,82) и ГОЭБ (0,69) толстой кишки (Рисунок 38).

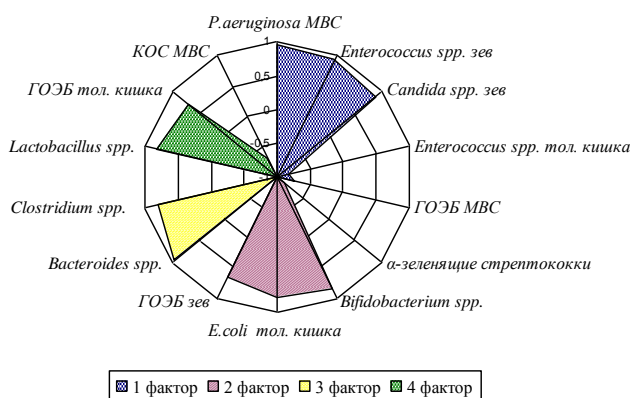


Рисунок 38 - Факторный анализ микрофлоры зева, МВС и толстой кишки на фоне оксазолидинонов

Проведенный факторный анализ микрофлоры отделяемого зева, мочевыделительной системы и толстой кишки продемонстрировал, что имеются общие закономерности формирования микроэкологии после терапии различными

видами антибактериальных препаратов. Обязательные представители толстой кишки появляются в третьем – четвертом факторах, что свидетельствует о медленном формировании микробиоты в основных биотопах организма ребенка. КОС интенсивнее заселяются в мочевыделительной системе, в сравнении с другими биотопами. Отмечается отрицательное влияние большинства антибактериальных препаратов на заселение ВДП стрептококками полости рта, кроме макролидов и хинолонов. *Enterococcus spp.* на слизистой ротоглотки заселяются на фоне практически всех назначаемых антибактериальных препаратов, кроме макролидов, в отличие от других биотопов, где формирование данных пулов микроорганизмов замедлено. Негативного влияния антибиотиков на формирование в толстой кишке *E.coli* с сохраненными свойствами не выявлено, кроме действия макролидов. Факторный анализ продемонстрировал, что слизистая ротоглотки интенсивнее контаминируется условно-патогенной и патогенной микрофлорой по сравнению с мочевыделительной системой и толстой кишкой.

Факторный анализ формирования микробиоты организма недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ в зависимости использования количества групп антибактериальных препаратов показал, что при использовании меньшего числа препаратов в первом факторе сформировались конкурентные взаимоотношения в толстой кишке между облигатной флорой (типичными *E.coli* (0,6), *Bifidobacterium spp.* (0,5) и *Bacteroides spp.* (0,5)) и *C.tropicalis* (-0,6). В МВС происходило подавление формирования КОС (-0,5) на фоне контаминации ГОЭБ (0,5). В структуре первого фактора после массивной антибактериальной терапии присутствовали преимущественно представители зева: *Enterococcus spp.* (0,6), грибы рода *Candida* (0,6), при отрицательных значениях  $\alpha$ -зеленящих стрептококков (-0,6) и КОС (-0,6). В МВС отмечены конкурентные связи между ГОЭБ (-0,7) и *P.aeruginosa* (0,5). В толстой кишке все показатели имели положительное значение - *Bacteroides spp.* (0,6), *C.tropicalis* (0,5) и типичные эшерихии (0,5). Второй микробиологический фактор оказался скудным, особенно у детей после лечения меньшим числом препаратов. У группы детей после

лечения 4-6 группами препаратов лактозонегативные эшерихии (0,6) имели конкурентные связи с другими ГОЭБ (-0,8) толстой кишки. Данные связи появляются в третьем факторе после лечения меньшим количеством антибиотиков, при отрицательных значениях ГОЭБ зева (-0,7). У детей второй группы имелось больше микробиологических связей, преимущественно в толстой кишке: КОС (0,6), *Lactobacillus spp.* (0,6) *Clostridium spp.* (0,6) при формировании ГОЭБ зева (0,7) (Рисунок 39)

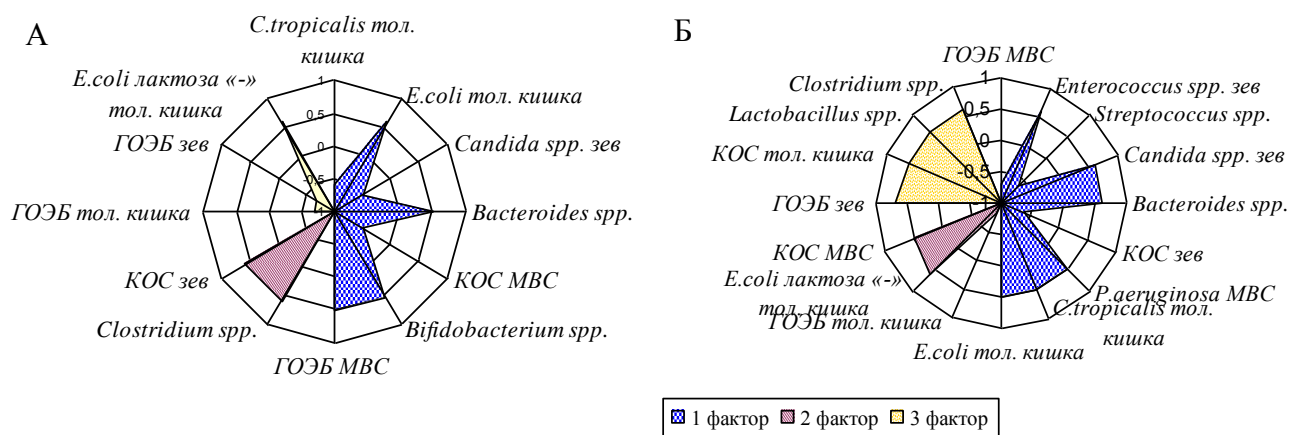


Рисунок 39 - Факторный анализ микрофлоры зева, МВС и толстой кишки от количества групп антибактериальных препаратов (А – 1 группа (1-3 групп препаратов); Б – 2 группа (4-6 групп препаратов)).

Следовательно, антибактериальная терапия изменяет характер микрофлоры у всех детей, однако более выраженные изменения отмечаются после массивной терапии, по всей видимости, за счет формирования антибиотикорезистентных представителей условно-патогенной микрофлоры.

#### 4.3. Антибиотикорезистентность коагулазоотрицательных стафилококков, энтерококков, грамотрицательных энтеробактерий и неферментирующих грамотрицательных бактерий

Анализ антибиотикорезистентности выявил, что КОС были резистентны ко многим антибактериальным препаратам (СХ 90,5%, ERY 88,9%, GMN 88,9%, CIP 83,7%, SXT 73,9%), сохраняли чувствительность к CMN (76,2%) (Рисунок 40).



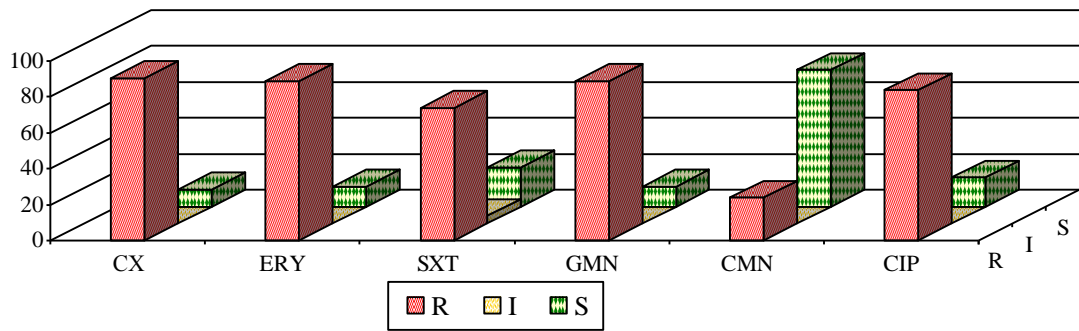


Рисунок 40 - Уровень антибиотикорезистентности КОС у недоношенных детей в условиях стационара (%)

Энтерококки так же обладали резистентностью ко многим антибактериальным препаратам. Наибольшее число штаммов энтерококков были устойчивы к GMN (79,2%), API (54,2%) и NX (60,9%). Только к VAN (100%) сохранялась чувствительность данных микроорганизмов (Рисунок 41).

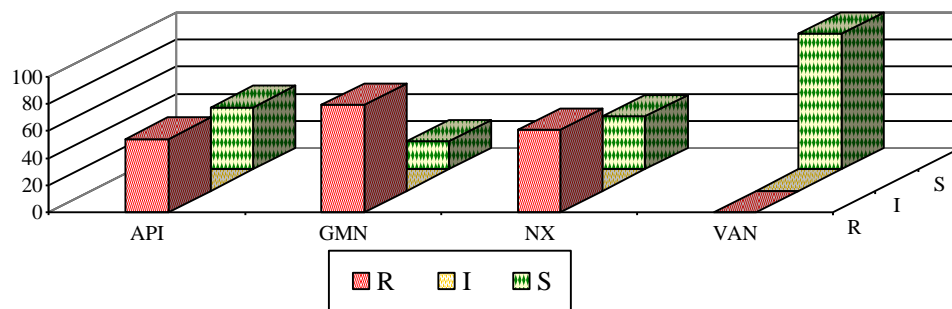


Рисунок 41 - Уровень антибиотикорезистентности энтерококков у недоношенных детей в условиях стационара (%)

В целом резистентность грамотрицательных энтеробактерий колебалась от 8,5% к GMN до 47,8% к CAZ, так же происходило формирование промежуточной резистентности к изучаемым антибиотикам от 6,9% до 25,0%. Наилучшая чувствительность (75,0%) ГОЭБ сохранялась к карбапенемам (Рисунок 42).

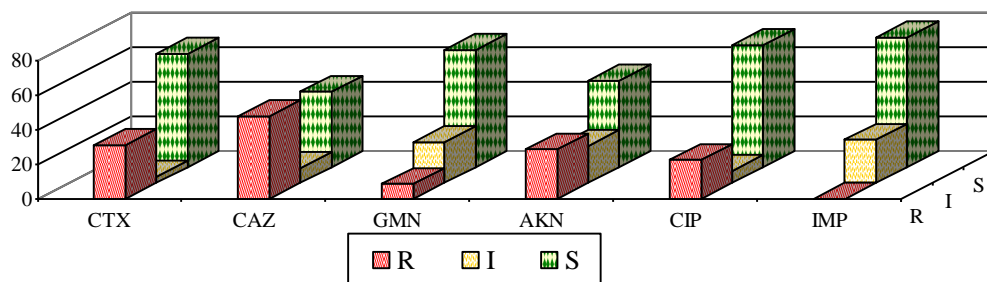


Рисунок 42 - Уровень антибиотикорезистентности ГОЭБ у недоношенных детей в условиях стационара (%)



Отмечено, что НГОб (*P.aeruginosa*) были полирезистентны. В 100% случаев штаммы *P.aeruginosa* были резистентны к аминогликозидам (GMN и AKN) и фторхинолонам (CIP). К цефлоспорином (CAZ) и карбапенемам (IMP) резистентность отмечена у 88,9%, выделенных штаммов (Рисунок 43).

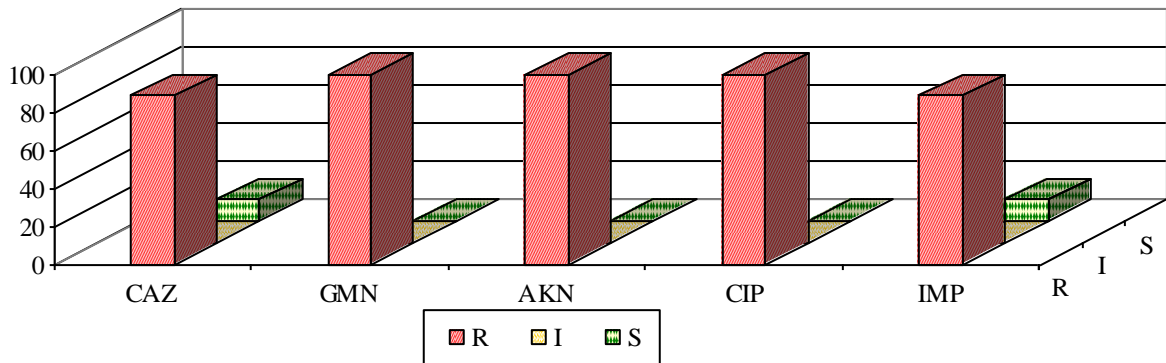


Рисунок 43 - Уровень антибиотикорезистентности НГОб у недоношенных детей в условиях стационара (%)

**Резюме.** На фоне антибактериальной терапии заселение облигатной микрофлорой основных биотопов запаздывает. За период длительной госпитализации в стационаре формируется контаминация основных биотопов условно-патогенной и транзитной микрофлорой, часто резистентной к основным антибактериальным препаратам, так коагулазоотрицательные стафилококки были не чувствительны к: цефокситину, эритромицину, гентамицину, ципрофлоксацину, при сохранении чувствительности к клиндамицину (76,2%). Энтерококки так же имели высокие уровни резистентности к ампициллину (54,2%), аминогликозидам (79,2%), фторхинолонам (60,9%), с сохранением чувствительности к ванкомицину. Грамотрицательные энтеробактерии демонстрировали резистентность к антимикробным препаратам от 8,5% (гентамицин) до 47,8% (цефтазидим), с сохранением чувствительности к карбапенемам (75,0%). Показано, что неферментирующие грамотрицательные бактерии (*P.aeruginosa*) имели высокий уровень к цефалоспорином, фторхинолонам, аминогликозидам и карбапенемам.

## **ГЛАВА 5. Микробиологический мониторинг микробиоты недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела**

Проведенные нами исследования формирования микрофлоры верхних дыхательных путей, мочевыделительной системы и толстой кишки у недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ на протяжении первого года жизни продемонстрировали выраженные нарушения в становлении микробиоты. На основании полученных результатов нами были разработаны и внедрены в работу перинатального центра города Архангельска (дата открытия 1 июня 2018г) методические рекомендации (алгоритмы) обследования и наблюдения детей с целью определения комплексного подхода динамического наблюдения за недоношенными детьми, что позволит определить вектор индивидуального обследования пациента, с учетом его клинического состояния и сократить время постановки диагноза и определения тактики лечения. Изучение катамнеза состояния здоровья детей, родившихся недоношенными на разных сроках гестации, необходимо для предупреждения перехода патофизиологических и дисбиотических нарушений в хронические и затяжные формы заболеваний.

Всем недоношенным детям с массой тела менее 1500 г показано проведение физикального и лабораторного исследования основных биотопов (ВДП, МВС и ЖКТ). Обследование необходимо проводить при поступлении и при выписке детей из отделения патологии новорожденных и недоношенных детей, в возрасте 6 и 12 месяцев (при необходимости в 9 месяцев). При несформированности микробиоты основных биотопов наблюдение продолжить до нормализации микробиологических показателей (до возраста 3-х лет).

