

На правах рукописи

Ло Скиаво Людмила Алексеевна

ОПТИМИЗАЦИЯ ВЫХАЖИВАНИЯ НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ
ДЕТЕЙ С ОЧЕНЬ НИЗКОЙ МАССОЙ ТЕЛА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
ПРОБИОТИЧЕСКОГО ШТАММА *ENTEROCOCCUS FAECIUM* L3

Специальность: 14.01.08 – педиатрия

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Доктор медицинских наук, профессор
Гончар Наталья Васильевна

Санкт-Петербург 2015

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список использованных аббревиатур.....	5
Введение.....	6
Глава 1. Обзор литературы.....	15
1.1. Проблемы выхаживания недоношенных детей с очень низкой массой тела при рождении.....	15
1.2. Микробиота кишечника и ее влияние на здоровье.....	26
1.3. Пробиотики как средство нормализации состава микробиоты.....	28
1.4. Влияние антибактериальной терапии на микробиоту кишечника детей.....	30
1.5. Проблема безопасного использования пробиотических препаратов у новорожденных детей.....	33
1.6. Пробиотические штаммы энтерококков как средства терапии и профилактики заболеваний кишечника у детей.....	36
Глава 2. Материал и методы исследования.....	46
2.1. Материал исследования.....	46
2.2. Методы исследования.....	47
Глава 3. Клиническая характеристика наблюдаемых доношенных и недоношенных новорожденных пациентов.....	61
3.1. Клиническая характеристика доношенных новорожденных пациентов.....	61
3.2. Клиническая характеристика недоношенных новорожденных пациентов.....	65
3.3. Особенности перинатального анамнеза у наблюдаемых доношенных новорожденных пациентов и недоношенных детей с очень низкой массой тела.....	69
Глава 4. Результаты исследования состояния микробиоты кишечника доношенных новорожденных детей и недоношенных новорожденных детей с очень низкой массой тела.....	71
4.1. Результаты исследования исходного состояния микробиоты кишечника доношенных новорожденных.....	71

4.2. Результаты исследования исходного состояния микробиоты кишечника недоношенных новорожденных с очень низкой массой тела.....	74
4.3. Сравнение исходного состояния микробиоты кишечника у доношенных новорожденных детей и недоношенных детей с очень низкой массой тела.....	76
Глава 5. Эффективность применения пробиотического штамма <i>E. faecium</i> L3 в программах лечения доношенных новорожденных детей.....	79
5.1. Клиническая эффективность применения пробиотического штамма <i>E. faecium</i> L3 в программах лечения доношенных новорожденных.....	79
5.2. Результаты оценки динамики состава кишечной микробиоты доношенных новорожденных пациентов под влиянием проводимой терапии.....	80
5.3. Результаты изучения чувствительности изолятов клебсиелл к антибиотикам и фагам у доношенных новорожденных на фоне терапии.....	85
Глава 6. Эффективность применения пробиотического штамма <i>E. faecium</i> L3 в программах выхаживания недоношенных новорожденных с очень низкой массой тела.....	88
6.1. Клиническая эффективность применения пробиотического штамма <i>E. faecium</i> L3 в программах выхаживания недоношенных новорожденных с очень низкой массой тела.....	88
6.2. Результаты исследования влияния использования пробиотической формы на основе <i>E. faecium</i> L3 в программе выхаживания недоношенных новорожденных с очень низкой массой тела на состояние микробиоценоза кишечника в динамике наблюдения.....	92
6.3. Результаты исследования влияния стандартной программы выхаживания недоношенных новорожденных с очень низкой массой тела на состояние микробиоценоза кишечника в динамике наблюдения.....	95
6.4. Сравнение изменений состава микробиоты кишечника у недоношенных детей наблюдаемых групп в процессе выхаживания в стационаре.....	97

6.5. Результаты изучения чувствительности условно-патогенной микробиоты кишечника к антибиотикам и фагам у недоношенных с очень низкой массой тела на фоне использования пробиотического штамма <i>E. faecium</i> L3.....	101
6.6. Результаты исследования микробиоты кишечника недоношенных с очень низкой массой тела, имевших эпизоды нарушения толерантности к пище в период стационарного этапа выхаживания.....	105
6.7. Результаты исследования микробиоты кишечника недоношенных детей с очень низкой массой тела, имевших инфекционные осложнения в период стационарного этапа выхаживания.....	111
6.8. Прогнозирование успешности профилактики инфекционных осложнений у недоношенных детей.....	124
Глава 7. Обсуждение результатов.....	131
Выводы.....	143
Практические рекомендации.....	145
Список литературы.....	146
Приложение 1. Клинические примеры.....	167
Приложение 2. Полученные патенты.....	170

Список использованных аббревиатур

ВАИ – внутриамниотическая инфекция
ВПР – врожденный порок развития
ВПС – врожденный порок сердца
ВУИ – внутриутробная инфекция
ГБН – гемолитическая болезнь новорожденных
ГИЭ – гипоксически-ишемическая энцефалопатия
ДМЖП – дефект межжелудочковой перегородки
ДМПП – дефект межпредсердной перегородки
ЗВУР – задержка внутриутробного развития
ИО – инфекционное осложнение
ИТПП – инфекция типичная для перинатального периода
КОЕ – колониеобразующая единица
НЭК – некротический энтероколит
ОАГА – осложненный акушерско-гинекологический анамнез
ОБЧ – общее бактериальное число
ОНМТ – очень низкая масса тела
ПЗ – прямые медицинские затраты
ППЦНС – перинатальное поражение центральной нервной системы
ПЦР-РТ – полимеразная цепная реакция в реальном времени
РА – ранняя анемия
РН – ретинопатия недоношенных
РКИ – рандомизированное контролируемое исследование
САР – снижение абсолютного риска
СДР – синдром дыхательных расстройств
СП – срыв питания
УПМ – условно-патогенная микрофлора
ЦВК – центральный венозный катетер
ЦНС – центральная нервная система
ЧБНЛ - число больных, которых нужно лечить
ЭНМТ – экстремально низкая масса тела
CER – cost-effectiveness ratio, показатель эффективности затрат
ICER - incremental cost-effectiveness ratio, инкрементальный показатель эффективности затрат

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

В соответствии с решением ВОЗ, принятым на 67 сессии Всемирной Ассамблеи Здравоохранения А61/21 от 2.05.2014, укрепление здоровья новорожденных является важнейшей задачей здравоохранения государств. Успех высоких технологий в медицине способствовал значительному повышению эффективности выхаживания недоношенных детей, родившихся с очень низкой и экстремально низкой массой тела. Выживаемость глубоконедоношенных детей в неонатальном периоде находится в прямой связи со сроком гестации и массой тела при рождении. Дети с массой тела не выше 1500 г (менее 30-31 недель гестации) составляют 1% всех живорожденных, при этом, до 70% случаев смерти в неонатальном периоде (за исключением детей с врожденными аномалиями). Именно на глубоконедоношенных детей приходится до 75% младенческой смертности и высокая частота инвалидизации [77; 90]. В то же время, несмотря на высокие показатели выживаемости, у таких детей имеют место многочисленные осложнения недоношенности, ведущие в последствии к развитию острых или хронических заболеваний, различных неврологических нарушений в старшем возрасте [15; 55]. Кроме того, недоношенность приводит к возникновению этических проблем, связанных со стоимостью и действенностью лечения, взаимоотношениями в семье, затруднениями при обучении [107]. Значительную роль в показателях заболеваемости и смертности у таких детей играют инфекционные осложнения, которые развиваются у детей с ОНМТ на фоне незрелости желудочно-кишечного тракта, аномальной колонизации кишечника микрофлорой, неадекватной энтеральной нагрузки и некоторых других факторов [36; 139].

В процессе выхаживания такие дети, как правило, получают парентеральное питание, длительную антибактериальную терапию, часто с неоднократной сменой групп и поколений препаратов. Такой терапии сопутствует широкий спектр побочных явлений, таких как дисбиоз, ослабление иммунитета, аллергические реакции, нарушение обменных процессов [18; 54; 57].

Применение пробиотиков у взрослых и детей показало хорошие результаты в профилактике и лечении осложнений антибактериальной терапии [33]. Зафиксирован эффект восстановления нормального биоценоза как в кишечнике, так и в организме в целом; противовоспалительный эффект пробиотиков, нормализация обменных процессов и пищеварения [30].

В педиатрии пробиотики в настоящее время применяются для улучшения функционального состояния пищеварительной системы, для лечения и профилактики дисфункций пищеварения [76]. В неонатологии разрешены к применению лишь немногие из них [1; 33; 42]. В последние годы профилактическое назначение пробиотиков недоношенным считается безопасным, успешно применяются для снижения частоты сепсиса, а также частоты и тяжести течения некротического энтероколита [113; 140].

Клинический эффект пробиотиков выражается в ускорении заселения кишечного тракта полезной микрофлорой, антагонистическом взаимодействии с патогенной флорой, модулировании иммунного ответа хозяина, ускорении созревания функции слизистой оболочки кишечного тракта [113].

В качестве пробиотиков чаще используются такие представители микробиоты человека как *Bifidobacterium bifidus*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium brevis*, *Bifidobacterium lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus GG*, *Saccharomyces boulardii* [113]. Выбор бифидобактерий и лактобацилл для применения в неонатологии, вероятно, объясняется фактом обнаружения в грудном молоке именно этих микроорганизмов [102,113].

Вместе с тем установлено, что наряду с лактобациллами и бифидобактериями, естественными обитателями организма человека являются энтерококки, они одними из первых колонизируют организм новорожденных, а система врожденного иммунитета не распознает их как врагов. Энтерококки выявляются у новорожденных уже с первых дней жизни, и в последующем на первом году их уровень колеблется от 10^6 до 10^7 КОЕ/г фекалий. Наиболее частыми представителями энтерококков колонизирующими человеческий

организм являются энтерококки двух видов *E. faecium* и *E. faecalis*, реже - *E. gilvus* и *E. pallens*. Данные микроорганизмы, благодаря уникальной жизнеспособности (устойчивость к низким значениям рН, к желчным кислотам, к широкому диапазону температур), обитают практически во всех отделах кишечника, часто обнаруживаются во желудке и влагалище. Как естественные обитатели кишечника, энтерококки принимают самое активное участие в происходящих там метаболических процессах, синтезе витаминов, гидролизе сахаров, в частности лактозы, деконъюгировании желчных кислот, и элиминации патогенных бактерий [9].

С расширением спектра пробиотиков сформулированы требования к пробиотическим штаммам, в том числе применяющимся в неонатологии: безопасность, доказанная клиническая эффективность, хорошая переносимость препарата, антибиотикорезистентность и кислотоустойчивость [42; 76]. Остаются открытыми вопросы дозировки, времени введения, длительности применения пробиотических штаммов, а также выбор оптимального вида пробиотика [113].

В литературе имеются единичные описания применения у недоношенных новорожденных энтерококков с целью профилактики инфекционных осложнений [26]. В то же время существуют штаммы энтерококков, хорошо изученные с точки зрения безопасности, клинической эффективности, антагонистической активности против патогенной флоры [2]. Энтерококки являются эффективными иммуностимуляторами, способными поддерживать адекватный для нормальной работы системы врожденного иммунитета уровень цитокинов широкого спектра [11]. Существенная роль в стимуляции местного гуморального и клеточного иммунитета отводится энтерококкам, что способствует поддержанию колонизационной резистентности [8].

Таким образом, энтерококки являются важнейшими представителями нормальной микрофлоры человека, а возможности их использования в профилактике инфекционных осложнений у недоношенных детей еще недостаточно изучены.

В качестве пробиотических штаммов энтерококков производители чаще используют штаммы *E. faecium* (Ламинолакт, Бифиформ, Линекс).

Пробиотический штамм *Enterococcus faecium* L3 в России используется более 15 лет, он входит в продукты питания; не содержит генов патогенности, детектируемых методом ПЦР [100]; обладает выраженным антагонизмом к патогенной и условно патогенной микрофлоре [163]; изучен на способность устранять дисбиотические нарушения [2]. Эффективность использования пробиотиков на основе *E. faecium* L3 была показана в рандомизированных клинических исследованиях, посвященных лечению синдрома раздраженного кишечника [74], неспецифического язвенного колита и другой патологии органов пищеварения [59; 74], а также в исследованиях по изучению комплексной реабилитации детей с белково-энергетической недостаточностью [40].

Возможности использования энтерококков с пробиотическими свойствами у доношенных новорожденных, получающих антибиотики, и глубоконедоношенных новорожденных на этапе выхаживания в стационаре, в том числе для профилактики инфекционных осложнений на фоне врожденной иммунологической недостаточности, остаются мало изученными. В связи с этим актуален вопрос возможности применения пробиотического штамма *E. faecium* L3 для профилактики развития инфекционных осложнений и оптимизации выхаживания недоношенных детей с очень низкой массой тела.

Диссертационная работа была рассмотрена и одобрена на заседании Комитета по вопросам этики при Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, протокол № 147 от 18.02.2014г.

Цель исследования: оценка клинической эффективности профилактического использования пробиотического штамма *Enterococcus faecium* L3 в оптимизации выхаживания недоношенных детей с очень низкой массой тела

Задачи исследования:

1. Определить эффективность предупреждения диспептических расстройств у доношенных новорожденных, получающих лечение в стационаре, путем использования пробиотического штамма *E. faecium* L3.

2. Изучить особенности состава микробиоты кишечника доношенных новорожденных, получающих лечение в стационаре, и недоношенных с очень низкой массой тела на стационарном этапе выхаживания.

3. Оценить влияние профилактического применения пробиотического штамма *E. faecium* L3 на частоту манифестации инфекционных осложнений и частоту возникновения эпизодов острой пищевой непереносимости у недоношенных новорожденных с ОНМТ в период выхаживания в стационаре; оценить фармакоэкономическую эффективность применения пробиотического штамма *E. faecium* L3.

4. Исследовать влияние пробиотического штамма *E. faecium* L3 на изменения состава микробиоты кишечника доношенных новорожденных, получающих лечение в стационаре, и недоношенных с ОНМТ в процессе выхаживания в стационаре.

5. Изучить особенности чувствительности к антибиотикам и бактериофагам условно-патогенной микробиоты кишечника (клебсиелл) у доношенных новорожденных и недоношенных с ОНМТ на фоне использования пробиотического штамма *E. faecium* L3 в условиях стационара.

Научная новизна

Впервые доказана эффективность применения пробиотического штамма *E. faecium* L3 в профилактике инфекционных осложнений у недоношенных детей с ОНМТ в период стационарного этапа выхаживания.

Впервые установлено, что профилактическое применение пробиотического штамма *E. faecium* L3 у доношенных новорожденных, получающих лечение в стационаре, способствует снижению пролиферации *C. difficile* и повышению уровня бифидо- и лактофлоры. У недоношенных с ОНМТ на фоне антибиотикотерапии в период стационарного этапа выхаживания профилактическое применение пробиотического штамма *E. faecium* L3 оказывает положительное воздействие на микробиоту кишечника, что выражается нарастанием уровня бифидо- и лактофлоры и снижением пролиферации *C. difficile* и сдерживанию роста клебсиелл.

Впервые показано снижение количества антибиотикорезистентных условно-патогенных микроорганизмов кишечника (клебсиелл) у недоношенных детей с ОНМТ на фоне использования в программах выхаживания пробиотического штамма *E. faecium* L3.

Впервые выявлены однотипные изменения микробиоты кишечника при развитии инфекционных осложнений и ситуаций острой пищевой непереносимости у недоношенных детей с ОНМТ, характеризующиеся контаминацией *C. difficile* в стационаре и выраженной пролиферацией *B. fragilis*.

Научно-практическая значимость

Получены данные о состоянии и динамике микробиоты кишечника у недоношенных с ОНМТ в период стационарного этапа выхаживания и доношенных новорожденных, получающих лечение в стационаре.

Показана безопасность использования пробиотического штамма *E. faecium* L3 в жидкой форме с титром не менее 10^8 КОЕ/мл у доношенных новорожденных в течение 10 дней в суточной дозе 1,5 мл и недоношенных детей с ОНМТ в течение 14 дней в суточной дозе 2,0 мл.

Установлено положительное влияние на состояние микробиоты кишечника новорожденных детей профилактического использования пробиотического штамма *E. faecium* L3.

Создана информативная математическая модель прогноза исхода профилактики инфекционных осложнений у недоношенных детей с ОНМТ на стационарном этапе выхаживания с помощью применения пробиотического штамма *E. faecium* L3.

Положения, выносимые на защиту

1. Состав микробиоты кишечника у доношенных новорожденных по сравнению с недоношенными с ОНМТ характеризуется достоверно более низким общим бактериальным числом и более низким количеством лактобацилл, но более высоким содержанием УПМ.

2. Применение пробиотического штамма *E. faecium* L3 в программах выхаживания недоношенных с ОНМТ способствует снижению частоты инфекционных осложнений.

3. Использование пробиотического штамма *E. faecium* L3 в условиях стационара у новорожденных детей содействует снижению содержания условно-патогенных микроорганизмов кишечника (клебсиелл), устойчивых к антибиотикам.

Личный вклад автора

Автором самостоятельно проведен клинико-диагностический и терапевтический мониторинг 94 новорожденных, находящихся на лечении в специализированном отделении многопрофильного стационара. Собраны данные из первичной медицинской документации. Результаты обследования внесены в индивидуальные карты пациентов и в компьютерную базу данных. Доля участия автора в накоплении, обобщении и анализе материала составила более 90%.

Апробация работы

Основные положения диссертации были заслушаны, обсуждены и одобрены на заседаниях: 15-м Юбилейном международном Славяно-Балтийском научном форуме «Санкт-Петербург–Гастро-2013»; XIII Съезде Научного общества гастроэнтерологов России с международным участием и 17-ой Северо-Западной научной конференции «Санкт-Петербург – Фармакотерапия-2013», научно-практической конференции «Новые аспекты дието- и фармакотерапии при патологии органов пищеварения у детей» (Санкт-Петербург, 2013); 14-ом Международном Славяно-Балтийском научном форуме «Санкт-Петербург – Гастро-2012»; научно-практической конференции «Новые аспекты дието- и фармакотерапии при патологии органов пищеварения у детей», посвященной открытию Городского центра детской гастроэнтерологии и гепатологии в ДГКБ №5 им. Н.Ф. Филатова (Санкт-Петербург, 2014).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 20 печатных работ, включая 5 публикаций в рецензируемых научных журналах и 13 в материалах научных конференций.

Внедрение в практику

Результаты исследования внедрены в практику работы отделений патологии новорожденных СПб ГБУЗ ДГБМ№1; СПб ГБУЗ ДГБ №22. Результаты исследования внедрены в учебный процесс на кафедре детских болезней Федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова Министерства обороны Российской Федерации» при чтении лекций и проведении практических занятий для врачей факультета повышения квалификации и слушателей 4, 5 и 6 курсов. Результаты исследования используются в учебном процессе на кафедре педиатрии и неонатологии Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова Минздрава России» при чтении лекций и проведении практических занятий для врачей-интернов и клинических ординаторов.

Получен патент на изобретение «Способ прогнозирования успешности профилактики инфекционных осложнений у недоношенных детей» №2502995 от 27.12.2013. Получен патент на изобретение «Способ лечения недоношенных новорожденных детей с очень низкой массой тела» №2012136671 от 27.08.2012.

Подготовлено и опубликовано учебно- методическое пособие для врачей «Оптимизация выхаживания недоношенных новорожденных с очень низкой массой тела с использованием пробиотического штамма энтерококка».

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 177 страницах машинописного текста и состоит из введения, 7 глав, выводов, практических рекомендаций, приложений. Работа

иллюстрирована 28 рисунками и 37 таблицами. Библиография включает 166 источника, из них 69 – на иностранных языках.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Проблемы выхаживания недоношенных детей с очень низкой массой тела при рождении

1.1.1. Особенности вскармливания недоношенных детей

Глубоконедоношенный ребенок с очень низкой массой тела (ОНМТ) – это с одной стороны очень трудоемкий и рискованный пациент, с другой очень благодарный объект для врачевания. Действительно, на современном этапе развития неонатологии выхаживание глубоконедошенных детей с ОНМТ, если и не стало делом вполне рутинным, то во всяком случае уже не вызывает такой паники, как еще лет 7-8 назад. Естественно, выхаживание таких детей возможно при наличии всей необходимой аппаратуры и оснащения отделения, в котором находится родившийся маловесный малыш. Обеспечение нужного микроклимата и режима дыхания это дело техники и сноровки врача, внимания медсестры. Забота о поддержании охранительного режима – ограничение звуковых и световых воздействий, также немаловажна для создания комфортного внеутробного существования маленького человека [77,90].

Когда же все технические моменты улажены, главный вопрос остается – чем, когда и как кормить такого человека? Ведь незрелым он является не только внешне, но и внутренне. И проблема не только нередко в отсутствии сосательного и глотательного рефлексов, а также их координирования, но и в незрелости всей пищеварительной системы. Слизистая оболочка желудочно-кишечного тракта совсем не подготовлена к принятию и перевариванию пищи, замедлена перистальтика и моторика [19, 90]. Поджелудочная железа не готова к выработке нужного количества ферментов, недостаточна секреция протеаз, липаз и кишечных дисахаридаз. Снижена способность желчи эмульгировать жирные кислоты. Таким образом, на всех этапах пищеварения имеются препятствия к нормальному усвоению пищи [90, 97].

Грудное молоко у матери, родившей преждевременно, соответствует потребностям недоношенного ребенка, однако прибывает позже. Однако, состав

грудного молока быстро меняется и уже через 3-4 недели после родов может не соответствовать физиологическим потребностям ребенка с ОНМТ [90]. Очень часто у таких матерей отмечается гипогалактия, связанная с тем, что ребенок не прикладывается к груди. Именно поэтому для недоношенных детей разработаны специальные формулы, отличающиеся по составу от стандартной адаптированной молочной смеси, а также специальные добавки в грудное молоко – «фортификаторы» грудного молока. Как правило, смеси для недоношенных детей содержат больше белка и фосфора в общем количестве. Такие формулы отличаются и по качеству белка, содержат больший процент незаменимых аминокислот [19, 90]. Важное значение отводят жирнокислотному составу смесей для недоношенных детей в связи с тем, что у них ограничен эндогенный синтез важнейших длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот – арахидоновой и докозагексаеновой [19, 53], поскольку играют существенную роль в структуре и функции биологических мембран, являются эссенциальными компонентами фосфолипидов головного мозга, фоторецепторов сетчатой оболочки глаз [19, 53]. Среднецепочечные триглицериды, которые обеспечивают усвоение жира без действия липазы, высокую абсорбцию жира в кишечнике, лучшее усвоение кальция и цинка входят в состав жирового компонента ряда специальных продуктов (Хумана 0-ГА, Пре-Нутрилак, Фрисопре, Пре НАН, Семилак Спешл Кэр) [19, 70]. Во избежание избыточной нагрузки на ЖКТ маловесных детей (для которых характерна ограниченная способность к усвоению молочного сахара), углеводном компоненте содержание лактозы снижено. Однако, энергетическая ценность специальных продуктов для недоношенных детей, как правило, несколько выше - 75–80 ккал/100 мл [19]. Таким образом, в арсенале неонатолога имеется набор специальных, адаптированных под потребности недоношенных детей, продуктов питания. Выбор же конкретного продукта (формулы) носит индивидуальный характер для каждого ребенка.

Как правило, энтеральное питание глубоконедоношенного ребенка стараются начать как можно раньше, пусть даже в минимальном объеме (трофическое

питание), таким образом, ускоряя созревание пищеварительной системы. Чем меньше вес ребенка, тем осторожнее и бережнее начинается энтеральное кормление. Начиная с минимальных доз (по 0,5 мл) и очень медленно увеличивая объем питания, ежедневно возрастает нагрузка на пищеварительный тракт [70]. К сожалению, далеко не всегда удается в короткие сроки увеличить энтеральный объем питания до необходимой нормы. Часто возникают эпизоды пищевой непереносимости: замедление моторики желудочно-кишечного тракта, которое может быть связано как с незрелостью пищеварительного тракта и центральной нервной системы, так и с развившимися осложнениями. Из осложнений наиболее серьезными являются инфекционные. При этом высевается преимущественно больничная флора, которая показывает высокую устойчивость к стандартным антибактериальным препаратам. Для каждого стационара характерен свой «набор» условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, которые могут сыграть фатальную роль. Как сработает иммунная система организма – во многом зависит от характера микробного заселения пищеварительного тракта.

1.1.2. Внутриутробная и внутриамниотическая инфекции

К внутриутробным инфекциям (ВУИ) относят инфекционные заболевания, вызываемые возбудителями, проникшими к плоду до рождения от инфицированной матери. ВУИ могут иметь как бактериальную, так и вирусную природу. При внутриутробном инфицировании возбудитель проникает в плод гематогенно. Для ВУИ характерно поражение плаценты с соответствующими последствиями в виде фето-плацентарной недостаточности, гипоксии плода, задержки внутриутробного развития, а также преждевременных родов [55].

Возможными факторами риска развития антенатальных инфекций являются: отягощенный акушерский анамнез; осложнения текущей беременности и родов (угроза прерывания беременности, многоводие, приращение, неполная и преждевременная отслойка плаценты); заболевания мочеполового тракта у матери (эрозия шейки матки, эндоцервицит, кольпит, вульвовагинит, киста яичников, мочевиная инфекция в виде уретрита, цистита, пиелонефрита и др.); а также

перенесенные матерью во время беременности острые инфекции, в том числе ОРВИ [89].

По данным разных авторов распространенность ВУИ в популяции может достигать 10-15%. ВУИ является тяжелым заболеванием, от которого зависит уровень младенческой смертности. Учитывая широкое распространение внутриутробного инфицирования и серьезность прогноза, очевидно, разработка методов профилактики, точных методов диагностики и эффективного лечения являются важными задачами современной неонатологии [55].

Под внутриамниотической инфекцией (ВАИ) плода понимают инфекционный процесс, возникший непосредственно внутри плодных оболочек. Наиболее частый путь заражения – восходящий. На практике эти два понятия – ВУИ и ВАИ, не всегда четко различимы. В МКБ-10 имеется «инфекционный блок» заболеваний перинатального периода (P35-P39), куда включены традиционно воспринимаемые как ВУИ, TORCH-синдром (герпес-вирусная инфекция, хламидийная инфекция, врожденная краснуха, токсоплазма и др.), паразитарные и бактериальные неонатальные инфекции, а также сепсис новорожденного. Отдельная рубрика – P39.2 – Внутриамниотическая инфекция плода, не классифицированная в других рубриках. Общим для двух понятий – ВУИ и ВАИ является источник инфекции, это практически всегда – мать. Различие в большей степени определяется путем передачи инфекции. Для ВАИ характерен восходящий путь или нисходящий (при наличии очага инфекции в брюшной полости или в придатках матки). Таким образом, имея анамнестические данные о наличии вульвовагинита, эндоцервицита, и других хронических инфекции урогенитальной сферы, в особенности с указанием на обострение процесса во время беременности или в родах (хориоамнионит), принято говорить о развитии ВАИ. Когда же анамнез беременности осложнен перенесенной ОРВИ или другим инфекционным заболеванием не урогенитальной сферы, чаще говорят о гематогенном пути передачи инфекции, и в таком случае диагностируют ВУИ с трансплацентарным путем передачи инфекционного агента. Для такого пути распространения инфекции обязательным условием является наличие в крови у

матери большого количества инфекционных возбудителей (состояние бактериемии или вирусемии). В подобных случаях последовательно возникает воспаление плодных оболочек, далее следует генерализация процесса, что приводит к инфицированию плода. В литературе эти понятия часто пересекаются.

Однако внутриутробное инфицирование не всегда приводит к развитию манифестных форм заболевания и во многом зависит от особенностей состояния плода и новорожденного [32]. При недоношенности, патологическом течении интра- и/или раннего неонатального периода риск реализации врожденной инфекции значительно возрастает [32].

Есть и другие факторы, влияющие на прогноз при внутриутробной передаче инфекции, к ним относятся: срок гестации, в котором произошло инфицирование, особенности возбудителя (патогенные и иммуногенные его свойства), функциональное состояние иммунной системы матери, целостность маточно-плацентарного барьера и др. [32].

Аntenатальное инфицирование чаще характерно для вирусных (вирусы цитомегалии, краснухи, Коксаки и др.) и внутриклеточных возбудителей (токсоплазма, представители семейства микоплазм) [32]. Интранатальная контаминация более характерна для агентов бактериальной природы [55]. Спектр потенциальных возбудителей индивидуален и зависит от особенностей микробного пейзажа слизистых родовых путей матери [32]. Наиболее часто выявляют такие микроорганизмы, как стрептококки группы В, энтеробактерии, а также вирусы простого герпеса типов 1 и 2, микоплазмы, уреоплазмы, хламидии и др. [32]. Еще недавно считалось, что наиболее частыми возбудителями ВУИ являются вирусы ЦМВ, ВПГ типов 1 и 2 и токсоплазмы. Однако, исследования последних лет во многом изменили представления как об этиологической структуре ВУИ, так и о частоте внутриутробного инфицирования в целом. В частности, показана значительно более высокая распространенность внутриутробного инфицирования среди новорожденных детей; выявлен более широкий спектр микроорганизмов - этиологических факторов внутриутробного инфицирования: энтеровирусы, хламидии (*Chlamydia trachomatis*), некоторые

представители семейства *Mycoplasmatacae* (*Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*), вирусы гриппа и целый ряд других инфекционных агентов [32].

Проявления инфекционного процесса зачастую очень схожи, несмотря на этиологические различия. Поэтому успех терапии напрямую зависит от точности диагностики этиологического фактора [55]. С этой целью используют бактериологические, молекулярно-генетические и цитологические методы. Соответственно выявленному этиологическому фактору назначается этиотропная терапия.

1.1.3. Причины нарушения толерантности энтерального питания

Пищеварительная система незрелых детей имеет ряд особенностей. В первую очередь, это выражается в незрелости ферментной системы. Железы желудочно-кишечного тракта не готовы вырабатывать нужное количество ферментов и желудочного сока [97]. Так, недоношенные дети чаще страдают нарушениями переваривания грудного молока, связанными с транзиторной недостаточностью лактазы.

