

Шамова Ксения Павловна

аспирант

ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Екатеринбург

Shamova K. P.

graduate student

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

Чистякова Гузель Нуховна

доктор медицинских наук, профессор

ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Екатеринбург

Chistyakova G. N.

doctor of medical Sciences, Professor

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

Ремизова Ирина Ивановна

кандидат биологических наук

ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Екатеринбург

Remizova I. I.

candidate of biological Sciences

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

Устьянцева Людмила Станиславовна

аспирант

ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Екатеринбург

Ustyantseva L. S.

graduate student

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

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

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

Ключевые слова: недоношенные дети, микрофлора, иммунитет.

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

Key words: premature babies, microflora, immunity.

Введение. Антигенная нагрузка, создаваемая кишечной микробиотой, играет важную роль в созревании иммунной системы у новорожденных детей. Нормофлора обладает выраженными иммуногенными свойствами и способствует развитию лимфоидной ткани кишечника и местного иммунитета [4, с. 86–89]. Недоношенные дети с экстремально низкой массой тела при рождении имеют бедный видовой состав кишечной микробиоты. Данная категория пациентов нуждается в массивном проведении антибактериальной терапии и длительном периоде нахождения в условиях стационара, что оказывает негативное влияние на формирование кишечной микрофлоры [2, с. 25; 3, с. 29–33]. При нарушениях микроэкологии кишечника, дефиците бифидофлоры и лактобацилл, беспрепятственном бактериальном заселении кишечника условно-патогенной микрофлорой возникают условия для снижения иммунной резистентности организма и развития воспалительных процессов в кишечнике [4, с. 86–89]. Становление и функциональное развитие кишечной экосистемы новорожденного начинается с момента рождения и динамично меняется с возрастом [1, с. 20–24]. Работ, посвященных изучению формирования кишечного микробиоценоза у детей с ЭНМТ, в литературе встречается редко, поэтому данная проблема является весьма актуальной.

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

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

Иммунологическое обследование включало в себя оценку продукции про- и противовоспалительных

цитокинов на локальном (копрофильтратах) уровне. Исследование копрофильтратов проводилось на 5–7 сутки, в 1 месяц жизни и в постконцептуальном возрасте 38–40 недель.

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

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

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

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

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

Результаты. В результате бактериологического исследования фекалий у детей с ЭНМТ выявлено, что к концу раннего неонатального периода у 37 детей (95,3%) не выделялась полостная кишечная микрофлора. Только у 4,7% (10 детей) кишечник был колонизирован. При этом монокультура определялась у большинства новорожденных (90%). У одного ребенка (10%) выделялась микст-флора (*Enterobacter cloacae* 10^4 и *Candida albicans* 10^5 КОЕ/л). Коагулаза-отрицательные стафилококки (*Staphylococcus epidermidis* — 10^3 КОЕ/г) в монокультурах, выделены

в 10% случаев, в 20% наблюдений в копрофильтра-тах определялся *Staphylococcus haemolyticus* 10⁷ КОЕ/г. Грамотрицательные микроорганизмы: *Klebsiella pneumoniae* – 10³–10⁷ КОЕ/г, *Enterobacter cloacae* – 10⁴ КОЕ/г, *Escherichia coli* 10⁵ КОЕ/г в 50% случаев. Грибы рода *Candida* в 20% наблюдений. Оценивая вышеизложенное можно заключить, что микробный пейзаж кишечной микрофлоры у детей с ЭНМТ в возрасте 5–7 суток жизни был представлен в равном соотношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов.