Учитывая данные проведенных исследований нами рекомендована модифицированная схема бактериологического исследования фекалий (Рисунок 44). Необходимо проводить посев цельного материала (фекалии) для выявления энтеробактерий.

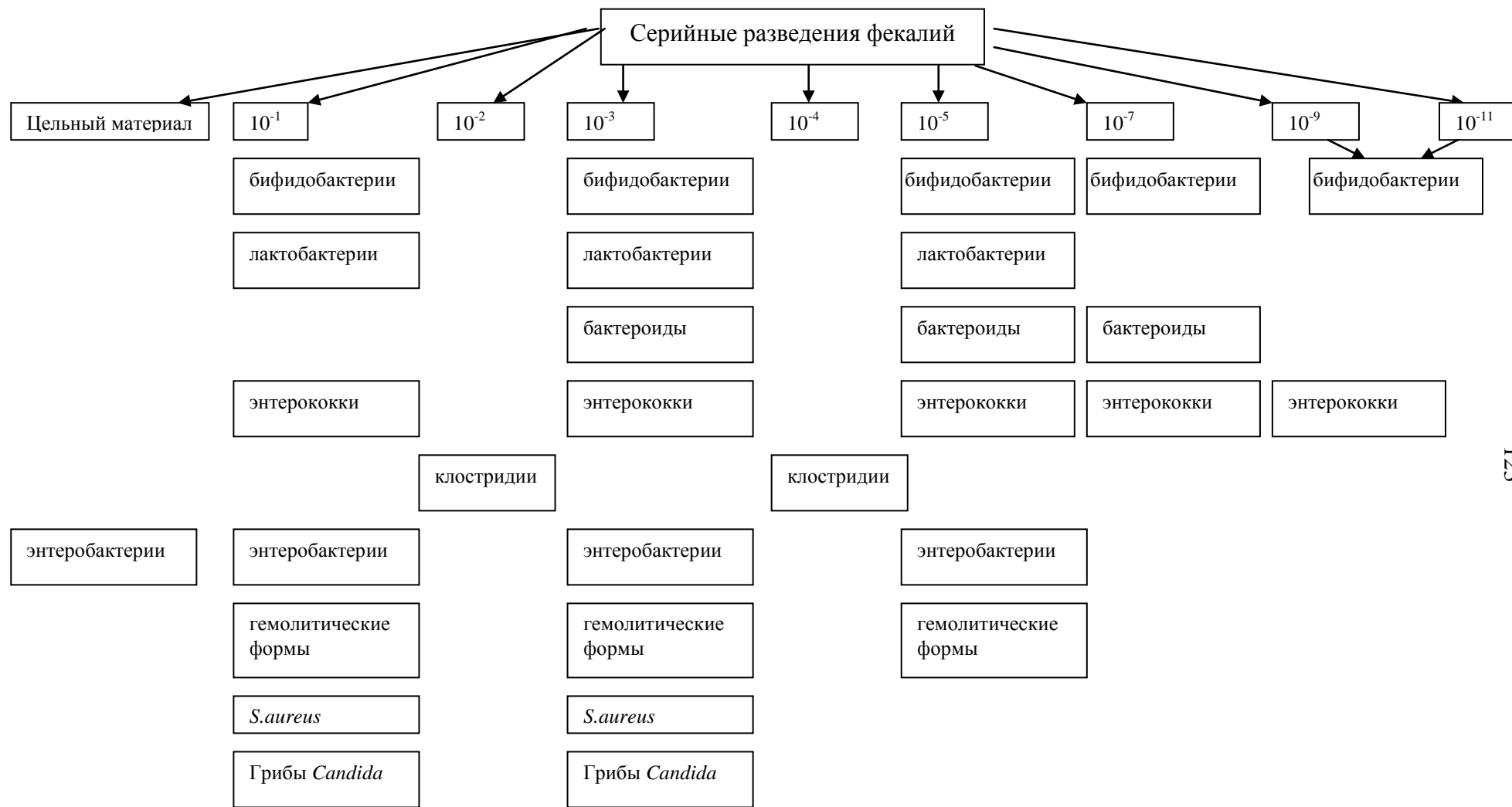


Рисунок 44 – Схема исследования фекалий

После приготовления серийных разведений фекалий из первого разведения делать высевы для обнаружения бифидобактерий, лактобактерий, энтерококков, энтеробактерий; гемолитических форм микроорганизмов, а также обнаружение *S.aureus* и грибов рода *Candida*.

При выявлении УПБ в численности  $\geq 10^4$  КОЕ/г, а *S.aureus* в количестве  $\geq 10^1$  КОЕ/г необходимо проводить видовую идентификацию микроорганизмов с последующим определением чувствительности выделенных представителей к антибактериальным/ антимикотическим препаратам с последующим определением генов резистентности.

При выписке детей из стационара проводить микробиологическое исследование фекалий по схеме предложенной, как при поступлении детей в отделение патологии новорожденных и недоношенных детей. При сформированной микробиоте толстой кишки рекомендовано обследование в возрасте 6 месяцев. При выявлении микробиологических нарушений необходима коррекция микрофлоры с последующим контрольным обследованием (согласно алгоритмам ОСТа). При сформированной микрофлоре дальнейшее обследование в 12 месяцев. При отсутствии сформированной микрофлоры толстой кишки дальнейшее наблюдение за данной группой детей осуществлять каждые три месяца до становления показателей нормофлоры (Рисунок 45).

Обследование отделяемого зева необходимо проводить с определением широкого бактериологического спектра, включая представителей условно-патогенной и патогенной флоры (*S.aureus*, *H.influenzae*, *S.pyogenes*, *S."milleri"*, *S.pneumoniae*, *Enerococcus spp.*, КОС, ГОЭБ, НГОБ, грибы рода *Candida*). При выявлении УПБ необходимо проведение видовой идентификации с определением антибиотичувствительности и определением генов резистентности, для назначения рациональной противомикробной терапии (Рисунок 46).

При выявлении нормофлоры дальнейшее обследование проводить в 6 месяцев и в 12 месяцев (при необходимости в 9 месяцев).

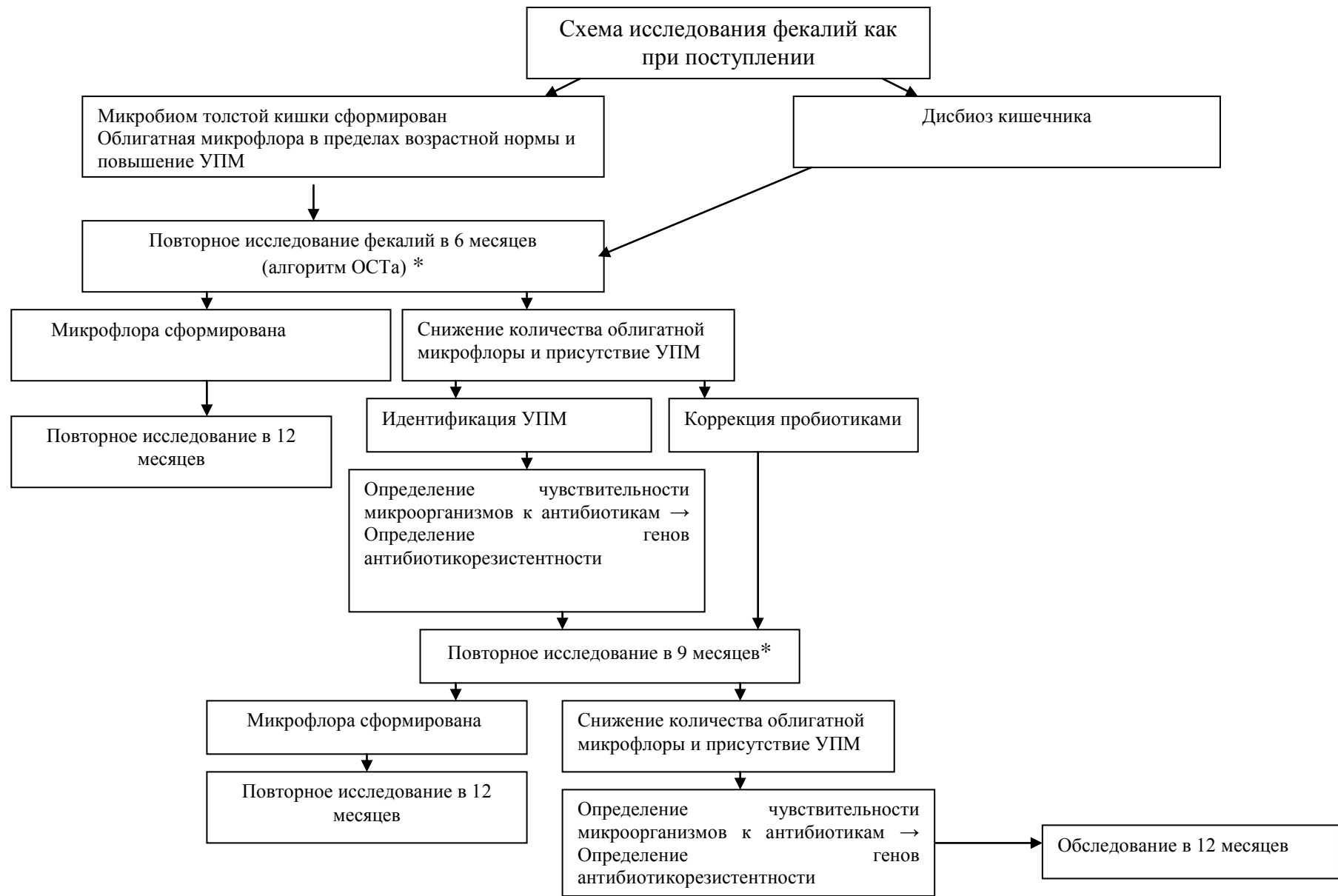


Рисунок 45 – Алгоритм обследования фекалий у детей после выписки из стационара

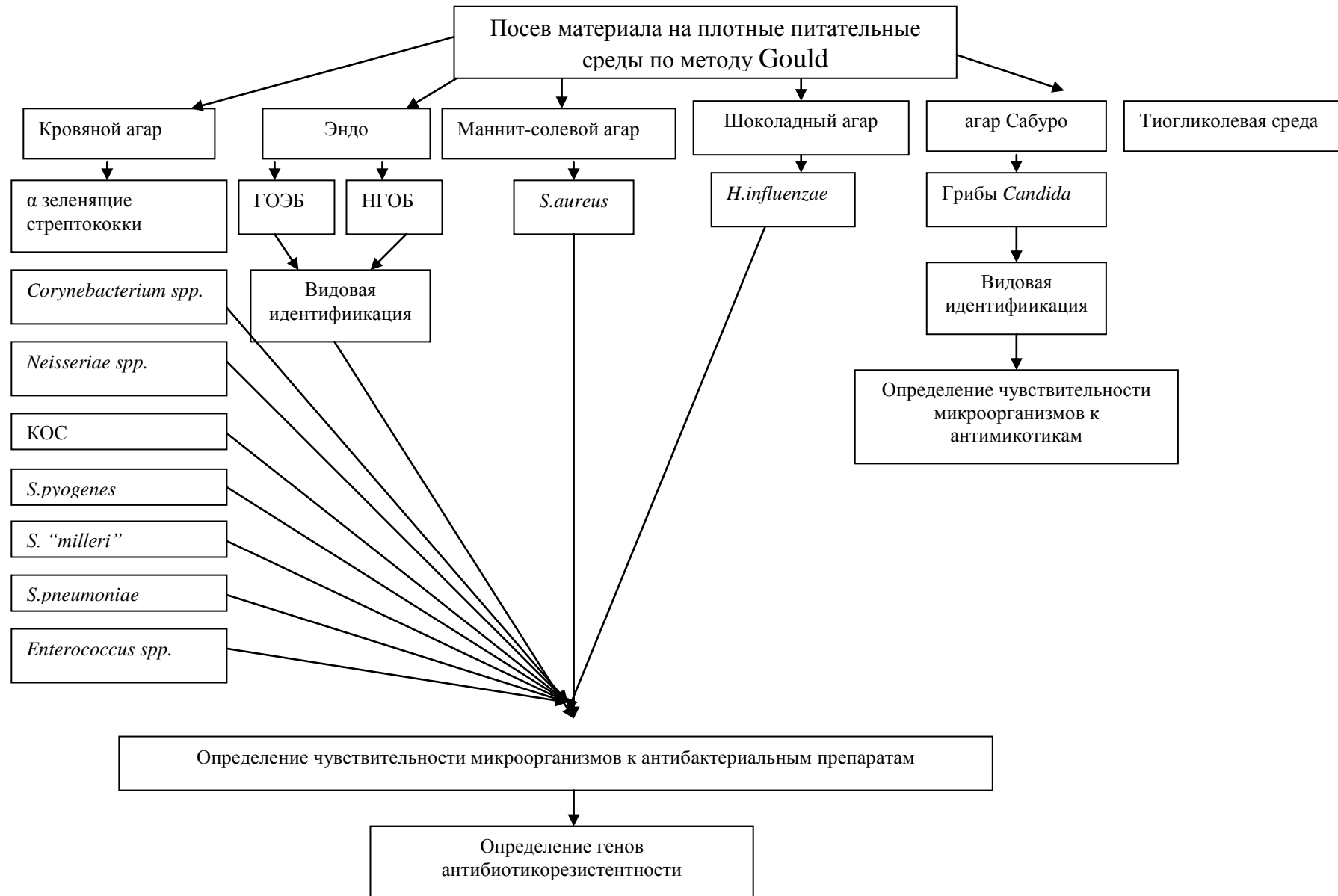


Рисунок 46 - Алгоритм исследование отделяемого зева

Бактериологическое обследование микрофлоры мочи у недоношенных детей проводить методом секторных посевов с использованием плотных питательных сред: кровяной агар, Эндо и хромогенный агар. Хромогенные среды рекомендуются для идентификации и дифференциации бактерий из мочи. При выявлении УПБ в количестве  $\geq 10^4$  КОЕ/мл проводить видовую идентификацию микроорганизмов с определением антибиотикочувствительности и генов резистентности (Рисунок 47).