Даже небольшое количество патогенных или условно-патогенных бактерий, попадающих в кишечный тракт ребенка, которое в норме было бы нейтрализовано при помощи защитных свойств желудочного сока и сока поджелудочной железы, у недоношенных детей вызывает явления пищевой непереносимости [55]. Дефицит нормофлоры кишечника в сочетании с носительством условно-патогенной флоры выявляется у 2/3 недоношенных детей, даже находящихся на естественном вскармливании. Значительна также незрелость нервной системы - страдает моторная функция ЖКТ, замедляется продвижение пищи [55]. Недоношенные дети предрасположены к дисфункции кишечника [145]. Повышенная проницаемость кишечной стенки является значимой особенностью, именно поэтому микроорганизмы и токсины, находящиеся в кишечнике, легко всасываются в кровь [36, 97]. Недоношенным детям характерен метеоризм вследствие гипотонии кишечника и передней брюшной стенки, в результате диафрагма поднимается вверх, поджимая нижние отделы легких, что ведет к нарушениям вентиляционной функции. Слизистая

оболочка пищеварительного тракта у недоношенных очень тонкая, богато васкуляризована, легко подвергается повреждающим воздействиям [97]. У недоношенных снижено также слюноотделение [55]. Указанные факторы значительно затрудняют процессы переваривания и всасывания, способствуют развитию метеоризма, явлений пищевой непереносимости и других осложнений. И все же, даже у глубоконедоношенных детей, несмотря на несовершенство пищеварительной системы, в желудочном соке находится сычужный фермент, створаживающий молоко. Вследствие чего материнское молоко остается самым лучшим и необходимым питанием для недоношенного ребенка [97].

1.1.4. Сепсис и некротический энтероколит

Неонатальный сепсис – клинический синдром системного заболевания, сопровождающийся бактериемией и встречающегося в первый месяц жизни. Частота первичного неонатального сепсиса составляет 1-8 на 1000 живорожденных. Летальность от этого заболевания составляет от 13% до 50% по данным разных авторов. Максимальная летальность определяется среди недоношенных детей. Недоношенность сама по себе является фактором риска для развития сепсиса. С уменьшением массы тела риск развития сепсиса пропорционально увеличивается [56].

Выделяют *ранний сепсис*, клинические симптомы которого манифестируют в первые 3 дня жизни, и *поздний сепсис*, манифестирующий клинически после 4-х суток жизни. Ранний сепсис характеризуется внутриутробным антенатальным инфицированием, чаще гематогенным или восходящим путем. Очевидный первичный очаг инфекции, как правило, отсутствует [55].

К факторам риска, предрасполагающим к развитию сепсиса относят преждевременное излитие околоплодных вод и длительный безводный период, лихорадку у матери в родах, инфекции мочеполовых органов и другие. Клинически сепсис может проявляться симптомами нарушения дыхания, общей вялостью, нестабильностью температуры тела, нарушением толерантности к

глюкозе, а также нарушением толерантности к энтеральному питанию и вздутием живота [55, 56].

У новорожденных сепсис чаще течет в виде септицемии; ей сопутствует фульминантное развитие клинических симптомов, системной воспалительной реакции и полиорганной недостаточности при отсутствии метастатических гнойных очагов [55]. Далеко не всегда, взяв посев крови в момент ухудшения общего состояния ребенка, удастся обнаружить возбудитель сепсиса, хотя клинические (резкая вялость, гипотермия, «сероватый» колорит кожного покрова, одышка, тахикардия и др.) и биохимические (резкое повышение уровней белков острой фазы, метаболический ацидоз) данные указывают на течение сепсиса. Как правило, связано это с тем, что ребенок уже получает антибактериальную терапию, вследствие чего, посеvy часто бывают «стерильными».

У глубоко недоношенных детей имеется ряд физиологических особенностей, обуславливающих большую склонность к развитию системной воспалительной реакции и, соответственно, сепсиса. К таким особенностям относятся: сниженный хемотаксис, низкая бактерицидность фагоцитов, низкий уровень пропердина, низкая экспрессия и незрелость механизмов презентации молекул класса HLA-2, в том числе дендритными клетками, низкое содержание Т-хелперов, «наивные» Т-хелперы новорожденных, несовершенный баланс продукции про- и противовоспалительных цитокинов, сниженная функция натуральных киллеров, низкие уровни IgM и IgA [88].

Этиологически чаще у новорожденных диагностируется сепсис стрептококковой этиологии. В МКБ-10 выделены в отдельные рубрики: сепсис, вызванный стрептококком группы В, другим стрептококком, стафилококком золотистым, другим стафилококком, кишечной палочкой, анаэробными микроорганизмами, другими бактериальными агентами. Основными возбудителями воспаления женских половых органов наиболее часто являются кандиды, золотистый стафилококк, кишечная палочка, гарднереллы, трихомонады, уреоплазмы, хламидии, которые, в свою очередь, могут быть причиной внутриутробного инфицирования плода. У значительной части детей с

неонатальным сепсисом удается обнаружить внутриутробные вирусные (чаще семейства герпес - цитомегалия, простой герпес) или микоплазменные инфекции [88]. Особое место в классификации неонатальной инфекции занимает так называемая Инфекция типичная для перинатального периода (по МКБ P35 – врожденные вирусные болезни, P39 – другие инфекционные болезни, специфичные для перинатального периода). В эту группу относят и диагностированные генерализованные инфекции вирусной этиологии.

При подозрении на ранний сепсис, как правило, стартовую этиотропную терапию начинают с антибиотиков из группы пенициллинов (ампициллин) в сочетании с аминогликозидами (гентамицин или нетромицин) [56, 89]. Далее терапия корректируется с учетом результатов посевов и характера нозокомиальной флоры. Кроме антибактериальной терапии с хорошим эффектом применяют препараты человеческого иммуноглобулина (Пентаглобин, Интраглобин) [86, 91]. Патогенетическая терапия включает в себя адекватную инфузионную терапию с коррекцией электролитного баланса, тепловой режим, дыхательную поддержку (при необходимости), гемо- и плазматрансфузии, симптоматическую терапию [86].

Некротический энтероколит (НЭК) – заболевание, играющее важнейшую роль в показателях заболеваемости и смертности у глубоко недоношенных детей [126, 127]. Частота заболеваемости НЭК у новорожденных детей по данным разных авторов составляет от 0,3 до 3 на 1000 живорожденных младенцев. Около 90% этих детей – недоношенные новорожденные с массой тела менее 1500 грамм [137].

К этиологическим факторам развития НЭК относят перенесенную асфиксию, незрелость желудочно-кишечного тракта, аномальную колонизацию кишечника микрофлорой, неадекватную энтеральную нагрузку и другие [37, 129]. Несмотря на активно ведущиеся исследования, направленные на улучшение понимания патогенетических механизмов развития НЭК, многие факторы развития заболевания до сих пор остаются неясными [127]. Значительнейшим пусковым механизмом, приводящим к поражению кишечной стенки при НЭК,

является селективная циркуляторная ишемия кишечника, вызываемая стрессом, возникающим перинатально. Не менее важным компонентом для развития НЭК в ослабленном организме недоношенного ребенка, является инфекционный агент. Немаловажно, что НЭК возникает обычно после 10-го дня жизни, в то время, когда уже произошла колонизация кишечника новорожденного микроорганизмами. И если в норме транслокация микробов из просвета кишки в кровотоки предотвращается, благодаря барьерной функции слизистой оболочки, то у недоношенных детей инфекционный агент, вызывая поражение слизистой, нарушает ее барьерную функцию. Кроме этого, транслокации микробов из просвета кишки в кровотоки способствуют также недостаточное развитие микроворсинок слизистой тонкой кишки и несовершенство их антиген-связывающей функции вследствие незрелости. Гипоперистальтика кишечника, характерная для недоношенных детей, также способствует развитию НЭК [36].

Выделяемая при НЭК флора (при бактериологическом исследовании крови и кала) вариабельна и существенно зависит от флоры кишечника больного, нозокомиальной флоры того лечебного учреждения, где находится ребенок, длительности и характера антибиотикотерапии. Среди разнообразных микроорганизмов, играющих роль в развитии НЭК, нередко обнаруживаются не только патогенные штаммы микробов, но и УПМ флора кишечника новорожденного, которая может становиться патогенной и инвазивной. Наиболее часто обнаруживают *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Clostridium perfringens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*. Не меньшее значение в развитии НЭК может иметь и вирусная инфекция: коронавирусы, ротавирусы и вирусы Коксаки типа В2. Известны случаи сочетания цитомегаловирусной инфекции и НЭК. НЭК, как полиморфное заболевание, чаще всего вызывается комбинацией возбудителей, обуславливающей усиление их взаимной вирулентности, что осложняет как диагностику, так и подбор этиотропного лечения [37]. Исследование состава микробиоты кишечника у недоношенных детей с ЭНМТ показало значительный дефицит индигенной микробиоты (лактобацилл и

энтерококков), предшествующий развитию НЭК; у детей контрольной группы, не развивших НЭК, в составе микробиоты в первые недели жизни доминировали энтерококки [126].

Учитывая высокую вероятность злокачественного характера течения НЭК, крайне необходима профилактика и ранняя диагностики заболевания, а, соответственно, и своевременное начало лечения. Необходимо неукоснительное соблюдение правил введения энтеральной нагрузки: начало энтерального питания лишь при стабилизации состояния больного, начало энтерального питания с минимальных доз (0,5-1-2 мл у недоношенных). При низкой толерантности к питанию его необходимо проводить в режиме трофического [36]. Постепенное мягкое увеличение энтеральной нагрузки, с учетом данных контроля толерантности к объему питания, позволяет снизить риск развития НЭК; при наличии значительного остаточного объема в желудке и появлении вздутия живота энтеральное питание немедленно отменяется с целью предотвращения развития НЭК. Таким образом, НЭК – полиэтиологичный синдром. При подозрении на развитие НЭК, исход лечения напрямую зависит от своевременности диагностики перехода заболевания из «терапевтической» в «хирургическую» стадию [36].

Профилактическое лечение начинают при малейшем подозрении на НЭК, оно соответствует основным принципам консервативной терапии: отменяют энтеральное питание, ставят постоянный открытый орогастральный зонд, учитывают объем и качество выделяющейся жидкости, назначают или усиливают антибактериальную терапию. Затем, при отсутствии клинического улучшения, ухудшении лабораторных показателей и рентгенологической картины производят смену антибиотиков, назначая антибиотики широкого спектра действия, в том числе препараты, воздействующие на анаэробные микроорганизмы. Учитывая, что одну из основных ролей в патогенезе НЭК играет инфекция, и в том числе УПМ кишечника ребенка, вызывающая поражение слизистой кишки и определяющая транслокацию микробов в кровеностное русло, пробиотики являются важнейшим компонентом лечения [36].

1.2. Микробиота кишечника и ее влияние на здоровье.

В современной литературе нормальную микрофлору высших организмов обозначают термином «микробиота», под которым понимают эволюционно сложившееся сообщество разнообразных микроорганизмов, населяющих открытые полости макроорганизма, определяющее его биохимическое, метаболическое, иммунологическое равновесие. Иначе говоря, микробиота – есть совокупность микробиоценозов, характеризующихся определенным составом и занимающих конкретный биотоп в организме человека и животных [93]. Исследованиями современной медицины показано, что здоровье человека и его сохранение при воздействии неблагоприятных факторов внешней среды во многом зависят от динамичного и неравновесного состояния биологической системы: макроорганизм – совокупность микробиоценозов открытых слизистых оболочек и кожи [79, 115].

В состав нормальной микробиоты входят не только сапрофитные, но и условно-патогенные микроорганизмы. Микробное сообщество действует как метаболическая целостность, поскольку представляет собой совокупность взаимодействующих между собой организмов, а не просто множество видов. Большое количество бактериальных популяций создает условия стабилизации общего пула бактериальных метаболитов; если под влиянием внешних факторов изменяется активность метаболитов одной микробной популяции, то другие популяции обладают свойством восстановления общего пула метаболитов и восстановления нормобиоценоза в целом. Таким образом, неблагоприятные внешние воздействия на систему «макроорганизм-микробиоценозы» сглаживаются, и создаются условия для реализации гомеостаза организма, как по трофическим (пластическим), так и по регуляторным (иммунным, гормональным) субстанциям организма [23].

Кишечник является самым большим иммунным органом человека, включающим миндалины глоточного кольца, подэпителиальные лимфатические фолликулы, лимфоидные образования червеобразного отростка, рассеянные

лимфоциты и плазматические клетки слизистой оболочки. Распознавание и обезвреживание чужеродных антигенов с помощью секреторного иммуноглобулина А, синтез которого осуществляется плазматическими клетками и поддерживается собственной микрофлорой, происходит на поверхности слизистых оболочек. Секреторный иммуноглобулин А участвует в обеспечении нормального состава бактериальной флоры кишечника и является ключевым звеном местного иммунитета. Различные заболевания органов пищеварения, как инфекционного, так и неинфекционного генеза, сопровождаются дисбиотическими расстройствами, что ведет к нарушению трофики тканей, снижению реактивности иммунной системы [23].

Нарушения микробиоты кишечника характеризуются исчезновением или снижением количества облигатных ее представителей и увеличением популяционного уровня условно-патогенных бактерий, отсутствующих или встречающихся в малых количествах в норме [8]. Микробные ассоциации, развивающиеся в условиях дисбиоза, не способны обеспечить защитные и физиологические функции нормофлоры [10].

Изменения количественного содержания и видового состава микрофлоры кишечника, именуемые дисбиозами, могут возникать при действии самых различных факторов экзогенной и эндогенной природы [106].

У новорожденных детей формированию дисбиотической кишечной микробиоты способствуют неблагоприятные пренатальные факторы: отягощенный акушерско-гинекологический анамнез, гестозы, пиелонефрит беременных, бактериальный вагиноз, кольпит, эндоцервицит, нарушения питания, хронические заболевания пищеварительного тракта; интранатальные факторы: преждевременные роды, кесарево сечение, оценка по шкале Апгар менее 5 баллов, инфекция матери в родах, безводный промежуток более 6 часов, акушерские вмешательства в родах; и постнатальные факторы: недоношенность, раздельное пребывание матери и ребенка в родильном доме, позднее прикладывание к груди, искусственное вскармливание, наличие малых гнойных инфекций, поздняя выписка из роддома и др. [24, 120, 131, 162].

Во время родов ребенок колонизирует пищеварительный тракт через рот, проходя по родовым путям матери. Через несколько часов после рождения в кишечнике доношенного младенца можно обнаружить бактерии *E. coli* и стрептококки. Через несколько дней в пищеварительном тракте появляются различные штаммы бифидобактерий, энтерококки и бактероиды [45, 50]. Высокая концентрация бифидобактерий трактуется как критерий физиологической микробной колонизации кишечника. У недоношенных детей в течение первых трех недель после рождения в кишечнике практически отсутствуют бифидобактерии и лактобациллы – микроорганизмы, чрезвычайно важные для здорового созревания и функциональной адаптации иммунной системы новорожденного ребенка [112, 131, 151, 161, 162]. Формированию нормальной микробиоты и сохранению здоровья младенцев способствует кормление грудным молоком матери [102, 129] и/или дополнительное назначение пробиотиков, поэтому в качестве заменителей женского молока оптимальны питательные формулы с пробиотическими штаммами.

1.3. Пробиотики как средство нормализации состава микробиоты

Пробиотики – это живые микроорганизмы, которые при использовании в адекватных количествах вызывают улучшение здоровья организма-хозяина [85,119]. Основными механизмами действия пробиотиков являются: конкуренция с патогенной и условно патогенной микрофлорой; адгезия к слизистой оболочке кишечника и взаимодействие с эпителиоцитами; иммуномодулирующий эффект.

В пробиотических препаратах наиболее часто используют лактобациллы (*L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. brevis*, *L. celloblosus*, *L.fermentum*, *L. plantarum*), бифидобактерии (*B. bifidum*, *B. infantis*, *B. breve*, *B. adolescentis*, *B. longum*, *B. animals*, *B. thermophilus*) [119], грамположительные кокки (*S. salivarius*, *S. thermophilus*, *S. diacetylactis*, *Enterococcus faecium*, *Lactococcus lactis sp. Cremoris*), дрожжи (*Saccharomyces boulardii*, *S.cerevisiae*).

Пробиотические препараты применяются с профилактической и лечебной целью. С целью купирования диареи, коррекции дисбактериоза, улучшения

физического развития новорожденных детей, включая недоношенных, рекомендуют: Бифидумбактерин, Бифидумбактерин форте, Аципол, Ацилакт, Лактобактерин, Линекс, Бифилиз; Пробифор. Имеется опыт использования БАД Бифиформ Бэби (*Bifidobacterium BB-12*, *S. thermophilus TH-4*) с целью профилактики развития нарушений микробиоценоза кишечника и их коррекции у новорожденных и грудных детей с отягощенным перинатальным анамнезом [45]. Препарат Бифиформ Бэби использовался для коррекции микробиоценоза кишечника у недоношенных новорожденных, получающих массивную медикаментозную терапию, в том числе антибактериальную, благоприятно воздействовал на физиологическое созревание недоношенных детей в стационаре [5]. В широком рандомизированном контролируемом исследовании (РКИ) среди 367 детей с очень низкой массой тела при рождении (ОНМТ) было показано, что назначение пробиотиков, в частности Инфлорана (*L. acidophilus* и *B. infantis*) на фоне грудного вскармливания снижало частоту и тяжесть некротического энтероколита (НЭК): 2/180 против 10/187 [140]. В двойном слепом РКИ в перинатальном центре Shaare Zedek только 3 из 72 младенцев с ОНМТ, получавших пробиотическую смесь (*B. infantis*, *S. thermophilus* и *B. bifidus*), реализовали НЭК против 12 из 73 группы сравнения, находившихся на грудном или смешанном вскармливании. Частота тяжелого НЭК (стадия 2 или 3 по Bell) в основной группе составила 1 из 72 против 10 из 73 ($p < 0,05$) в группе сравнения [139]. У детей, страдающих коликами, в кишечной микрофлоре установлено снижение количества лактобацилл и повышение анаэробных грамотрицательных микроорганизмов. Курсовое применение живых *L. reuteri* достоверно уменьшало частоту симптомов кишечных колик у новорожденных детей [105, 166]. Пробиотические средства являются важной составляющей частью мер профилактики (*Bifidobacteria*) и лечения (*Lactobacillus GG*, *Lactobacillus reuteri*, *Saccharomyces boulardii*) диарейных заболеваний у младенцев [153]. Снижение риска манифестации атопической экземы у детей было показано при повышенном потреблении ретинола, Ca, Zn в сочетании с ранним назначением пробиотиков (*L. rhamnosus strain GG*; ATCC 53 103) [118].

Наблюдение 159 детей с рождения до 4х лет с отягощенным семейным анамнезом по аллергическим заболеваниям показало, что раннее назначение пробиотиков безопасно. Подтверждением явились показатели роста и отношения массы тела к росту, которые были сопоставимы с таковыми у детей группы сравнения, получавшими дополнительно к обычному питанию только аскорбиновую кислоту. В том же исследовании продемонстрировано, что для профилактики и лечения атопической экземы более эффективна рациональная диета на основе пробиотиков вместо пассивной элиминационной диеты, применявшейся традиционно [118]. Проведенное в клинике университета г.Турку РКИ показало достоверное снижение частоты риновирусной инфекции у недоношенных детей, получавших пребиотик (олигосахариды и полидекстрозу, 1:1) или пробиотик (*Lactobacillus rhamnosus* GG) в возрасте 3 – 60 дней жизни по сравнению с группой контроля (плацебо) [147].

Перспективность использования пробиотических препаратов в неонатологии не вызывает сомнения [121]. Об этом свидетельствуют протоколы многочисленных кохрановских мета-анализов [76], посвященных использованию пробиотиков для профилактики инфекций у доношенных и недоношенных новорожденных, новорожденных с низкой массой тела; для профилактики антибиотико-ассоциированной диареи; для профилактики манифестации аллергических заболеваний и др. Привлекательность пробиотиков обусловлена их безопасностью и простотой применения.

1.4. Влияние антибактериальной терапии на микробиоту кишечника детей

Антибиотики – относятся к препаратам, наиболее часто назначаемым больным новорожденным детям, поскольку инфекционная патология является ведущей причиной как заболеваемости, так и, вероятно, смертности новорожденных [89].

Одна из наиболее важных проблем современной неонатологии – нозокомиальные инфекции, частота которых, по оценкам различных источников, у новорожденных составляет от 4 до 11% [17]. Возбудителями неонатальных

госпитальных инфекций являются коагулазонегативные стафилококки, золотистый стафилококк, стрептококки группы В, кишечная палочка, клебсиеллы, палочка сине-зеленого гноя, энтерококки и др. [89]. Антибактериальная терапия в неонатальном периоде сопровождается развитием функциональных нарушений ЖКТ в результате выраженных дисбиотических расстройств [18].

В настоящее время *C. difficile* является наиболее часто выделяемым возбудителем антибиотик-ассоциированных поражений кишечника [51]. Термин «клостридиозная инфекция» используют в тех случаях, когда в стационарах возникают вспышки диареи у больных, получающих антибиотики широкого спектра. Псевдомембранозный колит рассматривают как одно из самых тяжелых осложнений антибактериальной терапии и форм «клостридиозной инфекции» [63].

C. difficile (первоначальное название *Bacillus difficilis*) – строго анаэробная спорообразующая грамположительная палочка, впервые была выделена из кишечника новорожденных детей I.C. Hall и E. O'Tool в 1935 г. и охарактеризована как патогенный анаэроб. Известно, что *C. difficile* является постоянным обитателем кишечника здоровых людей, диких и домашних животных; она может быть выделена из почвы, речной и морской воды. Частота контаминации кишечника *C. difficile* уменьшается с возрастом: у здоровых новорожденных достигает 50–70% [108], у детей старшего возраста и взрослых составляет не более 10% [82]. В 90% случаев выделенные штаммы продуцируют токсины [108]. У недоношенных новорожденных и детей первых пяти месяцев жизни токсигенные штаммы *C. difficile* выявляли при наличии кишечных расстройств и на фоне приема пероральных форм антибиотиков [111]. Более современные исследования не установили диагностического значения выявления токсигенных штаммов *C. difficile* у детей первого года жизни с диареей [160].

Манифестные формы клостридиозной инфекции у детей встречаются реже, чем у взрослых, что объясняют отсутствием рецепторов к токсинам *C. difficile* на эпителиальных клетках слизистой оболочки кишечника, а также наличием у детей грудного возраста материнских антиклостридиальных антител

[34]. В то же время есть указания, что дети раннего возраста и новорожденные подвержены псевдомембранозному колиту; течение заболевания у доношенных и недоношенных новорожденных детей тяжелое, с профузной диареей, обезвоживанием, с расстройствами кровообращения [82]. Дети раннего возраста с бессимптомным носительством *C. difficile* могут быть источником клостридиоза [152].

С внедрением в практику новых методов обнаружения *C. difficile* появились возможности для уточнения природы гастроэнтерологической патологии. Выявление *C. difficile* в составе кишечной микрофлоры у детей раннего возраста с функциональными расстройствами пищеварения сопровождалось снижением количества бифидобактерий и повышением уровня кальпротектина в кале. Использование в качестве дополнения к питанию больных пробиотика *L. reuteri* способствовало устранению клинических симптомов заболевания, уменьшению степени воспалительных и дисбиотических нарушений [41]. Обнаружение *C. difficile* и ее токсинов свидетельствует о нарушениях формирования и/или ослаблении колонизационной резистентности индигенной микробиоты кишечника [94].

Использование пробиотических средств у недоношенных детей, получающих антибиотики в процессе выхаживания, содействует терапевтическим усилиям по поддержанию иммунитета благодаря нормализации микробиоты кишечника и тем самым снижает риск развития неонатальной инфекции [121].

Таким образом, изучение исходов лечения, динамики контаминации и персистенции *C. difficile* в составе микробиоты кишечника новорожденных детей, получающих антибиотики и антибиотиков вместе с пробиотическими штаммами, является актуальной задачей современной педиатрии.

Различные виды клебсиелл также способны вызывать нозокомиальные инфекции и осложнять период реабилитации в стационаре у недоношенных детей. Клебсиеллы относятся к условным патогенам, способны вызвать пневмонию, гнойно-септические процессы, а также заболевания, протекающие с поражением мягких мозговых оболочек, глаз и суставов. Клебсиеллы нередко

являются причиной внутриутробных инфекций, заболеваний новорожденных, внутрибольничных инфекций [9]. Одним из множества факторов патогенности клебсиелл является высокая устойчивость к антибиотикам и фагам, что создает серьезные проблемы при их использовании у больных [9]. Антибиотикорезистентность клебсиелл объясняется экспрессией бета-лактамаз расширенного спектра [29].

1.5. Проблема безопасного использования пробиотических препаратов у новорожденных детей

Уже давно не секрет, что правильное формирование микрофлоры кишечника у вновь родившегося человека является залогом формирования адекватного иммунитета и здоровья в целом [103, 115, 120]. К настоящему времени стало очевидным, что именно кишечная микрофлора является первичным стимулом для активации врожденного и развития приобретенного иммунитета. Известно, что заселение кишечника бактериями является первым стимулом активации специфических и неспецифических защитных механизмов слизистой оболочки кишечника новорожденного ребенка [14, 115].

Многочисленные исследования показали, что родоразрешение путем кесарева сечения, разъединение малыша с матерью, прием антибактериальных препаратов – ведут к нарушению процесса формирования кишечной микробиоты [14, 20, 120, 132]. Указанные факторы наиболее актуальны для глубоконедоношенных детей, так как, с точки зрения формирования нормобиоценоза, они наиболее подвержены влиянию неблагоприятных факторов внешней среды. Новорожденные с очень низкой и экстремально низкой массой тела, как правило, получают антибактериальную терапию (более или менее агрессивную), длительно находятся в стационаре, недостаточно контактируют с мамой. В отличие от доношенных детей, недоношенные новорожденные имеют морфологически и функционально незрелый кишечный тракт, и значительные проблемы в формировании нормальной микрофлоры. Разнообразные индигенные микроорганизмы кишечника доношенного новорожденного ребенка, находясь в

количестве, достаточном для противостояния агрессии патогенных и условно-патогенных микробов, помогают ускорению темпов созревания системы пищеварения. Поскольку глубоконедоношенные новорожденные практически лишены возможности естественного заселения кишечного тракта микрофлорой, врачу необходимо продумывать план ведения недоношенного младенца [70] и, в том числе, предусматривать раннее использование пробиотиков.

Вопрос о выборе пробиотика остается дискуссионным. Несомненно, главным критерием выбора является безопасность. Входящие в состав пробиотиков бактерии также должны сохранять жизнеспособность при прохождении желудочно-кишечного тракта, подавлять развитие патогенных бактерий [119, 156].

С уверенностью используются пробиотики, находящиеся в списке соответствующих общепризнанным критериям безопасности (GRAS – generally recognized as safe criteria). Однако, совершенно игнорируется тот факт, что многие пробиотические микроорганизмы из этого списка также имеют в своем геноме гены патогенности и подвижные генетические элементы [117].

Наиболее популярны в качестве пробиотиков различные штаммы бифидобактерий [84]. По мнению многих авторов, эти микроорганизмы соответствуют критериям безопасности и оказывают благоприятное воздействие на формирование пищеварения и иммунной системы новорожденного ребенка [47]. В то же время многочисленные исследования подтверждают значение пробиотических энтерококков в правильном формировании микробиоценоза кишечника [78], в том числе у недоношенных детей [48].

Разработка и внедрение новых питательных смесей с пробиотиками, предназначенных для питания новорожденных и обладающих защитными свойствами, является актуальной задачей современной детской нутрициологии и индустрии детского питания. Работа в этом направлении может ускорить решение проблемы снижения детской заболеваемости и улучшения состояния здоровья детей грудного и раннего возраста [13, 14]. Новорожденные, не имеющие возможности получать грудное молоко, вынуждены питаться заменителями

женского молока. Современные адаптированные питательные смеси для детей весьма разнообразны. Относительно недавно на рынке стали появляться смеси, содержащие в своем составе живые бифидобактерии, улучшающие пищеварение и повышающие сопротивляемость к кишечным инфекциям.

Являясь естественными обитателями кишечника, энтерококки принимают самое активное участие в метаболических процессах, синтезе витаминов, обладают антагонистическими свойствами по отношению к патогенным бактериям [11]. Научными исследованиями было показано, что индигенные штаммы энтерококков здоровых людей лишены признаков патогенности [87], не вызывают воспалительные процессы и, напротив, обладают пробиотическими свойствами [49].

Для педиатра логично назначить младенцу такие штаммы микроорганизмов, которые выделяют из грудного молока и поверхности ареолы молочной железы кормящей матери. Как показали исследования последних лет, лактофлора грудного молока и микрофлора кишечника грудного ребенка содержат штаммы *L. gasseri*, *L. rhamnosus* и *E. faecium* [21], что позволяет предполагать перспективность использования в педиатрической практике пробиотических штаммов *E. faecium* с лечебной и профилактической целью [26, 143].

В настоящее время пробиотический штамм энтерококка препарата Линекс разрешен для применения у новорожденных детей [42]. Тем не менее, работами Ермоленко Е.И. с соавторами было доказано, что антагонистическая активность энтерококка препарата Линекс уступает отечественному пробиотическому штамму *E. faecium* L3. В геноме штамма L3 обнаружены гены 5 бактериоцинов. В штамме из препарата Линекс бактериоцины не описаны [117]. Доказано также, что пробиотический штамм *E. faecium* L3 обладает противовирусной активностью, чего не установлено в отношении штамма энтерококка препарата Линекс [81]. Показан механизм регуляции экспрессии антимикробных пептидов феромонами у пробиотического штамма *E. faecium* L3 и не установлено последнего у штамма энтерококка препарата Линекс [123]. Показано, что

пробиотический штамм *E. faecium* L3 стимулирует выработку противовоспалительных цитокинов, последнего не было доказано у энтерококка препарата Линекс [163]. Геномы пробиотического штамма *E. faecium* L3 и штамма энтерококка препарата Линекс были сравнены, в результате было абсолютно достоверно показано, что эти штаммы отличаются как по размеру генома, так и по его организации, что тоже говорит об уникальности и преимуществе штамма *E. faecium* L3.

Положительное влияние на систему пищеварения для пробиотического штамма *E. faecium* L3 было убедительно показано, в том числе в экспериментальных исследованиях на животных [123].

Таким образом, расширение спектра пробиотиков, используемых для обогащения детского питания [53], за счет пробиотических штаммов энтерококков является перспективным.

1.6. Пробиотические штаммы энтерококков как средства терапии и профилактики заболеваний кишечника у детей

Идея преобразования микрофлоры человеческого организма путем использования микробного антагонизма молочнокислых бактерий принадлежит корифею русской науки И.И. Мечникову. Работы И.И. Мечникова изменили прежние («коховские») представления о ведущей роли микроорганизма в инфекционном процессе и постепенно сменились представлениями об инфекции как варианте микроэкологических взаимоотношений в системе «паразит↔хозяин». Исследования отечественных ученых XX века, в том числе И.В. Давыдовского, Н.Н. Аничкова, П.Ф. Здродовского, А.М. Уголева и др., – способствовали всеобщему признанию единства макроорганизма с его нормальной микрофлорой и с внешней средой.