К возрасту 1 месяца число детей, у которых не наблюдался рост микрофлоры, сократилось в 1,6 раза (46,8%). Ассоциация микроорганизмов была обнаружена только у 1 ребенка (2,1%). В данном случае микст-флора была представлена: *Candida crusei* 10⁵ КОЕ/г и *Staphylococcus epidermidis* 10⁵ КОЕ/г. Грамотрицательные микроорганизмы (*Klebsiella pneumoniae* 10⁴–10⁷ КОЕ/г, *Escherichia coli* 10⁴–10⁷ КОЕ/г, *Enterobacter cloacae* 10⁶ КОЕ/г, *Pseudomonas spp.* 10⁴–10⁶ КОЕ/г, *Stenotrophomonas maltophilia* 10⁵ КОЕ/г) у детей с ЭНМТ выделялись в 25,5% случаев. Грамположительные микроорганизмы (*Staphylococcus epidermidis* 10³–10⁵ КОЕ/г, *Enterococcus faecium* 10⁴ и 10⁶ КОЕ/г) встречались с частотой 23,4%. У одного ребенка (1,2% случаев) высевалась *Candida albicans* 10⁴ КОЕ/г.

На момент достижения постконцептального возраста 38–40 недель, кишечная микрофлора не выявлена у 36,1% детей (17 новорожденных), смешанная – в 12,7% случаев (6 детей). Чаще всего в микст-флоре выделялись *Staphylococcus epidermidis* в титрах 10³–10⁴ КОЕ/г (66,6% случаев), *Klebsiella pneumoniae* 10⁴–10⁷ КОЕ/г (50%), *Enterococcus faecium* 10⁴–10⁷ КОЕ/г (50%). У одного ребенка (1,6%) выявлена ассоциация двух грамположительных микроорганиз-

мов (*Enterococcus faecium* 10⁵ КОЕ/г и *Staphylococcus epidermidis* 10³ КОЕ/г). В большинстве случаев (40,6%) полостная кишечная микрофлора была представлена грамотрицательными микроорганизмами (*Klebsiella pneumoniae* 10⁵–10⁷ КОЕ/г, *Pseudomonas spp.* 10⁴–10⁶ КОЕ/г, *Klebsiella oxytoca* 10⁷ КОЕ/г, *Escherichia coli* 10⁴–10⁷ КОЕ/г, *Enterobacter cloacae* – 10⁶ КОЕ/г, *Enterobacter aerogenes* 10⁴–10⁷ КОЕ/г). Грамположительные микроорганизмы выделялись в 10,6% случаев и в большинстве случаев были представлены видом *Enterococcus faecium* 10³–10⁷ КОЕ/г.

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

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

Заключение. Таким образом, у большинства детей с ЭНМТ на 5–7 сутки жизни, кишечник стерилен. Условно-патогенная микрофлора выявляется в единичных случаях. К завершению позднего неонатального периода у большинства детей кишечник колонизирован. Отмечается увеличение числа микробных ассоциаций, расширяется видовой состав микроорганизмов, грамотрицательные и грамположительные микроорганизмы присутствуют в кишечнике в равной степени. К моменту достижения возраста доношенного ребенка

Таблица 1

Микроорганизм	Возрастной период					
	5–7 сутки		30-е сутки		ПКВ 38–40 недель	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Enterobacter spp.	0	0	3	6,3	4	8,5
Klebsiella	1	2,1	3	6,3	8	33,2
E. Coli	1	2,1	2	4,2	3	6,3
Pantoea spp.	1	2,1	0	0	0	0
Stenotr. maltophilia	0	0	1	2,1	0	0
Pseudomonas spp.	0	0	3	6,3	0	0
S. epidermidis	1	2,1	6	12,7	1	2,1
S. haemolyticus	1	2,1	0	0	0	0
E. faecium	0	0	4	8,5	3	6,3
Lactobacillus spp.	0	0	1	2,1	0	0
Грибы рода Candida	2	4,2	1	2,1	0	0

число детей с выделенной микрофлорой увеличивается, наблюдается смена микробного пейзажа, кокковая микрофлора кишечника вытесняется условно-патогенными микроорганизмами. В свою очередь, расширение видового спектра микроорганизмов и увеличение степени заселенности кишечника микрофлорой у недоношенных детей с ЭНМТ в конце позднего

неонатального, а затем в постконцептуальном возрасте 38–40 недель коррелирует с повышением частоты обнаружения провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в копрофильтратах, что свидетельствует о формировании иммунного ответа на локальном уровне.

Литература

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