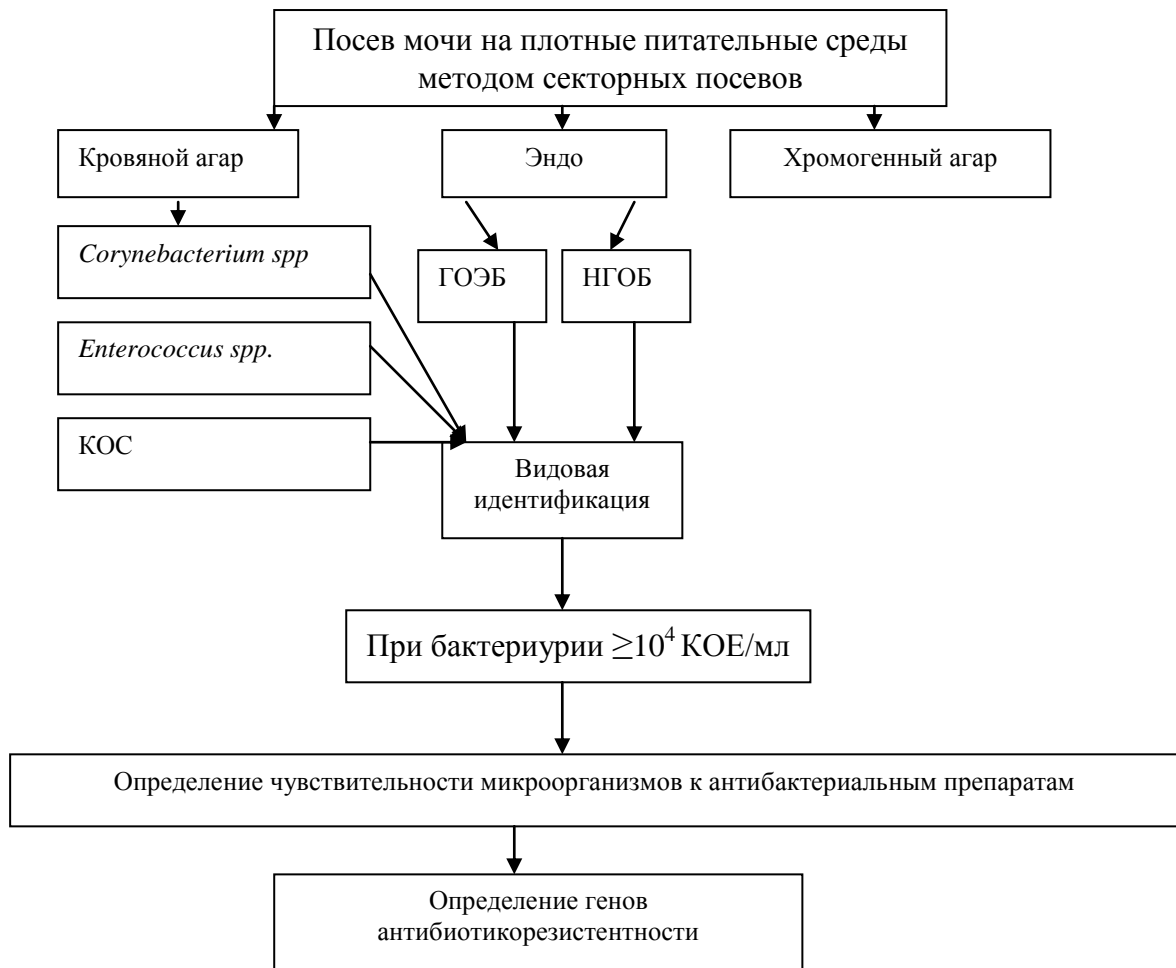


Рисунок 47 - Алгоритм исследование мочи

Определение генов антибиотикорезистентности к антимикробным препаратам необходимо для установления вероятного механизма антибиотикорезистентности. Это позволит следить за изменением эпидемиологической ситуации в перинатальном стационаре, выявлять формирование и циркуляцию госпитальных внутрибольничных антибиотикорезистентных штаммов с учетом профиля отделения для проведения рационального и научно-обоснованного

использования антибиотиков; совершенствования закупок антимикробных препаратов.

Предложенные алгоритмы позволяют своевременно выявлять микробиологические нарушения различной локализации у недоношенных детей с целью диагностирования гнойно-септических инфекций с установлением этиологического фактора и назначением этиотропной терапии и предупреждать развитие инфекционной и соматической патологии с переходом в хронические формы заболеваний в грудном возрасте и возрасте детей старше 1 года.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последнее время большое значение уделяется выхаживанию недоношенных детей, особенно с низкой и экстремально низкой массой тела. Процесс выхаживания данных детей очень трудоемкий и длительный. Они в большей мере подвержены развитию различной патологии, в том числе и инфекционно-воспалительной. Формирование нормальной микробиоты является одним из составляющих залога здоровья и благополучия ребенка. Таким образом, оправдана актуальность изучения становления микробиоты у данной группы детей.

Новорожденный ребенок не имеет сформированной микробиоты, следовательно микрофлора основных биотопов формируется после рождения в процессе роста и развития ребенка под влиянием множества факторов [21, 51, 63, 100, 173]. Механизм становления микрофлоры основных биотопов находится под влиянием мультифакторных воздействий, при этом нарушения в формировании микробиоты в детском возрасте ведут к разобщению метаболических, иммунных и нейрогуморальных процессов. Чем сложнее состав биоценоза, тем длительнее происходит период его формирования. В исследованиях последних лет подробно описывается процесс становления в основном микрофлоры кишечника у доношенных новорожденных [18, 76, 169, 187]. Учитывая, что дети масса тела, которых при рождении составляет 1500г и менее рождаются «незрелыми», поэтому формирование микрофлоры организма ребенка протекает в течение года и более и часто показатели имеют отклонения от нормы [105, 118, 135, 169, 170, 187, 211]. Однако, комплексного описания микробиоты организма недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела и динамического наблюдения становления биоценозов до настоящего времени не проводилось. Поэтому одним из перспективных направлений является изучение микрофлоры основных биотопов у недоношенных детей с массой тела менее 1500 грамм на этапе выхаживания в стационаре и дальнейшее наблюдение на протяжении первого года. Кроме того приведенные ранее схемы бактериологических исследований толстой кишки имеют ограничения в представлении качественного

и количественного состава микробиоты данного биотопа. Следовательно, нами были разработаны алгоритмы микробиологических исследований основных биоценозов у изучаемой группы детей и наблюдение за детьми в катамнезе.

В рамках проведенной работы нами были изучены следующие биотопы: кишечный, урогенитальный и респираторный. Параллельно с изучением микрофлоры мы попытались выявить основные факторы, влияющие на становление микробиоты у данной группы детей.

В проведенном нами исследовании установлено, что у недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела в основных биотопах (толстая кишка, мочевыделительная система и верхние дыхательные пути) имеются выраженные изменения микрофлоры, что проявляется дефицитом облигатных представителей и увеличением количества условно-патогенных и патогенных штаммов микроорганизмов. Так, в неонатальном периоде у всех детей отмечался дефицит как облигатной, так и факультативной микрофлоры со стороны изучаемых биотопов. Отмечено, что доминирующей микрофлорой является кокковая флора, с преобладанием коагулазоотрицательных стафилококков: 74,1% - отделяемое зева; 13,8% - мочевыделительная система; 48,3% - толстая кишка. Основные микробиологические показатели зева ( $\alpha$ -зеленящие стрептококки, *Neisseria spp.* и *Corynebacterium spp.*) у недоношенных детей регистрировались значительно реже в сравнении с доношенными детьми [18, 76].

Особое внимание уделяется формированию у детей облигатной аэробной и анаэробной флоры толстой кишки. Выявлен дефицит *Bifidobacterium spp.* (48,3%; 3,0 lg КОЕ/г). Более выраженный дефицит отмечен в отношении *Lactobacillus spp.* (8,6%, 7,12 lg КОЕ/г) и *E.coli* с сохраненными свойствами (5,2%, 1,6 lg КОЕ/г), что значительно отличается от данных литературы [18, 46, 53, 73, 76, 143]. Значительно реже (в 10-25 раз) выявляются *Bacteroides spp.* у недоношенных детей с очень низкой массой тела (3,4%; 4,5 lg КОЕ/г), чем у детей, рожденных в срок [18, 76] и у недоношенных детей [46].

Уровень *Enterococcus spp.* в отделяемом зева и моче был невысоким 8,6 – 10,3%, в толстой кишке данные представители выделялись у 55,2% детей, что

значительно отличается в сравнении с доношенными детьми, у которых частота выявления *Enterococcus spp.* варьировала от 23,4% до 100% [18, 72, 76, 99, 143]. Однако, проводя сравнение с недоношенными детьми других исследований, нами обнаружен более высокий процент выявления *Enterococcus spp.* в толстой кишке в 1,5 раза [150, 161] и меньше в 1,4 раза в сравнении с данными [46]. Независимо от биотопа у недоношенных детей доминирующим видом был *E.faecium*, в отличие от *E.faecalis* у доношенных и недоношенных детей [18, 76, 173, 182, 195].

Условно-патогенные представители так же выявляли у небольшого числа детей, что согласуется с данными [76], но в сравнении с [73, 161] выше в 3 раза и ниже в 1,5 – 2 раза в работах [143, 146].

Учитывая незрелость всех органов и систем у глубоконедоношенных детей, на фоне проведения антибактериальной терапии и инвазивных процедур происходила контаминация дрожжеподобными грибами рода *Candida* всех основных биотопов. Чаще всего грибы колонизировали толстую кишку (36,2%; 5,6 lg КОЕ/г), что значительно выше (в 1,2-11 раз), чем у доношенных детей [18, 76, 143] и в 3-6,1 раза, чем у недоношенных детей [4, 85, 161]. Возможно, источником распространения грибов *Candida* в смежные биотопы является кишечник.

Полученные нами данные позволили заключить, что у всех обследованных недоношенных детей на момент поступления в отделение новорожденных и недоношенных детей обнаружены выраженные дисбиотические сдвиги микрофлоры во всех основных микробиоценозах. Дефицит микрофлоры, особенно облигатной, является предпосылкой обсеменения условно-патогенными и патогенными представителями, что и продемонстрировал факторный анализ, проведенный в зависимости от длительности госпитализации детей в стационаре. При наименьшей госпитализации (до 30 дней) облигатные представители присутствовали у детей в большем количестве. К выписке из стационара произошло увеличение частоты выделения  $\alpha$ -зеленящих стрептококков в 5 раз (41,4%  $p < 0,001$ ), что намного ниже (2-2,5 раза) в сравнении с доношенными детьми [18, 76]. Лактобактерии у недоношенных детей в данном биотопе

отсутствовали. Влияние длительности госпитализации на становление бифидофлоры толстой кишки нами не отмечено (98,3%; 9,0 lg КОЕ/г), чего нельзя сказать про второй по значимости облигатный представитель – *Lactobacillus spp.*, который регистрировали лишь у 29,3% ( $p < 0,01$ ) и только у детей при меньшей продолжительности госпитализации, в сравнении с литературой [14, 61]. Подобная тенденция отмечена и в отношении выделения *E.coli* с сохраненными свойствами – 60,3% ( $p < 0,001$ ) в количестве 8,1 lg КОЕ/г, что ниже в 1,5 раза данных других авторов [18, 76].

Одновременно с ростом описанных выше микроорганизмов на слизистой зева (в 1,5 раза,  $p < 0,01$ ) и кишечника (в 1,9 раза,  $p < 0,05$ ) наблюдалось снижение доли КОС, в то время как на слизистой МВС отмечалось увеличение данных представителей (в 2,6 раза,  $p < 0,001$ ), что значительно выше в сравнении с данными литературы [8, 117]. К выписке из стационара произошло увеличение частоты выделения *Enterococcus spp.* во всех изучаемых биотопах (1,7 - 4,3 раза), что может носить двоякий характер, как положительный, так и отрицательный за счет заселения госпитальными резистентными штаммами [191].

Особого внимания заслуживают изменения, касающиеся увеличения условно-патогенной микрофлоры одновременно во всех изучаемых биотопах независимо от длительности госпитализации. Наибольший рост грамотрицательных энтеробактерий отмечен при исследовании мочи в 22,3 раза (75,9%  $p < 0,001$ ); в 10 раз на слизистой зева (50,0%  $p < 0,001$ ), в 3,6 раза в толстой кишке (69,0%  $p < 0,001$ ). Вероятнее всего у недоношенных детей происходит одновременная контаминация энтеробактериями трех основных биотопов, что подтверждает корреляционный анализ и схожая видовая картина, так *Klebsiella spp.*, *Serratia spp.* и *Citrobacter spp.* выделяли из мочи, отделяемого зева и фекалий; *Hafnia* из зева и мочи. На этом фоне происходила элиминация дрожжеподобных грибов *Candida* со слизистой мочевыделительной системы, снижение частоты их выделения из толстой кишки в 7 раз, при увеличении в 2,4 раза данных представителей в зеве.

Следовательно, развитие количественных и качественных нарушений облигатной микрофлоры приводят к нарушению колонизационной

резистентности. Это создает условия для активной колонизации условно-патогенными микроорганизмами с развитием эндогенных инфекций, что способствует поздней выписке детей из стационара и возможному формированию дисбиотических сдвигов в микроэкологии у данной группы детей.

Как известно из литературы [151, 153] новорожденные дети, особенно рожденные раньше срока подвержены развитию воспалительных заболеваний, особенно мочевыделительной системы. Это связано с морфологической и функциональной незавершенностью развития органов к рождению, текущие инфекции, гипоксические состояния, реанимационные мероприятия, позднее прикладывание к груди - все это способствует быстрому прогрессированию воспалительного процесса в почечной ткани.

Установлено, что этиопатогенетическим фактором инфекционно-воспалительных заболеваний мочевой системы является изменение микрофлоры толстой кишки [83, 116, 151, 152, 153]. Проанализировав микрофлору этих двух биотопов, у 43,1% детей выявлено совпадение ГОЭБ и у 36,2% *Enterococcus spp.*, что несколько отличается от данных литературы [116].

Можно утверждать, что новорожденные дети подвержены развитию инфекций мочевыделительной системы с преобладанием грамотрицательных энтеробактерий. Этому способствуют изменения микробиоценоза со стороны толстой кишки, что требует проведения коррекции нормальной микрофлоры указанного биотопа с целью снижения риска развития микробно-воспалительного процесса в мочевыделительной системе.

Как показало наше дальнейшее наблюдение за детьми в 6 и 12 месяцев сформированной микробиоты зева, мочевыделительной системы и толстой кишки не отмечено. Особенно настораживает факт медленного формирования лактофлоры кишечника (56,9%), зелениющих стрептококков зева (53,4%) и сохранения к 12 месяцам на высоком уровне грамотрицательных энтеробактерий в толстой кишке и мочевыделительной системе (67,2% и 50,0%, соответственно).

На процесс становления микробиоты новорожденного ребенка влияют множество факторов: вид родоразрешения, характер вскармливания, длительная

госпитализация в стационаре, антибактериальная терапия и различные воздействия окружающей среды [81, 89, 137, 170, 178, 181, 182, 189, 196, 199, 204, 210, 211].