Исследования И.И. Мечникова положили начало выделению из молочнокислых заквасок чистых линий бактерий, вошедших в состав пробиотиков. Сегодня к пробиотикам относят продукты и препараты, создаваемые на основе полезных микроорганизмов и проявляющие свое

благоприятное действие на здоровье путем нормализации микрофлоры организма хозяина [109]. Входящие в состав пробиотиков бактерии должны сохранять жизнеспособность при прохождении ЖКТ, подавлять развитие патогенных бактерий и быть безопасными для человека [156]. В последние годы было доказано, что лучшие результаты «микробной терапии» достижимы при индивидуальном подборе применяемых штаммов или при использовании штаммов аутофлоры. Однако эти современные методики имеют определенные ограничения, поэтому в повседневной врачебной практике сохраняется необходимость использования доступных пробиотических препаратов. И хотя число их значительно, выбор оптимального пробиотика сложен [20].

В педиатрии широко используются пробиотики на основе лактобацилл и бифидобактерий. Что же известно о пробиотических свойствах энтерококков? Имеются ли доказательства безопасного их использования в педиатрической практике?

Род *Enterococcus* принадлежит к молочнокислым бактериям, выделяемым из кишечника человека. Ранее энтерококки относили к стрептококкам группы D. В самостоятельный род они выделены в 1984 году после геномного анализа и включают множество видов: *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. durans*, *E. gallinarum*, *E. raffinosus*, *E. hirae*, *E. malodoratus*, *E. mundtii*. Установлена обособленность трех видов энтерококков: *E. faecium*, *E. faecalis* и *E. durans* [73; 128]. Клеточная стенка клинически значимых видов энтерококков содержит групповой антиген 2, который реагирует с антисывороткой стрептококков серогруппы D по Ленсфилд. Энтерококки выделяют из испражнений детей с первых дней их жизни. Эти микроорганизмы участвуют в формировании колонизационной резистентности слизистой оболочки кишечника [8]. У младенцев, находящихся на грудном вскармливании, количество энтерококков в фекалиях составляет 10^6 – 10^7 КОЕ/г; при искусственном вскармливании детей раннего возраста – 10^8 – 10^9 КОЕ/г; у старших детей уровень энтерококков в фекалиях достигает 10^7 – 10^8 КОЕ/г [11].

Энтерококки относятся к молочнокислым микроорганизмам (*lactic acid bacteria*), так как осуществляют метаболизм бродильного типа и ферментируют углеводы с образованием молочной кислоты, но не газа, снижая pH среды. Энтерококки – факультативные анаэробы, могут сохранять жизнеспособность в тонкой кишке. Поверхность колонии энтерококков на плотной питательной среде имеет вид компактно расположенных клеток овальной формы. Энтерококки – грамположительные кокки, в мазках из бульонной культуры имеют вид скоплений или цепочек. Характерен полиморфизм, что проявляется образованием круглых или вытянутых клеток разных размеров. Энтерококки широко распространены в природе (в почве, в воде, на растениях), их выделяют у птиц, насекомых, животных. Обладают природной устойчивостью к β -лактамным антибиотикам и аминогликозидам [69].

Стартовые культуры (закваски) *E. faecium*, *E. faecalis* издревле широко используют для приготовления пищевых продуктов из мяса, молока, овощей; поэтому они могут быть использованы для создания пробиотиков [101, 154]. Содержание в небольших количествах энтерококков в колбасах, сырах, мясном фарше не позволяет размножаться в пищевых продуктах стафилококкам, листериям, кишечным палочкам и др. Основным фактором антагонистической активности энтерококков является их способность продуцировать антимикробные пептиды – энтероцины [31].

Получены положительные результаты использования индигенных штаммов энтерококков в качестве аутопробиотиков для человека [117]. Российские исследователи на основании найденных отличий в физиологических свойствах и структуре рибосомной РНК предлагают выделить пробиотические и пищевые энтерококки в новый вид микроорганизмов – *Enterococcus lactis* [13]. Примеры пробиотиков на основе энтерококков приведены в таблице 1.

В отличие от большинства молочнокислых бактерий, род *Enterococcus* помимо пробиотических штаммов включает штаммы, способные вызывать инфекционные процессы. Патогенные энтерококки могут вызывать сепсис, пневмонию, нефрит, остеомиелит, эндокардит у тяжелых хронических больных с

грубыми нарушениями кишечной микрофлоры – пациентов онкологического профиля, больных СПИДом, больных с хронической почечной недостаточностью [158].

Клинические изоляты энтерококков обладают естественной или приобретенной устойчивостью ко многим антибиотикам; имеют гены адгезии и инвазии – *esp*, *asaI*, *efaA*; цитолизин – *cylA*, *cylM*; желатиназы – *gelE*; сериновой протеазы – *sprE*; феромона – *fsrB* [116].

Таблица 1.1

Пробиотические штаммы энтерококков, используемые в медицинской практике

Пробиотические средства, содержащие пробиотические штаммы энтерококков	Штаммовый состав пробиотических средств на основе энтерококков
Линекс	<i>B. infantis</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>E. faecium</i> M74
Бифиформ	<i>B. longum</i> , <i>E. faecium</i> SF-68
Ламинолакт	<i>E. faecium</i> L3
Bio-three (Тоа, Japan)	<i>Bacillus mesentericus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>Clostridium butyricum</i>
SymbioPharm Herborn (Germany)	<i>E. faecalis</i>
Bioflorin (Sanofi-aventis, Switzerland)	<i>E. faecium</i> SF-68

В последнее время для генетического анализа энтерококков штаммы также оценивают на наличие гена *ast*, ответственного за синтез белка, связывающего коллаген и генов фимбриальных белков *pilA* и *pilB*. Большинство генов патогенности обнаруживают только у *E. faecalis* в пределах «островов патогенности» [7, 144].

Вопрос безопасности пробиотиков на основе энтерококков остается практически важным. Этот вопрос решается следующим образом: для разграничения потенциально опасных и полезных штаммов энтерококков необходим анализ генетического профиля [138]; дополнительным критерием при оценке штаммов энтерококков является наличие устойчивости к клинически значимым антибиотикам, в первую очередь – к ванкомицину, являющемуся антибиотиком резерва при энтерококковой инфекции. Надо отметить, что

резистентность пробиотических штаммов энтерококков к антибиотикам дает возможность использования их вместе с этиотропными антибиотиками при лечении [75]. Исследования на волонтерах не выявили ни одного случая приобретения признака устойчивости к ванкомицину на фоне приема молочного продукта, содержащего штамм *E. faecium* SF68 [122].

Подтверждениями безопасности пробиотических штаммов энтерококков являются результаты многих других исследований. Штаммы индигенных энтерококков вида *faecium* обычно не содержат генов цитолизина при частом обнаружении генов адгезии [13]. При этом важно понимать условность отнесения факторов адгезии к детерминантам вирулентности. Бактерии, колонизирующие кишечник, формируют естественные биопленки, поэтому для прикрепления к эпителию и нормальной колонизации инструмент адгезии просто необходим индигенным штаммам. Штаммы стартовых культур пробиотиков на основе энтерококков свободны от генов патогенности, за исключением гена *gelE* и некоторых адгезинов [158]. Энтерококки, входящие в состав пробиотиков, не адаптированы к длительной персистенции в человеческом организме, поэтому в молочнокислых энтерококках – пробиотических, адгезины практически не обнаруживаются [100].

Молекулярно-генетический анализ клинических изолятов энтерококков от пациентов, принимавших пробиотический препарат Линекс, с целью установления возможности этиологической роли штамма *E. faecium* LX препарата Линекс, показали, что энтерококки, выделенные от больных, не были родственны энтерококкам пробиотического препарата Линекс. Кроме того, энтерококки пробиотиков Линекс, Бифиформ и Ламинолакт (созданный на основе отечественного пробиотического штамма *E. faecium* L3) не содержали генов патогенности *esp*, *asal*, *efaA*, *cylA*, *cylM*, *gelE*, *sprE* и *fsrB* [21].

Препарат Линекс, в состав которого помимо пробиотического штамма *E. faecium* LX, входит *L. acidophilus* и *B. infantis*, в течение многих лет с успехом используется в лечении инфекционных поражений ЖКТ у детей [99]. Эффективность пробиотика Линекс была продемонстрирована в слепом плацебо

контролируемом исследовании с участием детей в возрасте до 7 лет с различными формами ОКИ и вторичного антибиотик-ассоциированного дисбактериоза кишечника: «отличный» и «хороший» эффект лечения наблюдали у 84,4% пациентов [29]. В другом исследовании у детей в возрасте от 6 мес. до 5 лет также было показано, что одновременный прием Линекса с антибиотиками пенициллинового и цефалоспоринового ряда позволяет эффективно предотвращать или уменьшать клинические проявления антибиотик-ассоциированного дисбактериоза кишечника [4].

Становление кишечной микробиоты у недоношенных новорожденных детей происходит на фоне низкой зрелости органов и тканей, низкой иммунологической реактивности, несовершенной моторной и ферментативной деятельности ЖКТ, а также в условиях воздействия госпитальной среды. В этой связи интересны данные об эффективности использования Линекса у недоношенных детей с дисфункцией пищеварительной системы [26]. У 50 новорожденных гестационного возраста от 26 до 33 недель и массой тела при рождении от 835 до 2020 г с признаками дисфункции ЖКТ с лечебной целью использовали препарат Линекс по 1 капсуле 2 раза в день в течение 20 дней. В результате проведенного лечения у 94% детей была отмечена положительная динамика клинических проявлений дисфункции ЖКТ, у 86% – положительная динамика копрограммы, у 74% – положительные изменения кишечной микрофлоры: нарастание титров бифидобактерий у 64%, лактобацилл у 86%, нормальной кишечной палочки у 74%.

Препарат Бифиформ, содержащий пробиотические штаммы *E. faecium* SF-68 и *B. longum*, широко известен населению, благодаря своему выраженному клиническому действию при острых и хронических заболеваниях ЖКТ. Преимущество Бифиформа по сравнению с Ациполом, представляющим собой смесь живых ацидофильных лактобацилл и инактивированных кефирных грибков, было установлено в исследовании, посвященном оценке эффективности терапии ОКИ ротавирусной этиологии у 40 детей в возрасте от 2 до 5 лет [83]. Основная группа пациентов (n=20) получала лечение, включающее Бифиформ;

группа сравнения (n=20) получала лечение, включающее Аципол. Достоверные положительные результаты лечения в основной группе больных детей сопровождались значительным приростом общего количества энтерококков ($p<0,05$), нарастанием частоты встречаемости *E. faecium* ($p<0,05$), достоверным ростом количества лактобацилл и снижением дефицита кишечной палочки в просветной микрофлоре кишечника. Анализ состава микрофлоры кишечника после лечения наблюдаемых больных обеих групп выявил достоверную положительную корреляцию между уровнем клостридий, общим количеством энтерококков ($r=0,59$) и *E. faecium* ($r=0,60$).

Сравнение эффективности пяти схем терапии острой диареи в центрах амбулаторной помощи с использованием пробиотиков было проведено у 571 ребенка в возрасте от 3 до 36 мес. [149]. Пациенты были рандомизированы на 6 групп в зависимости от схем терапии: 1-я группа (контрольная) получала оральную регидратацию (ОР); 2-я группа – получала ОР и *L. rhamnosus* GG; 3-я группа – ОР и *Saccharomyces boulardii*; 4-я группа – ОР и *Bacillus clausii*; 5-я группа получала ОР и смесь штаммов *L. delbrueckii*, *L. bulgaricus*, *Str. thermophilus*, *L. acidophilus*, *B. bifidum*; 6-я группа – ОР и *E. faecium* SF-68. Оценивали ранние и отсроченные исходы лечения (через 12 мес.). Оказалось, что длительность диареи была значительно короче ($P<0,001$) у детей, получавших *L. rhamnosus* GG (78,5 час.) и смесь 4-х пробиотиков (70,0 час.), чем у детей контрольной группы (115,0 час.). Ранние исходы лечения в других группах больных не отличались от контроля. Отсроченные исходы терапии были одинаковыми во всех группах больных. Данное исследование не позволило установить превосходства схемы лечения острой диареи у детей с использованием *E. faecium* SF-68.

Сравнение результатов лечения ОКИ у 146 детей раннего возраста с применением высоких доз пробиотиков: Бифидумбактерина-форте или Бифиформа выявило преимущества последнего [38]. Тяжелая форма ОКИ имела место у 30,1% больных; среднетяжелая форма – у 63%. Дети до 1 года составили 45,2%. Высокие дозы Бифидумбактерина-форте получали 56 детей (1-я группа);

высокие дозы Бифиформа (2 капсулы 4 раза в день) получали 46 больных (2-я группа); 3-я группа пациентов (n=44) получала традиционную терапию без пробиотиков. Лечение ОКИ на фоне пробиотиков в 1-й группе детей позволило получить «отличные» результаты у 57,1%; «хорошие» – у 41,1%; «удовлетворительные» результаты – у 1,8%. В то же время во 2-й группе «отличные» результаты были достигнуты у 80,4% больных; «хорошие» – у 19,6%; «удовлетворительных» – не было. В 3-й группе пациентов saniрующий эффект удалось получить у 68,9% больных, восстановление микрофлоры кишечника – только у 20%.

Зарубежными исследователями показана эффективность пробиотика Bio-three, в состав которого входит штамм *E. faecalis*, в лечении острой инфекционной диареи у детей [146]. Авторы наблюдали 304 ребенка в возрасте от 3 мес. до 6 лет, госпитализированных по поводу острой диареи. Пациенты были рандомизированы по использованию в терапии Bio-three, созданного на основе *Bacillus mesentericus*, *E. faecalis*, *Clostridium butyricum*, или плацебо (внутри 3 раза в день в течение 7 дней). Результаты исследования выявили влияние пробиотического препарата на сокращение длительности диареи (60,1 час. в основной группе против 86,3 час. в контрольной группе; $P=0,003$). В основной группе больных детей было отмечено достоверное сокращение длительности стационарного лечения ($P=0,009$). В группе детей, получавших Bio-three, по данным бактериологического анализа было отмечено значительное повышение содержания *Bifidobacteria* и *Lactobacillus species* в фекалиях. Пробиотик Bio-three способствовал повышению иммунитета у детей с острой диареей, что выразилось в снижении провоспалительных цитокинов (TNF- α) и повышении противовоспалительных цитокинов в крови (IL10, γ -интерферона, IL12).

Лечение синдрома раздраженного кишечника (СРК) у детей остается актуальной и трудной задачей. Установлена эффективность использования пробиотического препарата SymbioPharmHerborn, содержащего аутолизат клеток и клеточные фрагменты *E. faecalis* и *E. coli*, в лечении СРК у детей [130]. Наблюдали 203 пациента с СРК в возрасте от 4 до 18 лет. Боли в животе

отмечались у всех детей, диарея у 50, запоры 56, учащение стула у 28. Длительность симптоматики СРК до лечения больных составила 175 дней. Пациенты получали SymbioPharmHerborn в течение 43 дней. Результаты показали хорошую переносимость пробиотического препарата у всех наблюдаемых пациентов и положительный эффект терапии, выразившийся в значительном снижении частоты и тяжести ключевых симптомов СРК.

Пробиотический штамм *E. faecium* L3 известен в России под названием Ламинолакт и Бакфир уже более 15 лет [25]. Данный штамм является компонентом нормальной микрофлоры кишечника; не содержит генов патогенности, детектируемых методом ПЦР [21]; имеет выраженный антагонизм к патогенной и условно патогенной флоре [2, 100]; способен устранять дисбиотические нарушения [16]. Эффективность пробиотиков на основе *E. faecium* L3 была показана в рандомизированных клинических исследованиях, посвященных лечению СРК [61], неспецифического язвенного колита и другой патологии органов пищеварения [74]. В частности, с использованием этого штамма энтерококков впервые была доказана возможность эрадикации *H. pylori* при язвенных поражениях желудка и двенадцатиперстной кишки, а также гастритах без применения антибиотиков [59,74].

Эффективность пробиотического штамма *E. faecium* L3 показана в исследованиях по изучению эффективности комплексной реабилитации детей, оставшихся без попечения родителей и страдающих белково-энергетической недостаточностью, с использованием в течение 3 недель пробиотика Ламинолакт «Черничка», созданного на основе штамма *E. faecium* L3. Авторы изучали динамику функционирования жизненно важных систем организма (центральной нервной системы, сердечно-сосудистой, пищеварительной) на фоне проводимых реабилитационных мероприятий. В группе детей, получавших Ламинолакт, было отмечено улучшение аппетита и общего самочувствия, исчезновение диспептических явлений, отчетливая прибавка массы тела, нормализация кишечной микробиоты. В данном исследовании была установлена безопасность

применения Ламинолакта у детей с белково-энергетической недостаточностью [40].

Таким образом, пробиотические энтерококки отличаются безопасностью; штаммы *E. faecium* LX и *E. faecium* SF-68 занимают прочное место в арсенале педиатров, детских инфекционистов и детских гастроэнтерологов, широко используются для коррекции дисбактериоза кишечника различного происхождения, для лечения и профилактики острых кишечных инфекций, а также в комплексной терапии хронических заболеваний органов пищеварения. Многочисленные исследования позволяют предполагать перспективность использования в педиатрической практике отечественного пробиотического штамма *E. faecium* L3 с лечебной и профилактической целью.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Материалы исследования

Выборку новорожденных больных, вошедших в исследование, формировали в период с 2011 по 2012 гг. во время наблюдения и лечения их в условиях специализированного отделения патологии новорожденных детей Детской городской больницы №1 Санкт-Петербурга (главный врач – д.м.н. проф. А.В. Каган). Все пациенты поступали из родильных домов Санкт-Петербурга и из отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных детей Детской городской больницы №1. В состав выборки вошло 94 новорожденных пациента, которые образовали 2 группы: группа 1 – доношенные новорожденные дети (n=39) и группа 2 – недоношенные новорожденные дети с очень низкой массой тела (n=55). Каждая группа – доношенные и недоношенные дети – были рандомизированы в свою очередь на опытную и контрольную группы. Контрольные группы детей получали стандартную терапию. Опытные группы в дополнение к стандартной терапии получали пробиотический штамм *E. faecium* L3. Распределение детей в опытную и контрольную группы производилось случайным образом.

Доношенные новорожденные дети поступали в стационар с целью углубленного обследования и проведения терапии по поводу заболеваний периода новорожденности.

Критерии включения доношенных пациентов в исследование:

- гестационный возраст 38-41 нед.;
- масса тела при рождении более 2500 г;
- соответствие массы тела при рождении гестационному возрасту.

Критерии исключения доношенных пациентов из исследования:

- грубые врожденные пороки развития (в том числе пороки развития желудочно-кишечного тракта), требующие хирургической коррекции в раннем неонатальном периоде;

- тяжелые формы перинатальной патологии ЦНС, в том числе родовые травмы, сопровождающиеся кровоизлияниями в головной мозг, крупными инфарктами головного мозга.

Недоношенные новорожденные дети с очень низкой массой тела гестационного возраста 28-34 недели поступали в отделение патологии новорожденных детей для продолжения второго этапа выхаживания в условиях стационара.

Критерии включения для недоношенных пациентов:

- очень низкая масса тела при рождении (1000 – 1500 г);
- гестационный возраст при рождении – от 28 до 34 недель;
- возраст жизни при поступлении в специализированное отделение патологии новорожденных детей – от 3 до 21 дней жизни.

Критерии исключения для недоношенных пациентов:

- грубые врожденные пороки развития (в том числе пороки развития желудочно-кишечного тракта), требующие хирургической коррекции в неонатальном периоде;
- тяжелые формы перинатальной патологии ЦНС (внутрижелудочковые кровоизлияния III степени, внутримозговые кровоизлияния, прогрессирующая гидроцефалия);
- длительность искусственной вентиляции легких в отделении реанимации и интенсивной терапии более 10 дней.

2.2. Методы исследования

2.2.1. Особенности сбора анамнеза

При сборе анамнеза наблюдаемых пациентов особое внимание обращали на неблагоприятные факторы антенатального и интранатального периода развития детей – методом опроса и тщательного изучения медицинских документов выявляли наличие у матери осложненного акушерско-гинекологического анамнеза (ОАГА), хронической интоксикации, хронической соматической патологии; течение беременности с осложнениями и угрозой

прерывания, лечение антибактериальными препаратами. К ОАГА матери относили искусственно прерванные беременности, самопроизвольные выкидыши, длительное бесплодие, хроническую урогенитальную инфекцию, операции на органах малого таза. Из хронической соматической патологии выделяли хронический пиелонефрит и цистит, хронический ларингит и другие хронические заболевания ЛОР-органов, гипертоническую болезнь, сахарный диабет. Хронический пиелонефрит и цистит – инфекции урогенитального тракта, которые могут быть причиной внутриутробного инфицирования плода. При известном этиологическом факторе хронической урогенитальной инфекции у матери, антибактериальную терапию, используемую в программе выхаживания недоношенных новорожденных детей, начинали с учетом этого фактора. Хронический ларингит и другие хронические заболевания ЛОР-органов у матери являются факторами риска развития ВУИ, чаще всего стрептококковой этиологии. Под хронической интоксикацией понимали табакокурение, наркоманию, постоянный прием лекарственных препаратов. Последний сопутствовал таким заболеваниям у матерей пациентов, как сахарный диабет (прием инсулина), артериальная гипертензия (прием гипотензивных препаратов), аутоиммунный тиреоидит (прием L-тироксина). Отмечали особенности течения родов (кесарево сечение, быстрые роды, преждевременное излитие околоплодных вод) и послеродовые осложнения. Родоразрешение методом кесарева сечения является фактором, предрасполагающим к деформации естественного процесса микробной колонизации кишечного тракта новорожденного ребенка. Преждевременное излитие околоплодных вод и длительный безводный период являются факторами риска реализации ВАИ. Быстрые и стремительные роды являются факторами риска развития родовой травмы. В связи со среднетяжелым и тяжелым состоянием ребенка после таких родов на определенное время откладывается первое прикладывание младенца к груди и его первый контакт с мамой, что, наряду с другими причинами, способствует нарушению физиологического процесса формирования микробиоценоза. Оценивали характер вскармливания до поступления в отделение; динамику весо-ростовых

показателей; отмечали перенесенные заболевания; наличие выявленной патологии различных органов и систем.

2.2.2. Клинические методы и традиционные лабораторные методы исследования

В процессе наблюдения доношенных новорожденных детей в стационаре проводили ежедневное тщательное объективное исследование по системам. Оценивали динамику антропометрических показателей: прибавку массы тела, длины тела, окружности головы и грудной клетки.

Учитывая, что до поступления в стационар абсолютное большинство доношенных новорожденных детей получали антибактериальную терапию, а в период стационарного лечения более половины детей продолжали лечение антибиотиками, не исключали возможность развития дисбактериоза кишечника. Поэтому в динамике наблюдения отмечали появление признаков функциональных нарушений ЖКТ: фиксировали срыгивания, их характер, частоту и объем; изменение консистенции стула и появление патологических примесей в нем, вздутие живота, отказ от еды.

В процессе наблюдения недоношенных детей выявляли признаки желтушности кожных покровов; отмечали наличие гипотрофии; исследовали состояние сердечно-сосудистой и дыхательной систем; оценивали размеры печени и селезенки; изучали характер испражнений, наличие патологических примесей. Используя принцип максимально раннего энтерального питания, при наличии грудного молока у матери, а также при отсутствии у матери острых и не санированных хронических очагов инфекции назначали минимальное трофическое питание недоношенного ребенка материнским молоком [78]. При отсутствии возможности кормить ребенка материнским молоком применяли специальные питательные формулы (смеси) с низкой осмолярностью и высоким калоражем. В динамике наблюдения за недоношенными пациентами выявляли появление признаков пищевой непереносимости: вздутия живота, обильных срыгиваний, наличие остаточного объема в желудке и патологических примесей в нем, задержку стула. При обнаружении данных признаков, энтеральное питание

прекращали и переводили ребенка на полное парентеральное питание. Энтеральное питание возобновляли с минимальных объемов при отсутствии вздутия живота и патологического отделяемого из желудка, восстановлении пассажа по кишечнику.

Всем наблюдаемым новорожденным пациентам 1 раз в 10 дней (или чаще, при наличии клинических показаний) проводили следующие общепринятые методы исследования: клинический анализ крови; общий анализ мочи; развернутая копрограмма по И.А. Алексееву-Беркману (1954); биохимическое исследование крови на основе стандартных методик с определением уровня общего белка, билирубина, трансаминаз (АлАТ и АсАТ), глюкозы, С-реактивного белка; у недоношенных пациентов дополнительно к указанным методам проводили исследование кислотно-основного состояния крови и состава электролитов.

Верификацию малых форм гнойной инфекции осуществляли путем бактериологического посева материала из гнойных очагов (кожа, пупочная ранка, конъюнктивы глаза).

При наличии показаний наблюдаемых доношенных и недоношенных новорожденных пациентов консультировали у хирурга, невропатолога, офтальмолога и других специалистов.

2.2.3. Методы исследования состава кишечной микробиоты

Микрофлору кишечника изучали методами бактериологического исследования фекалий и ПЦР в реальном времени. У *доношенных детей* забор кала для исследования проводили двукратно: при поступлении и через 10 дней лечения (точки исследований 1 и 2). У *недоношенных детей* забор кала проводили трехкратно: при поступлении в отделение, затем двукратно с интервалом 14 дней (точки исследований 1, 2, 3). В основной группе исследование 2 проводили после завершения использования в комплексной терапии пробиотического штамма *E. faecium* L3.

2.2.3.1. Расширенное бактериологическое исследование состава фекальной микрофлоры

Расширенное бактериологическое исследование состава фекальной микрофлоры наблюдаемых новорожденных детей с оценкой количества анаэробных и аэробных микроорганизмов проводили в лаборатории «Explana» (рук. лаборатории – Суворова М.А.) с учетом рекомендаций Красноголовец В.М. (1989) и в соответствии с ОСТ «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» [58]. Бактериологический посев фекалий на дисбактериоз позволял оценить состав и количество представителей индигенной микрофлоры кишечника и условно-патогенных микроорганизмов.

2.2.3.2. Исследование чувствительности этиологически значимых клинических штаммов к антибиотикам и бактериофагам

Чувствительность к антибиотикам этиологически значимых клинических штаммов (выделяемых в титре 10^3 КОЕ/г и более) исследовали на агаре Мюллер-Хинтон диско-диффузионным методом с использованием стандартных дисков. При оценке результатов использовали критерии NCCLS (США, 1998) и МАКМАХ (Россия, 1999). Выделенные этиологически значимые клинические штаммы относили к одной из категорий: «чувствительные» (S), «умеренно чувствительные» (I) и «резистентные» (R). Были тестированы 6 антибактериальных препаратов, используемых в клинической практике: амоксиклав, ампициллин/сульбактам, цефтазидим, норфлоксацин, ципрофлоксацин, тетрациклин.

Исследовали чувствительность клинических значимых штаммов УПМ к шести бактериофагам: 1) поливалентному клебсиеллезному, 2) интести-бактериофагу (г. Н. Новгород), 3) колипротейному (г. Н. Новгород), 4) пиобактериофагу (г. Н. Новгород), 5) пиополибактериофагу (г. Уфа), 6) секста-бактериофагу (г. Пермь). Литическую активность тестируемых бактериофагов оценивали стандартным методом; выделяя выраженную, умеренную, низкую

чувствительность этиологически значимых клинических штаммов к бактериофагу и ее отсутствие.

2.2.3.3. Молекулярно-генетические методы исследования микробиоценоза кишечника

Состояние микробиоценоза кишечника параллельно с бактериологическим методом оценивали методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) с флуоресцентной детекцией результатов. Для этого определяли количественное соотношение ДНК представителей облигатной и условно-патогенной микробиоты в фекальных образцах наблюдаемых пациентов, используя набор реагентов «КОЛОНОФЛОР» (производитель ООО «АльфаЛаб», Санкт-Петербург, ТУ-9398-001-53300432-2013), включающий смесь для ПЦР-амплификации, специфичную для всех бактерий (общая бактериальная масса); смеси для амплификации, специфичные для каждого выявляемого вида (или группы) бактерий, а также положительный контрольный образец (ПКО) и отрицательный контрольный образец (ОКО).

Выявление количественного состава микробной флоры в исследуемых образцах состояло из 2ух этапов: 1) экстракции ДНК; 2) амплификации специфических участков ДНК методом ПЦР с одновременной гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени.

Для проведения реакции амплификации в штатив помещали необходимое количество стрипов со смесями для амплификации всех специфичностей. Вносили в каждую пробирку 3 мкл раствора полимеразы. В одну из пробирок каждой специфичности вносили 2 мкл ОКО, в одну из пробирок 2 мкл соответствующего ПКО, в остальные пробирки – 2 мкл анализируемых образцов (разведения Стандартного образца предприятия). Закрывали крышки пробирок, помещали подготовленные пробирки в амплификатор, запускали программу амплификации. По окончании времени амплификации выбирали в меню прибора режим «обработка данных» (в соответствии с Инструкцией по применению набора). Отчет об исследовании, включающий данные о величине индикаторного

цикла для каждого анализируемого вида микроорганизмов и рассчитанном на основе индикаторного цикла количестве микроорганизмов формировался автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого производителем набора.

Для каждого образца автоматически формировалось заключение, отражающее следующие показатели:

- количественное соотношение отдельных видов (групп) микроорганизмов;
- качественный и количественный состав условно-патогенной флоры (если выявлено);
- наличие (отсутствие) дисбиотических сдвигов.

Для оценки достоверности результатов теста выбирали в меню прибора режим «выдача заключения». Программное обеспечение сравнивало полученные показатели для ПКО, и ОКО с заданными. При получении значений порогового цикла, превышающих предельно допустимые для ПКО, результаты постановочной серии считали недостоверными.

При получении значений порогового цикла, ниже предельно допустимого для ОКО, результаты постановочной серии считали недостоверными.

Реакцию амплификации проводили в термоциклере «MiniOpticon» (Bio-Rad, США) с использованием Taq ДНК-полимеразы (ООО «Силекс», Москва). Условия амплификации: денатурация при 94 градусах в течение 5 минут, далее проводили 40 циклов при следующих условиях: 94 градуса – 3 секунды, 58 градусов – 6 секунд, 72 градуса – 10 секунд. Последовательности специфических олигонуклеотидов и меченых олигонуклеотидных зондов Taqman приведены в таблице 2.1. Синтез немеченых и флуоресцентно-меченых олигонуклеотидов выполнен фирмой «Бигль» (Санкт-Петербург). Набор выявлял 11 показателей, включая 10 микроорганизмов и общее бактериальное число.

Суть использованного метода заключается в том, что в присутствии фермента Taq-полимеразы происходит гибридизация олигонуклеотидов и зонда с комплементарным участком ДНК-мишени. Образование специфического продукта амплификации сопровождается отщеплением флуоресцентной метки

(благодаря наличию у Taq-полимеразы 5'-экзонуклеазной активности) и появлению детектируемого флуоресцентного сигнала, регистрация которого проводится в режиме реального времени. Интенсивность флуоресценции прямо пропорциональна количеству специфических продуктов амплификации и, следовательно, нарастает с каждым последующим циклом. Количество выявляемых ДНК микроорганизмов рассчитывали на основе значений порогового цикла C_t по методу $2^{\Delta C_t}$.

Таблица 2.1

Последовательности специфических олигонуклеотидов микроорганизмов, выделяемых из образцов фекалий наблюдаемых детей

Выделяемые микроорганизмы	Последовательности олигонуклеотидов 5' – 3'
<i>Lactobacillus spp.</i>	TCGGCTATCACTTCTGGATGGA
<i>Bifidobacterium spp.</i>	GCGTGCTTAACACATGCAAGTC
<i>Escherichia coli</i>	CATGCCGCGTGTATGAAGAA
<i>Clostridium difficile</i>	TTGAGCGATTTACTTCGGTAAAGA
<i>Bacteroides fragilis group</i>	CGGAGGATCCGAGCGTTA
<i>Bacteroides thetaomicron</i>	ATCAGTGCCTTGTGTATGCTGGTG
<i>Faecalibacterium prauznitcii</i>	CCATGAATTGCCTTCAAAACTGTT
<i>Enterococcus spp.</i>	ATCAGAGGGGGATAACACTT
<i>Proteus spp.</i>	GTGAAGGCGATCGTACCACTCCT
<i>Klebsiella pneumonia</i>	AATAACACCGAGCAGGAGGTT
Total count	TCCTACGGGAGGCAGCAGT

2.2.4. Методы терапии доношенных и недоношенных пациентов

Доношенные дети группы контроля получали терапию основного заболевания: нейротрофическую, дегидратационную, физиотерапию, фототерапию и др., – в зависимости от основного диагноза. Дети основной группы получали терапию основного заболевания, а также дополнительно получали пробиотический штамм *E. faecium* L3 в жидкой форме по 1,0 мл 2 раза в день в течение 10 дней. Данная пробиотическая форма *E. faecium* L3 получена путем сквашивания заменителя грудного молока Нутрилон-соя (производитель

Истра-Нутриция) чистой культурой *E. faecium* L3, в 1 мл ее содержится не менее 10^8 КОЕ живых энтерококков. Регистрационный номер технологии № RU. 77.99.26.009.E.002272.02.11, производитель ООО «Авена», Россия. Пробиотический штамм в жидкой форме добавляли в бутылочку со смесью или грудным молоком, или вводили непосредственно в желудочный зонд при зондовом питании.

Недоношенные дети обеих групп находились на стандартной схеме выхаживания недоношенных детей, включающей в себя адекватную респираторную терапию с использованием заменителя сурфактанта на первом этапе, транспортировку с сохранением теплового режима, инфузионную терапию, антибактериальную терапию, полное или частичное парентеральное питание [52, 55].

Стартовая антибактериальная терапия, как правило, начиналась на этапе роддома и содержала 2 группы препаратов: пенициллины (ампициллин 100-150-200 мг/кг/сут внутривенно) с аминогликозидами (нетромицин, гентамицин 4-5 мг/кг/сут внутривенно). Смена антибактериальной терапии проводилась, обычно через 10-14 дней или при нарастании воспалительных изменений в анализе крови. Вторым стандартным курсом антибактериальной терапии являлись цефалоспорины (клафоран, фортум 50 мг/кг/сут внутривенно) в сочетании с аминогликозидами (амикацин 10-15 мг/кг/сут внутривенно). При стойких или нарастающих воспалительных изменениях в анализе крови антибактериальную терапию продолжали препаратами карбапенемов (меронем 30-40 мг/кг/сут внутривенно капельно) и гликопептидов (ванкомицин 20-30 мг/кг/сут внутривенно капельно). По показаниям, а именно, при наличии данных анамнеза, указывающих на вирусное внутриутробное инфицирование, назначали противовирусные препараты (ацикловир 10-30 до 60 мг/кг/сут, цимевен 10 мг/кг/сут; нецитотект 1 мл/кг внутривенно капельно №3). Противогрибковую терапию проводили дифлюканом (6 мг/кг/сут).

При наличии у наблюдаемых пациентов «инфекционного» анамнеза, ярких воспалительных изменений в анализе крови и высоких показателях

биохимических маркеров воспаления (С-реактивный белок, прокальцитонин тест), назначали препараты человеческого иммуноглобулина (пентаглобин 3 мл/кг внутривенно капельно №3).

В случаях развития синдрома апноэ назначали кофеин внутривенно и внутримышечно по 0,5 мл, эуфиллин внутривенно капельно 2,4 мг/кг, ингаляционную терапию (беродуал, пульмикорт через небулайзер).

Сопутствующая терапия включала в себя нейротрофики (глиатилин 0,3 мл 2 раза в сутки внутривенно или внутримышечно №10; церебролизин 0,5 мл 1 раз в сутки; актовегин 0,5 мл 1 раз в сутки внутривенно или внутримышечно №10); диуретики (лазикс, верошпирон); витамины группы В внутривенно или внутримышечно №10.

Инфузионную терапию проводили в соответствии с рекомендациями протоколов ведения недоношенных детей с ОНМТ [64]. Среднесуточная жидкостная нагрузка в 1-2 день жизни составляла 60-80-100мл/кг, далее 120-130-150 мл/кг/сут. Нагрузку глюкозой рассчитывали, исходя из потребности 8 мг/кг/мин для детей младше 2х суток жизни; 10-12 мг/кг/мин для детей старше 3х суток жизни. Использовали глюкозо-солевые растворы, приготовленные в аптеке стационара.

Парентеральное питание проводили аминокислотными растворами (аминовен-инфант 10%, расчет белка исходя из потребности 2,5 г/кг/сут) и жировыми эмульсиями (интралипид 20%, расчет объема исходя из потребности в липидах 0,5-1,0-2,5 г/кг/сут). Жировые эмульсии, как правило, отменяли, как только становилось возможным минимальное энтеральное питание, из-за опасности развития инфекционных осложнений. Калораж парентерального и энтерального питания рассчитывали ежедневно в соответствии с рекомендуемыми нормами [64, 65]. Калорийность питания увеличивали постепенно: с 60 ккал/кг/сут до 120-130 ккал/кг/сут. Соответственно увеличению калоража и объема энтерального питания, постепенно снижали объем инфузионной терапии.

В условиях специализированного отделения стационара недоношенные дети с ОНМТ находились в кувезах с поддержанием постоянной температуры и влажности окружающей среды ($t=32-34\text{ C}^{\circ}$, $h=50-60-70\%$). При достижении массы тела 1500 г, ребенка выкладывали на открытый столик с подогревом источником лучистого тепла. Контроль температуры тела осуществляли круглосуточно нательными датчиками. Таким образом, энергозатраты, связанные с возможной потерей тепла были минимизированы.

Основная группа исследования недоношенных детей с ОНМТ при достижении удерживаемого объема энтерального питания 5,0 мл получала дополнительно пробиотический штамм *E. faecium* L3 в жидкой форме по 0,5 мл 3 раза в день в течение 14 дней. Пробиотический штамм в жидкой форме вводили непосредственно в желудочный зонд перед кормлением. Нагрузка энтерального питания в сутки составляла 1,0 мл в кормление. Таким образом, при 8-разовом питании, ежедневно объем питания увеличивали на 8,0 мл (при хорошей его переносимости). По мере постепенного увеличения объема энтерального питания проводили тщательное круглосуточное наблюдение за ребенком: непрерывное наблюдение медсестрой, оценку соматического статуса врачом не реже 1 раза в 6 часов. Обращали особое внимание на явления пищевой непереносимости: появление вздутия живота, срыгивания, патологические примеси в стуле; также на беспокойство ребенка, изменение цвета кожных покровов, появление признаков дыхательной недостаточности. При развитии пищевой непереносимости энтеральное питание отменяли, ребенка переводили на полное парентеральное питание. В подобных случаях к терапии добавляли метронидазол (метрогил 7,5 мг/кг/сут внутривенно капельно). Возврат к энтеральному питанию начинали с минимальных объемов и осуществляли после купирования симптомов пищевой непереносимости.

Недоношенных пациентов считали готовыми к выписке из стационара при достижении массы тела 2000 г, наличии устойчивого сосательного рефлекса, наличии ежедневной прибавки массы тела, удовлетворительном неврологическом статусе.

2.2.5. Методы оценки эффективности терапии наблюдаемых доношенных и недоношенных новорожденных пациентов

Эффективность терапии доношенных новорожденных детей оценивали на основании отсутствия клинических признаков функциональных нарушений ЖКТ (отсутствие срыгиваний, отсутствие вздутия живота), наличия хорошего аппетита, регулярного стула без патологических примесей.

Эффективность использованных программ выхаживания детей с ОНМТ оценивали по длительности парентерального питания, частоте возникновения ситуаций пищевой непереносимости (так называемого «срыва питания»), по частоте диагностики инфекционных осложнений, по характеру изменений гематологических показателей, длительности терапии антибиотиками, длительности пребывания в стационаре, динамике состава кишечной микробиоты.

К инфекционным осложнениям относили диагностированную вирусную внутриутробную инфекцию (ВУИ) у 9 детей, внутриамниотическую инфекцию (ВАИ) у 10 детей, некротический энтероколит (НЭК) – у 2.

ВУИ диагностировали по совокупности данных антенатального анамнеза (активные инфекционные воспалительные процессы во время беременности), наличию патологических изменений плаценты, выявляемых при гистологическом исследовании; характерным клиническим проявлениям со стороны различных органов и систем, обозначая их как ВУИ с поражением легких (пневмония), ВУИ с поражением ЖКТ (выраженная кишечная диспепсия) и т.д.; воспалительным изменениям в клиническом анализе крови; повышению титров антител к возбудителям инфекций в анализе крови [66]. При этом принимали во внимание наличие экстрагенитальной патологии матерей, осложнений беременности и других признаков ОАГА.

ВАИ диагностировали при указаниях в анамнезе матери на преждевременное излитие околоплодных вод, сопровождающееся длительным безводным периодом, зловонные околоплодные воды, воспалительные изменения

плаценты, хорионамнионит у матери в родах, а также при наличии у ребенка клинической картины инфекционного процесса [91].

НЭК диагностировали в случае резкого ухудшения состояния ребенка, развития пищевой непереносимости, сопровождающихся выраженным, плохо купируемым вздутием живота, патологическими примесями в кале, нарушением показателей гемодинамики, биохимическими маркерами системной воспалительной реакции, а также наличием характерной рентгенологической картиной поражения кишечника (см. раздел 1.1.3.) [36].

2.2.6. Оценка фармакоэкономической эффективности применения пробиотического штамма *E. faecium* L3 у недоношенных детей

Для оценки фармакоэкономической эффективности метода лечения с применением пробиотического штамма *E. faecium* L3 использован фармакоэкономический анализ. Определяли среднюю стоимость выхаживания недоношенных детей в группах. Последняя включала в себя прямые медицинские затраты (ПЗ) на антибактериальную, противовирусную, противогрибковую, дезинтоксикационную и симптоматическую терапию, стоимость пробиотического штамма, стоимость лечения ИО [39]. При проведении собственно фармакоэкономического анализа определяли эффективность затрат, рассчитывая показатель эффективности затрат (CER - cost-effectiveness ratio) по формуле: $CER = ПЗ / ЭФ$ (прямые затраты при выхаживании недоношенных с ОНМТ, деленные на эффективность выхаживания), где ПЗ – средние денежные затраты в рублях на одного пациента, ЭФ – доля пациентов с положительным результатом лечения. Превышение эффективности и стоимости одной из исследуемых программ по сравнению с другой требовало проведения инкрементального анализа с вычислением показателя ICER (incremental cost-effectiveness ratio), который рассчитывали по формуле: $ICER = ПЗ \text{ метода } 1 - ПЗ \text{ метода } 2 / ЭФ \text{ метода } 1 - ЭФ \text{ метода } 2$.

Кроме того, рассчитывали показатель ЧБНЛ (число больных, которых нужно лечить, чтобы предотвратить один неблагоприятный исход в группе сравнения),

используемый при сопоставлении фармакоэкономических параметров разных видов лечения (или профилактики), данный показатель рассчитывали по формуле: ЧБНЛ=1/САР, где САР – снижение абсолютного риска, или разница между частотой (долей) «недостаточного эффекта» (неблагоприятного исхода – манифестации инфекционных осложнений) лечения в основной группе и группе сравнения.

2.2.7. Математические методы исследования

Изучаемые клинические и параклинические показатели были адаптированы для математической обработки и проанализированы с использованием простого (методы параметрической и непараметрической статистики) и многомерного статистического анализа на персональной ЭВМ Intel Celeron. В качестве практического инструмента для проведения вычислительных экспериментов применяли пакеты программ прикладного статистического анализа (“Statistica for Windows v. 7”, “Microsoft Exel 2000”). Сравнение двух групп проводили с использованием t-критерия Стьюдента, рангового U-критерия Вилкоксона и критерия Манна-Уитни. Анализ таблиц сопряженности проводили с использованием χ^2 -критерия Пирсона, Йейтса; критерия Фишера. Достоверными считали результаты с уровнем значимости $p \leq 0,05$.

КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАБЛЮДАЕМЫХ ДОНОШЕННЫХ И НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ ПАЦИЕНТОВ

3.1. Клиническая характеристика доношенных новорожденных пациентов

Доношенные пациенты были рандомизированы на две группы: группа 1 (группа сравнения, n=18) – мальчиков 11, девочек 7 получали стандартную терапию основного заболевания; группа 2 (основная группа, n=21) – мальчиков 12, девочек 9 дополнительно к стандартной терапии с профилактической целью получала жидкий пробиотик *E. faecium* L3 (с титром не менее 10^8 КОЕ/мл) по 1 мл 2 раза в день в течение 10 дней. Характеристика групп доношенных новорожденных пациентов представлена в таблице 3.1.

Таблица 3.1.

Характеристика групп доношенных новорожденных пациентов

Признаки	Основная группа (n=21)	Группа сравнения (n=18)	Уровень значимости, p
Мальчики (абс. ч./ %)	12/57,1	11/61,1	>0,05
Девочки (абс. ч./ %)	9/42,9	7/38,9	>0,05
Возраст детей на момент поступления, дн.	3,2±0,7	2,7±0,6	> 0,05
Масса тела при рождении, г	3580±130	3460±120	>0,05
Длина тела при рождении, см	52,0±0,4	51,9±0,6	>0,05

Как видно из таблицы, различие сравниваемых групп пациентов по указанным признакам было статистически недостоверно.

В период наблюдения грудное вскармливание получали 6 детей (33,3%) группы 1 и 8 детей (38,1%) группы 2; смешанное вскармливание получали 8 детей (44,4%) группы 1 и 5 детей (28,3%) группы 2 ($p>0,05$).

До поступления в отделение патологии новорожденных детей на интенсивной терапии в стационаре более 10 дней находились 3 детей (7,7%) – 2 детей (11,1%) группы 1 и 1 пациент (4,8%) группы 2; менее 10 дней на интенсивной терапии находились 20 детей (51,3%) – 8 детей (44,4%) группы 1 и

12 детей (57,1%) группы 2; не получали интенсивной терапии 16 детей (41,0%) – 8 детей (44,4%) группы 1 и 8 детей (38,1%) группы 2 ($p>0,05$).

Антибактериальную терапию до поступления в отделение патологии новорожденных детей получали 36 детей (92,3%) – 16 пациентов (88,9%) группы 1 и 20 детей (95,2%) группы 2 ($p>0,05$). Пробиотические препараты до поступления в стационар не получал ни один наблюдаемый пациент.

Таким образом, группы доношенных новорожденных пациентов по исходным характеристикам были сопоставимы между собой и значимо не отличались не только по полу, возрасту, массе и длине тела при рождении, но также по характеру вскармливания, частоте и длительности нахождения в отделении интенсивной терапии, частоте использования антибиотиков и пробиотиков до поступления в отделение патологии новорожденных детей.

3.1.1. Особенности анамнеза доношенных новорожденных детей

Осложненную беременность имели 27 (69,2%) матерей. При этом антибактериальную терапию во время беременности получали 4 (10,3%) матери. Имели хроническую интоксикацию 2 (5,1%), хроническую соматическую патологию – 16 (41%) матерей. Перенесли ОРЗ во время беременности 3 (7,7%) матери, перенесли другие инфекции – 18 (46,2%). Угрозу прерывания при беременности имели 6 (15,4%) матерей. Кесаревым сечением были рождены 11 (28,2%) доношенных детей.

Таким образом, перинатальный анамнез значительной части доношенных пациентов отличался наличием различных неблагоприятных факторов. Сравнение групп наблюдаемых доношенных новорожденных пациентов по частоте неблагоприятных факторов перинатального анамнеза представлено в таблице 3.2. Как видно из приведенных данных, различие групп доношенных новорожденных по частоте наличия неблагоприятных факторов анамнеза было недостоверным.

Частота выявления неблагоприятных факторов перинатального анамнеза у наблюдаемых групп доношенных новорожденных детей (абс. ч./%)

Неблагоприятные факторы перинатального анамнеза новорожденных детей	Основная группа (n=21)	Группа сравнения (n=18)	Статистические критерии оценки различий	Уровень значимости, p
Возраст матери старше 35 лет	3/14,3%	1/5,6%	критерий Фишера	p>0,05
Инфекционные заболевания матери в период беременности	6/28,6%	3/16,7%	критерий Фишера	p>0,05
Уреаплазмоз в период беременности	2/9,5%	3/16,7%	критерий Фишера	p>0,05
Герпетическая инфекция матери в период беременности	4/19,1%	0/0,0%	критерий Йейтса χ^2	p>0,05
ОРЗ матери в период беременности	2/9,5%	1/5,6%	критерий Фишера	p>0,05
Лечение антибиотиками матери в период беременности	0/0,0%	4/22,2%	критерий Йейтса χ^2	p>0,05
Хроническая интоксикация в период беременности	2/9,5%	0/0,0%	критерий Йейтса χ^2	p>0,05
Хроническая соматическая патология в период беременности	8/38,1%	8/44,4%	критерий Пирсона χ^2	p>0,05
Угроза прерывания беременности	4/19,1%	2/11,1%	критерий Фишера	p>0,05
Осложненные роды	13/61,9%	12/66,7%	критерий Пирсона χ^2	p>0,05
Слабость родовой деятельности	7/33,3%	6/33,3%	критерий Пирсона χ^2	p>0,05
Кесарево сечение	6/28,6%	5/27,8%	критерий Пирсона χ^2	p>0,05
Акушерские пособия в родах	6/28,6%	4/22,2%	критерий Пирсона χ^2	p>0,05
Быстрые роды	3/14,3%	0/0,0%	критерий Йейтса χ^2	p>0,05
Лечение родильницы антибиотиками	6/28,6%	7/38,9%	критерий Пирсона χ^2	p>0,05

3.1.2. Характеристика наблюдаемых доношенных детей по заболеваниям

Как уже было отмечено, выборку доношенных новорожденных пациентов формировали дети с различными заболеваниями неонатального периода, требующими стационарного лечения.

Структура заболеваний, соответствующих по основному клиническому диагнозу, у наблюдаемых доношенных детей представлена в таблице 3.3. Самую значительную часть (33,3%) представляли пациенты с асфиксией в родах (P21 по МКБ-10) и внутриутробной гипоксией (P20 по МКБ-10). Учитывая, что аспирация мекония (P24.0) также происходит на фоне гипоксии в родах (17,9%), суммарно диагнозы имели 51,2% детей. На втором месте по величине представления в структуре основных клинических диагнозов оказались пациенты с врожденными пороками развития – 15,4%. Далее следовали дети с родовой травмой (10,3%) и желтухами различной этиологии (10,3%). Инфекционные заболевания (ВУИ и другие), как основной диагноз, имели 7,7% наблюдаемых доношенных пациентов. Чаще этиологический фактор инфекционных заболеваний верифицировать не удавалось.

Таблица 3.3.

Структура основных клинических диагнозов у доношенных детей

Заболевания неонатального периода у наблюдаемых доношенных пациентов	Абсолютное число	Относительное число (%)
ВУИ и другая инфекция	3	7,7
ГБН и другие желтухи	4	10,3
Асфиксия, гипоксия в родах	13	33,3
Родовая травма	4	10,3
Синдром аспирации мекония	7	17,9
ВПС и другие пороки развития	6	15,4
Другие заболевания	2	5,1
Итого	39	100

Сопутствующие заболевания доношенных пациентов были представлены следующими диагнозами: анемия легкой степени – у 2,5% детей; нейтропения – у 2,5%; транзиторная эритробластопения – у 2,5%; первичная лактазная недостаточность – у 2,5%; транзиторная гипогликемия – у 2,5%.

Из осложнений наиболее часто отмечались: судорожный синдром – у 8 (20,5%) детей; синдром персистирующего фетального кровотока – у 3 (7,7%), аспирационная пневмония – у 2 (5,1%).

3.1.3. Особенности течения стационарного периода доношенных новорожденных пациентов

Антибиотики в период стационарного лечения курсом более 7 дней получали 21 (53,8%) пациент – 10 детей (55,6%) группы 1 и 11 детей (52,4%) группы 2; антибиотики курсом менее 7 дней получали 15 (38,5%) пациентов – 6 детей (33,3%) группы 1 и 9 детей (42,9%) группы 2 ($p>0,05$).

Вероятность неблагоприятного влияния антибактериальной терапии на формирование микробиоценоза кишечника во время стационарного лечения была одинаковой в обеих группах доношенных новорожденных детей.

3.2. Клиническая характеристика наблюдаемых недоношенных новорожденных пациентов.

Недоношенные дети были рандомизированы на 2 группы: группа 1 (группа сравнения, $n=26$) получала стандартную терапию; группа 2 (основная группа, $n=29$) дополнительно к стандартной терапии получала внутрь жидкий пробиотик *E. faecium* L3 (с титром не менее 10^8 КОЕ/мл) по 0,5 мл 3 раза в день в течение 14 дней. Группы пациентов были сопоставимы между собой по полу, гестационному возрасту, показателям массы и длины тела при рождении, показателям состояния при рождении по шкале Апгар, возрасту на момент поступления в отделение патологии новорожденных детей (таблица 3.4.)

В период наблюдения грудное вскармливание получали 7 (28,0%) детей группы 1 и 3 (10,3%) детей группы 2 ($p<0,05$); смешанное вскармливание получали только 8 (27,6%) детей группы 2 ($p<0,05$), искусственное вскармливание получали 19 (72,0%) детей группы 1 и 18 (62,0%) детей группы 2 ($p>0,05$).

Таблица 3.4.

Характеристика групп наблюдаемых недоношенных пациентов

Признаки	Основная группа ($n=29$)	Группа сравнения ($n=26$)	Уровень значимости, p
Мальчики (абс. ч./ %)	14/48,3%	11/42,3%	$>0,05$
Девочки (абс. ч./ %)	15/51,7%	15/57,7%	$>0,05$

Гестационный возраст (нед.)	29,1±0,4	28,9±0,4	>0,05
Масса тела при рождении, г	1210±40	1197±37	>0,05
Длина тела при рождении, см	37,0±0,5	37,0±0,5	>0,05
Показатели оценки по шкале Апгар на 1 мин (баллы)	5,4±0,4	5,3±0,3	>0,05
Показатели оценки по шкале Апгар на 5 мин (баллы)	6,1±0,3	6,5±0,2	>0,05
Возраст детей на момент поступления, дн.	3,0±0,4	3,6±0,9	>0,05

Таким образом, большинство детей обеих групп получали искусственное вскармливание и, хотя группы пациентов различались по частоте грудного и смешанного вскармливания, общее число детей, получавших грудное и смешанное вскармливание, было сопоставимо в обеих группах: в группе 1 – 7 (28,0%) детей, в группе 2 – 11 (37,9%) детей ($p>0,05$).

3.2.1. Особенности перинатального анамнеза недоношенных пациентов

Большинство наблюдаемых недоношенных детей с ОНМТ имели многочисленные неблагоприятные факторы антенатального анамнеза. ОАГА был установлен у 27 (49,1%) матерей наблюдаемых недоношенных детей; хроническую соматическую патологию имели 25 (45,5%) матерей; антибактериальную терапию во время беременности получали 8 (14,5%); хроническая интоксикация имела место у 11 (20,0%). Лечение по поводу угрозы прерывания беременности получали 33 (60,0%) матери.

Интранатальный анамнез недоношенных детей отличался неблагополучием: кесаревым сечением были рождены 23 (41,8%) ребенка; лихорадку в родах имели 9 (16,4%) матерей. Частота лихорадки у родильниц в группе недоношенных детей косвенно отражала частоту инфекционного процесса в урогенитальном тракте. Сравнение групп наблюдаемых недоношенных детей с ОНМТ по частоте неблагоприятных факторов перинатального анамнеза представлено в таблице 3.5. В основной группе оказалось достоверно больше детей, рожденных методом кесарева сечения. Как известно, при искусственных родах усугубляется нарушение становления нормобиоценоза у недоношенных детей [44].

Частота выявления неблагоприятных факторов перинатального анамнеза у наблюдаемых недоношенных детей с очень низкой массой тела (абс. ч./%)

Неблагоприятные факторы перинатального анамнеза недоношенных детей	Основная группа (n=29)	Группа сравнения (n=24)	Статистические критерии оценки различий	Уровень значимости, p
Инфекционные заболевания матери в период беременности	7/24,1%	11/45,8%	критерий Пирсона χ^2	p>0,05
Хроническая интоксикация матери в период беременности	6/20,7%	5/20,8%	критерий Пирсона χ^2	p>0,05
Хроническая соматическая патология матери в период беременности	13/44,8%	12/50,0%	критерий Пирсона χ^2	p>0,05
Угроза прерывания беременности	21/72,4%	12/50,0%	критерий Пирсона χ^2	p>0,05
Родоразрешение методом кесарева сечения	16/55,2%	7/29,2%	критерий Пирсона χ^2	p<0,05
Быстрые роды	9/31,0%	7/28,0%	критерий Пирсона χ^2	p>0,05
Лихорадка у родильницы	6/20,7%	3/12,0%	точный критерий Фишера	p>0,05

3.2.2. Особенности течения стационарного периода у недоношенных новорожденных пациентов

Центральный венокатетер более 10 дней имели 23 (92,3%) пациента группы 1 и 27 (93,1 %) пациентов группы 2; центральный венокатетер менее 10 дней – 2 (7,7%) и 3 (6,9%), соответственно, (p>0,05). Антибиотики в период стационарного лечения курсом менее 10 дней получали 2 (8%) детей группы 1 и 3 (10,3%) группы 2 (p>0,05); антибиотики курсом более 10 дней – 23 (92%) и 26 (89,7%), соответственно, (p>0,05). Смену курсов антибиотиков имели 20 (80%) пациентов группы 1 и 24 (82,8%) группы 2 (p>0,05).

Таким образом, недоношенные пациенты обеих групп получали длительную массивную антибактериальную терапию, в подавляющем большинстве со сменой групп и поколений препаратов, что не могло не оказать неблагоприятного влияния на становление кишечной микрофлоры.

3.2.3. Характеристика групп недоношенных пациентов по заболеваниям

При выписке из стационара основным диагнозом у глубоконедоношенных детей являлся диагноз «Недоношенность» с указанием гестационного возраста, то есть основной диагноз у всех недоношенных пациентов был одинаков. Частыми осложнениями глубокой недоношенности у наблюдаемых пациентов являлись: синдром дыхательных расстройств (СДР), отмечаемый на первом этапе выхаживания (в родильном доме), – имел место у 34 (61,8%) детей; гипоксически-ишемическая энцефалопатия (ГИЭ) – у 45 (81,8%), ретинопатия недоношенных (РН) – у 19 (34,5%), ранняя анемия недоношенных (РА) – у 37 (67,3%), открытый артериальный проток (ОАП) – у 14 (25,5%). Развитие некротического энтероколита было отмечено у 2 (3,6%) детей контрольной группы. Оба случая НЭК не потребовали хирургического лечения.

Из сопутствующих диагнозов у наблюдаемых недоношенных детей с ОНМТ наиболее значимыми являлись: внутриутробная и внутриамниотическая инфекция (ВУИ и ВАИ); инфекция типичная для перинатального периода (ИТПП), что, по сути, также является ВУИ или ВАИ, но имеет несколько очагов реализации и, таким образом, по течению представляет собой генерализованный инфекционный процесс [89]. ВУИ и ВАИ указывались в диагнозе, если реализовались одним очагом поражения (например, «ВУИ с поражением легких», что клинически проявлялось пневмонией). ВУИ была диагностирована у 3 детей основной группы (10%) и 6 детей контрольной группы (23%). Верифицировано 2 случая: ВАИ с поражением легких стрептококковой этиологии, ВАИ с поражением ЖКТ стафилококковой этиологии. НЭК был диагностирован у 2 (3,6%) детей контрольной группы, в обоих случаях этиология не была установлена, но в одном случае НЭК сочетался с ВАИ стафилококковой этиологии. Оба случая не потребовали хирургического вмешательства.

Кроме инфекционных, были отмечены другие сопутствующие заболевания: гипербилирубинемия – у 5 (9,1%), задержка внутриутробного развития (ЗВУР) – у 14 (25,5%).

К редким сопутствующим заболеваниям у наблюдаемых недоношенных детей относились следующие заболевания и малые пороки развития: пиелозктазия – у 1 (1,9%) ребенка; киста яичника – у 1 (1,9%); грыжи – у 4 (7,5%) детей, в том числе паховая грыжа – у 1 (1,9%), пахово-мошоночная – у 2 (3,7%), пупочная – у 1 (1,9%); врожденные пороки сердца – у 2 (3,7%) детей, в том числе ДМЖП – у 1 (1,9%), ДМПП – у 1 (1,9%); полицитемия – у 1 (1,9%) ребенка; врожденная косолапость – у 1 (1,9%) ребенка.

3.3. Особенности перинатального анамнеза у наблюдаемых доношенных новорожденных пациентов и недоношенных детей с ОНМТ

Перинатальный анамнез был в значительной степени осложнен как у доношенных, так и у недоношенных пациентов (таблица 3.6.).

Как видно из представленных данных, в группе недоношенных детей достоверно чаще отмечались такие неблагоприятные факторы анамнеза, как хроническая интоксикация матери во время беременности, угроза прерывания беременности, быстрые роды, лихорадка у родильницы. Лихорадка родильницы обычно является проявлением хориоамнионита в родах, что, в свою очередь, указывает на наличие инфекционных предпосылок в урогенитальном тракте. Выявленные особенности перинатального анамнеза недоношенных детей свидетельствуют о том, что хроническая интоксикация беременных женщин и инфекционный процесс в урогенитальном тракте являются важными факторами риска нарушений вынашивания беременности и рождения детей с ОНМТ.