Для выявления значимых факторов, влияющих на становление микробиоты, нами проведен факторный анализ. Так, у младенцев во время госпитализации в отделение реанимации в неонатальном периоде из многочисленных факторов наиболее значимым оказался реанимационный фактор, который проявлялся обсеменением основных биотопов *P.aeruginosa* (отделяемое зева (0,6), толстой кишки (0,7) и МВС (0,7)), что отмечают и ряд авторов [73, 119, 153, 192]. Доказано, что чем меньше гестационный возраст ребенка (-0,5), тем чаще требуется проведение реанимационных мероприятий во время госпитализации детей в реанимационное отделение. При этом у детей без госпитализации в отделение реанимации доминировали дрожжеподобные грибы *Candida* (отделяемое зева (0,9), толстая кишка (0,9) и моча (0,9)). Необходимо отметить, что у данной группы детей лучше происходит процесс формирования лактофлоры толстой кишки. На фоне замедленного формирования облигатного пула основных биотопов отмечено присоединение госпитальной условно-патогенной микрофлоры (грамотрицательных энтеробактерий толстой кишки - 24,2%; зева - 6,1%), что несколько отличается от исследований ряда авторов [46, 73, 85, 119, 161]. Очень большое значение имеют локальные особенности микробиологического пейзажа в конкретных учреждениях здравоохранения.

В дальнейшем на этапе выхаживания детей в условиях стационара произошла сукцессия микроорганизмов с преобладанием условно-патогенных микроорганизмов, что установлено при проведении факторного анализа.

В возрасте 6 месяцев сохраняется напряженность микроэкологических показателей, с преобладанием условно-патогенных микроорганизмов (*E.coli* (0,7), *S.tropicalis* (0,6), *E.faecalis* (0,6) – ВДП; *K.pneumoniae* (0,5) – МВС).

Только к возрасту 12 месяцев появляются антагонистические взаимосвязи между облигатными представителями толстой кишки, при сохранении значимой роли условно-патогенных представителей.

Влияние способа родоразрешения на микробиоту у глубоконедоношенных детей быстро нивелируется, под влияние других факторов. Однако можно утверждать, что *Enterococcus spp.* зева с большей частотой высевались при естественных родах (1,4 – 2 раза) независимо от срока гестации [18, 76]. Та же закономерность отмечена и в отношении зеленящих стрептококков [18, 76]. На этом фоне происходит более активно колонизация грибами *Candida* у недоношенных детей слизистой зева и толстой кишки [18, 76, 107]. Следует отметить, что независимо от способа родоразрешения у недоношенных детей на слизистой ВДП не заселялись *Lactobacillus spp.*, в отличие от детей, рожденных в срок [76].

Оперативные роды способствуют обсеменению слизистой зева условно-патогенной флорой (в 1,4 раза) [18, 76]. В толстой кишке энтеробактерии мы выделяли в 1,7 раза чаще у детей после естественных родов (25,0%), что согласуется с данными [6, 18, 76] и выше в 2 раза в сравнении с [56].

Одной из причин рождения детей раньше срока является инфицирование *CMV*, *U.urealyticum*, *M.hominis*, распространенность которых составляет от 10,0 до 27,6% [80, 128]. Нами частота инфицирования установлена у 20,6% детей. Чаще данные представители выделяли из мочи и верхних дыхательных путей (19,0% и 17,2%, соответственно), чем из крови (1,7%). С одинаковой частотой (6,9%) регистрировали в моче *U.urealyticum* и *CMV*, а *M.hominis* у 5,2% детей. Выявление *U.urealyticum* незначительно отличается от уровня их выделения у недоношенных детей других исследований (1,9 - 4,5%) [8, 58, 149, 154], однако обнаружение *CMV* значительно ниже (8,57 – 27,2%) в сравнении с данными ряда авторов [8, 115, 146, 149, 154]. По данным литературы отмечалось выделение у детей *S.trachomatis* и *HSV-1,2* [58, 119, 154], мы данных представителей не регистрировали. Установлено, что инфицирование в большей степени оказывает негативное влияние на облигатную микрофлору зева (КОС, зеленящие стрептококками), при этом отсутствует негативное действие на облигатную микрофлору толстой кишки. На этом фоне происходит контаминация основных

биотопов недоношенных детей условно-патогенной флорой (ГОЭБ, НГОБ и грибы *Candida*).

Микробное обсеменение пищеварительной системы зависит от характера вскармливания и срока прикладывания ребенка к груди матери [4, 41, 63, 74, 104]. Отмечено, что к моменту выписки из стационара на грудном вскармливании интенсивнее происходило заселение толстой кишки *Lactobacillus spp.* (42,3%) [4], при этом значимого влияния вскармливания на бифидофлору нами не выявлено (96,2% грудное, 100% искусственное), показатели выше данных других исследований (40,0% - 52,6%) [63, 104]. Obligatно-анаэробные представители толстой кишки (*Bacteroides spp.* и *Clostridium spp.*) доминировали на фоне искусственного вскармливания [63, 104]. С возрастом число детей, находившихся на грудном вскармливании, значительно снижается (13,8% в 12 месяцев). При этом полученные данные факторного анализа свидетельствуют о положительном влиянии грудного и смешанного вскармливания на становление микробиоты, в первую очередь толстой кишки.

Особенностью выхаживания глубоконедоношенных детей является назначение антибактериальной терапии, часто длительной и интенсивной. Антибиотики разрушают баланс микрофлоры, меняют межвидовые отношения, способствуют медленному формированию микробиоценозов, особенно кишечника, размножению условно-патогенных микроорганизмов и высокой частоте смены возбудителя, часто резистентных к антибиотикам [50, 73, 187, 188].

Антибактериальные препараты по-разному влияют на становление и формирование микрофлоры. Практически все антибиотики, кроме макролидов, способствуют контаминации зева *S.pneumoniae*, грибами рода *Candida*. β-лактамы, аминогликозиды, гликопептиды в дополнение к этому способствуют обсеменению *H.influenzae*. Большая часть антибактериальных препаратов препятствуют формированию зеленящих стрептококков и коагулазоотрицательных стафилококков, за исключением макролидов и оксазолидинонов. На фоне антибиотикотерапии формируется контаминация мочевыделительной системы грамположительными кокками (КОС и *Enterococcus*



*spp.*) за исключением оксазолидинонов и НГОБ (за исключением метронидазола). Антибиотики препятствуют заселению толстой кишки *Enterococcus spp.* (исключение  $\beta$ -лактамы, метронидазол и оксазолидиноны). Применение антибиотиков ( $\beta$ -лактамы, аминогликозиды, метронидазол, оксазолидиноны, гликопептиды) способствует контаминации слизистой толстой кишки КОС. Из облигатных представителей вначале заселялись эшерихии, с поздним формированием пула *Bifidobacterium spp.* и *Lactobacillus spp.* Использование любых антибиотиков приводит к повышенной контаминации зева грамтрицательными энтеробактериями, так же ГОЭБ толстой кишки заселяются на фоне использования макролидов и оксазолидинонов, а в мочевыделительной системе на фоне – фторхинолонов, гликопептидов и макролидов.

Что касается чувствительности выделенных патогенов, то нами получены данные о сформированной полирезистентности стафилококков к большому числу antimicrobных препаратов (цефокситин, эритромицин, гентамицин, ципрофлоксацин), при сохранении чувствительности к клиндамицину (76,2%). Анализ литературы показал различные пределы колебания антибиотикорезистентности КОС [27, 28, 30, 63, 87, 117, 161, 201]. Энтерококки так же имели высокие уровни резистентности к ампициллину (54,2%), аминогликозидам (79,2%), фторхинолонам (60,9%), что согласуется с данными в работе [191] и ниже в сравнении с данными у новорожденных детей, где устойчивость достигала 100% к аминогликозидам [155]. Чувствительность *Enterococcus spp.* к ванкомицину сохранялась у всех штаммов. Все выделенные штаммы грамтрицательных энтеробактерий демонстрировали резистентность к antimicrobным препаратам от 8,5% (гентамицин) до 47,8% (цефтазидим), с сохранением чувствительности к карбапенемам (75,0%). Что касается НГОБ (*P.aeruginosa*), то большое количество штаммов имели высокий уровень резистентности к широко используемым препаратам [58, 74].

Появление штаммов микроорганизмов резистентных к антибактериальным препаратам чаще возникает при госпитализации в отделение реанимации и формировании внутрибольничных гнойно-воспалительных заболеваний [73, 117,

161, 182], что требует разобщения детей на втором этапе выхаживания с целью предотвращения распространения и контаминации детей антибиотикорезистентными штаммами микроорганизмов.

Можно утверждать, что у недоношенных детей, получающих массивную антибактериальную терапию происходит постоянная сукцессия микробиоценозов основных биотопов и отмечается персистенция условно-патогенных микроорганизмов, чаще резистентных к антибиотикам, что сохраняется на протяжении длительного времени.

Как показало наше динамическое исследование, у недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела к году жизни не происходит полного формирования микробиоты толстой кишки, зева и мочевыделительной системы поэтому нами предложен алгоритм обследования и наблюдения детей с целью выявления характера формирования микробиоты основных биотопов организма ребенка.

Состав кишечной микробиоты впервые дни жизни может быть очень важным фактором для достижения и поддержания хорошего здоровья в будущем. Естественная траектория формирования микробной экологии является залогом длительного здоровья и высокого качества жизни растущего человеческого организма [43, 208].

## ВЫВОДЫ

1. Выявлены нарушения микроэкологии желудочно-кишечного и респираторного тракта недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела на этапе выхаживания в стационаре, представленные дефицитом *Lactobacillus spp.* (91,4%), *Bifidobacterium spp.* (51,7%), *E.coli* (94,8%) в толстой кишке; зелеными стрептококков (91,4%), *Lactobacillus spp.* в отделяемом зева, на фоне роста контаминации грамотрицательными энтеробактериями, преимущественно мочевыделительной системы (75,9%).
2. Установлено, что при динамическом наблюдении (в течении 12 месяцев) микробиота организма ребенка не сформирована с сохранением дефицита лактофлоры (43,1%) кишечника, особенно у детей с массой тела менее 1000гр и зелеными стрептококков (46,6%) в зеве, на фоне микробной сукцессии и обнаружения высокой частоты представителей семейства *Enterobacteriaceae* (толстая кишка - 67,2%; мочевыделительная система – 50,0%).
3. С помощью корреляционного и факторного анализа определены значимые факторы, влияющие на процесс становления микрофлоры зева, мочевыделительной системы и желудочно-кишечного тракта недоношенных детей: лечение в реанимационном отделении, длительный период выхаживания в стационаре, особенно более 50 дней, с проведением антибактериальной терапии, что способствует контаминации условно-патогенными полирезистентными микроорганизмами.
4. Установлено, что антибактериальная терапия замедляет процесс формирования облигатной микрофлоры и способствует персистенции условно-патогенными представителями (*Klebsiella spp.*, *Serratia spp.*, *P.aeruginosa*) основных биотопов недоношенных детей.
5. Разработанные алгоритмы микробиологического мониторинга микробиоты включают комплексное обследование недоношенных детей с массой тела менее 1500г на протяжении первого года жизни для своевременного выявления патологических состояний и повышения качества жизни растущего организма.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Рекомендована модифицированная схема бактериологического исследования фекалий с включением обследования цельного материала для выявления энтеробактерий (типичных эшерихий) и первого разведения для обнаружения бифидобактерий, лактобактерий, энтерококков, энтеробактерий, гемолитических форм микроорганизмов.

Обоснована необходимость микробиологического мониторинга контаминации основных биотопов (верхние дыхательные пути и толстая кишка) условно-патогенной флорой с определением их антибиотикочувствительности при переводе недоношенных детей с массой тела менее 1500г из отделения реанимации на этап выхаживания и при выписке детей из неонатального стационара.

Разработанные алгоритмы мониторинга микробиоты недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела на протяжении первого года жизни позволяют сформировать персонализированный подход к выявлению, адекватному лечению и предупреждению развития гнойно-септических инфекций.

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Последующие исследования необходимо сосредоточить на молекулярногенетической характеристике микрофлоры и внедрении масс-спектрометрического метода для расширения представления о микробиоте организма недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела в условиях города Архангельска.

Обоснована целесообразность разработки методических рекомендаций по обследованию и динамическому наблюдению за характером микробиоты основных биотопов у недоношенных детей с экстремально низкой массой тела в возрасте с 1 года до 3 лет.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

ВДП – верхние дыхательные пути

ВУИ – внутриутробное инфицирование

ГБУЗ АО «АДКБ» - Государственное бюджетное учреждение здравоохранения  
Архангельской области «Архангельская областная детская клиническая больница  
имени П.Г. Выжлецова»

ГОЭБ – грамотрицательные энтеробактерии

ГСИ – гнойно-септические инфекции

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИВЛ – искусственная вентиляция легких

ИМС – инфекция мочевой системы

КОС – коагулазоотрицательные стафилококки

МВС – мочевыделительная система

НГОБ – неферментирующие грамотрицательные бактерии

ОКБ – общее количество бактерий

ОМЧ – общее микробное число

ОНМТ – очень низкая масса тела

ОРН – отделение реанимации новорожденных

ПЦР – полимеразная цепная реакция

СИБ – система индикаторных бумаг

УПБ – условно-патогенные бактерии

ФГБОУ ВО СГМУ (г.Архангельск) Минздрава России - федеральное  
государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования  
«Северный государственный медицинский университет» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации

ЦМВ - цитомегаловирус

ЦМВИ – цитомегаловирусная инфекция

ЭНМТ – экстремально низкая масса тела

АРІ - ампициллин

AKN -амикацин

CAZ - цефтазидим

CIP - ципрофлоксацин

CMN - клиндамицин

CFP - цефоперазон

CTX – цефотаксим

CX - цефокситин

ERY - эритромицин

GMN - гентамицин

IMP – имипенем

NX - норфлоксацин

SXT – ко-тримоксазол

VAN - ванкомицин

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Аминова, А.И. Современные представления о метаболоме и метабиотиках / А.И. Аминова, Г.Д. Абдуллаева, З.Ф. Гумбатова, О.В. Возгомент, А.А. Акатова // Вопросы практической педиатрии. – 2017. – Т. 12, № 5. - С. 44-50.
2. Аминова, А.И. Эволюция развития науки от микробиоты и микробиома – к метаболому, от пробиотиков – к метабиотикам / А.И. Аминова, Г.Д. Абдуллаева, З.Ф. Гумбатова, А.С. Пестова // Вопросы практической педиатрии. – 2017. – Т. 12, № 2. - С. 47-57.
3. Амирова, В.Р. Характеристика микрофлоры и антибиотикорезистентность микроорганизмов у новорожденных из групп высокого риска по внутриутробному инфицированию / В.Р. Амирова, Э.Н. Ахмадеева, З.Г. Габидуллин, Т.А. Малиевская // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2000. – Т. 79, № 3. - С. 14-19.
4. Антипова, И.П. Состояние микробного биоценоза кишечника недоношенных новорожденных детей при различных видах вскармливания: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.09 / Антипова Ирина Павловна. – М., 2005. – 24 с.
5. Ахмадеева, Э.Н. Особенности микробного пейзажа новорожденных в зависимости от способа родоразрешения / Э.Н. Ахмадеева, В.Р. Амирова, О.А. Брюханова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2006. - № 5. – С. 19–21.
6. Ахмадеева, Э.Н. Особенности микробной колонизации новорожденных, извлеченных путем кесарева сечения / Э.Н. Ахмадеева, В.Р. Амирова, О.А. Брюханова, Ю.Д. Еникеева // Практическая медицина. – 2010. - № 1(40).- С. 98-100.
7. Барановский, А.Ю. Дисбактериоз кишечника / А.Ю. Барановский, Э.А. Кондрашина. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Питер, 2007. – 240 с.
8. Белан, Ю.Б. Этиологические аспекты инфекций мочевой системы у детей / Ю.Б. Белан, Т.А. Морозова // Современные проблемы науки и образования. – 2008. - № 2. – С. 12-16.