Частота выявления неблагоприятных факторов перинатального анамнеза у доношенных новорожденных и недоношенных детей с ОНМТ (абс. ч./%)

Неблагоприятные факторы перинатального анамнеза	Доношенные дети (n=39)	Недоношенные дети с ОНМТ (n=53)	Статистические критерии оценки различий	Уровень значимости, p
Инфекционные заболевания матери в период беременности	9/23,1%	18/34,0%	критерий Пирсона χ^2	p>0,05
Хроническая интоксикация матери в период беременности	2/5,1%	20/8%	точный критерий Фишера	p<0,05
Хроническая соматическая патология матери в период беременности	16/41,0%	25/47,2%	критерий Пирсона χ^2	p>0,05
Угроза прерывания беременности	6/15,4%	33/62,3%	критерий Пирсона χ^2	p<0,0001
Кесарево сечение	11/28,2%	23/42,6%	критерий Пирсона χ^2	p>0,05
Быстрые роды	3/7,7%	16/29,6%	точный критерий Фишера	p<0,01
Лихорадка у родильницы	0/0,0%	9/16,7%	критерий Йейтса χ^2	p<0,05

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СОСТОЯНИЯ МИКРОБИОТЫ ДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ И НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ С ОЧЕНЬ НИЗКОЙ МАССОЙ ТЕЛА

4.1. Результаты исследования исходного состояния микробиоты кишечника доношенных новорожденных детей

Исследование микробиоты доношенных новорожденных пациентов проводили в первые или вторые сутки госпитализации двумя методами – ПЦР-РВ и бактериологическим посевом фекалий.

Методом бактериологического посева в просветной микробиоте кишечника определяли количество лактобацилл, бифидобактерий; общее количество кишечных палочек, количество кишечных палочек с нормальной и сниженной ферментативной активностью, количество лактозонегативных и гемолитических, сахарозопозитивных кишечных палочек; количество протеев, клебсиелл и других условно-патогенных бактерий, в том числе энтеробактера; общее число кокковых форм; количество золотистых, сапрофитных и эпидермальных стафилококков; количество энтерококков и грибов рода *Candida*.

В таблице 4.1 приведены результаты исследования просветной кишечной микробиоты (качественные и количественные показатели) доношенных новорожденных пациентов методом бактериологического посева фекалий.

Анализ состава микробиоты кишечника наблюдаемых доношенных новорожденных детей показывает умеренное снижение уровня индигенной микрофлоры: количества бифидобактерий и общего количества кишечной палочки с нормальной ферментативной активностью относительно средних нормальных значений [22].

Выявлено высокое содержание клебсиелл у 87,2% детей и других условно-патогенных микроорганизмов у 10,3%. У отдельных пациентов были выделены в большом количестве кишечные палочки с измененными свойствами, золотистый стафилококк и грибы рода *Candida*.

Характеристика состава микробиоты кишечника доношенных новорожденных детей при поступлении в стационар по результатам бактериологического метода исследования фекалий (n=39)

Изучаемые качественные показатели кишечной микробиоты	Частота выделения (абс./%)	Количественные показатели состава кишечной микробиоты (КОЕ/г; Med(Qн-Qв))
<i>Lactobacillus</i>	39/100%	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^{10}$)
<i>Bifidobacterium</i>	39/100%	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$)
Бактероиды	0/0,0%	0
Клостридии	0/0,0%	0
Общее количество <i>E. coli</i>	34/87,2%	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$)
<i>E. coli</i> с нормальной ферментативной активностью	27/69,2%	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$)
<i>E. coli</i> со сниженной ферментативной активностью	3/7,7%	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)
<i>E. coli</i> лактозонегативные	4/10,3%	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^5$)
<i>E. coli</i> сахарозопозитивные	1/2,6%	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^6$)
<i>E. coli</i> гемолитические	2/5,1%	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^6$)
<i>Proteus spp.</i>	0/0,0%	0
<i>Klebsiella spp.</i>	34/87,2%	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)
Другие условно-патогенные микроорганизмы	4/10,3%	$5,5 \times 10^5$ ($5,5 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$)
Общее число кокковых форм	38/97,4%	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^7$)
<i>S. aureus</i>	2/5,1%	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^5$)
<i>S. epidermidis</i>	0/0,0%	0
<i>S. saprophiticus</i>	0/0,0%	0
<i>Enterococcus</i>	39/100%	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)
Грибы рода <i>Candida</i>	2/5,1%	$1,0 \times 10^3$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^3$)

Отмечены значительные колебания уровня энтерококков в составе кишечной микробиоты и снижение их среднего количества. Изменения микробиоты соответствовали пусковой фазе дисбиоза кишечника у детей раннего возраста, описанной Куваевой И.Б., Ладодо К.С. в 1991 г. [43].

Методом ПЦР-РВ определяли общее бактериальное число (КОЕ на 1 г фекалий), количество *B. fragilis*, количество лактобацилл и бифидобактерий, клостридий, энтерококков и кишечных палочек.

Результаты исследования состояния микробиоценоза кишечника методом ПЦР-РВ фекалий у доношенных детей несколько отличались от результатов, полученных бактериологическим методом, и представлены в таблице 4.2.

Таблица 4.2

Состояние микробиоценоза кишечника у доношенных новорожденных детей методом ПЦР-РВ при поступлении на стационарное лечение

Исследуемые качественные показатели кишечной микробиоты	Частота выделения (абс./%)	Количественные показатели состава кишечной микробиоты (КОЕ/г; Med(Qн-Qв))
Общее бактериальное число	38/97,4%	$2,5 \times 10^{10}$ ($4,0 \times 10^9 - 2,0 \times 10^{11}$)
<i>Bacteroides fragilis</i>	12/30,8%	$4,0 \times 10^7$ ($2,0 \times 10^6 - 6,0 \times 10^{10}$)
<i>Lactobacillus</i>	32/82,1%	$4,0 \times 10^7$ ($9,0 \times 10^5 - 7,0 \times 10^8$)
<i>Bifidobacterium</i>	39/100%	$2,0 \times 10^7$ ($3,0 \times 10^6 - 2,0 \times 10^8$)
<i>Clostridium difficile</i>	4/10,3%	$1,2 \times 10^9$ ($2,0 \times 10^8 - 6,0 \times 10^9$)
<i>E. coli</i>	37/94,9%	$4,0 \times 10^7$ ($4,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^{10}$)
<i>Enterococcus</i>	31/79,5%	$1,0 \times 10^8$ ($1,0 \times 10^5 - 6,0 \times 10^9$)

Лактобациллы были определены только у 32/82,1% наблюдаемых детей, количество их значительно колебалось. Энтерококки определялись у 31/79,5% детей, количество их было высоким. *B. fragilis* в достаточном количестве [69] были обнаружены у 12/30,8% доношенных пациентов, *C. difficile* – у 4/10,3%.

Бактероиды и клостридии были выявлены только методом ПЦР-РВ, в то время как бактериологическим методом данные микроорганизмы не были обнаружены ни в одной пробе. Титр бифидобактерий по методу ПЦР-РВ был на порядок выше, чем тот же бактериологическим методом. Существенно отличается титр *E. coli* и энтерококков – более высок методом ПЦР-РВ.

4.2. Результаты исследования исходного состояния микробиоты кишечника недоношенных новорожденных детей с ОНМТ

У недоношенных пациентов забор фекалий для исследования состава микробиоты производили трехкратно. Забор материала для первого исследования проводили на второй день госпитализации в отделение патологии новорожденных детей. Результаты исследования представлены в таблице 4.3.

Анализ состава микробиоты кишечника наблюдаемых недоношенных новорожденных детей показывает умеренное снижение уровня индигенной микробиоты относительно нормальных значений: количества бифидобактерий, общего количества кишечной палочки и количества кишечной палочки с нормальной ферментативной активностью [22].

Таблица 4.3

Характеристика состава микробиоты кишечника недоношенных детей с ОНМТ (n=54) при поступлении в стационар по данным бактериологического метода исследования фекалий

Исследуемые качественные показатели кишечной микробиоты	Частота выделения (абс./%)	Количественные показатели состава кишечной микробиоты (КОЕ/г; Med(Q _H -Q _B))
<i>Lactobacillus</i>	54/100,0%	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^9$)
<i>Bifidobacterium</i>	54/100,0%	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^9$)
Бактероиды	0/0,0%	0
Клостридии	0/0,0%	0
Общее количество <i>E. coli</i>	48/88,9%	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^6$)
<i>E. coli</i> с нормальной ферментативной активностью	32/59,3%	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)
<i>E. coli</i> со сниженной ферментативной активностью	4/7,4%	$5,0 \times 10^5 \pm 5,8 \times 10^5$
<i>E. coli</i> лактозонегативные	0/0,0%	0
<i>E. coli</i> сахарозопозитивные	8/14,8%	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)
<i>E. coli</i> гемолитические	13/24,1%	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)
<i>Proteus spp.</i>	0/0,0%	0
<i>Klebsiella spp.</i>	44/81,5%	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$)

Другие условно-патогенные микроорганизмы	9/16,7%	$1,0 \times 10^3$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^5$)
Общее число кокковых форм	53/98,1%	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^7$)
<i>S. aureus</i>	7/13,0%	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^5$)
<i>S. epidermidis</i>	5/9,3%	$1,0 \times 10^4$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^4$)
<i>S. saprofiticus</i>	0/0,0%	0
<i>Enterococcus</i>	53/98,1%	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)
Грибы рода <i>Candida</i>	4/7,4%	$1,0 \times 10^4$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^5$)

Среди условно-патогенных представителей кишечной микробиоты было выявлено высокое содержание клебсиелл у 81,5% детей. У части пациентов были выделены в большом количестве кишечные палочки с измененными свойствами и золотистый стафилококк. В составе кишечной микробиоты отмечены значительные колебания количества кишечной палочки с нормальными и измененными свойствами, количества клебсиелл, энтерококков и снижение количества последних. Выявленные особенности состава микробиоты недоношенных новорожденных детей по уровню условно-патогенных микроорганизмов соответствовали пусковой фазе дисбиоза кишечника у детей раннего возраста [43].

Результаты исследования состава микробиоты кишечника у недоношенных детей при поступлении на стационарный этап выхаживания по данным исследования фекалий методом ПЦР-РВ представлены в таблице 4.4.

Таблица 4.4.

Характеристика состава микробиоты кишечника у недоношенных детей (n=50) с ОНМТ по данным исследования фекалий методом ПЦР-РВ

Исследуемые качественные показатели кишечной микробиоты	Частота выделения (абс./%)	Количественные показатели состава кишечной микробиоты (КОЕ/г; Med(Qн-Qв))
Общее бактериальное число	42/84,0%	$3,0 \times 10^{10}$ ($4,0 \times 10^9 - 2,0 \times 10^{11}$)
<i>Bacteroides fragilis</i>	27/54,0%	$5,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^6 - 5,0 \times 10^8$)
<i>Lactobacillus</i>	47/94,0%	$1,0 \times 10^8$ ($1,0 \times 10^6 - 2,0 \times 10^9$)

<i>Bifidobacterium</i>	47/94,0%	$4,0 \times 10^7$ ($5,0 \times 10^6 - 4,0 \times 10^8$)
<i>Clostridium difficile</i>	14/28,0%	$1,3 \times 10^{10}$ ($5,0 \times 10^9 - 2,0 \times 10^{10}$)
<i>E. coli</i>	49/98,0%	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^7$)
<i>Enterococcus</i>	39/78,0%	$1,0 \times 10^{10}$ ($4,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^{10}$)

Лактобациллы и бифидобактерии в достаточно высоком количестве были определены у 47/94,0% наблюдаемых детей, количество последних отличалось выраженными колебаниями. Энтерококки определялись у 39/78,0% детей, количество их было высоким. Условно-патогенные *B. fragilis* в высоком количестве [69] были обнаружены у 27/54,0% недоношенных пациентов, *C. difficile* – у 14/28,0% обследованных.

4.3. Сравнение исходного состояния микробиоты кишечника у доношенных новорожденных детей и недоношенных детей с ОНМТ

Состояние микробиоты кишечника наблюдаемых пациентов на момент поступления на лечение в отделение патологии новорожденных детей было принято нами за «исходное состояние микробиоты кишечника». В таблице 4.5 представлены результаты сравнения исходного состояния микробиоты кишечника доношенных и недоношенных новорожденных пациентов по данным бактериологического метода исследования фекалий.

Анализ полученных результатов выявил достоверное низкое содержание лактобацилл и одновременно более высокое содержание «других» условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) в составе просветной микробиоты кишечника (в понятии «другие УПМ» входили относительно редко определяемые – цитробактер, ацинетобактер, энтеробактер, псевдомонас и др.) у доношенных новорожденных пациентов. По остальным показателям состояния микробиоты кишечника доношенных и недоношенных детей при поступлении их на лечение в отделение неонатальной патологии стационара достоверных отличий выявлено не было.

Однако у недоношенных детей в 5,7 раза чаще, чем у доношенных новорожденных пациентов, выявляли сахарозопозитивные штаммы кишечной палочки; в 4,7 раза чаще – гемолитические кишечные палочки; в 2,5 раза чаще – золотистый стафилококк (при этом эпидермальный стафилококк выявляли только у недоношенных детей – в 9,3% случаев); в 1,6 раза чаще – другие УПМ; в 1,5 раза чаще – грибы рода *Candida*.

Таблица 4.5.

Результаты сравнения исходного состояния микробиоты кишечника доношенных и недоношенных новорожденных детей по данным бактериологического метода исследования фекалий

Изучаемые качественные показатели просветной кишечной микробиоты	Количественные показатели состава просветной кишечной микробиоты (КОЕ/г; Med(Qн-Qв) и частота выделения микроорганизмов из фекалий в группах наблюдаемых доношенных и недоношенных новорожденных детей (абс.ч./%)		Уровень значимости различий, p
	Доношенные новорожденные (n=39)	Недоношенные новорожденные с ОНМТ (n=54)	
<i>Lactobacillus</i>	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^{10}$) 39/100%	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^9$) 54/100,0%	<0,05 >0,05
<i>Bifidobacterium</i>	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$) 39/100%	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^9$) 54/100,0%	>0,05 >0,05
Общее количество <i>E. coli</i>	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$) 34/87,2%	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^6$) 48/88,9%	>0,05 >0,05
<i>E. coli</i> с нормальной ферментативной активностью	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$) 27/69,2%	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$) 32/59,3%	>0,05 >0,05
<i>Klebsiella spp.</i>	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$) 34/87,2%	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$) 44/81,5%	>0,05 >0,05
<i>Enterococcus</i>	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$) 39/100%	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$) 53/98,1%	>0,05 >0,05

В таблице 4.6 представлены результаты сравнения исходного состояния микробиоты кишечника доношенных и недоношенных новорожденных пациентов по данным метода ПЦР-РВ исследования фекалий.

Анализ данных ПЦР-РВ позволил выявить достоверно более высокое общее бактериальное число состава микробиоты кишечника у недоношенных детей с ОНМТ по сравнению с доношенными новорожденными пациентами, что

наряду с достоверно более высоким содержанием лактобацилл и достоверно более низким содержанием других УПМ по данным бактериологического метода исследований фекалий свидетельствовало об относительной компенсированности нарушений состава просветной микробиоты кишечника у недоношенных детей.

Таблица 4.6.

Результаты сравнения исходного состояния микробиоты кишечника доношенных и недоношенных новорожденных детей по данным ПЦР-РВ

Изучаемые качественные показатели просветной кишечной микробиоты	Количественные показатели состава просветной кишечной микробиоты (КОЕ/г; Med(Qн-Qв) и частота выделения микроорганизмов из фекалий в группах наблюдаемых доношенных и недоношенных новорожденных детей (абс.ч./%)		Уровень значимости различий, p
	Доношенные новорожденные (n=39)	Недоношенные новорожденные с ОНМТ (n=50)	
ОБЧ	$2,5 \times 10^{10}$ ($4,0 \times 10^9 - 2,0 \times 10^{11}$) 38/97,4%	$3,0 \times 10^{10}$ ($4,0 \times 10^9 - 2,0 \times 10^{11}$) 42/84,0%	<0,05 >0,05
<i>B. fragilis</i>	$4,0 \times 10^7$ ($2,0 \times 10^6 - 6,0 \times 10^{10}$) 12/30,8%	$5,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^6 - 5,0 \times 10^8$) 27/54,0%	>0,05 >0,05
<i>Lactobacillus</i>	$4,0 \times 10^7$ ($9,0 \times 10^5 - 7,0 \times 10^8$) 32/82,1%	$1,0 \times 10^8$ ($1,0 \times 10^6 - 2,0 \times 10^9$) 47/94,0%	>0,05 >0,05
<i>Bifidobacterium</i>	$2,0 \times 10^7$ ($3,0 \times 10^6 - 2,0 \times 10^8$) 39/100%	$4,0 \times 10^7$ ($5,0 \times 10^6 - 4,0 \times 10^8$) 47/94,0%	>0,05 >0,05
<i>C. difficile</i>	$1,2 \times 10^9$ ($2,0 \times 10^8 - 6,0 \times 10^9$) 4/10,3%	$1,3 \times 10^{10}$ ($5,0 \times 10^9 - 2,0 \times 10^{10}$) 14/28,0%	>0,05 >0,05
<i>E. coli</i>	$4,0 \times 10^7$ ($4,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^{10}$) 37/94,9%	$1,0 \times 10^8$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^7$) 49/98,0%	>0,05 >0,05
<i>Enterococcus</i>	$1,0 \times 10^8$ ($1,0 \times 10^5 - 6,0 \times 10^9$) 31/79,5%	$1,0 \times 10^{10}$ ($4,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^{10}$) 39/78,0%	>0,05 >0,05

В то же время, методом ПЦР-РВ у недоношенных детей в 1,8 раза чаще, чем у доношенных новорожденных пациентов, выявляли *B. fragilis*, и в 2,7 раза чаще – *C. difficile*. Последнее отражает прогностически неблагоприятные изменения микробиоты кишечника у недоношенных детей с ОНМТ, с рождения получающих антибиотикотерапию.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ШТАММА *ENTEROCOCCUS FAECIUM* L3 В ПРОГРАММАХ ЛЕЧЕНИЯ ДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

5.1. Клиническая эффективность применения пробиотического штамма *E. faecium* L3 в программах лечения доношенных новорожденных детей

Сравнение клинических результатов использованных программ терапии доношенных новорожденных детей показало, что у 5 (27,8%) пациентов группы сравнения было зафиксировано кратковременное учащение и ухудшение характера стула, появление умеренного вздутия живота и необильных срыгиваний, что было расценено как функциональные нарушения ЖКТ, обусловленных дисбиотическими нарушениями микробиоты кишечника на фоне терапии антибиотиками. В то же время, ни у одного ребенка основной группы пациентов, получавших аналогичную комплексную терапию, но дополненную использованием пробиотического штамма *E. faecium* L3, не было зарегистрировано признаков желудочной и кишечной диспепсии.

Результаты сравнения групп детей по частоте выявления отклонений в показателях клинического, биохимического анализов крови и копрограмм при поступлении на лечение (Исследование 1) и через 10 дней – при выписке (Исследование 2) с применением статистического критерия χ^2 Pearson'a представлены в таблице 5.1.

Как видно из таблицы, в результате лечения наблюдаемых детей обеих групп было достигнуто устранение воспалительных изменений в гемограмме и биохимическом анализе крови.

Однако, следует отметить, что в динамике наблюдения, как в основной группе, так и в группе сравнения, имело место недостоверное нарастание частоты эозинофилии; в основной группе отмечено недостоверное нарастание частоты воспалительных изменений в копрограмме и отсутствие изменений частоты таковых у пациентов группы сравнения. Достоверных различий между группами

детей по динамике всех анализируемых лабораторных показателей не было выявлено.

Таблица 5.1.
Частота выявления отклонений лабораторных показателей в динамике наблюдения доношенных новорожденных пациентов

Анализируемые признаки	Исследования*	Частота выявления отклонений в лабораторных показателях у наблюдаемых детей (абс./%)		Уровень значимости, p
		Основная группа (n=21)	Группа сравнения (n=18)	
Анемия	1	3/14,3	2/11,1	p>0,05
	2	4/19,0	2/11,1	p>0,05
Лейкоцитоз	1	6/28,6	4/22,2	p>0,05
	2	0	0	p>0,05
Лейкопения	1	1/ 4,8	1/ 5,6	p >0,05
	2	2/ 9,5	1/ 5,6	p>0,05
Лимфоцитоз	1	2/ 9,5	1/ 5,6	p >0,05
	2	2/ 9,5	1/ 5,6	p>0,05
Моноцитоз	1	14/66,7	11/61,1	p >0,05
	2	16/76,2	10/55,6	p>0,05
Эозинофилия	1	6/28,6	3/16,7	p>0,05
	2	10/47,6	8/44,4	p>0,05
Повышение АЛТ	1	1/ 4,8	1/ 5,6	p >0,05
	2	0	0	p >0,05
Повышение АСТ	1	1/ 4,8	2/11,1	p>0,05
	2	0	0	p >0,05
Повышение С-реактивного белка	1	7/33,3	4/22,2	p>0,05
	2	0	0	p >0,05
Умеренно выраженные воспалительные изменения в копрограмме	1	1/ 4,8	2/11,1	p>0,05
	2	3/14,3	2/11,1	p>0,05

* Исследований: 1 – при поступлении в стационар на лечение, 2 – через 10 дней (при выписке)

5.2. Результаты оценки динамики состава кишечной микробиоты доношенных новорожденных пациентов под влиянием проводимой терапии

Результаты исследования влияния использования пробиотического штамма *E. faecium* L3 в комплексной терапии доношенных новорожденных пациентов основной группы на состояние микробиоценоза кишечника по данным ПЦР-РВ представлены в таблице 5.2.

Результаты оценки динамики состава микробиоты кишечника доношенных новорожденных детей основной группы (n=21) по данным ПЦР-РВ

Изучаемые качественные показатели просветной кишечной микробиоты	Количественные показатели состава просветной кишечной микробиоты (КОЕ/г; Med(Qн-Qв))		Уровень значимости различий, p
	Исследование 1*	Исследование 2*	
ОБЧ	$6,0 \times 10^{10}$ ($4,0 \times 10^9 - 2,0 \times 10^{11}$)	$1,0 \times 10^{11}$ ($4,0 \times 10^{10} - 2,0 \times 10^{11}$)	p>0,05
<i>Bifidobacterium</i>	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^6 - 7,0 \times 10^7$)	$7,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9$)	p<0,05**
<i>Lactobacillus</i>	$5,0 \times 10^7$ ($5,0 \times 10^6 - 5,0 \times 10^8$)	$3,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^6 - 3,0 \times 10^8$)	p>0,05
<i>E. coli</i>	$4,4 \times 10^8$ ($1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^{10}$)	$2,0 \times 10^8$ ($4,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^{10}$)	p>0,05
<i>Enterococcus</i>	$4,0 \times 10^8$ ($2,0 \times 10^6 - 4,0 \times 10^9$)	$2,0 \times 10^9$ ($8,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^{10}$)	p>0,05
<i>B. fragilis</i>	$4,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^{11}$)	$2,0 \times 10^{10}$ ($5,5 \times 10^5 - 1,5 \times 10^{11}$)	p>0,05
<i>C. difficile</i>	$2,0 \times 10^9$ ($8,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^{10}$)	$1,5 \times 10^8$ ($1,0 \times 10^7 - 5,0 \times 10^8$)	p<0,05
<i>K. pneumoniae</i>	$1,0 \times 10^8$ ($1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^9$)	$1,0 \times 10^8$ ($2,5 \times 10^7 - 6,0 \times 10^8$)	p>0,05

* 1 – при поступлении в стационар на лечение, *2 –через 10 дней (при выписке)

** - оценка в парных выборках методом Вилкоксона

Из приведенных в таблице данных следует, что использование пробиотического штамма *E. faecium* L3 в комплексной терапии наблюдаемых детей достоверно не влияло на изменение общего бактериального числа, количества бифидобактерий, лактобацилл, кишечной палочки, энтерококка, *B. fragilis*, клебсиелл, но способствовало достоверному снижению количества условно-патогенных микроорганизмов *C. difficile* в составе микробиоты кишечника. Последнее отражает благоприятное воздействие пробиотика на микробиоту кишечника детей, получающих лечение антибиотиками в стационаре.

Результаты исследования влияния стандартной терапии на состояние микробиоценоза кишечника доношенных новорожденных пациентов группы сравнения по данным исследования фекалий методом ПЦР-РВ представлены в таблице 5.3.

Изучение динамики состава микробиоты доношенных детей группы сравнения методом дисперсного анализа не выявило достоверных различий.

Результаты исследования влияния комплексной терапии с использованием пробиотического штамма *E. faecium* L3 на состояние микробиоценоза кишечника доношенных новорожденных пациентов основной группы по данным бактериологического исследования фекалий, представленные в таблице 5.4, не выявили достоверных различий.

5.3 Результаты оценки динамики состава микробиоты кишечника доношенных новорожденных детей группы сравнения (n=18) по данным ПЦР-РВ

Изучаемые качественные показатели просветной кишечной микробиоты	Количественные показатели состава просветной кишечной микробиоты (КОЕ/г; Med(Qн-Qв))		Уровень значимости различий, p
	Исследование 1*	Исследование 2*	
ОБЧ	$2,0 \times 10^{10}$ ($4,0 \times 10^9 - 2,0 \times 10^{11}$)	$5,5 \times 10^{10}$ ($2,0 \times 10^{10} - 1,0 \times 10^{11}$)	p>0,05
<i>Bifidobacterium</i>	$2,0 \times 10^7$ ($8,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^9$)	$4,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^7 - 2,0 \times 10^8$)	p>0,05
<i>Lactobacillus</i>	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^5 - 9,0 \times 10^9$)	$2,5 \times 10^7$ ($2,5 \times 10^6 - 4,5 \times 10^8$)	p>0,05
<i>E. coli</i>	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^6 - 2,0 \times 10^9$)	$5,0 \times 10^9$ ($5,0 \times 10^8 - 2,0 \times 10^{10}$)	p>0,05
<i>Enterococcus</i>	$5,5 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 6,0 \times 10^9$)	$1,3 \times 10^9$ ($3,1 \times 10^6 - 1,8 \times 10^{10}$)	p>0,05
<i>B. fragilis</i>	$5,2 \times 10^7$ ($3,0 \times 10^5 - 2,0 \times 10^{10}$)	$1,4 \times 10^7$ ($8,0 \times 10^5 - 9,0 \times 10^7$)	p>0,05
<i>C. difficile</i>	$4,0 \times 10^0$ ($4,0 \times 10^8 - 4,0 \times 10^8$)	$3,0 \times 10^7$ ($3,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^8$)	p>0,05
<i>K. pneumoniae</i>	$1,5 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^6 - 3,0 \times 10^8$)	$4,0 \times 10^7$ ($6,0 \times 10^6 - 3,0 \times 10^8$)	p>0,05

* 1 – при поступлении в стационар на лечение, *2 – через 10 дней (при выписке)

Однако при сравнении количества лактобацилл у детей основной группы и группы сравнения в исследовании 2 было установлено достоверное их превышение в результате проведенного лечения у детей основной группы (p=0,02), что можно увидеть на рисунке 1. Это указывает на положительный эффект применения пробиотического штамма в отношении стимуляции роста лактофлоры. Кроме того, в динамике наблюдения у детей данной группы было отмечено снижение количества золотистого стафилококка (p>0,05).

Таблица 5.4

Результаты изучения динамики состава просветной микробиоты кишечника доношенных пациентов основной группы по данным бактериологического исследования фекалий (n=21)

Изучаемые качественные	Количественные показатели состава	Уровень
------------------------	-----------------------------------	---------

показатели кишечной микробиоты	кишечной микробиоты (КОЕ/г; Med(Qн-Qв))		значимости различий, p
	Исследование 1*	Исследование 2*	
<i>Lactobacillus</i>	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9$)	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9$)	P=0,05**
<i>Bifidobacterium</i>	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$)	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$)	p>0,05
Общее количество <i>E. coli</i>	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$)	$5,5 \times 10^5$ ($5,5 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$)	p>0,05
<i>E. coli</i> с нормальной ферментативной активностью	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$)	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$)	p>0,05
<i>Klebsiella spp.</i>	$1,0 \times 10^6$ ($5,5 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$)	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^7$)	p<0,05**
<i>S. aureus</i>	$5,0 \times 10^3$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^6$)	$1,0 \times 10^4$ ($5,5 \times 10^3 - 1,0 \times 10^4$)	p>0,05
<i>Enterococcus</i>	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	p>0,05

*1 – при поступлении в стационар на лечение, *2 – через 10 дней (при выписке)

** - оценка в парных выборках методом Вилкоксона

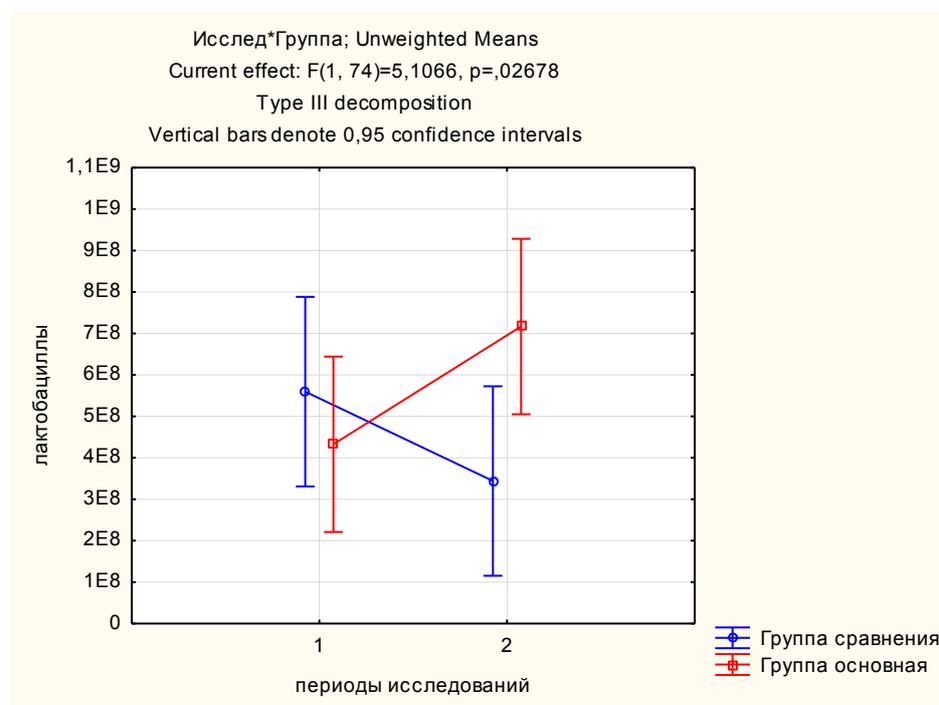


Рис. 1. Динамика количества лактобацилл в составе микробиоты кишечника в группах доношенных пациентов по данным бактериологического метода исследования фекалий (по оси абсцисс – точки исследований; по оси ординат – экспоненциальные числа лактобацилл).