9. Белокрысенко, С.С. Дисбактериоз с точки зрения микробиолога / С.С. Белокрысенко // Клиническая лабораторная диагностика. – 2010. - № 8. – С. 47-49.
10. Бельмер, С.В. Пробиотическая коррекция антибиотик-ассоциированного дисбактериоза кишечника у детей клинические наблюдения / С.В. Бельмер, Н.Е. Щиголева, А.И. Хавкин, А.В. Горелов, С.Ф. Блат, Е.В. Каннер, М.А. Ратникова, О.А. Кондракова, Е.В. Семенова, Р.Р. Мустафина // Вопросы современной педиатрии. – 2007. – Т. 6, № 3. - С. 89-93.
11. Бельмер, С.В. Становление кишечного микробиоценоза у детей первого года жизни и пути его коррекции / С.В. Бельмер, Л.М. Карпина // Вопросы современной педиатрии. – 2010. – Т. 9, № 4. – С. 138-142.
12. Беляева, И.А. Кишечная микробиота у недоношенных детей – современное состояние проблемы (обзор литературы) / И.А. Беляева, Е.П. Бомбардирова, Т.В. Турти, М.Д. Митиш, Т.В. Потехина // Педиатрическая фармакология. – 2015. - Т. 12, № 3. - С. 296–303.
13. Беляева, И.А. Онтогенез и дизонтогенез микробиоты кишечника у детей раннего возраста: триггерный механизм нарушений детского здоровья / И.А. Беляева, Е.П. Бомбардирова, М.Д. Митиш, Т.В. Потехина, Н.А. Харитоновна // Вопросы современной педиатрии. – 2017. – Т. 16, № 1. – С. 29-38.
14. Божбанбаева, Н.С. Клинико-лабораторная характеристика внутриутробной цитомегаловирусной инфекции у новорожденных детей / Н.С. Божбанбаева // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2010. – Т. 55, № 1. - С. 107-111.
15. Бокова, Т.А. Микробиоценоз желудочно-кишечного тракта: место метабиотиков в коррекции дисбиотических нарушений / Т.А. Бокова // Вопросы практической педиатрии. – 2016. – Т. 11, № 5. – С. 38-42.
16. Бондаренко, В.М. Дисбактериоз кишечника как клинико-лабораторный синдром: современное состояние проблемы / В.М. Бондаренко, Т.В. Мацулевич. – М.: Геотар-Медиа, 2007. – 300 с.

17. Буланов, Р.Л. Клинико-микробиологическая характеристика диады «мать-дитя» при оперативном родоразрешении / Р.Л. Буланов, Г.Н. Чумакова, Т.А. Бажукова, О.В. Лебедева // Экология человека. – 2008. - № 7. - С. 18-23.
18. Буланов, Р.Л. Особенности клинико-микробиологической адаптации новорожденных при оперативном родоразрешении: дис. ... канд. мед. наук: 14.00.09 / Буланов Роман Леонидович. - Архангельск, 2008. - 128 с.
19. Буланов, Р.Л. Особенности формирования микроэкологии при абдоминальном родоразрешении / Р.Л. Буланов, Г.Н. Чумакова, Т.А. Бажукова, О.В. Лебедева // Экология человека. – 2008. - № 9. - С. 37-41.
20. Булатова, Е.М. Кишечная микробиота: современные представления / Е.М. Булатова, Н.М. Богданова, Е.А. Лобанова, Т.В. Габруская // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. - 2009. – Т. 87, № 3. - С. 104-110.
21. Булатова, Е.М. Питание и формирование здоровой кишечной микрофлоры у детей первых месяцев жизни / Е.М. Булатова, Т.В. Габруская, О.К. Нетребенко // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2007. – Т. 86, № 3. – С. 84-89.
22. Булатова, Е.М. Профиль микробного метаболизма кишечника у детей первого полугодия жизни при различных способах родоразрешения / Е.М. Булатова, А.М. Шабалов, Н.М. Богданова, А.И. Шилов, Н.С. Курицина // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2018. – Т. 97, № 1. – С. 38-45.
23. Булатова, Е.М. Становление кишечной микрофлоры в постнатальном периоде и ее значение в формировании адаптивного иммунного ответа и иммунологической толерантности / Е.М. Булатова, Н.М. Богданова // Вопросы современной педиатрии. – 2007. – Т. 6, № 3.- С. 53–61.
24. Бухарин, О.В. Ассоциативный симбиоз / О.В. Бухарин, Е.С. Лобакова, Н.В. Немцева, С.В. Черкасов. – Екатеринбург: УрО РАН, 2007. – 264 с.
25. Бухарин, О.В. Взаимодействие *Bifidobacterium bifidum* с представителями нормальной микрофлоры в микросимбиозе кишечника человека / О.В. Бухарин, Н.Б. Перунова, Е.В. Иванова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2012. - № 4. - С. 51-56.

26. Бухарин, О.В. От персистенции к симбиозу микроорганизмов / О.В. Бухарин // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2012. - № 4. - С. 4-9.
27. Бухарин, О.В. Современные аспекты микробной экологии человека / О.В. Бухарин, А.В. Вальшев, С.В. Черкасов // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2006- № 1. - С. 29-32.
28. Бухарин, О.В. Таксономическая характеристика и антибиотикорезистентность возбудителей перинатальной инфекционно-воспалительной патологии у новорожденных Оренбурга / О.В. Бухарин, В.А. Гриценко, А.А. Вялкова, Т.В. Бирюкова // Антибиотики и химиотерапия. – 2005. – Т. 50, № 8-9. - С. 32-37.
29. Бухарин, О.В. Экология микроорганизмов человека / О.В. Бухарин А.В. Вальшев, Ф.Г. Гильмутдинова, В.А. Гриценко, О.Л. Карташова, М.Д. Кузьмин, Б.Я. Усвяцов, С.В. Черкасов. – Екатеринбург: УрО РАН, 2006. – 479 с.
30. Бухарин, О.В. Эпидемиологические и клиничко-микробиологические аспекты перинатальной инфекционно-воспалительной патологии у новорожденных г. Оренбурга / О.В. Бухарин, В.А. Гриценко, А.А. Вялкова, Т.В. Бирюкова // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2006. - № 1. - С. 32-37.
31. Вальшева, И.В. Особенности микробиоценоза толстой кишки при дисбиотических нарушениях / И.В. Вальшева, М.В. Сычева, Л.Ф. Сулеева О.Л. Карташова, А.В. Вальшев // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2011. - № 1. - С. 67-70.
32. Володин, Н.Н. Использование молекулярно-генетических технологий, основанных на полимеразной цепной реакции, в диагностике инфекционных заболеваний у новорожденных / Н.Н. Володин, Л.А. Дегтярева, Л.И. Кафарская // Вопросы практической педиатрии. – 2010. – Т. 5, № 4. - С. 39-46.
33. Геппе, Н.А. Нарушение микробиоценоза кишечника у детей: причины развития и методы коррекции / Н.А. Геппе, М.Н. Снегоцкая // Вопросы практической педиатрии. - 2011. – Т. 6, № 2. - С. 41-46.

34. Голубцова, Ю.М. Пробиотики в профилактике позднего неонатального сепсиса у недоношенных новорожденных / Ю.М. Голубцова, Д.С. Крючко // Неонатология: новости, мнения, обучение. – 2016. - № 2. – С. 16–30.
35. Гржибовский, А.М. Анализ количественных данных для двух независимых групп / А.М. Гржибовский // Экология человека. – 2008. - № 2. – С. 54–61.
36. Гржибовский, А.М. Анализ номинальных данных / А.М. Гржибовский // Экология человека. – 2008. - № 6. – С. 58–68.
37. Гржибовский, А.М. Корреляционный анализ / А.М. Гржибовский // Экология человека. – 2008. - № 9. – С. 50–60.
38. Гржибовский, А.М. Одномерный анализ повторных измерений / А.М. Гржибовский // Экология человека. – 2008. - № 4. – С. 51–60.
39. Гржибовский, А.М. Типы данных, проверка распределения и описательная статистика / А.М. Гржибовский // Экология человека. – 2008. - № 1. – С. 52–58.
40. Гриценко, В.А. Клинико-микробиологический мониторинг перинатальной инфекционно-воспалительной патологии у новорожденных г. Оренбурга / В.А. Гриценко, Т.В. Бирюкова, А.А. Вялкова // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2008. - № 3. - С. 27-35.
41. Гусейнова, Н.А. Пробиотикотерапия, применяемая при кишечной дисфункции новорожденных, рожденных с помощью кесарева сечения / Н.А. Гусейнова // Альманах клинической медицины. – 2010. - № 23. - С. 72-75.
42. Даминов, Т.О. Генодиагностика в выявлении возбудителей TORCH-комплекса у новорожденных и детей раннего возраста / Т.О. Даминов, Ш.А. Агзамова, А.Д. Джагарян // Детские инфекции. – 2009. - № 2. - С. 64-66.
43. Денисов, М.Ю. Состояние здоровья и пробиотическая поддержка детей, рожденных в результате вспомогательных репродуктивных технологий / М.Ю. Денисов, Н.М. Пасман, А.З. Карпова, О.Н. Морозова, А.С. Якушин // Вопросы практической педиатрии. – 2017. – Т. 12, № 2. – С. 11-18.
44. Дисбиоз кишечника. Руководство по диагностике и лечению. – 3-е изд., испр. и доп. / под ред. А.Н. Суворова, Е.И. Ткаченко, Ю.П. Успенского. – СПб.: ИнформМед, 2013. – 270 с.

45. Донецкая, Э.Г.-А. Клиническая микробиология / Донецкая Э.Г.-А. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 480 с.
46. Донских, Е.Е. Молекулярный и микробиологический мониторинг становления микрофлоры кишечника новорожденных: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.03 / Донских Екатерина Евгеньевна. – М., 2010. – 29 с.
47. Егшатын, Л.В. Изменения кишечной микрофлоры, ассоциированные с возрастом и образом жизни / Л.В. Егшатын, О.Н. Ткачева, Л.И. Кафарская, А.Н. Шкопоров, А.В. Тяхт // Ожирение и метаболизм. – 2015. – Т. 12, № 2. – С. 3-9.
48. Завьялова, А.В. Особенности микрофлоры верхних отделов пищеварительного тракта у детей раннего возраста с воспалительными поражениями пищевода и желудка / А.В. Завьялова, Р.Р. Шиляев, Е.Б. Копилова, О.А. Петрова, И.В. Князева // Педиатрия. – 2007. – Т. 86, № 5. – С. 109–113.
49. Захарова, И.Н. Микробиоценоз кишечника у детей: современные представления / И.Н. Захарова, Ю.А. Дмитриева // Педиатрия. Приложение к журналу Consilium Medicum. – 2013. - № 3. - С. 74-79.
50. Захарова, И.Н. Формирование кишечной микробиоты у детей первого полугодия жизни и характер вскармливания / И.Н. Захарова, Н.Г. Сугян, Ю.А. Дмитриева, Е.Н. Суркова, Л.В. Бегиашвили // Вопросы практической педиатрии. – 2010. – Т. 5, № 5. - С. 115-121.
51. Захарова, И.Н. Формирование микробиоценоза кишечника у детей, находящихся на естественном и искусственном вскармливании / И.Н. Захарова, Е.Н. Сурикова, Ю.А. Дмитриева, Л.В. Бегиашвили // Вопросы современной педиатрии. – 2010. – Т. 9, № 2. – С. 103-108.
52. Захарова, И.Н. Формирование микробиоценоза кишечника у детей, находящихся на искусственном вскармливании / И.Н. Захарова, Е.Н. Суркова, Ю.А. Дмитриева, Л.В. Бегиашвили // Практика педиатра. – 2010. - Март-апрель. – С. 28-32.
53. Захарова, Ю.А. Оценка роли внутрибольничного инфицирования в ходе проспективного наблюдения за состоянием кишечной микрофлоры

- новорожденного в неонатальный период / Ю.А. Захарова // Медицинский алфавит. - 2011. - № 1. - С. 18-21.
54. Зубков, В. Антибактериальная терапия в неонатальной практике / В. Зубков, И. Рюмина, В. Шухов // Врач. – 2011. - № 13.- С. 2-5.
55. Зубков, В.В. Микробиологический мониторинг в системе инфекционного контроля неонатальных стационаров / В.В. Зубков, Л.А. Любасовская, И.И. Рюмина, Т.В. Припутневич, А.С. Анкирская, В.Л. Тютюнник // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2014. - № 1. - С. 51-56.
56. Ипполитова, Л.И. Формирование биоценоза кишечника у детей, рожденных путем кесарева сечения / Л.И. Ипполитова, И.И. Логвинова, О.В. Анохина, Е.М. Родионова, Н.П. Куприна // Детские инфекции. – 2009. - № 4. - С. 11-15.
57. Калмыкова, А.И. Пробиотики: Терапия и профилактика заболеваний. Укрепление здоровья / А.И. Калмыкова. - Новосибирск: СибНИПТИП СО РАСХН, 2001. – 208 с.
58. Касумова, А.М. Микробиологические критерии диагностики перинатальной инфекционно-воспалительной патологии новорожденных: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 03.02.03 / Касумова Аминат Магомедовна. – М., 2015. – 24 с.
59. Кафарская, Л.И. Особенности микробной колонизации кишечника новорожденных и недоношенных детей в отделениях реанимации и интенсивной терапии / Л.И. Кафарская, Н.Н. Володин, Б.А. Ефимов, С.С. Афанасьев, А.Н. Шкопоров // Вестник Российской Академии медицинских наук. – 2006. - № 1. – С. 10-15.
60. Кафарская, Л.И. Особенности становления микрофлоры у детей раннего возраста / Л.И. Кафарская, Б.А. Ефимов, Е.А. Постникова, Е.Е. Донских // Детские инфекции. – 2006. - Т. 5, № 1. – С. 6–11.
61. Кафарская, Л.И. Особенности формирования микрофлоры у детей раннего возраста и пути ее коррекции с помощью пробиотиков / Л.И. Кафарская, М.Л. Шуникова, Б.А. Ефимов, А.Н. Шкопоров, Ю.М. Голубцова, Ю.А. Сигова // Педиатрическая фармакология. – 2011. – Т. 8, № 2. - С. 94-98.

62. Кафарская, Л.И. Пробиотики в педиатрической практике / Л.И. Кафарская, Б.А. Ефимов, А.Н. Шкопоров, Ю.М. Голубцова, М.Л. Шуникова // Детская гастроэнтерология. – 2011. - № 1. – С. 44-48.
63. Кешишян, Е.С. Микробиоценоз кишечника у детей раннего возраста: факторы, влияющие на его становление, роль видов вскармливания / Е.С. Кешишян, Е.К. Бердникова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2009. – Т. 54, № 5. - С. 20-24.
64. Колбин, А.С. Фармакоэпидемиология противомикробных средств в неонатологии: результаты ретроспективного исследования / А.С. Колбин, С.В. Сидоренко, Ю.В. Лобзин, Д.О. Иванов, Н.П. Шабалов, А.В. Михайлов, Н.Н. Климко, Г.В. Долгов, А.А. Шмидт, Т.Л. Галанкин, А.А. Курылёв, Е.А. Маликова // Вопросы современной педиатрии. – 2016. – Т. 15, № 5. - С. 481-488.
65. Корниенко, Е.А. Актуальные вопросы коррекции кишечной микрофлоры у детей: учебное пособие / Е.А. Корниенко. – М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ и СР РФ, 2006. – 48 с.
66. Корниенко, Е.А. Метаболическое действие микробиоты и метабиотики / Е.А. Корниенко // Русский медицинский журнал – 2016. - №18. – С. 1196-1201.
67. Корниенко, Е.А. Роль кишечной микрофлоры и пробиотиков в развитии иммунитета у грудных детей / Е.А. Корниенко, О.К. Нетребенко, С.Е. Украинцев // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. - 2009. – Т. 87, № 1. - С. 77-83.
68. Корниенко, Е.А. Современные принципы выбора пробиотиков / Е.А. Корниенко // Детские инфекции. – 2007. - № 3. - С. 64-69.
69. Косенкова, Е.Г. Инфекции специфичные для перинатального периода (внутриутробные инфекции): распространенность, этиопатогенез и диагностика / Е.Г. Косенкова, И.М. Лысенко, Л.Н. Журавлева // Охрана материнства и детства. – 2011. - №2. - С.18 - 25.

70. Котлуков, В.К. Особенности вскармливания недоношенных детей грудным молоком / В.К. Котлуков, Л.Г. Кузьменко, Н.В. Антипова, М.В. Поляков // Вопросы современной педиатрии. – 2011. – Т. 10, № 6. - С. 170-175.
71. Крапивина, И.В. Антибиотикочувствительность и молекулярные механизмы резистентности к бета-лактамам грамотрицательных микроорганизмов - возбудителей внутрибольничных инфекций / И.В. Крапивина, Е.В. Галеева, Н.С. Вешутова, Д.В. Иванов, С.В. Сидоренко // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2007. - № 5. - С. 16-20.
72. Кудашов, Н.И. Клиническая значимость микробиологического мониторинга бактериальных агентов в условиях отделения патологии новорожденных / Н.И. Кудашов, А.С. Анкирская, А.В. Александровский, Л. Любасовская // Детские инфекции. – 2009. - № 1. - С. 24-29.
73. Кушнарера, М.В. Клиническая и микробиологическая эффективность ванкомицина в комплексном лечении новорожденных детей с вентиляторассоциированной пневмонией, обусловленной грамположительными кокками / М.В. Кушнарера, Г.М. Дементьева, А.Ю. Герасимов // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2014. – Т. 59, № 2. -С. 71-77.
74. Кушнарера, М.В. Особенности становления микробиоценоза кишечника у недоношенных новорожденных детей при различных видах вскармливания / М.В. Кушнарера, Е.С. Кешишян, Х.Х. Гаджиева, Г.М. Дементьева, И.Н. Черноног // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2012. – Т. 57, № 3. - С. 17 - 22.
75. Лебедева, О.В. Формирование микробиоценоза толстой кишки у здоровых новорожденных в условиях Европейского Севера / О.В. Лебедева, Т.А. Бажукова // Медицинский академический журнал – 2007. – Т. 7, № 4. - С. 93-99.
76. Лебедева, О.В. Формирование микробиологического статуса новорожденных и факторы, влияющие на него в неонатальном периоде: дис. ... канд. мед. наук: 03.00.16, 03.00.07 / Лебедева Оксана Викторовна. - Архангельск, 2000. - 146 с.



77. Лившиц, К. Влияние кишечного микробиома в норме и патологии / К. Лившиц, И.Н. Захарова, Ю.А. Дмитриева // Медицинский совет. – 2017. - №1. – С. 155-159.
78. Лисишниковая Л.П. Особенности микробиоценоза основных биотопов организма человека в условиях Европейского Севера России: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / Лисишниковая Людмила Петровна. - Архангельск, 1997. - 136 с.
79. Ло Скиаво, Л.А. Динамика контаминации и персистенции *Clostridium difficile* в составе микробиоты кишечника у новорожденных детей во время антибиотикотерапии и приема пробиотического штамма *Enterococcus faecium* L3 / Л.А. Ло Скиаво, Н.В. Гончар, М.С. Федорова, А.Н. Суворов // Антибиотики и химиотерапия. – 2013. – Т. 58, № 11-12. - С. 13-18.
80. Ло Скиаво, Л.А. Значение использования пробиотика в снижении частоты инфекционных осложнений у недоношенных детей / Л.А. Ло Скиаво, Н.В. Гончар, А.Н. Суворов // Антибиотики и химиотерапия. – 2014. – Т. 59, № 1-2. - С. 30-35.
81. Ло Скиаво, Л.А. Пробиотики в питании недоношенных детей / Л.А. Ло Скиаво, Н.В. Гончар, А.Н. Суворов // Вопросы практической педиатрии. – 2014. - Т. 9, № 6. - С. 32-36.
82. Лобзин, Ю.В. Дисбактериоз кишечника: руководство для врачей / Ю.В. Лобзин, В.Г. Макарова, Е.Р. Корвякова, С.М. Захаренко. – СПб.: Фолиант, 2006. - 253 с.
83. Луппова, Н. Патология мочевой системы у детей с нарушениями микробиоценоза кишечника / Н. Луппова, В. Приворотский, М. Эрман // Врач. – 2009. - № 7. - С. 49-53.
84. Лыкина, Е.В. Влияние анамнестических факторов риска на состояние кишечного микробиоценоза детей первого полугодия жизни / Е.В. Лыкина, А.Ю. Миронов, К.А. Осман, М.Л. Корнеева // Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье". – 2006. - № 4. - С. 46-52.

85. 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: 03.02.03 / Любасовская Людмила Анатольевна. – М., 2013. - 25 с.
86. Любасовская, Л.А. Микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика коагулазонегативных стафилококков, выделенных у новорожденных отделения реанимации и интенсивной терапии / Л.А. Любасовская, М.А. Корниенко, Т.В. Припутневич, Е.Н. Ильина, А.И. Щеголев // Антибиотики и химиотерапия. – 2013. – Т. 58, № 3-4. - С. 25-32.
87. Любасовская, Л.А. Особенности микробной колонизации новорожденных в отделении реанимации и интенсивной терапии / Л.А. Любасовская, Т.В. Припутневич, А.С. Анкирская, Д.Н. Дегтярев, А.Г. Антонов, О.В. Ионов, И.В. Никитина, Н.А. Приходько // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2013. – Т. 58, № 3. - С. 87-91.
88. Мазанкова, Л.Н. Концептуальный подход к назначению пробиотиков-синбиотиков у детей / Л.Н. Мазанкова, И.Н. Захарова, Ю.А. Дмитриева // Детские инфекции. – 2010. - № 1. - С. 27-32.
89. Макарова, С.Г. Кишечная микробиота и использование пробиотиков в практике педиатра. Что нового? / С.Г. Макарова, Л.С. Намазова-Баранова // Педиатрическая фармакология. – 2015. – Т. 12, № 1. – С. 38-45.
90. Макарова, С.Г. Роль кишечного микробиоценоза в формировании оральной толерантности у детей / С.Г. Макарова // Российский аллергологический журнал. – 2008.- № 2. - С. 32-46.
91. Малкоч, А.В. Пребиотики и их роль в формировании кишечной микрофлоры / А.В. Малкоч, С.В. Бельмер // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2009. – Т. 87, № 4. - С. 111-115.
92. Мархулия, Х.М. Этиология ИВЛ-ассоциированных пневмоний у недоношенных новорожденных / Х.М. Мархулия, М.В. Кушнарева, Г.М. Дементьева, И.А. Шагинян, М.Ю. Чернуха, Г.В. Алексеева, Э.А. Саакьянц,

- А.Ю. Герасимов, И.Н. Черноног // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2005. – Т. 84, № 3. - С. 36-39.
93. Мельникова, Е.А. Структура и распространенность уропатогенов при инфекции мочевой системы у детей / Е.А. Мельникова, В.Н. Лучанинова, Е.А. Зайцева, О.В. Семешина, Т.С. Андреева, Н.С. Вайсеро, О.В. Переломова // Экология человека. – 2016. - № 12. - С.16-21.
94. Мельникова, Е.А. Трудности и возможности диагностики инфекции мочевой системы у новорожденных / Е.А. Мельникова, В.Н. Лучанинова, Е.В. Крукович, М.Г. Шегеда, Е.А. Зайцева, Е.Б. Косьяненко // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2017. – Т. 90, № 5. – С. 8-14.
95. Методы контроля бактериологических питательных сред : методические указания МУК 4.2.2316-08: утверждены Главным государственным санитарным врачом РФ 18.01.2008. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008. – 67 с.
96. Методики клинических лабораторных исследований: справочное пособие. Т. 3. Клиническая микробиология. Бактериологические исследования. Микологические исследования. Паразитологические исследования. Инфекционная иммунодиагностика. Молекулярные исследования в диагностике инфекционных заболеваний / под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Лабора, 2009. – 880 с.
97. Моисеев, А.Б. Влияние комбинации пробиотических культур и пребиотических волокон на формировании микрофлоры ребенка, находящегося на искусственном вскармливании / А.Б. Моисеев, И.Г. Михеева, Т.Г. Верещагина, О.А. Горячева, В.Г. Китайчик // Трудный пациент.- 2010. – Т. 10, № 8. - С. 48-52.
98. Мухамедзян, М.Н. Клинико-лабораторные критерии диагностики и прогнозирования позднего неонатального сепсиса у недоношенных детей: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.08 / Мухамедзян Марина Ноэльевна. - Екатеринбург, 2010. - 26 с.

99. Набока, Ю.Л. Формирование микрофлоры пищеварительного тракта новорожденных в динамике / Ю.Л. Набока, А.Н. Рымашевский, Э.Г. Свирава, Л.Е. Брагина // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2012. - № 3. – С. 65-70.
100. Намазова-Баранова, Л.С. Антибиотикорезистентность в современном мире // Л.С. Намазова-Баранова, А.А. Баранов // Педиатрическая фармакология. – 2017. – Т. 14, № 5. – С. 341-354.
101. Нароган, М.В. Микробная колонизация и госпитальные инфекции у недоношенных детей в нейрохирургическом стационаре / М.В. Нароган, Л.Д. Ворона, В.Л. Петраки, Г.Г. Прокопьев, Б.П. Симерницкий, Н.И. Захарова, Л.В. Малютина, В.Ю. Бекетовский // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. – 2013. - № 5. - С. 66-72.
102. Николаева, И.В. Антибиотикорезистентность кишечных лактобактерий, выделенных у грудных детей / И.В. Николаева, И.А. Айнутдинова, Л.А. Купчихина // Практическая медицина. – 2010. – Т. 46, № 7. – С. 97.
103. Николаева, И.В. Видовой состав и антибиотикорезистентность лактобацилл у детей грудного возраста / И.В. Николаева, Н.А. Шабанова, В.М. Бондаренко, Г.Н. Коновалова, В.А. Анохин // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2010. - № 6. - С. 70-75.
104. Николаева, И.В. Влияние микрофлоры матери на состав микробиоценоза кишечника ребенка в период грудного вскармливания / И.В. Николаева, В.М. Бондаренко, С.В. Фиалкина, Г.Н. Коновалова, Л.А. Купчихина, В.А. Анохин // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2008. - № 5. - С. 87–92.
105. Николаева, И.В. Кишечная микрофлора у здоровых детей раннего возраста / И.В. Николаева, В.А. Анохин, И.А. Айнутдинова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2009. – Т. 54, № 2. - С. 30–33.
106. Николаева, И.В. Формирование кишечной микрофлоры ребенка и факторы, влияющие на этот процесс / И.В. Николаева // Детские инфекции. – 2011. - № 3. - С. 39-42.

107. Николаева, И.В. Формирование кишечной микрофлоры у детей, рожденных естественным и оперативным путем / И.В. Николаева, В.А. Анохин, Л.А. Купчихина // Казанский медицинский журнал – 2009. – Т. 90, № 6. – С. 852-856.
108. Нисевич, Л.Л. Внутриутробная инфекция: мать-плацента-плод. / Л.Л. Нисевич, А.Г. Талалаев, Л.Н. Каск, Е.Л. Туманова, Т.С. Парсегова, А.А. Адиева, А.А. Куш // Детские инфекции. – 2008. - № 2. - С. 9–13.
109. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений: приказ Министерства здравоохранения СССР № 535 от 22 апреля 1985г. – М., 1985. – 124 с.
110. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: клинические рекомендации Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии. – М., 2015.- 162 с.
111. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам : методические указания МУК 4.2.1890-04: утверждены Главным государственным санитарным врачом РФ 04.03.2004. – М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 91 с.
112. Определитель бактерий Берджи / пер. с англ. Г.А. Заварзина; под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Д. Стейли, С. Уильямс. – М.: Мир, 1997. – 1232 с.
113. Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I – IV групп патогенности: методические указания МУ 1.3.2569-09: утверждены Главным государственным санитарным врачом РФ 22.12.2009. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. – 51 с.
114. Оришак, Е.А. Антибиотикорезистентность и фагорезистентность условно-патогенных микроорганизмов при дисбактериозе толстого кишечника / Е.А. Оришак, А.Г. Бойцов, Л.Ю. Нилова // Вестник Санкт-Петербургской медицинской академии им. И.И. Мечникова. - 2008. - №4 (29). - С. 167-170.