Результаты исследования влияния стандартной терапии на состояние микробиоценоза кишечника доношенных новорожденных пациентов группы сравнения по данным исследования фекалий бактериологическим методом представлены в таблице 5.5.

Результаты изучения динамики состава просветной микробиоты кишечника доношенных пациентов группы сравнения по данным бактериологического исследования фекалий (n=18)

Изучаемые качественные показатели кишечной микробиоты	Количественные показатели состава кишечной микробиоты (КОЕ/г; Med(Qн-Qв))		Уровень значимости различий, p
	Исследование 1*	Исследование 2*	
<i>Lactobacillus</i>	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9$)	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9$)	p>0,05
<i>Bifidobacterium</i>	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$)	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$)	p>0,05
Общее количество <i>E. coli</i>	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	p>0,05
<i>E. coli</i> с нормальной ферментативной активностью	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	$5,5 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$)	p>0,05
<i>Klebsiella spp.</i>	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	p>0,05
<i>S. aureus</i>	0	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^5$)	p>0,05
<i>Enterococcus</i>	$5,5 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	p>0,05

* 1 – при поступлении в стационар на лечение, *2 – через 10 дней (при выписке)

Результаты исследования методом дисперсионного анализа не выявили достоверных изменений состава просветной микробиоты кишечника у доношенных новорожденных детей группы сравнения под влиянием стандартной терапии, что свидетельствовало об отсутствии ее выраженного угнетающего влияния.

Изучение особенностей изменений состава бифидо- и лактофлоры кишечника наблюдаемых групп доношенных новорожденных детей под влиянием использованных программ терапии методом Wilcoxon'а для парных выборок (не ограниченного условием нормального распределения данных) выявило у детей основной группы достоверное нарастание бифидобактерий по данным исследования фекалий методом ПЦР-РВ (таблица 5.2.) и количества лактобацилл по данным бактериологического исследования фекалий (таблица 5.4.). У детей группы сравнения достоверных изменений состава бифидо- и лактофлоры кишечника под влиянием терапии не было выявлено (таблицы 5.3. и 5.5.).

Изменения условно-патогенной микробиоты кишечника у детей основной группы в парных исследованиях характеризовались повышением общего количества клебсиелл ($n=10$; $p<0,05$) по данным бактериологического исследования (рисунок 2.). Однако по данным ПЦР у детей основной группы не было установлено значимого повышения количества *K. pneumoniae* в фекалиях ($n=10$; $p>0,05$). У детей группы сравнения достоверных изменений состава условно-патогенной микробиоты кишечника под влиянием терапии не было выявлено (таблицы 5.3. и 5.5.).

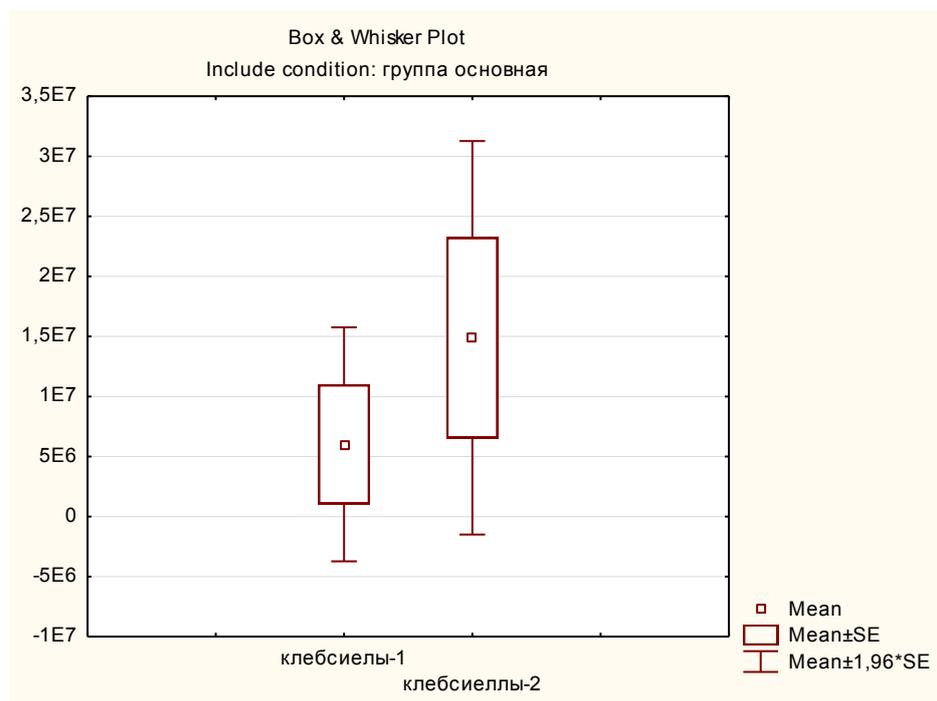


Рис. 2. Динамика количества клебсиелл в составе микробиоты кишечника у доношенных новорожденных детей основной группы по данным бактериологического метода исследования фекалий (по оси абсцисс – точки исследований количества клебсиелл; по оси ординат – экспоненциальные числа клебсиелл).

5.3. Результаты изучения чувствительности изолятов клебсиелл к антибиотикам и бактериофагам у доношенных новорожденных детей на фоне терапии

Условно-патогенная микрофлора кишечника доношенных детей, выделяемая из фекалий в титрах 10^3 КОЕ/г и более, при поступлении в стационар,

была представлена клебсиеллами (в $69,8 \pm 6,6\%$), цитробактером (в $11,6 \pm 4,9\%$), гемолитической (в $7,0 \pm 3,9\%$) и лактозонегативной (в $7,0 \pm 3,9\%$) кишечной палочкой, золотистым стафилококком (в $4,7 \pm 3,2\%$), грибами рода кандиды (в $2,3 \pm 2,3\%$). Итак, клебсиеллы преобладали в структуре УПМ. Клебсиеллы привлекают внимание как причинные факторы генерализованных гнойно-септических состояний у новорожденных, ибо циркулирующие в стационарах госпитальные штаммы клебсиелл имеют высокий потенциал патогенности [69]. В таблице 5.6. представлена частота бактериологического выделения из фекалий клебсиелл различных видов у доношенных новорожденных в исследованиях 1 и 2. Отмечается невысокое разнообразие выделенных клебсиелл и высокая частота выделения *K. pneumonia* у детей обеих групп в исследованиях 1 и 2 ($p > 0,05$).

Таблица 5.6.

Частота бактериологического выделения из фекалий различных видов клебсиелл у доношенных новорожденных наблюдаемых групп (абс.ч.; %)

Категории исследований	Виды выделенных клебсиелл	Группа сравнения (n=18)	Основная группа (n=21)
Исследование 1	<i>K. pneumonia</i>	12 $66,7 \pm 11,1\%$	13 $61,9 \pm 10,6\%$
	<i>K. oxitoca</i>	2 $11,1 \pm 7,4\%$	3 $14,9 \pm 7,8\%$
Исследование 2	<i>K. pneumonia</i>	12 $66,7,6 \pm 11,1\%$	15 $74,1 \pm 9,6\%$
	<i>K. oxitoca</i>	2 $11,1 \pm 7,4\%$	2 $9,5 \pm 6,4\%$

Результаты изучения динамики антибиотикочувствительности изолятов клебсиелл у детей основной группы показали следующее. В динамике наблюдения установлено повышение количества чувствительных изолятов клебсиелл к ципрофлоксацину (с $62,5\%$ до $76,5\%$), норфлоксацину (с $56,3\%$ до $64,7\%$), амоксиклаву (с $12,5\%$ до $35,5\%$) ($p > 0,05$) и, напротив, снижение количества чувствительных клебсиелл к ампицилину/сульбактаму (с $68,8\%$ до $35,3\%$) ($p < 0,05$), а также к цефтазидиму (с $43,8\%$ до $23,5\%$) и тетрациклину (с $31,3\%$ до $23,5\%$) ($p > 0,05$).

Результаты изучения антибиотикочувствительности изолятов клебсиелл у детей группы сравнения в динамике показали незначительное повышение количества чувствительных изолятов клебсиелл практически ко всем тестируемым антибиотикам: к ципрофлоксацину (с 57,1% до 64,3%), амоксиклаву (с 26,6% до 50,0%) ($p>0,05$), ампицилину/сульбактаму (с 50,0% до 71,4%) ($p<0,05$), а также к цефтазидиму (с 35,7% до 50,0%) и тетрациклину (с 21,4% до 35,7%) ($p>0,05$), незначительное снижения уровня чувствительных клебсиелл к норфлоксацину (с 65,3% до 64,3%) ($p>0,05$).

Исследование чувствительности клинических штаммов клебсиелл к шести тестируемым бактериофагам в исследовании 1 (клебсиеллезному, интести-бактериофагу, колипротейному, пиобактериофагу, пиополи-бактериофагу, секста-бактериофагу) выявило высокий уровень чувствительности в основной группе ($90,5\pm 6,4\%$) и группе сравнения ($93,7\pm 5,7\%$) ($p>0,05$). В исследовании 2 частота выделения чувствительных к бактериофагам изолятов клебсиелл в обеих группах составила 100%.

Анализ полученных данных показывает преобладание клебсиелл в структуре УПМ кишечника у доношенных новорожденных наблюдаемых групп, отсутствие существенных различий в частоте выделения из фекалий различных видов клебсиелл и динамики количества штаммов, чувствительных к антибиотикам бактериофагам. Отсутствие динамики чувствительности изолятов клебсиелл к антибиотикам и бактериофагам, вероятно, связано с коротким периодом исследования.

Глава 6

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ШТАММА
ENTEROCOCCUS FAECIUM L3 В ПРОГРАММАХ ВЫХАЖИВАНИЯ
НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ С ОЧЕНЬ НИЗКОЙ МАССОЙ ТЕЛА

6.1. Клиническая эффективность применения пробиотического штамма *E. faecium* L3 в программах выхаживания недоношенных новорожденных детей с очень низкой массой тела

Недоношенные пациенты обеих групп находились под тщательным ежедневным наблюдением. При сравнении групп недоношенных детей по показателям средней продолжительности парентерального питания, срокам до перевода на полное энтеральное питание ($M \pm m$), частоте проявлений симптомов функциональных расстройств пищеварения (кратковременные эпизоды умеренного вздутия живота, изменения характера стула и учащения дефекаций), частоте диагностики анемии недоношенных, выявления синдрома дыхательных расстройств (СДР), бронхолегочной дисплазии (БЛД), неонатальной желтухи, с использованием статистических критериев Стьюдента и Pearson χ^2 нам не удалось выявить достоверных различий (таблица 6.2.).

Из приведенных данных следует, что программа выхаживания недоношенных детей в стационаре с применением пробиотического штамма *E. faecium* L3 в жидкой форме отрицательно не влияла на длительность парентерального питания, не осложняла процесс введения энтерального питания недоношенным детям, не увеличивала частоту развития таких осложнений недоношенности как БЛД и РА, не увеличивала частоту неонатальных желтух, не увеличивала общую длительность пребывания в стационаре.

Анализ результатов изучения динамики массы тела у наблюдаемых групп недоношенных детей выявил достоверно более высокие прибавки массы тела в период применения пробиотического штамма *E. faecium* L3 (в первые 2 недели госпитализации) у детей основной группы по сравнению с группой сравнения

(таблица 6.1). Установленный факт указывает на выраженное благоприятное влияние применяемого пробиотического штамма энтерококка на трофику и эффективность усвоения энтерального питания, что ранее было показано в работах других авторов [40]

Таблица 6.1

Динамика показателей массы тела ($M \pm m$) наблюдаемых групп детей с ОНМТ

Изучаемые показатели массы тела	Группа 1 (n=23)	Группа 2 (n=25)
Масса тела при поступлении в г	1241,739±35,5	1275,4±40
Масса тела через 2 недели в г	1417,826±39,5	1527,2±55,2
Масса тела через 4 недели в г	1750±51,6	1851,6±67,5
Прибавка массы тела через 2 недели в г	172,6521±19,1	251,8±22*
Прибавка массы тела через 4 недели в г	322,5263±20,5	317,7899±30,5

* – $p < 0,05$ по t-критерию Стьюдента

Изучение клинических признаков, характерных для негладкого течения выхаживания наблюдаемых недоношенных детей с ОНМТ (таблица 6.3.), выявило достоверно более высокую частоту формирования инфекционных осложнений у пациентов группы сравнения (53,8% против 20,7%). К инфекционным осложнениям относили ВУИ, ВАИ и НЭК.

Таблица 6.2

Результаты сравнения групп недоношенных пациентов по клиническим особенностям стационарного этапа выхаживания

Изучаемые признаки	Основная группа (n=29)	Группа сравнения (n=26)	Уровень значимости, p
Длительность парентерального питания (дн.)	19,8±2,2	18,0±1,9	$p > 0,05$
Срок нагрузки до полного энтерального питания (дн.)	20,3±2,2	18,8±1,9	$p > 0,05$
Кратковременные эпизоды умеренного вздутия живота (абс.ч./%)	7/25%	4/15,4%	$p > 0,05$
Кратковременные эпизоды изменения характера стула и учащения дефекаций (абс.ч./%)	7/25%	6/23,1%	$p > 0,05$
Анемия недоношенных (абс.ч./%)	21/72,4%	17/65,4%	$p > 0,05$
СДР (абс.ч./%)	16/55,2%	17/65,4%	$p > 0,05$
БЛД (абс.ч./%)	4/13,8%	2/7,7%	$p > 0,05$
Неонатальные желтухи (абс.ч./%)	5/17,%	2/7,7%	$p > 0,05$

Длительность пребывания в стационаре (дн)	54,1±4,2	52,5±2,8	p>0,05
---	----------	----------	--------

Таблица 6.3

Частота негладкого течения выхаживания недоношенных детей (абс./%)

Изучаемые признаки	Группа сравнения (n=26)		Группа основная (n=29)		Критерий Pearson χ^2	Уровень значимости, p
	нет	есть	нет	есть		
Центральный венозный доступ более 10 дн.	3/11,5%	23/88,5%	2/6,9%	27/93,0%	0,02	p>0,05
Терапия антибиотиками более 10 дн.	2/8,7%	24/92,3%	3/10,3%	26/89,7%	0,09	p>0,05
Ситуации «срыва питания»	16/61,5%	10/38,5%	23/79,3%	6/20,7%	1,88	p>0,05
ВУИ	20/76,9%	6/23,1%	26/89,7%	3/10,3%	1,62	p>0,05
ВАИ	19/73,1%	7/26,9%	26/89,7%	3/10,3%	2,53	p>0,05
НЭК	24/92,3%	2/7,7%	100%	0%	2,08	p>0,05
Инфекционные осложнения (суммарно ВУИ, ВАИ и НЭК)	12/46,2%	14/53,8%	23/79,3%	6/20,7%	6,51	p<0,05

Ситуации «срыва питания», сопровождающиеся симптомами выраженного метеоризма, нарушения отхождения газов, беспокойства ребенка, задержкой стула, являются результатом незрелости морфологии и защитной функции слизистой оболочки кишечника недоношенных детей, провоцируются нарушениями микробиоценоза кишечника на фоне размножения госпитальной флоры. Подобные ситуации с меньшей частотой отмечались у пациентов основной группы (20,7% против 38,5%), получавших жидкую форму пробиотика *E. faecium* L3. СП были причиной возвращения к полному парентеральному питанию, чем значительно деформировали программу выхаживания недоношенных детей.

Результаты изучения лабораторных признаков негладкого течения выхаживания недоношенных детей (положительный высеив из крови, лейкоцитоз, эозинофилия, моноцитоз, анемия) представлены в таблице 6.4.

Таблица 6.4

Частота лабораторных признаков негладкого течения выхаживания
недоношенных детей (абс./%)

Изучаемые показатели	Группа сравнения (n=26)		Группа основная (n=29)		Критерий Pearson χ^2	Уровень значимости, p
	нет	есть	нет	есть		
Положительный высеv из крови	25/96,2%	1/3,8%	27/93,1%	2/6,9%	0,24	p>0,05
Лейкоцитоз	14/53,8%	12/46,2%	17/58,6%	12/41,4%	0,06	p>0,05
Эозинофилия	12/46,2%	14/53,8%	18/62,1%	11/37,9%	1,15	p>0,05
Моноцитоз	0/0%	26/100%	5/17,2%	24/82,8%	4,01	p<0,05
Анемия	4/15,4%	22/84,6%	4/13,8%	25/86,2%	0,26	p>0,05

Эозинофилию несколько чаще отмечали у детей группы сравнения, что отражает сенсбилизацию на фоне проводимой терапии. У детей группы сравнения была выявлена достоверно более высокая частота моноцитоза. Мононуклеарные фагоциты играют роль в неспецифическом и в специфическом иммунитете. Полагают, что моноцитоз у больных первых месяцев жизни является проявлением воспалительных процессов инфекционного происхождения и связан со стимуляцией иммунитета микробными антигенами [92].

Для оценки клинической эффективности использованных программ выхаживания недоношенных детей с ОНМТ был также проведен фармакоэкономический анализ.

Результаты показали, что средняя стоимость выхаживания недоношенных детей с ОНМТ ($M \pm \sigma$) в основной группе была выше и составила $39344 \pm 3028,2$ руб., а в группе сравнения – $37344 \pm 3102,7$ руб. Однако, разница средней стоимости выхаживания недоношенных детей наблюдаемых групп была незначительной.

Однако по данным фармакоэкономического анализа эффективности затрат с помощью вычисления показателя CER было установлено, что эффективность выхаживания детей в основной группе была значительно выше ($CER_2 = 49802,5$), чем в группе сравнения ($CER_1 = 81182,6$), т.е. для достижения положительного исхода в основной группе недоношенных детей требовалось меньше денежных средств. $CER_1 = 37344/0,46 = 81182,6$, где 0,46 – доля детей не имевших

инфекционные осложнения. $CER_2 = 39344/0,79 = 49802,5$, где 0,79 – доля детей не имевших инфекционные осложнения.

По данным проведенного инкрементального анализа затрат с подсчетом коэффициента ICER ($ICER = 39344 - 37344 / 0,79 - 0,46 = 6060,6$) было установлено, что, несмотря на более высокую стоимость терапии с использованием пробиотического штамма *E. faecium* L3, для достижения одного и того же положительного результата (в данном случае – отсутствие инфекционных осложнений) в группе сравнения затрачивалось больше денег, чем в основной группе (в среднем, на 6060,6 руб.). Показатель ЧБНЛ (величина, обратная снижению абсолютного риска неблагоприятного исхода) составил 3,03, как результат вычисления дроби: $1/(0,54 - 0,21)$, где 0,54 и 0,21 – доли детей с инфекционными осложнениями в группе сравнения и основной группе, соответственно, а разница $0,54 - 0,21 = 0,33$ – снижение абсолютного риска неблагоприятного исхода. Это означает, что число больных, которых нужно лечить, чтобы предотвратить один неблагоприятный исход в группе сравнения, равно трем.

Разница средней стоимости выхаживания недоношенных с ОНМТ наблюдаемых групп была незначительной, что объяснялось невысокой стоимостью использованного пробиотического штамма *E. faecium* L3. Фармакоэкономический анализ эффективности затрат установил, что для достижения положительного исхода в основной группе недоношенных детей требовалось меньше денежных средств. Таким образом, было показано, что максимальной эффективности использованных программ выхаживания недоношенных с ОНМТ соответствовали оптимальные экономические показатели [39].

6.2. Результаты исследования влияния использования пробиотического штамма *E. faecium* L3 в программе выхаживания недоношенных новорожденных с ОНМТ на состояние микробиоценоза кишечника в динамике наблюдения

Результаты оценки динамики состава микробиоты кишечника по данным исследования фекалий методом ПЦР-РВ у глубоконедоношенных детей основной группы представлены в таблице 6.5.

Таблица 6.5

Оценка динамики состава микробиоты кишечника по данным исследования фекалий методом ПЦР-РВ у недоношенных детей основной группы (n=29)

Изучаемые качественные показатели кишечной микробиоты	Количественные показатели состава просветной кишечной микробиоты (КОЕ/г; Med(Qн-Qв))			Уровень значимости различий, p
	Исследование 1*	Исследование 2*	Исследование 3*	
ОБЧ	$2,0 \times 10^{10}$ ($6,5 \times 10^8 - 2,0 \times 10^{11}$)	$3,0 \times 10^{11}$ ($8,0 \times 10^{10} - 9 \times 10^{11}$)	$3,5 \times 10^{11}$ ($3,0 \times 10^{10} - 3 \times 10^{12}$)	p>0,05
<i>Lactobacillus</i>	$6,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^3 - 8,0 \times 10^8$)	$6,5 \times 10^7$ ($2,0 \times 10^7 - 8,0 \times 10^8$)	$1,0 \times 10^8$ ($5,5 \times 10^6 - 6,0 \times 10^8$)	p>0,05
<i>Bifidobacterium</i>	$2,0 \times 10^7$ ($5,0 \times 10^6 - 5,0 \times 10^8$)	$2,0 \times 10^8$ ($5,0 \times 10^6 - 2,0 \times 10^9$)	$8,0 \times 10^7$ ($2,0 \times 10^7 - 3,0 \times 10^8$)	p>0,05
<i>Bacteroides fragilis</i>	$1,0 \times 10^8$ ($1,0 \times 10^3 - 5,0 \times 10^8$)	$6,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^7 - 4,0 \times 10^8$)	$6,0 \times 10^8$ ($3,0 \times 10^8 - 6 \times 10^9$)	p>0,05
<i>Clostridium difficile</i>	$2,0 \times 10^{10}$ ($2,0 \times 10^{10} - 2,0 \times 10^{10}$)	$1,0 \times 10^9$ ($5,0 \times 10^8 - 1,1 \times 10^{10}$)	$4,0 \times 10^8$ ($2,0 \times 10^8 - 4 \times 10^9$)	p1-2<0,01 p1-3<0,01
<i>E. coli</i>	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^7$)	$5,0 \times 10^8$ ($6,0 \times 10^6 - 2,0 \times 10^{11}$)	$2,0 \times 10^{10}$ ($1 \times 10^7 - 1 \times 10^{11}$)	p>0,05
<i>Enterococcus</i>	$9,0 \times 10^9$ ($4,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^{10}$)	$1,0 \times 10^{10}$ ($2,0 \times 10^9 - 7,0 \times 10^{10}$)	$5,5 \times 10^9$ ($2,0 \times 10^9 - 2 \times 10^{10}$)	p1-2<0,05

*Исследование 1 – обследование детей при поступлении в стационар на лечение; Исследование 2 – обследование через 14 дней; Исследование 3 – обследование через 28 дней

Из приведенных данных следует, что на фоне использования пробиотического штамма *E. faecium* L3 в программе выхаживания недоношенных детей имело место достоверное повышение количества энтерококков в просветной микробиоте (p1-2<0,05). Одновременно наблюдалось достоверное снижение количества *C. difficile*, как при обследовании детей в повторном исследовании (в конце курса применения *E. faecium* L3), так и третьем (через 14 дней после отмены пробиотика). При этом частота выявления *C. difficile* в динамике наблюдения нарастала: в первичном исследовании – 1/4,2%; в повторном – 4/14,8%; в третьем – 8/30,8% (p1-3>0,01). Учитывая достоверную разницу в частоте снижения инфекционных осложнений у детей основной группы относительно детей группы сравнения, снижение количества *C. difficile* в составе

просветной микробиоты кишечника отражало благоприятные изменения микробиоценоза.

Результаты оценки динамики состава микробиоты кишечника по данным бактериологического исследования фекалий у недоношенных детей основной группы представлены в таблице 6.6.

Таблица 6.6

Оценка динамики состава микробиоты кишечника по данным
бактериологического исследования фекалий
у недоношенных детей основной группы (n=29)

Изучаемые качественные показатели кишечной микробиоты	Количественные показатели состава просветной кишечной микробиоты (КОЕ/г; Med(Qн-Qв))			Уровень значимости различий, p
	Исследование 1*	Исследование 2*	Исследование 3*	
<i>Bifidobacterium</i>	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^9$)	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$)	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$)	p1-2<0,001 p1-3<0,001
<i>Lactobacillus</i>	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^9$)	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9$)	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$)	p1-3<0,05
Общее количество <i>E. coli</i>	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$)	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	p>0,05
<i>E. coli</i> с неизменными свойствами	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$)	$5,5 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$)	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^6$)	p>0,05
<i>Enterococcus</i>	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	p>0,05
<i>Klebsiella spp.</i>	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$)	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	p1-3<0,05**

*Исследование 1 – обследование детей при поступлении в стационар на лечение; исследование 2 – обследование через 14 дней; исследование 3 – обследование через 28 дней

** - оценка значимости различий методом Вилкоксона

Приведенные данные свидетельствуют о выраженном положительном влиянии использования пробиотического штамма *E. faecium* L3 на индигенную микробиоту недоношенных детей с ОНМТ: отмечено достоверное нарастание количества лактобацилл в динамике наблюдения (p1-3<0,05) и высоко достоверное быстрое нарастание количества бифидобактерий (p1-2<0,001, p1-3<0,001). Одновременно в динамике наблюдения (исследования 1-2-3) было выявлено нарастание частоты выделения из фекалий гемолитической кишечной палочки – 2/6,9%; 7/24,1%; 5/18,5% (p>0,05) и нарастание частоты выделения

клебсиелл – 13/44,8%; 23/79,3%; 23/85,2% ($p_{1-2} < 0,001$; $p_{1-3} < 0,001$). Приведенные данные указывают на высокую инвазивность нозокомиальных штаммов УПМ.

Использование метода Wilcoxon'a (не ограниченного условием нормального распределения данных) для оценки динамики состава индигенной микробиоты кишечника (бифидобактерии, лактобациллы) и УПМ (клебсиеллы) у недоношенных детей основной группы в парных выборках позволило установить достоверное нарастание количества клебсиелл у недоношенных детей в динамике наблюдения (исследования 1-3). К моменту исследования 2 нарастание клебсиелл у детей основной группы недостоверно. Достоверное же нарастание происходит через 2 недели после отмены пробиотика, что может указывать на целесообразность пролонгирования его применения.

Анализ изменений состава кишечной микробиоты у недоношенных детей основной группы в процессе наблюдения в период стационарного этапа выхаживания позволяет выявить высокий защитный потенциал индигенной микробиоты кишечника (бифидобактерии, лактобациллы) против УПМ (клебсиеллы, гемолитическая кишечная палочка) на фоне применения пробиотического штамма *E. faecium* L3.

6.3. Результаты исследования влияния стандартной программы выхаживания недоношенных новорожденных с ОНМТ на состояние микробиоценоза кишечника в динамике наблюдения

Результаты оценки динамики состава микробиоты кишечника по данным исследования фекалий методом ПЦР-РВ у недоношенных детей группы сравнения представлены в таблице 6.7.

Таблица 6.7.

Оценка динамики состава микробиоты кишечника по данным исследования фекалий методом ПЦР-РВ у недоношенных детей группы сравнения (n=26)

Исследуемые качественные показатели кишечной микробиоты	Количественные показатели состава просветной кишечной микробиоты (КОЕ/г; Med(Qн-Qв))			Уровень значимости различий, p
	Исследование 1*	Исследование 2*	Исследование 3*	

ОБЧ	$\frac{5,0 \times 10^{10}}{(1,0 \times 10^{10} - 3,0 \times 10^{11})}$	$\frac{1,0 \times 10^{11}}{(7,0 \times 10^9 - 3,0 \times 10^{11})}$	$\frac{1,0 \times 10^{11}}{(8,0 \times 10^{10} - 3,0 \times 10^{11})}$	p>0,05
<i>Bifidobacterium</i>	$\frac{5,5 \times 10^7}{(8,0 \times 10^6 - 3,0 \times 10^8)}$	$\frac{4,0 \times 10^7}{(1,0 \times 10^6 - 5,0 \times 10^8)}$	$\frac{2,0 \times 10^8}{(4,0 \times 10^7 - 4,0 \times 10^9)}$	p>0,05
<i>Lactobacillus</i>	$\frac{1,0 \times 10^9}{(1,0 \times 10^6 - 2,0 \times 10^9)}$	$\frac{2,5 \times 10^9}{(1,5 \times 10^8 - 1,0 \times 10^9)}$	$\frac{1,0 \times 10^7}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)}$	p>0,05
<i>B. fragilis</i>	$\frac{4,5 \times 10^7}{(1,0 \times 10^7 - 3,0 \times 10^8)}$	$\frac{8,0 \times 10^7}{(3,0 \times 10^6 - 2,0 \times 10^8)}$	$\frac{1,0 \times 10^8}{(1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9)}$	p>0,05
<i>C. difficile</i>	$\frac{5,0 \times 10^9}{(5,0 \times 10^9 - 5,0 \times 10^9)}$	$\frac{1,0 \times 10^8}{(8,0 \times 10^7 - 2,0 \times 10^8)}$	$\frac{1,0 \times 10^8}{(1,0 \times 10^8 - 2,0 \times 10^8)}$	p>0,05
<i>E. coli</i>	$\frac{1,0 \times 10^9}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^7)}$	$\frac{1,0 \times 10^9}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^{10})}$	$\frac{1,0 \times 10^9}{(1,0 \times 10^3 - 4,0 \times 10^{10})}$	p>0,05
<i>Enterococcus</i>	$\frac{1,0 \times 10^{10}}{(4,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^{10})}$	$\frac{7,0 \times 10^9}{(3,0 \times 10^9 - 3,0 \times 10^{10})}$	$\frac{1,5 \times 10^{10}}{(1,5 \times 10^9 - 6,0 \times 10^{10})}$	p>0,05

*Исследование 1 – обследование детей при поступлении в стационар на лечение; исследование 2 – обследование через 14 дней; исследование 3 – обследование через 28 дней

Анализ приведенных в таблице данных показывает отсутствие достоверных различий количественного состава микробиоты кишечника, определяемого методом ПЦР-РВ, в динамике наблюдения детей группы сравнения. Изучение динамики частоты выделения исследованных микроорганизмов в составе просветной микробиоты кишечника у наблюдаемых недоношенных детей не выявило достоверных различий.

Результаты оценки динамики состава микробиоты кишечника по данным бактериологического исследования фекалий у недоношенных детей группы сравнения представлены в таблице 6.8.