115. Павлова, М.В. Алгоритм лабораторной диагностики врожденной цитомегаловирусной инфекции у недоношенных детей и влияние терапии вифероном на течение внутриутробных инфекций / М.В. Павлова, Н.Е. Федорова, З.С. Гаджиева, А.А. Адиева, Ж.В. Евсегнеева, С.Н. Щербо, Е.Г. Гетия, И.Г. Солдатова, М.В. Дегтярева, Н.Н. Володин, Е.Н. Выжлова, В.В. Малиновская, А.А. Куц // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского.– 2009. – Т. 87, № 2. - С. 55–62.
116. Панова, Л.Д. Патология органов мочевой системы у новорожденных с инфекционно-воспалительными заболеваниями: автореф. дис. ... д-р мед. наук: 14.01.08 / Панова Людмила Дмитриевна. – Уфа., 2010. - 48 с.
117. Панышина, И.С. Антибиотикорезистентность микроорганизмов – возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний у новорожденных / И.С. Панышина, Т.В. Калугина, А.С. Соколова, Н.А. Кочнева // Уральский медицинский журнал. – 2013. - № 06 (111). - С. 55–58.
118. Пахомовская, Н.Л. Дисбактериоз кишечника // Н.Л. Пахомовская, А.С. Потапов, Г.В. Волынец // Медицинский совет. – 2015. - № 6. – С. 38-42.
119. Петрашева, Е.Е. Клинико-микробиологические и иммунологические особенности новорожденных, находящихся на искусственной вентиляции легких, в группах с респираторным дистресс-синдромом и внутриутробной инфекцией: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.08, 14.03.09 / Петрашева Елена Евгеньевна. – Уфа, 2010. - 23 с.
120. Подзолкова, Н.М. Внутриутробная инфекция: современное состояние проблемы / Н.М. Подзолкова, М.Ю. Скворцова, Н.И. Мельникова, И.Ф. Острейков // Акушерство и гинекология. – 2009. - № 3. - С. 27–32.
121. Подопригора, Г.И. Бактериальная транслокация из кишечника: микробиологические, иммунологические и патофизиологические аспекты / Г.И. Подопригора, Л.И. Кафарская, Н.А. Байнов, А.Н. Шкопоров // Актуальные вопросы инфекционных болезней. – 2015. – Т. 70, № 6. – С. 640-650.

122. Поликарпова, С.В. Анализ микробного пейзажа в современном стационаре / С.В. Поликарпова, И.М. Чепурная, С.В. Жилина, Н.В. Пивкина, Л.З. Скала // Альманах клинической медицины. – 2011. - № 24. – С. 61–66.
123. Полуэктова, Е.А. Современные методы изучения микрофлоры желудочно-кишечного тракта человека / Е.А. Полуэктова, О.С. Ляшенко, О.С. Шифрин, А.А. Шептулин, В.Т. Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2014. – Т. 24, № 2. – С. 85-91.
124. Примак, Т.Д. Микробиоценоз биотопов новорожденных в условиях отделения реанимации и интенсивной терапии / Т.Д. Примак, Е.А. Шевчук, Н.В. Кривошеева, С.В. Калинина, Б.С. Эрдынеева // Детские инфекции. – 2010. – № 1. - С. 66–68.
125. Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника: отраслевой стандарт ОСТ 91500.11.0004-2003: утверждено приказом Минздрава России от 09 июня 2003г № 231. – М., 2003. – 175 с.
126. Руководство по медицинской микробиологии. Книга III. Том 1. Оппортунистические инфекции: возбудители и этиологическая диагностика / под. ред. А.С. Лабинской, Н.Н. Костюковой. – М.: БИНОМ, 2013. – 752 с.
127. Русанова, Н.Н. Клинические особенности цитомегаловирусной инфекции у детей первых месяцев жизни / Н.Н. Русанова, С.А. Коченгина, С.Н. Теплова // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. - 2000. – Т. 79, № 1. - С. 26–29.
128. Руселик, Е.А. Критерий диагностики внутриутробного инфицирования новорожденного / Е.А. Руселик, Н.Н. Прутовых, Н.Ф. Доброскокова // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2011. – Т. IV, № 3. - С. 532–537.
129. Рыбкина, Н.Л. Функциональные нарушения органов пищеварения у детей первого года жизни: причины, клинические проявления, современные подходы к коррекции / Н.Л. Рыбкина // Вестник современной клинической медицины. – 2016. - Т. 9, № 2. – С. 70-76.
130. Савичева, А.М. Перинатальные инфекции: проблемы и пути решения / А.М. Савичева, Е.В. Шипицына // Акушерство и гинекология. – 2009. - № 3. - С. 33–38.

131. Савченко, Т.Н. Микрoэкология новорожденных: автореф. дис. ... д-р мед. наук: 03.02.03 / Савченко Татьяна Николаевна. - Волгоград, 2011. – 37 с.
132. Самсыгина, Г.А. Кандидоз новорожденных детей / Г.А. Самсыгина // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. - 2008. – Т. 87, № 5. – С. 111–115.
133. Серебрякова, Е.Н. Особенности антибактериальной терапии новорожденных с полиорганной недостаточностью / Е.Н. Серебрякова, Д.К. Волосников, Г.А. Глазырина // Антибиотики и химиотерапия. – 2013. – Т. 58, № 7/8. - С. 12–16.
134. Совершенствование методов диагностики дисбактериоза толстого кишечника: информационное письмо / подгот. : В.П. Иванов, А.Г. Бойцов, А.Д. Коваленко, О.Н. Ластовка, Е.А. Нилова. – СПб., 2002. – 22 с.
135. Соловьева, И.В. Формирование микрофлоры толстой кишки у детей / И.В. Соловьева, И.В. Белова, А.Г. Точилина, Е.И. Ефимов, А.С. Пожидаева // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2012. - № 2-3. – С. 93-99.
136. Сурков, Д.Н. Заболеваемость и смертность новорожденных, родившихся в сроке гестации 22-27 недель / Д.Н. Сурков, Д.О. Иванов, Т.К. Мавропуло, Ю.В. Петренко // Детская медицина Северо-Запада. – 2012. – Т. 3, № 3. – С. 14-17.
137. Татьянаина, О.Ф. Современные антибактериальные препараты: новые возможности в профилактике дисбиотических нарушений / О.Ф. Татьянаина // Вопросы современной педиатрии. – 2011. - Т. 10, № 6. - С. 77–82.
138. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории: методические рекомендации МУ 4.2.2039-05: утверждены Главным государственным санитарным врачом РФ 23.12.2005. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2006. – 126 с.
139. Ткаченко, Е.И. Питание, микробиоценоз и интеллект человека / Е.И. Ткаченко, Ю.П. Успенский. – СПб.: СпецЛит, 2006. – 590 с.
140. Украинцев, С.Е. Грудное молоко: пребиотик, пробиотик или синбиотик / С.Е. Украинцев, О.К. Нетребенко // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2008. – Т. 87, № 1. – С. 95–98.



141. Урсова, Н.И. Особенности формирования микробиоценоза у грудных детей и дисбактериоз кишечника [Электронный ресурс] / Н.И. Урсова // Педиатрия. Приложение к журналу Consilium Medicum. – 2005. – Т. 07, N 2. - URL: [http://old.consilium-medicum.com/media/pediatr/05\\_02/56.shtml](http://old.consilium-medicum.com/media/pediatr/05_02/56.shtml) (дата обращения: 16.11.2014).
142. Урсова, Н.И. Формирование кишечного микробиоценоза: состояние проблемы / Н.И. Урсова // Вопросы современной педиатрии. – 2011. – Т. 10, № 4. - С. 62–69.
143. Филиппова, И.Е. Формирование микробиоценоза кишечника у новорожденных детей раннего неонатального периода / И.Е. Филиппова // Медицина в Кузбассе. – 2006. - № 4. - С. 26–32.
144. Харченко, О.Ф. Проблема дисбактериоза у детей в современных условиях / О.Ф. Харченко // Медицинские новости. – 2013. - № 6. – С. 50-56.
145. Чаплин, А.В. Микробиом человека / А.В. Чаплин, Д.В. Ребриков, М.Н. Болдырева // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2017. - № 2. – С. 5-13.
146. Чарипова Б.Т. Клинико-иммунологическая характеристика детей с экстремально низкой массой тела / Б.Т. Чарипова, Г.Н. Чистякова, В.В. Ковалев, М.Н. Тарасова, И.И. Ремизова, И.А. Газиева // Уральский медицинский журнал. – 2011. - № 12(90). - С. 145–150.
147. Чарипова, Б.Т. Клинико-иммунологические особенности и характер микробной колонизации у детей с экстремально низкой массой тела при рождении: автореф. дис. ...канд. мед. наук: 14.01.08, 14.03.09 \ Чарипова Бибигуль Толегеновна. – Екатеринбург, 2013. - 26 с.
148. Чернуха, М.Ю. Антибиотикорезистентность и возможное происхождение штаммов *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella*, выделенных от детей с дисбактериозом кишечника / М.Ю. Чернуха, Л.Р. Аветисян, Г.В. Алексеева, О.В. Кузнецова, И.А. Шагинян // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2005. - № 5. С. 66–70.

149. Чехонацкая, М.Л. Инфекции мочевой системы новорожденных: особенности уродинамики нижних мочевых путей в периоде внутриутробного развития / М.Л. Чехонацкая, М.М. Григорьева // Саратовский научно-медицинский журнал - 2008. – Т. 4, № 3. - С.101–106.
150. Чистякова, Г.Н. Особенности состояния иммунной системы и характер микробной колонизации детей с экстремально низкой массой тела при рождении / Г.Н. Чистякова, Б.Т. Чарипова, М.Н. Тарасова, С.И. Билимова, И.А. Газиева, И.И. Ремизова // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2013. – Т. 92, № 2. – С. 42–48.
151. Чугунова, О.Л. Инфекция мочевой системы у детей: актуальные вопросы / О.Л. Чугунова, М.В. Шумихина // Эффективная фармакотерапия. – 2015. - № 22. – С. 10–21.
152. Чугунова, О.Л. Особенности патогенеза, диагностики, течения инфекций органов мочевой системы у новорожденных и детей раннего возраста, возможности терапевтической коррекции / О.Л. Чугунова, М.В. Шумихина, С.В. Думова, А.С. Фоктова // Вестник современной клинической медицины. – 2013. – Т. 6, № 6. – С. 119–128.
153. Чугунова, О.Л. Факторы риска и диагностики заболеваний органов мочевой системы у новорожденных детей / О.Л. Чугунова, Л.Д. Панова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2010. – Т. 55, № 1. - С. 12-20.
154. Шабалдин, А.В. Применение полимеразной цепной реакции в диагностике внутриутробных инфекций у плодов и новорожденных / А.В. Шабалдин, Л.А. Балянова, Л.М. Казакова, Т.А. Симонова, Е.Б. Брусина, В.В. Райхель // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2000. – Т. 79, № 3. - С. 38–41.
155. Шевчук, Е.А. Антибиотикорезистентность штаммов энтерококков, выделенные из различных биологических локусов новорожденных / Е.А. Шевчук // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2007. - № 5. - С. 185.
156. Шевчук, Е.А. Закономерности формирования микробиоценозов и биологические свойства симбионтов у новорожденных в условиях акушерско-

гинекологического стационара: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.03 / Шевчук Евгения Александровна. - Иркутск, 2013. – 23 с.

157. Шендеров, Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Т.1. Микрофлора человека и животных и её функции / Б.А. Шендеров. – М.: Грантъ, 1998. – 288 с.
158. Шендеров, Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Т.2. Социально-экологические и клинические последствия дисбаланса микробной экологии человека и животных / Б.А. Шендеров. – М.: Грантъ, 1998. – 414 с.
159. Шендеров, Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Т.3. Пробиотики и функциональное питание / Б.А. Шендеров. – М.: Грантъ, 2001. – 288 с.
160. Шилов, А. Кишечный дисбиоз различного генеза и пробиотики в практике врача первичного звена / А. Шилов, И. Еремина // Врач. – 2010. - № 11. - С. 51–55.
161. Шилова, В.П. Формирование микрофлоры новорожденных в условиях родильных домов и отделений патологии новорожденных / В.П. Шилова, С.М. Розанова, М.В. Кырф, Я.Б. Бейкин, Л.С. Кузнецова, Е.Г. Туринцева, О.П. Усова, Н.Г. Черных, И.С. Ягафарова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2007. - № 10. - С. 37-40.
162. Щекина, М.И. Роль пробиотиков в коррекции дисбиотических нарушений / М.И. Щекина // Гастроэнтерология. Приложение к журналу Consilium Medicum. – 2009. - № 2. – С. 36–42.
163. Якушин, А.С. Кишечная микробиота: формирование в раннем возрасте, влияние на здоровье, способы коррекции / А.С. Якушин, С.Е. Украинцев, М.Ю. Денисов // Вопросы современной педиатрии. – 2017. – Т. 16, № 6. - С. 487-492.
164. Afjeh, S.A. Surveillance of ventilator-associated pneumonia in a neonatal intensive care unit: characteristics, risk factors, and outcome / S.A. Afjeh, M.K. Sabzehei, A. Karimi, F. Shiva, A.R. Shamshiri // Archives of Iranian Medicine. – 2012. - Vol. 15, № 9. – P. 568–571.

165. AlFaleh, K. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants / K. AlFaleh, J. Anabrees // Evidence-Based Child Health. – 2014. – Vol. 9, № 3. – P. 584-671.
166. Arboleya, S. Impact of prematurity and perinatal antibiotics on the developing intestinal microbiota: a functional inference study [Electronic resource] / S. Arboleya, B. Sanchez, G. Solis, N. Fernandez, M. Suarez, A.M. Hernandez-Barranco, C. Milani, A. Margolles, C.G. de los Reyes-Gavilan, M. Ventura, M. Gueimonde // International Journal of Molecular Sciences. – 2016. DOI: 10.3390/ijms17050649 (дата обращения: 20.10.2017).
167. Arboleya, S. Intestinal microbiota and weight-gain in preterm neonates [Electronic resource] / S. Arboleya, P. Martinez-Cambor, G. Solis, M. Suarez, N. Fernandez, C.G. de los Reyes-Gavilan, M. Gueimonde // Frontiers in Microbiology. – 2017. – Vol. 8. DOI:10.3389/fmicb.2017.00183 (дата обращения: 05.01.2018).
168. Ardisson, A.N. Meconium microbiome analysis identifies bacteria correlated with premature birth [Electronic resource] / A.N. Ardisson, D.M. de la Cruz, A.G. Davis-Richardson, K.T. Rechcigl, N. Li, J.C. drew, R. Murgas-Torrazza, R. Sharma, M.L. Hudak, E.W. Triplett // PLoS ONE. – 2014. - Vol. 9. – URL: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0090784> (дата обращения: 10.04.2016).
169. Aujoulat, F. Temporal dynamics of the very premature infant gut dominant microbiota [Electronic resource] / F. Aujoulat, L. Roudiere, J.C. Picaud, A. Jacquot, A. Filleron, D. Neveu, T.P. Baum, H. Marchandin, E. Jumas-Bilak // BMC Microbiology. - 2014. – Vol. 14. DOI 10.1186/s12866-014-0325-0 (дата обращения: 21.05.2016).
170. Bissenova, N. Microbiological intestinal indicators of children at first year / N. Bissenova, N. Mitus, E. Tuleubayeva, A. Yergaliyeva // Clinical Medicine of Kazakhstan. – 2015. - № 4(38). – P. 56-59.
171. Brooks, B. Microbes in the neonatal intensive care unit resemble those found in the gut of premature infants [Electronic resource] / B. Brooks, B.A. Firek, C.S. Miller, I. Sharon, B.C. Thomas, R. Baker, M.J. Morowitz, J.F. Banfield // Microboime. - 2014.