Приведенные в таблице данные свидетельствуют о достоверном увеличении количества бифидобактерий ($p_{1-3} < 0,05$) в динамике наблюдения у недоношенных детей, находящихся на стандартной программе выхаживания, однако, более позднее, чем у детей основной группы. При этом было выявлено нарастание частоты выделения из фекалий гемолитической кишечной палочки – 4/16,0%; 3/12,5%; 7/26,9% ($p > 0,05$) и значимое нарастание частоты выделения клебсиелл – 10/40,0%; 16/66,7%; 20/76,9% ($p_{1-3} < 0,05$).

Использование метода Wilcoxon'a позволило подтвердить достоверное нарастание количества бифидобактерий ($p_{1-3} < 0,05$) в динамике наблюдения у недоношенных детей группы сравнения и установить достоверное нарастание количества клебсиелл уже во 2м исследовании ($p_{1-2} < 0,05$), в то время как в

основной группе значимое нарастание клебсиелл было отмечено лишь к 3му исследованию, то есть через 2 недели после отмены пробиотика.

Таблица 6.8

Оценка динамики состава микробиоты кишечника по данным бактериологического исследования фекалий у недоношенных детей группы сравнения (n=26)

Изучаемые качественные показатели кишечной микробиоты	Количественные показатели состава просветной кишечной микробиоты (КОЕ/г; Med(Qн-Qв))			Уровень значимости различий, p
	Исследование 1*	Исследование 2*	Исследование 3*	
<i>Bifidobacterium</i>	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^9$)	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$)	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$)	p1-3<0,05
<i>Lactobacillus</i>	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^9$)	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9$)	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9$)	p>0,05
Общее количество <i>E. coli</i>	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^5$)	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	p>0,05
<i>E. coli</i> с неизменным и свойствами	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	p>0,05
<i>Enterococcus</i>	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	p>0,05
<i>Klebsiella spp</i>	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)	p1-2<0,05**

* Исследование 1 – обследование детей при поступлении в стационар на лечение; исследование 2 – обследование через 14 дней; исследование 3 – обследование через 28 дней

** - оценка значимости различий методом Вилкоксона

Сравнение средних значений изучаемых показателей состава микробиоты наблюдаемых групп между собой параметрическими методами выявило в исследовании 2 более высокое количество бифидобактерий (p<0,05), в исследовании 3 – более высокое количество лактобацилл (p<0,05) и ОБЧ (p<0,05) у детей основной группы; непараметрическим методом Mann-Whitney было обнаружено более высокое количество эшерихий в исследованиях 2 (p<0,05) и 3 (p<0,05) и ОБЧ в исследовании 2 (p<0,05) у детей основной группы.

6.4. Сравнение изменений состава микробиоты кишечника у недоношенных детей наблюдаемых групп в процессе выхаживания в стационаре

На фоне использованных программ терапии у недоношенных детей с ОНМТ исследования состава просветной микробиоты кишечника выявили наиболее выраженные изменения количества бифидобактерий, клебсиелл и *C. difficile*. Отмечены незначительные различия результатов использованных методов исследования микробиоты (бактериологического и ПЦР-РВ).

При сравнительной оценке количества бифидобактерий современным методом ПЦР-РВ у недоношенных детей наблюдаемых групп достоверных изменений выявлено не было, хотя имела место тенденция к уменьшению их количества у детей группы сравнения в исследовании 2 (рис. 3.).

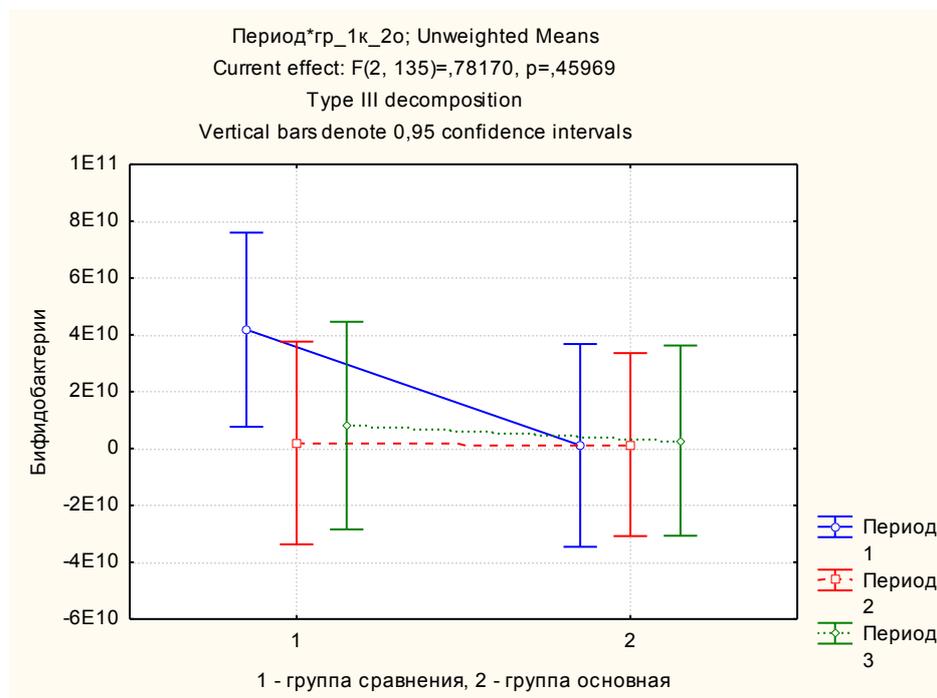


Рис. 3. Динамика количества бифидобактерий (КОЕ/г) в составе просветной микробиоты кишечника недоношенных детей с ОНМТ по данным ПЦР-РВ.

Подобные тенденции были отмечены в отношении динамики лактобацилл: на фоне стандартной программы выхаживания недоношенных детей группы сравнения имело место незначительное снижение их количества в исследовании 2 и сохранение количества лактобацилл у недоношенных детей основной группы, получавших пробиотический штамм *E. faecium* L3 (рис. 4.).

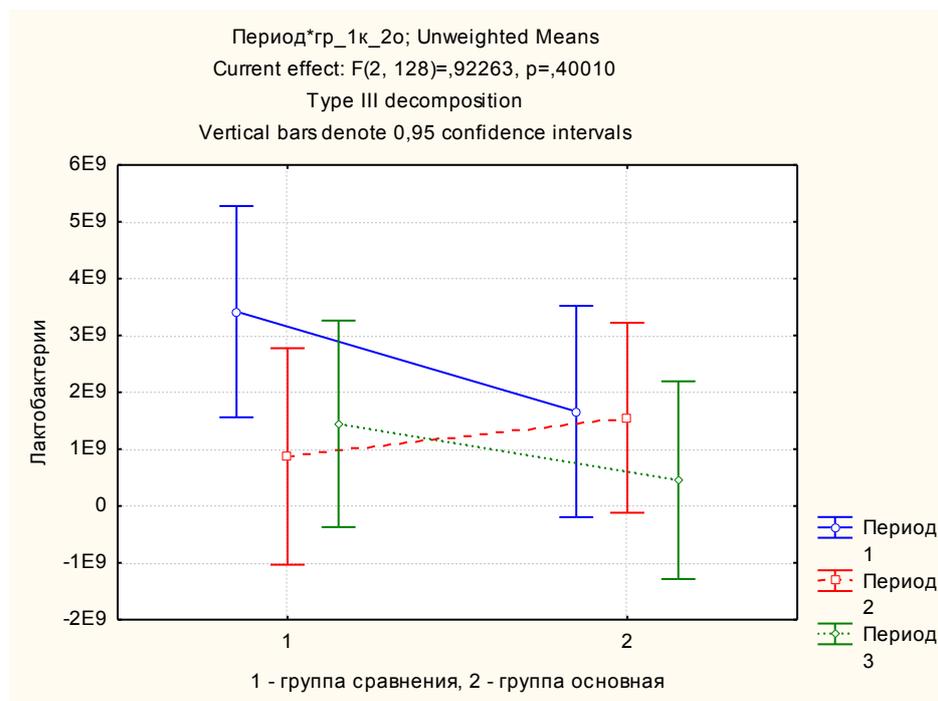


Рис. 4. Динамика количества лактобацилл (КОЕ/г) в составе просветной микрофлоры кишечника недоношенных детей с ОНМТ по данным ПЦР-РВ.

В то же время изменения УПМ были более отчетливые. У детей группы сравнения в исследовании 2 было установлено достоверное повышение клебсиелл (таблица 6.9.) по данным бактериологического исследования фекалий, а у детей основной группы достоверное повышение количества клебсиелл было установлено позднее – только в третьем исследовании (рис. 5.). Интересно отметить, что количество *C. difficile* не повышалось в динамике наблюдения на фоне применения антибиотиков у детей обеих групп. Более того, у детей основной группы на фоне использования пробиотического штамма *E. faecium* L3 было установлено достоверное снижение *C. difficile* в динамике наблюдения (рис. 6.).

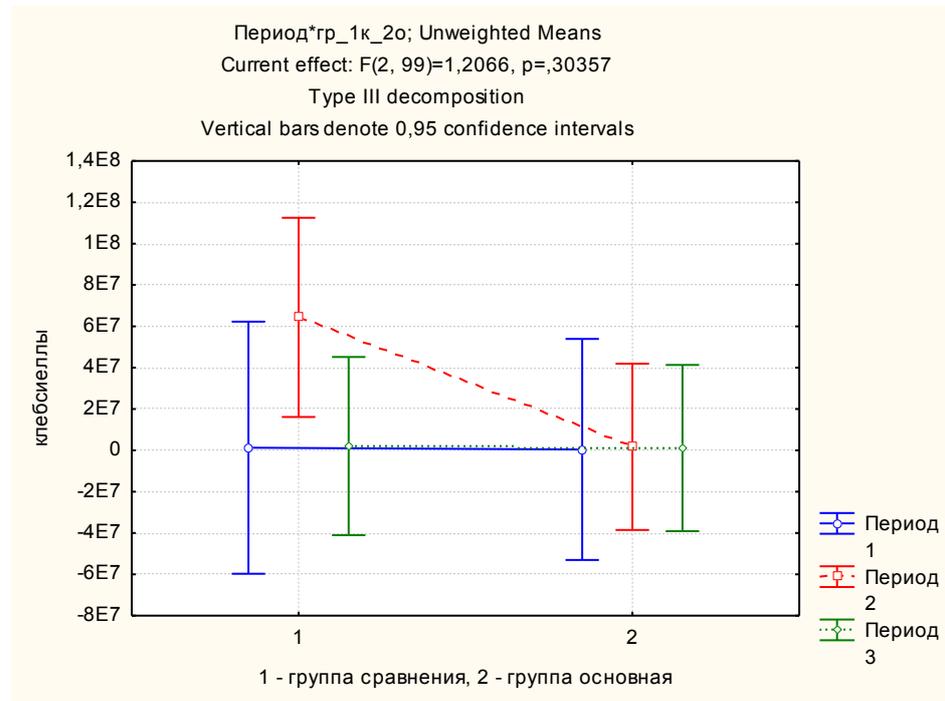


Рис. 5. Динамика количества клебсиелл (КОЕ/г) в составе микробиоты кишечника наблюдаемых групп недоношенных детей с ОНМТ по данным бактериологического исследования фекалий.

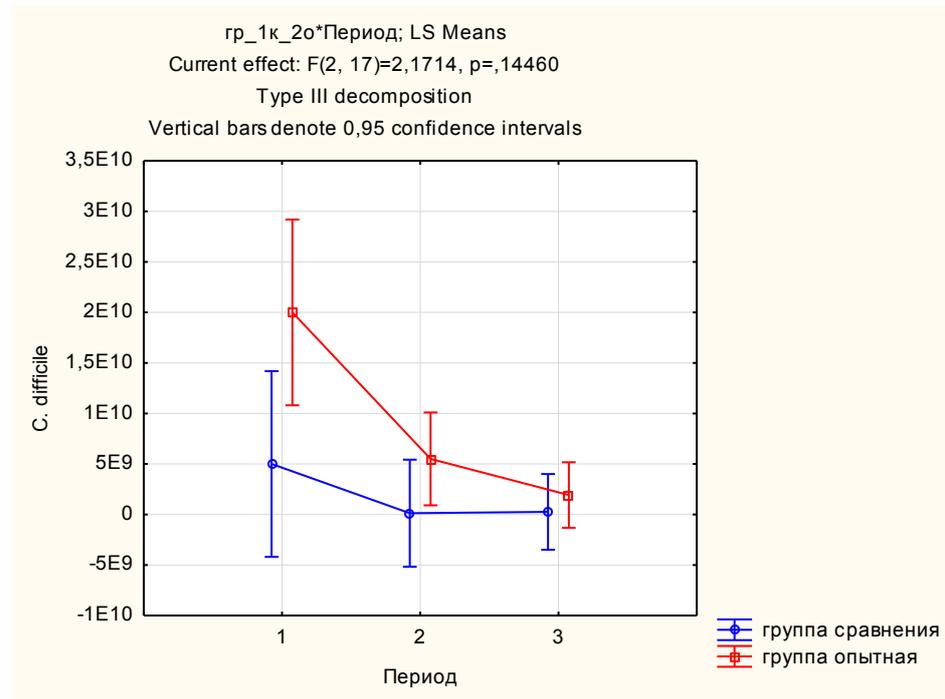


Рис. 6. Динамика количества *C. difficile* (КОЕ/г) в составе просветной микробиоты кишечника недоношенных детей с ОНМТ по данным ПЦР-РВ.

6.5. Результаты изучения чувствительности условно-патогенной микробиоты кишечника к антибиотикам и бактериофагам у недоношенных новорожденных детей на фоне использования пробиотического штамма *E. faecium* L3.

Условно-патогенная микробиота кишечника недоношенных детей наиболее часто была представлена клебсиеллами, выделяемыми из фекалий в титрах 10^3 КОЕ/г и более; во все периоды исследований у детей группы сравнения и основной группы среди выделенных клебсиелл практически с одинаковой частотой ($p > 0,05$) преобладала *K. pneumonia* (таблица 6.9.).

Результаты изучения антибиотикочувствительности клинических изолятов клебсиелл показали, что в основной группе детей в исследовании 2 по сравнению с исходными данными (исследование 1) имело место повышение чувствительности к амоксиклаву (с $14,3 \pm 6,5\%$ до $27,3 \pm 8,3\%$; $p > 0,05$), к ампициллину/сульбактаму (с $12,5 \pm 6,1\%$ до $22,2 \pm 7,7\%$; $p > 0,05$), к норфлоксацину (с $28,6 \pm 8,4\%$ до $59,1 \pm 9,1\%$; $p < 0,05$), к ципрофлоксацину (с $33,0 \pm 8,7\%$ до $71,4 \pm 8,4\%$; $p < 0,01$), к цефтазидиму (с $21,4 \pm 7,6\%$ до $30,0 \pm 8,5\%$; $p > 0,05$) (рис.7).

Таблица 6.9.

Частота бактериологического выделения из фекалий различных видов клебсиелл у недоношенных детей наблюдаемых групп

Категории исследований	Виды выделенных клебсиелл	Группа сравнения (n=26)	Основная группа (n=29)
Исследование 1	<i>K. pneumonia</i>	9/34,6%	12/41,4%
	<i>K. oxitoca</i>	1/3,8%	1/3,4%
	<i>K. mobilis</i>	0/0,0%	1/3,4%
Исследование 2	<i>K. pneumonia</i>	11/42,3%	16/55,2%
	<i>K. oxitoca</i>	3/11,5%	5/17,2%
	<i>K. mobilis</i>	1/3,8%	1/3,4%
Исследование 3	<i>K. pneumonia</i>	15/57,7%	21/72,4%
	<i>K. oxitoca</i>	5/19,2%	1/3,4%
	<i>K. mobilis</i>	0/0,0%	1/3,4%

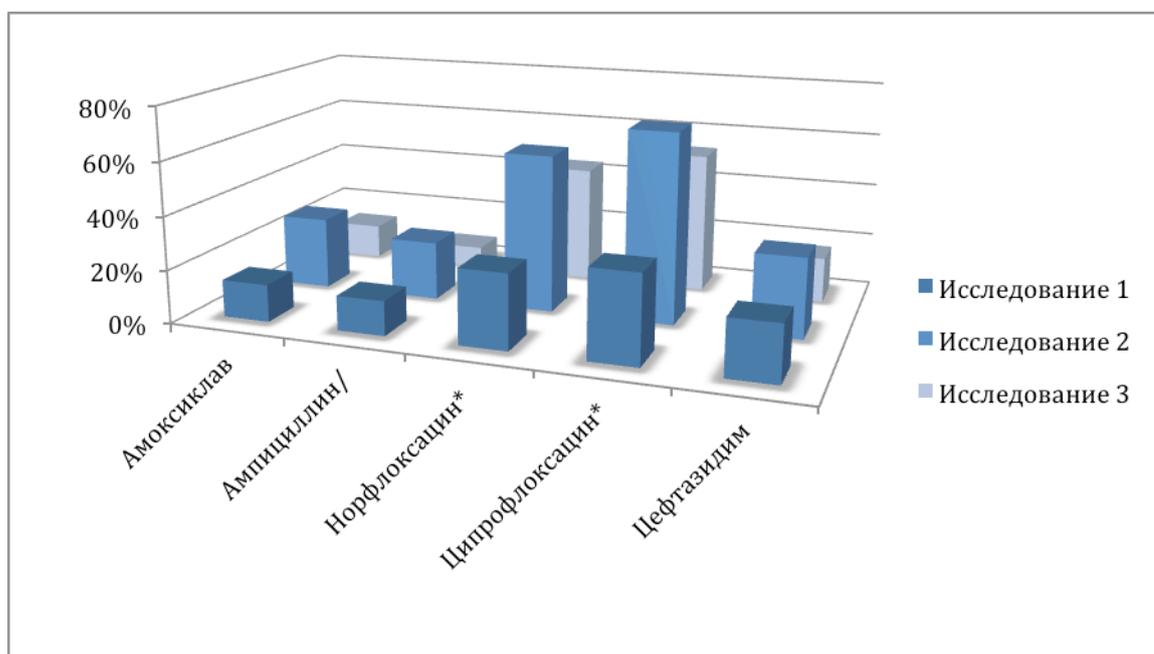


Рисунок 7. Динамика чувствительности к антибиотикам изолятов *K. pneumoniae* у недоношенных детей основной группы.

В группе сравнения в исследовании 2 по сравнению с исходными данными (исследование 1), напротив, было отмечено снижение чувствительности к амоксиклаву (с $10 \pm 5,9\%$ до 0% ; $p > 0,05$), к ампициллину/сульбактаму (с $66,7 \pm 9,2\%$ до 0% ; $p < 0,001$), к норфлоксацину (с $66,7 \pm 9,2\%$ до $35,7 \pm 9,4\%$; $p < 0,05$), к ципрофлоксацину (с $66,7 \pm 9,2\%$ до $38,5 \pm 9,5\%$; $p < 0,05$), к цефтазидиму (с $30,0 \pm 9,0\%$ до $7,1 \pm 5,0\%$; $p < 0,05$) (рис.8).

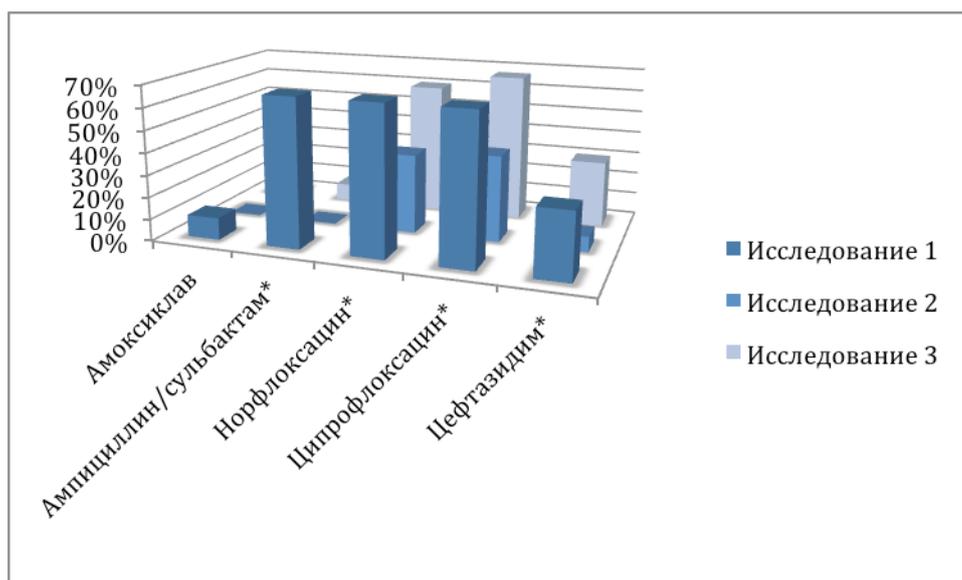


Рисунок 8. Динамика чувствительности к антибиотикам изолятов *K. pneumoniae* у недоношенных детей группы сравнения.

Следует отметить, что чувствительность к тетрациклину отчетливо снижалась в основной группе недоношенных детей (с $50 \pm 9,3\%$ до $7,7 \pm 5,0\%$; $p < 0,001$) и менее отчетливо в группе сравнения (с $22,2 \pm 8,2\%$ до $16,7 \pm 7,3\%$; $p > 0,05$).

Полученные данные свидетельствуют о снижении количества клебсиелл, устойчивых к антибиотикам, в динамике наблюдения у недоношенных детей с ОНМТ на фоне использования в программе выхаживания пробиотического штамма *E. faecium* L3.

Через 14 дней после отмены пробиотика у детей основной группы (исследование 3) было выявлено незначительное снижение чувствительности к амоксиклаву (с $27,3 \pm 8,3\%$ до $13 \pm 6,2\%$; $p > 0,05$), к ампициллину/сульбактаму (с $22,2 \pm 7,7\%$ до $7,7 \pm 5,0\%$; $p > 0,05$), к норфлоксацину (с $59,1 \pm 9,1\%$ до $43,5 \pm 9,2\%$; $p > 0,05$), к ципрофлоксацину (с $71,4 \pm 8,4\%$ до $53,3 \pm 9,3\%$; $p > 0,05$), к цефтазидиму (с $30,0 \pm 8,5\%$ до $17,4 \pm 7,0\%$; $p > 0,05$); повышение чувствительности было выявлено лишь к тетрациклину (с $7,7 \pm 5,0\%$ до $13,3 \pm 6,3\%$; $p > 0,05$).

В группе сравнения в исследовании 3 была отмечена другая тенденция: нарастание чувствительности к амоксиклаву (с 0% до $15 \pm 7,0\%$; $p < 0,05$), к норфлоксацину (с $35,7 \pm 9,4\%$ до $60 \pm 9,6\%$; $p > 0,05$), к ципрофлоксацину (с $38,5 \pm 9,5\%$ до $66,7 \pm 9,2\%$; $p < 0,05$), к цефтазидиму (с $7,1 \pm 5,0\%$ до $30 \pm 9,0\%$; $p < 0,05$), к тетрациклину (с $16,7 \pm 7,3\%$ до $18,8 \pm 7,7\%$; $p > 0,05$).

Полученные данные свидетельствуют о снижении количества патогенных клебсиелл в динамике наблюдения у недоношенных детей с ОНМТ на фоне использования в программе выхаживания пробиотической формы на основе *E. faecium* L3, и о нарастании их количества после отмены пробиотика. Выявленные изменения чувствительности клебсиелл к антибиотикам (в исследовании 3 по сравнению с исследованием 2), с одной стороны, показывают кратковременность положительного влияния использованного пробиотика на снижение факторов патогенности клебсиелл у детей основной группы, с другой стороны, отражают становление собственных защитных сил у детей группы сравнения. Вероятно,

целесообразно пролонгирование применения пробиотика с целью дальнейшего сдерживания роста количества патогенных клебсиелл.

Исследование чувствительности клинических штаммов клебсиелл к шести тестируемым бактериофагам в исследовании 1 (клебсиеллезному, интести-бактериофагу, колипротейному, пиобактериофагу, пиополи-бактериофагу, секста-бактериофагу) не выявило достоверных различий в основной группе и группе сравнения, однако, показало, что средняя чувствительность к бактериофагам в основной группе ($83,1 \pm 7,0\%$) была достоверно выше, чем в группе сравнения ($38,3 \pm 9,5\%$; $p < 0,001$).

В исследовании 2 средняя чувствительность к бактериофагам в основной группе составила $78,0 \pm 7,7\%$, что было значительно выше, чем в группе сравнения $32,0 \pm 9,1\%$ ($p < 0,001$); уровень чувствительности к тестируемым бактериофагам внутри наблюдаемых групп недоношенных детей достоверно не отличался.

В исследовании 3 средняя чувствительность к бактериофагам в основной группе сохранялась на высоком уровне и составила $89,0 \pm 5,8\%$, что было значимо выше, чем в группе сравнения $43,0 \pm 9,7\%$ ($p < 0,001$); уровень чувствительности к тестируемым бактериофагам в основной группе достоверно не отличался; в группе сравнения была выявлена достоверно высокая чувствительность ($p < 0,05$) клебсиелл к пиобактериофагу ($65,0 \pm 9,4\%$) по сравнению с таковой к интести-бактериофагу ($30,0 \pm 9,0\%$) и колипротейному бактериофагу ($30,0 \pm 9,0\%$).

Результаты оценки чувствительности к бактериофагам клинических изолятов клебсиелл недоношенных детей основной группы и группы сравнения в динамике наблюдения подтверждают результаты оценки чувствительности клебсиелл к антибиотикам и позволяют сделать вывод о снижении количества устойчивых к антибиотикам и фагам изолятов клебсиелл, выделенных из фекалий недоношенных детей, получавших пробиотический штамм *E. faecium* L3 в качестве дополнения к энтеральному питанию в период стационарного этапа выхаживания.

6.6. Результаты исследования микробиоты кишечника недоношенных детей с очень низкой массой тела, имевших эпизоды нарушения толерантности к пище в период стационарного этапа выхаживания

Ситуации нарушения толерантности к пище (так называемые «срывы питания») в период выхаживания недоношенных детей с ОНМТ характеризовались симптомами выраженного метеоризма, нарушения отхождения газов, беспокойства ребенка, задержкой стула. Указанные ситуации были причиной возвращения к полному парентеральному питанию, чем значительно деформировали программу выхаживания недоношенных детей.

Как было отмечено выше, эпизоды нарушения толерантности к пище («срывы питания») чаще отмечались у недоношенных детей группы сравнения, находившихся на стандартной программе выхаживания (у 38,5% детей), чем у детей основной группы, получавших дополнительно пробиотический штамм *E. faecium* L3 (у 20,7%; $p > 0,05$).

Исследование изменений состава микробиоты кишечника в процессе выхаживания детей группы сравнения и основной группы, имевших и не имевших «срывы питания» (СП) выявило следующее. Общее бактериальное число, определяемое при исследовании фекалий методом ПЦР-РВ, имело выраженные колебания у недоношенных детей основной группы и группы сравнения, имевших СП. У детей основной группы, имевших СП, в периоде исследования 3 общее бактериальное число было достоверно ($p < 0,05$) максимальным (рис. 9), что было обусловлено достоверным ($p < 0,0001$) увеличением количества УПМ, а именно, *B. fragilis* в составе просветной микробиоты кишечника (рис. 10).

Изучение динамики индигенной кишечной микробиоты выявило следующее. У недоношенных детей группы сравнения, имевших СП, была отмечена диспропорция состава индигенной микробиоты по данным ПЦР-РВ – исходно достоверно высокое количество ($p < 0,05$) лактобацилл (рис. 11.) и низкое количество ($p > 0,05$) бифидобактерий (рис. 12.). В периоде 2 у детей данной группы, имевших СП, по данным бактериологического метода исследования было

установлено достоверно более низкое количество лактобацилл ($p < 0,05$) по сравнению с детьми без СП (рис. 13.).

У недоношенных детей основной группы, имевших СП, по данным бактериологического метода исследования было отмечено исходно достоверно низкое ($p < 0,05$) количество лактобацилл (рис. 13.) и низкое ($p < 0,0001$) количество бифидобактерий (рис. 14.). Полученные данные свидетельствуют о значении дефицита индигенной микробиоты в развитии эпизодов пищевой непереносимости у недоношенных детей с ОНМТ и сдерживающем влиянии использования пробиотического штамма *E. faecium* L3 в комплексной терапии на развитие дефицита лактобацилл.

Исследование динамики присутствия и количества *C. difficile* (рис. 15.) и клебсиелл (рис. 16.) при СП в наблюдаемых группах выявило более раннюю пролиферацию *C. difficile* (в исследовании 2) и более раннюю пролиферацию клебсиелл (в исследовании 1) у недоношенных детей группы сравнения по сравнению с основной группой, что, очевидно, имело влияние на увеличение частоты развития функциональных нарушений ЖКТ и возникновения эпизодов СП.

Таким образом, исследования микробиоты кишечника недоношенных детей, имевших эпизоды нарушения толерантности к пище в период стационарного этапа выхаживания, выявили недостаточность индигенной микробиоты, пролиферацию УПМ (*C. difficile* и *B. fragilis*) и положительное влияние на микробиоту использования пробиотического штамма *E. faecium* L3 в комплексной терапии недоношенных детей с ОНМТ.

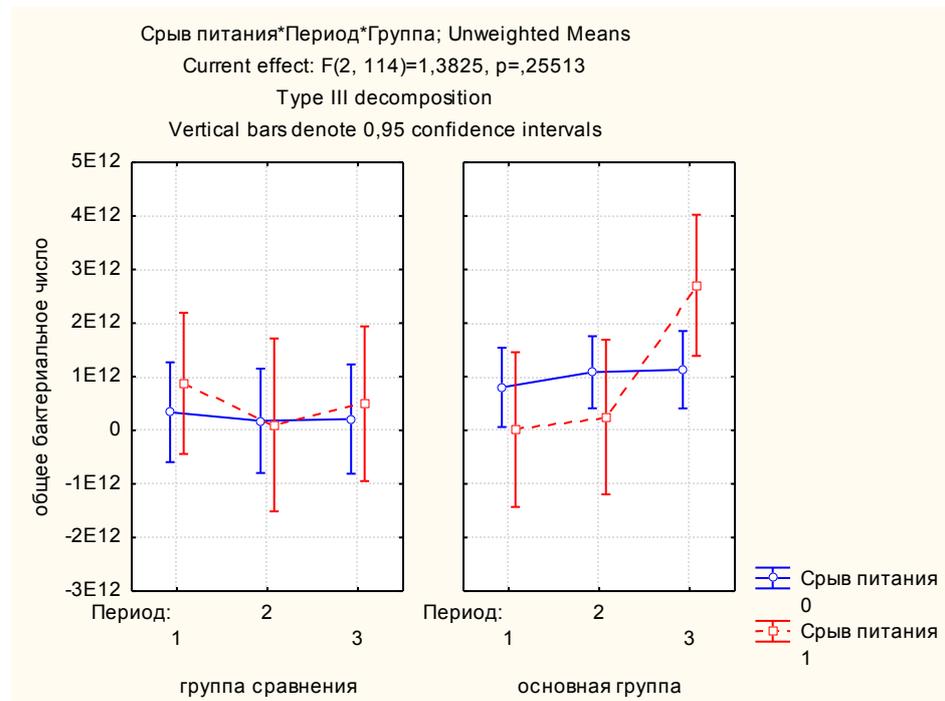


Рис. 9. Динамика общего бактериального числа (КОЕ/г) по данным исследования фекалий методом ПЦР-РВ у недоношенных группы сравнения и основной группы в исследованиях 1-2-3 в зависимости от наличия СП.