- Vol. 2. - URL: <http://www.microbiomejournal.com/content/2/1/1> (дата обращения: 21.05.2016).
172. Cabrera-Rubio, R. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery / R. Cabrera-Rubio, M. C. Collado, K. Laitinen, S. Salminen, E. Isolauri, A. Mira // *The American journal of clinical nutrition*. – 2012. – Vol. 95. – P. 544-551.
173. Cacho, N. Manipulation of the intestinal microbiome in newborn infants / N. Cacho, J. Neu // *American Society for Nutrition*. – 2014. - Vol. 5. – P. 114 – 118.
174. Capone, K.A. Diversity of the human skin microbiome early in life / K.A. Capone, S.E. Dowd, G.N. Stamatas, J. Nikolovski // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2011. - Vol. 131. – P. 2026 – 2032.
175. Chmielarczyk, A. Mode of delivery and other risk factors for *Escherichia coli* infections in very low birth weight infants [Electronic resource] / A. Chmielarczyk, J. Wojkowska-Mach, D. Romaniszyn, P. Adamski, E. Helwich, R. Lauterbach, M. Pobiega, M. Borszewska-Kornacka, E. Gulczynska, A. Kordek, P.B. Heczko // *BMC Pediatrics*. – 2014. Vol. 14. - URL: <http://www.biomedcentral.com/1471-2431/14/274>(дата обращения: 21.05.2016).
176. Claud, E.C. Bacterial community structure and functional contributions to emergence of health or necrotizing enterocolitis in preterm infants [Electronic resource] / E.C. Claud, K.P. Keegan, J.M. Brulc, L. Lu, D. Bartels, E. Glass, E.B. Chang, F. Meyer, D.A. Antonopoulos // *Microbiome*. - 2013. - URL: <http://www.microbiomejournal.com/content/1/1/20> (дата обращения: 21.05.2016).
177. Collado, C. Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid [Electronic resource] / M.C. Collado, S. Rautava, J. Aakko, E. Isolauri, S. Salminen // *Scientific Reports*. – 2016. DOI: 10.1038/srep23129 (дата обращения: 15.03.2017).
178. Collado, M.C. Factors influencing gastrointestinal tract and microbiota immune interaction in preterm infants / M.C. Collado, M. Cernada, J. Neu, G. Perez-Martinez, M. Gormaz, M. Vento // *Pediatric Research*. – 2015. – V. 77, № 6. – P. 726 – 731.

179. Costello, E.K. Microbiome assembly across multiple body sites in low-birthweight infants [Electronic resource] / E.K. Costello, E.M. Elisabeth, M. Bik, M.J. Morowitz, D.A. Relman // *mBio*. – 2013. - Vol. 4(6). DOI: 10.1128/mBio.00782-13 (дата обращения: 21.05.2016).
180. Dardas, M. The impact of postnatal antibiotics on the preterm intestinal microbiome / M. Dardas, S.R. Gill, A. Grier, G.S. Pryhuber, A.L. Gill, Yi-Horng Lee, R. Guillet // *Pediatric Research*. – 2014. – Vol.76, №2. – P. 150–158.
181. Di Mauro, A. Gastrointestinal function development and microbiota [Electronic resource] / A. Di Mauro, J.Neu, G. Riezzo, F. Raimondi, D. Martinelli, R. Francavilla, F. Indrio // *Italian Journal of Pediatrics*. – 2013. – Vol. 39. - URL: <http://www.ijponline.net/content/39/1/15> (дата обращения: 21.05.2016).
182. Fanaro, S. Intestinal microflora in early infancy: composition and development / S. Fanaro, R. Chierici, P. Guerrini, V. Vigi // *Acta Padiatrica*. – 2003. - Vol. 441. – P. 48 – 55.
183. Gallacher, D.J. Respiratory microbiome of new-born infants [Electronic resource] / D.J. Gallacher, S. Kotecha // *Frontiers in Pediatrics*. – 2016. - Vol. 4(10). DOI: 10.3389/fped.2016.00010 (дата обращения: 15.03.2017).
184. Garland, S.M. The proprems trial: investigating the effects of probiotics on late onset sepsis in very preterm infants [Electronic resource] / S.M. Garland, J.M. Tobin, M. Pirotta, S.N. Tabrizi, G. Opie, S. Donath, M.LK Tang, C.J. Morley, L. Hickey, L. Ung, S.E. Jacobs // *BMC Infectious diseases*. – 2011. – Vol. 11. - URL: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/11/210> (дата обращения: 15.03.2017).
185. Greenwood, C. Early empiric antibiotic use in preterm infants is associated with lower bacterial diversity and higher relative abundance of *Enterobacter* / C. Greenwood, A.L. Morrow, A.J. Lagomarcino, m. altaye, D.H. Taft, Z. Yu, D.S. Newburg, D.V. Ward, K.R. Schibler // *The Journal of Pediatrics*. - 2014. Vol. 165 (1). – P. 23 – 29.
186. Gritz, E.C. The human neonatal gut microbiome: a brief review [Electronic resource] / E.C. Gritz, V. Bhandari // *Frontiers in Pediatrics*. – 2015. - Vol. 3. – URL: <https://doi.org/10.3389/fped.2015.00017> (дата обращения: 15.03.2017).

187. Groer, M.W. Development of the preterm infant gut microbiome: a research priority [Electronic resource] / M.W. Groer, A.A. Luciano, L.J. Dishaw, T.L. Ashmeade, E. Miller, J.A. Gilbert // *Microbiome*. – 2014. - Vol. 2. - URL: <http://www.microbiomejournal.com/content/2/1/38> (дата обращения: 21.05.2016).
188. Groer, M.W. The very low birth weight infant microbiome and childhood health / M.W. Groer, K.E. Gregory, A. Louis-Jacques, S. Thibeau, W.A. Walker // *Birth Defects Research*. – 2015. – Vol. 105. – P. 252–264.
189. Houghteling, P.D. Why is initial bacterial colonization of the intestine important to the infant's and child's health? / P.D. Houghteling, W.A. Walker // *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. – 2015. - Vol. 60 (3). – P. 294-307.
190. Huff, B.A. Caveat emptor. "Probiotics" might not be what they seem. / B.A. Huff // *Canadian family physician Médecin de famille canadien*. – 2004. - Vol. 50. – P. 583-587.
191. Hufnagel, M. Enterococcal colonization of infants in a neonatal intensive care unit: associated predictors, risk factors and seasonal patterns [Electronic resource] / M. Hufnagel, C. Liese, C. Loescher, M. Kunze, H. Proempeler, R. Berner, M. Krueger // *BMC Infection Diseases*. – 2007. Vol. 7. - URL: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/7/107> (дата обращения: 16.09.2014).
192. Madan, J.C. Gut microbial colonisation in premature neonates predicts neonatal sepsis / J.C. Madan, R.C. Salari, D. Saxena, L. Davidson, G.A. O'Toole, J.H. Moore, M.L. Sogin, J.A. Foster, W.H. Edwards, P. Palumbo, P.L. Hibberd // *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition*. – 2012. - № 97(6). – P. 456–462.
193. Mallick, E.M. Sensing of the microbial neighborhood by *Candida albicans* [Electronic resource] / E.M. Mallick, Richard J. Bennett // *PLoS Pathogens*. – 2013. - Vol. 9 (10). - URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/journals/349/> (дата обращения: 16.09.2014).
194. Moles, L. Administration of *Bifidobacterium breve* PS12929 and *Lactobacillus salivarius* PS12934, two strains isolated from human milk, to very low and extremely low birth weight preterm infants: a pilot study [Electronic resource] / L. Moles, E. Escribano, J. de Andres, M.T. Montes, J.M. Rodriguez, E. Jimenez, M.S.

- de Pipaon, I. Espinosa-Martos // *Journal of Immunology Research*. - 2015. - URL: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/538171> (дата обращения: 21.05.2016).
195. Moles, L. Bacterial diversity in meconium of preterm neonates and evolution of their fecal microbiota during the first month of life [Electronic resource] / L. Moles, M. Gomez, H. Heilig, G. Bustos, S. Fuentes, W. de Vos, L. Fernandez, J.M. Rodriguez, E. Jimenez // *PLoS ONE*. – 2013. - Vol. 8(6). DOI:10.1371/journal.pone.0066986 (дата обращения: 21.05.2016).
196. Munyaka, P.M. External influence of early childhood establishment of gut microbiota and subsequent health implications [Electronic resource] / P.M. Munyaka, E. Khafipour, Jean-Eric Ghia // *Frontiers in Pediatrics*. – 2014. - Vol. 2. DOI: 10.3389/fped.2014.00109 (дата обращения: 21.05.2016).
197. Murray, P.R. *Manual of Clinical Microbiology* [Electronic resource] / P.R. Murray, E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landray, M.A. Pfaller. - URL: <http://www.slideshare.net/thangnguyen1800/manual-of-clinical-microbiology-2-volume-set-9-e-2007-pdf-unitedvrg> (дата обращения: 21.05.2016).
198. Neu, J. Developmental aspects of maternal-fetal, and infant gut microbiota and implications for long-term health [Electronic resource] / J. Neu // *Maternal Health, Neonatology, and Perinatology*. – 2015. – Vol. 1. DOI 10.1186/s40748-015-0007-4 (дата обращения: 21.05.2016).
199. Neu, J. The microbiome and its impact on disease in the preterm patient / J. Neu // *Current pediatrics reports*. 2013. - № 1(4). – P. 215–221.
200. Omar, C. Urinary tract infection and indirect hyperbilirubinemia in newborns / C. Omar, S. Hamza, A.M. Bassem, R. Mariam // *North American Journal of Medical Sciences*. – 2011. - Vol. 3 (12). – P. 544–547/
201. Qu, Y. Antibiotic susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from very low birth weight babies: comprehensive comparisons of bacteria at different stages of biofilm formation [Electronic resource] / Y. Qu, A.J. Daley, T.S. Istivan, S.M. Garland, M.A. Deighton // *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. – 2010. - URL: <http://www.ann-clinmicrob.com/content/9/1/16> (дата обращения: 21.05.2016).



202. Ramasethu, J. Prevention and treatment of neonatal nosocomial infections / J. Ramasethu [Electronic resource] // Maternal Health, Neonatology, and Perinatology. – 2017. – Vol. 3. DOI 10.1186/s40748-017-0043-3 (дата обращения: 05.01.18).
203. Raveh-Sadka, T. Gut bacteria are rarely shared by co-hospitalized premature infants, regardless of necrotizing enterocolitis development [Electronic resource] / T. Raveh-Sadka, B.C. Thomas, A. Singh, B. Firek, B. Brooks, C.J. Castelle, I. Sharon, R. Baker, M. Good, M.J. Morowitz, J.F. Banfield // eLife. – 2015. DOI: 10.7554/eLife.05477 (дата обращения: 21.05.2016).
204. Rutayisire, E. The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: a systematic review [Electronic resource] // E. Rutayisire, K. Huang, Y. Liu, F. Tao // BMC Gastroenterology. – 2016. – Vol. 86. DOI: 10.1186/s12876-016-0498-0 (дата обращения: 09.03.17).
205. Sommer, F. The resilience of the intestinal microbiota influences health and disease [Electronic resource] / F. Sommer, J.M. Anderson, R. Bharti, J. Raes, P. Rosenstiel // Nature reviews | Microbiology. – 2017. DOI:10.1038/nrmicro.2017.58 (дата обращения: 05.01.2018).
206. Taft, D.H. Center variation in intestinal microbiota prior to late-onset sepsis in preterm infants [Electronic resource] / D.H. Taft, N. Ambalavanan, K.R. Schibler, Z. Yu, D.S. Newburg, H. Deshmukh, D.V. Ward, A.L. Morrow // PLoS ONE. – 2015. - Vol. 10 (6). DOI:10.1371/journal.pone.0130604 (дата обращения: 21.05.2016).
207. Taft, D.H. Intestinal microbiota of preterm infants differ over time and between hospitals [Electronic resource] / D.H. Taft, N. Ambalavanan, K.R. Schibler, Z. Yu, D.S. Newburg, H. Deshmukh, D.V. Ward, A.L. Morrow // Microbiome. – 2014. – Vol. 2. - URL: <http://www.microbiomejournal.com/content/2/1/36> (дата обращения: 21.05.2016).
208. Tascano, M. Role of the human breast milk-associated microbiota on the newborns' immune system: a mini review [Electronic resource] / M. Tascano, R. De Grandi, E. Grossi, L. Drago // Frontiers in Microbiology. – 2017. – Vol. 8. DOI: 10.3389/fmicb.2017.02100 (дата обращения: 05.01.18).

209. Tzialla, C. Antimicrobial therapy in neonatal intensive care unit / C. Tzialla, A. Borghesi, G. Serra, M. Stronati, G. Corsello // Italian Journal of Pediatrics. – 2015. DOI 10.1186/s13052-015-0117-7.
210. Underwood, M.A. *Bifidobacterium longum* subspecies infantis: champion colonizer of the infant gut / M.A. Underwood, J. Bruce German, C.B. Lebrilla, D.A. Mills // *Pediatr Res.* – 2015. - Vol. 77. – P. 229 – 235.
211. Unger, S. Gut microbiota of the very low birth weight infant [Electronic resource] / S. Unger, A. Stintzi, P. Shah, D. Mack, D.L. O'Connor // *Pediatric Research.* – 2014. DOI:10.1038/pr.2014.162 (дата обращения: 21.05.2016).
212. Vangay, P. antibiotics, pediatric disbiosis, and disease / P. Vangay, T. Ward, J.S. Gerber, D. Knights // *Cell Host and Microbe.* – 2015. – Vol. 17. – P. 553-564.
213. Viscardi, R.M. *Ureaplasma* species: role in neonatal morbidities and outcomes / R.M. Viscardi // *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition.* – 2014. - Vol. 99 (1). – P. 87–92.
214. Walker, W.A. Роль микрофлоры в развитии защитных функций кишечника / W.A. Walker // *Педиатрия.* – 2005. - № 1. - С. 85-91.