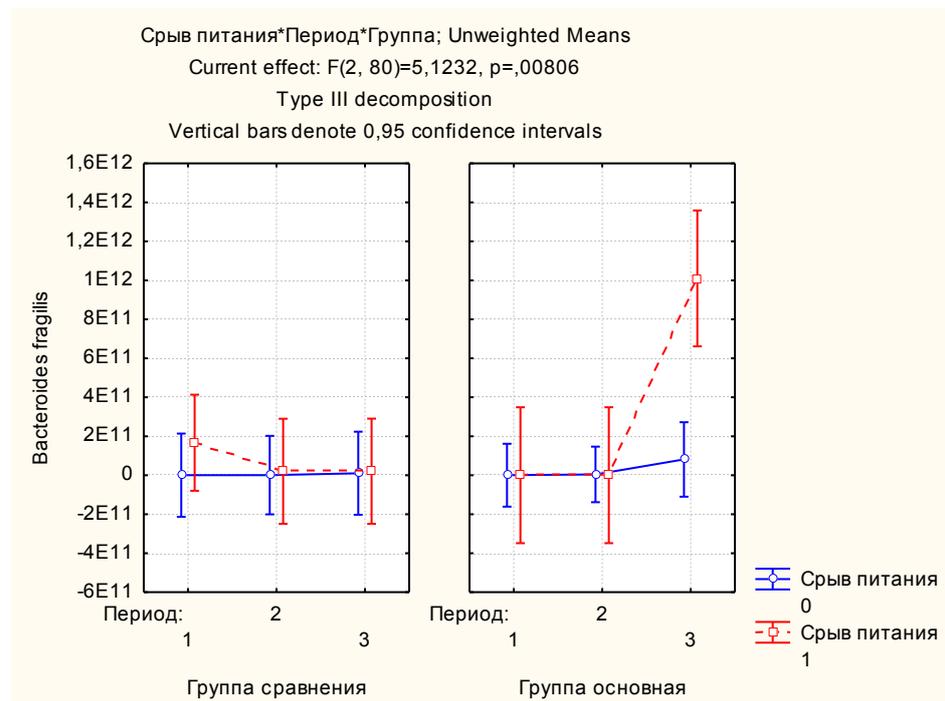


Рис. 10. Динамика количества *B. fragilis* (КОЕ/г) по данным исследования фекалий методом ПЦР-РВ у недоношенных группы сравнения и основной группы в исследованиях 1-2-3 в зависимости от наличия СП.

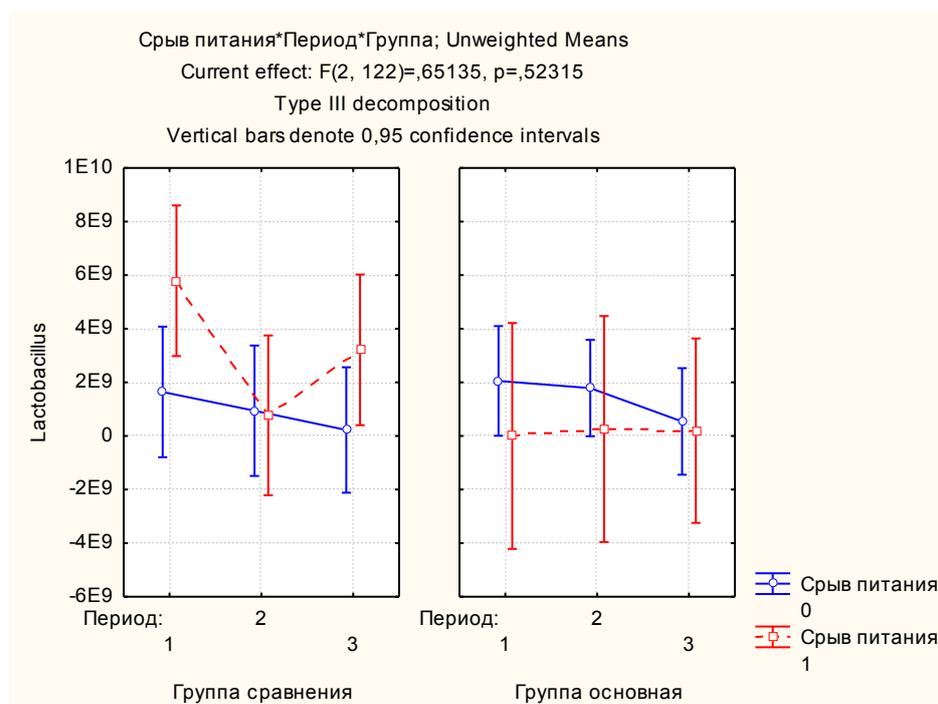


Рис. 11. Динамика количества лактобацилл (КОЕ/г) по данным исследования фекалий методом ПЦР-РВ у недоношенных группы сравнения и основной группы в исследованиях 1-2-3 в зависимости от наличия СП.

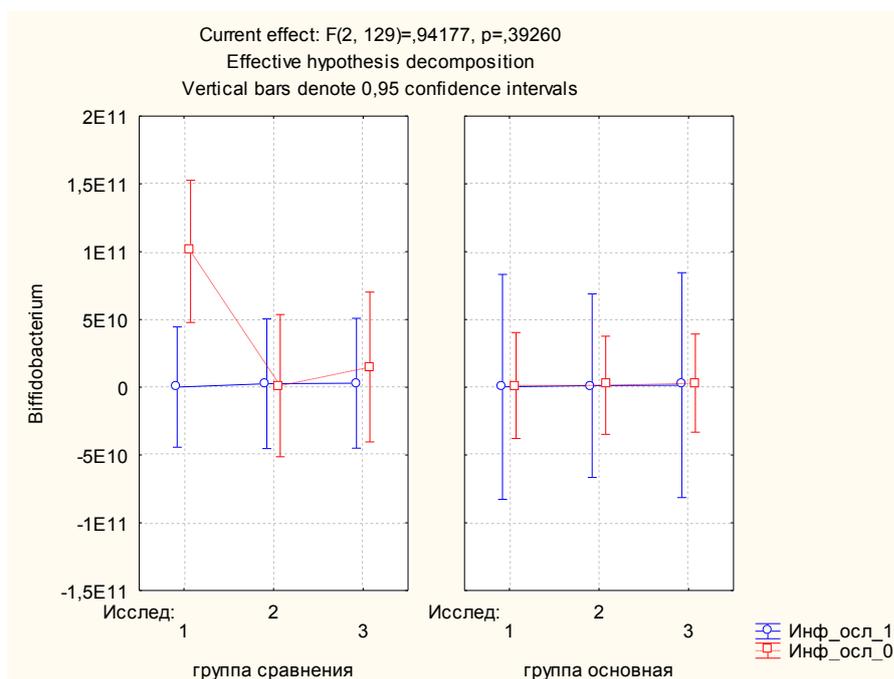


Рис. 12. Динамика количества бифидобактерий (КОЕ/г) по данным исследования фекалий методом ПЦР-РВ у недоношенных группы сравнения и основной группы в исследованиях 1-2-3 в зависимости от наличия СП.

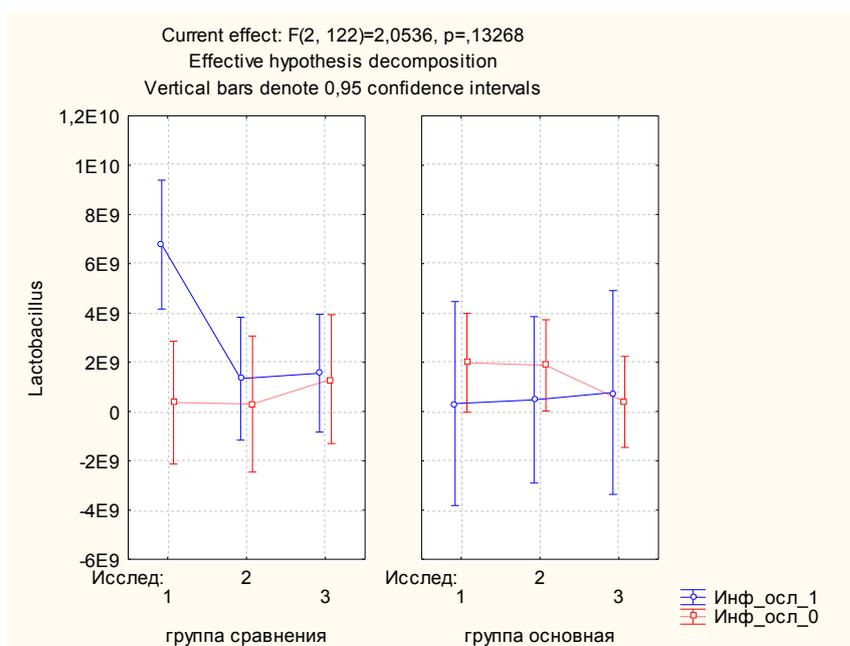


Рис. 13. Динамика количества лактобацилл (КОЕ/г) по данным исследования фекалий бактериологическим методом у недоношенных группы сравнения и основной в исследованиях 1-2-3 в зависимости от наличия СП.

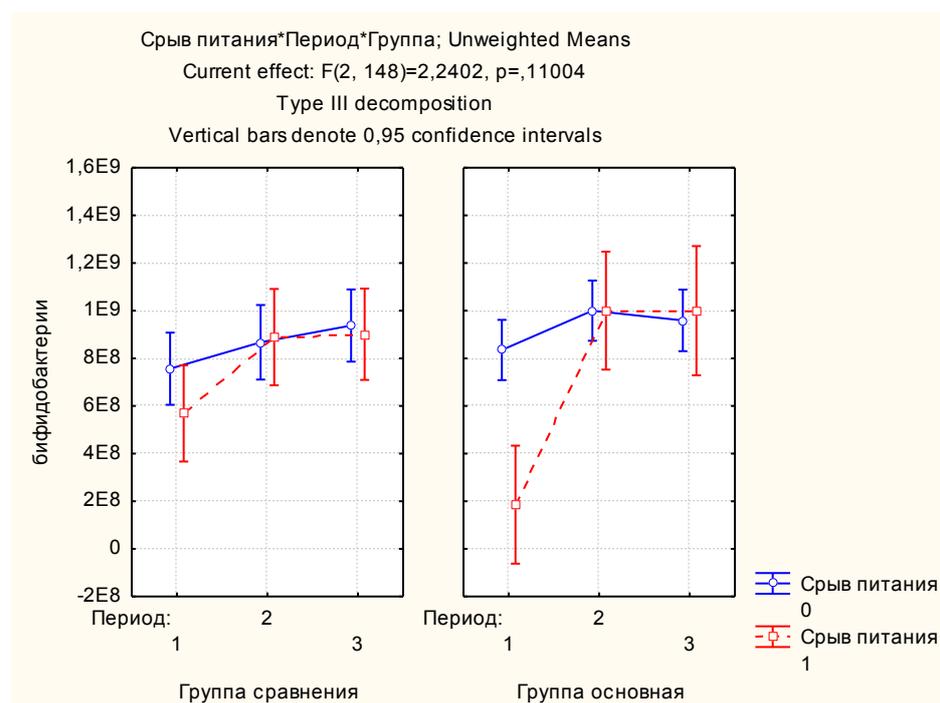


Рис. 14. Динамика количества бифидобактерий (КОЕ/г) по данным исследования фекалий бактериологическим методом у недоношенных группы сравнения и основной в исследованиях 1-2-3 в зависимости от наличия СП.

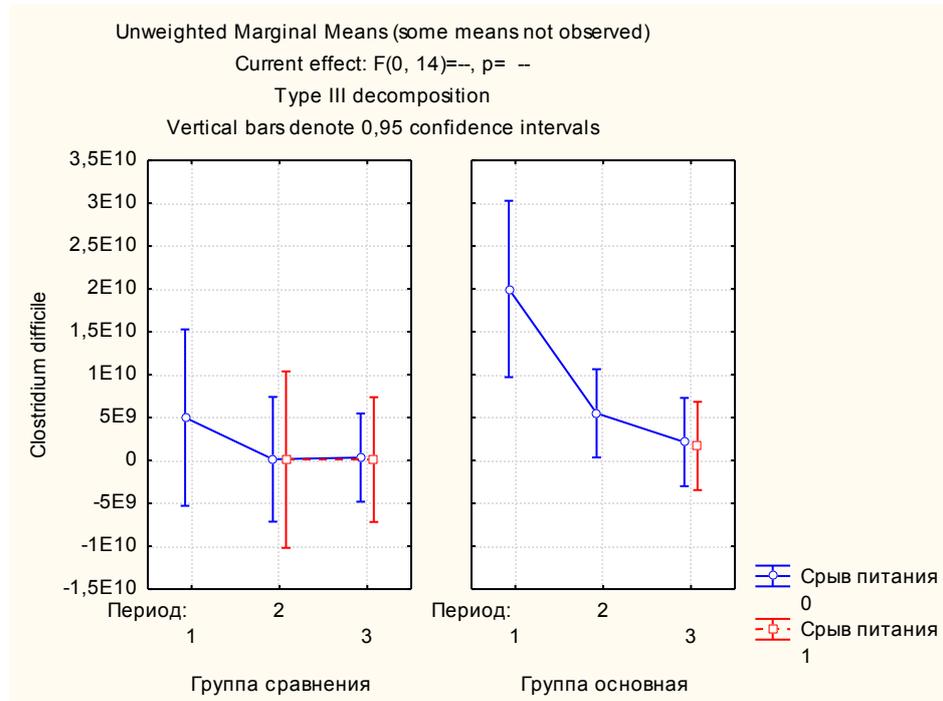


Рис. 15. Динамика количества *C. difficile* (КОЕ/г) по данным исследования фекалий методом ПЦР-РВ у недоношенных группы сравнения и основной группы в исследованиях 1-2-3 в зависимости от наличия СП.

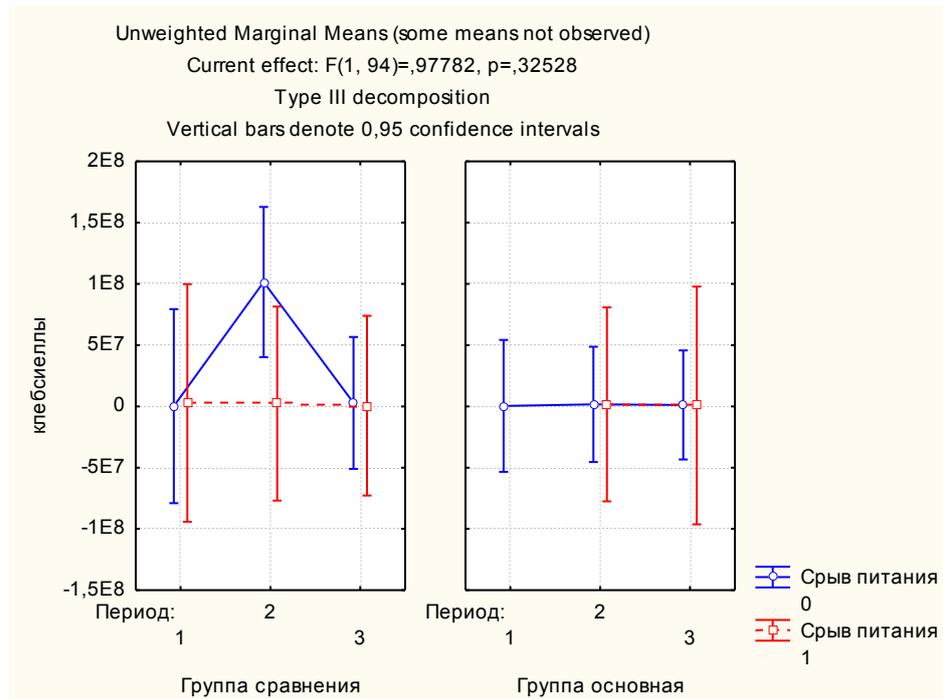


Рис. 16. Динамика количества клебсиелл (КОЕ/г) по данным исследования фекалий бактериологическим методом у недоношенных группы сравнения и основной группы в исследованиях 1-2-3 в зависимости от наличия СП.

6.7. Результаты исследования микробиоты кишечника недоношенных детей с очень низкой массой тела, имевших инфекционные осложнения в период стационарного этапа выхаживания

К признакам, характерным для неблагоприятного течения выхаживания недоношенных детей с ОНМТ, относили развитие инфекционных осложнений: внутриутробную инфекцию (ВУИ), внутриамниотическую инфекцию (ВАИ), некротический энтероколит (НЭК). В процессе наблюдения и выхаживания 55 глубоконедоношенных детей диагностировали ВУИ у 9 (16,4%), ВАИ у 10 (18,2%), НЭК – у 2 (3,6%). Сравнение частоты указанной патологии в наблюдаемых группах недоношенных детей (таблица 6.3.) выявило достоверно более высокую частоту ($p < 0,05$) формирования инфекционных осложнений у пациентов группы сравнения – 14 (53,8%), против 6 (20,7%) у пациентов основной группы, получавших пробиотический штамм *E. faecium* L3 дополнительно к стандартной терапии.

Исследование изменений состава микробиоты кишечника в процессе выхаживания детей группы сравнения и основной группы, разделенных на подгруппы в зависимости от наличия/отсутствия инфекционных осложнений (ИО) выявило следующее. Общее бактериальное число, определяемое методом ПЦР-РВ, имело выраженные колебания и не отличалось у недоношенных детей основной группы и группы сравнения с ИО и без таковых (таблица 6.10). Изменения индигенной микробиоты кишечника в процессе наблюдения у детей группы сравнения, не имевших ИО, характеризовались достоверно более высоким исходным количеством бифидобактерий ($p_{1-2} < 0,01$; $p_{1-3} < 0,05$), определяемым методом ПЦР-РВ (рис. 17.). В то же время, было отмечено достоверно более низкое исходное количество бифидобактерий, определяемое бактериологическим методом (рис. 18., таблица 6.11), у недоношенных детей основной группы, имевших ИО ($p_{1-2} < 0,05$) и не имевших ИО, и нарастание их количества в исследованиях 2-3 ($p_{1-2} < 0,01$; $p_{1-3} < 0,05$). Выявленные изменения количества бифидобактерий в динамике наблюдения, свидетельствуют об их устойчивости патологическим воздействиям у недоношенных детей.

Таблица 6.10.

Динамика состава микробиоты кишечника у недоношенных детей с ОНМТ по данным исследования фекалий методом ПЦР-РВ в зависимости от наличия инфекционных осложнений и программ терапии

Качественные показатели	Количественные показатели (КОЕ/г; Med(Qн-Qв)/число исследований)			Уровень значимости различий
	Исследование 1*	Исследование 2*	Исследование 3*	
Основная группа (отсутствие ИО, n=23)				
ОБЧ	$\frac{1,0 \times 10^{10}}{(1,0 \times 10^9 - 2,0 \times 10^{11})/19}$	$\frac{2,0 \times 10^{11}}{(6,0 \times 10^{10} - 8,0 \times 10^{11})/22}$	$\frac{3,0 \times 10^{11}}{(3,0 \times 10^{10} - 3,0 \times 10^{12})/21}$	p>0,05
<i>Lactobacillus</i>	$\frac{6,0 \times 10^7}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^9)/17}$	$\frac{6,5 \times 10^7}{(2,5 \times 10^7 - 3,5 \times 10^8)/20}$	$\frac{1,0 \times 10^8}{(5,5 \times 10^6 - 4,0 \times 10^8)/20}$	p>0,05
<i>Bifidobacterium</i>	$\frac{1,0 \times 10^7}{(5,0 \times 10^6 - 7,0 \times 10^8)/18}$	$\frac{2,0 \times 10^8}{(7,0 \times 10^6 - 2,0 \times 10^9)/21}$	$\frac{5,0 \times 10^7}{(2,0 \times 10^7 - 3,0 \times 10^8)/21}$	p>0,05
<i>B. fragilis</i>	$\frac{1,0 \times 10^8}{(1,0 \times 10^3 - 5,0 \times 10^8)/12}$	$\frac{1,5 \times 10^8}{(2,0 \times 10^7 - 9,0 \times 10^8)/16}$	$\frac{4,0 \times 10^8}{(1,0 \times 10^8 - 6,0 \times 10^9)/10}$	p>0,05
<i>C. difficile</i>	$\frac{2,0 \times 10^{10}}{(2,0 \times 10^{10} - 2,0 \times 10^{10})/1}$	$\frac{1,0 \times 10^9}{(5,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^{10})/4}$	$\frac{5,0 \times 10^8}{(3,0 \times 10^8 - 5,0 \times 10^9)/7}$	p₁₋₂<0,05 p₁₋₃<0,01
<i>Enterococcus</i>	$\frac{7,0 \times 10^9}{(1,0 \times 10^9 - 2,0 \times 10^{10})/14}$	$\frac{1,0 \times 10^{10}}{(1,0 \times 10^9 - 4,5 \times 10^{10})/20}$	$\frac{5,0 \times 10^9}{(2,0 \times 10^9 - 2,0 \times 10^{10})/18}$	p>0,05
Общее количество <i>E. coli</i>	$\frac{5,0 \times 10^5}{(1,0 \times 10^3 - 7,0 \times 10^6)/18}$	$\frac{3,0 \times 10^9}{(1,0 \times 10^7 - 2,0 \times 10^{11})/21}$	$\frac{2,0 \times 10^{10}}{(1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^{11})/21}$	p>0,05
Основная группа (наличие ИО, n=6)				
ОБЧ	$\frac{3,0 \times 10^{10}}{(1,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^{11})/5}$	$\frac{6,0 \times 10^{11}}{(3,0 \times 10^{11} - 1,0 \times 10^{12})/6}$	$\frac{4,0 \times 10^{11}}{(6,0 \times 10^{10} - 2,0 \times 10^{12})/5}$	p>0,05
<i>Lactobacillus</i>	$\frac{2,5 \times 10^8}{(1,0 \times 10^3 - 6,5 \times 10^8)/4}$	$\frac{4,3 \times 10^8}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^9)/6}$	$\frac{5,5 \times 10^8}{(5,0 \times 10^7 - 1,5 \times 10^9)/4}$	p>0,05
<i>Bifidobacterium</i>	$\frac{3,5 \times 10^8}{(2,0 \times 10^8 - 4,5 \times 10^9)/4}$	$\frac{1,5 \times 10^8}{(3,0 \times 10^6 - 8,0 \times 10^8)/6}$	$\frac{9,0 \times 10^7}{(4,5 \times 10^7 - 3,1 \times 10^9)/4}$	p>0,05
<i>B. fragilis</i>	$\frac{5,5 \times 10^7}{(5,0 \times 10^6 - 5,5 \times 10^8)/4}$	$\frac{4,0 \times 10^7}{(1,0 \times 10^3 - 4,0 \times 10^7)/5}$	$\frac{1,5 \times 10^{12}}{(3,0 \times 10^9 - 3,0 \times 10^{12})/2}$	p₁₋₂<0,0000001 p₁₋₃<0,0000001
<i>C. difficile</i>	-	-	$\frac{1,0 \times 10^8}{(1,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^8)/1}$	p>0,05
<i>Enterococcus</i>	$\frac{9,0 \times 10^9}{(6,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^{10})/3}$	$\frac{7,5 \times 10^{10}}{(5,0 \times 10^9 - 3,0 \times 10^{11})/6}$	$\frac{1,2 \times 10^{10}}{(2,5 \times 10^9 - 1,6 \times 10^{11})/4}$	p₁₋₂<0,05
Общее количество <i>E. coli</i>	$\frac{5,1 \times 10^7}{(9,0 \times 10^5 - 1,5 \times 10^8)/4}$	$\frac{3,0 \times 10^7}{(1,0 \times 10^3 - 5,0 \times 10^8)/6}$	$\frac{2,0 \times 10^{11}}{(5,0 \times 10^6 - 7,0 \times 10^{11})/4}$	p>0,05
Группа сравнения (отсутствие ИО, n=12)				
Общее бактериальное число	$\frac{1,0 \times 10^{10}}{(6,0 \times 10^9 - 3,0 \times 10^{11})/7}$	$\frac{1,1 \times 10^{11}}{(7,0 \times 10^9 - 3,0 \times 10^{11})/6}$	$\frac{3,0 \times 10^{11}}{(2,0 \times 10^{11} - 3,0 \times 10^{11})/5}$	p>0,05
<i>Lactobacillus</i>	$\frac{1,0 \times 10^8}{(1,0 \times 10^6 - 7,0 \times 10^8)/11}$	$\frac{2,0 \times 10^8}{(4,0 \times 10^7 - 3,0 \times 10^8)/9}$	$\frac{3,5 \times 10^8}{(2,0 \times 10^8 - 2,0 \times 10^9)/10}$	p>0,05
<i>Bifidobacterium</i>	$\frac{2,5 \times 10^8}{(3,0 \times 10^6 - 5,0 \times 10^8)/10}$	$\frac{4,9 \times 10^6}{(5,0 \times 10^5 - 6,0 \times 10^8)/10}$	$\frac{7,0 \times 10^7}{(3,0 \times 10^7 - 2,0 \times 10^{10})/9}$	p₁₋₂<0,01 p₁₋₃<0,05
<i>B. fragilis</i>	$\frac{5,0 \times 10^7}{(5,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^9)/7}$	$\frac{2,0 \times 10^7}{(1,0 \times 10^6 - 2,0 \times 10^8)/7}$	$\frac{1,0 \times 10^7}{(2,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^7)/5}$	p>0,05
<i>C. difficile</i>	$\frac{5,0 \times 10^9}{(5,0 \times 10^9 - 5,0 \times 10^9)/1}$	$\frac{1,4 \times 10^8}{(8,0 \times 10^7 - 2,0 \times 10^8)/2}$	$\frac{1,0 \times 10^8}{(5,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9)/3}$	p>0,05

<i>Enterococcus</i>	$\frac{7,0 \times 10^9}{(1,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^{10})/6}$	$\frac{7,0 \times 10^9}{(3,0 \times 10^9 - 3,0 \times 10^{10})/7}$	$\frac{4,0 \times 10^7}{(1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^{11})/7}$	p>0,05
Общее количество <i>E. coli</i>	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^8)/11}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^{10})/10}$	$\frac{7,0 \times 10^5}{(1,0 \times 10^3 - 4,0 \times 10^{10})/10}$	p>0,05
Группа сравнения (наличие ИО, n=14)				
Общее бактериальное число	$\frac{5,0 \times 10^{10}}{(1,0 \times 10^{10} - 5,0 \times 10^{11})/11}$	$\frac{1,0 \times 10^{11}}{(8,0 \times 10^9 - 3,0 \times 10^{11})/9}$	$\frac{1,0 \times 10^{11}}{(8,0 \times 10^{10} - 3,0 \times 10^{11})/10}$	p>0,05
<i>Lactobacillus</i>	$\frac{3,5 \times 10^9}{(1,0 \times 10^6 - 6,0 \times 10^9)/10}$	$\frac{8,0 \times 10^8}{(2,0 \times 10^8 - 2,0 \times 10^9)/11}$	$\frac{2,0 \times 10^8}{(2,9 \times 10^7 - 8,5 \times 10^8)/12}$	p₁₋₂<0,01 p₁₋₃<0,01
<i>Bifidobacterium</i>	$\frac{4,0 \times 10^7}{(1,0 \times 10^7 - 7,0 \times 10^7)/14}$	$\frac{5,0 \times 10^7}{(1,5 \times 10^7 - 3,0 \times 10^8)/12}$	$\frac{4,0 \times 10^8}{(4,0 \times 10^7 - 1,9 \times 10^9)/12}$	p>0,05
<i>B. fragilis</i>	$\frac{4,0 \times 10^7}{(1,0 \times 10^7 - 3,0 \times 10^8)/7}$	$\frac{2,0 \times 10^8}{(5,0 \times 10^7 - 3,0 \times 10^8)/7}$	$\frac{2,0 \times 10^8}{(5,5 \times 10^7 - 2,1 \times 10^{10})/7}$	p>0,05
<i>C. difficile</i>	-	$\frac{1,0 \times 10^8}{(1,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^8)/1}$	$\frac{1,0 \times 10^8}{(1,0 \times 10^8 - 2,0 \times 10^8)/3}$	p>0,05
<i>Enterococcus</i>	$\frac{1,0 \times 10^{10}}{(8,0 \times 10^9 - 3,0 \times 10^{10})/7}$	$\frac{1,4 \times 10^{10}}{(2,0 \times 10^9 - 7,0 \times 10^{10})/10}$	$\frac{2,0 \times 10^{10}}{(1,0 \times 10^{10} - 5,0 \times 10^{10})/9}$	p>0,05
Общее количество <i>E. coli</i>	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^7)/14}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^3 - 4,0 \times 10^7)/13}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^3 - 4,0 \times 10^{10})/13}$	p>0,05

*Исследование 1 – при поступлении. *Исследование 2 – через 14 дней.

*Исследование 3 – через 28 дней.

Таблица 6.11.

Динамика состава микробиоты кишечника у недоношенных детей основной группы по данным бактериологического исследования фекалий в зависимости от наличия инфекционных осложнений и программ терапии

Качественные показатели	Количественные показатели (КОЕ/г; Med(Qн-Qв)/число исследований			Уровень значимости различий
	Исследование 1*	Исследование 2*	Исследование 3*	
Основная группа (Отсутствие ИО, n=23)				
<i>Bifidobacterium</i>	$\frac{1,0 \times 10^9}{(1,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^9)/23}$	$\frac{1,0 \times 10^9}{(1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9)/23}$	$\frac{1,0 \times 10^9}{(1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9)/20}$	p₁₋₂<0,01 p₁₋₃<0,05
<i>Lactobacillus</i>	$\frac{1,0 \times 10^9}{(1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9)/23}$	$\frac{1,0 \times 10^9}{(1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9)/23}$	$\frac{1,0 \times 10^9}{(1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9)/21}$	p>0,05
Общее количество <i>E. coli</i>	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6)/11}$	$\frac{5,5 \times 10^5}{(5,5 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6)/16}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/17}$	p>0,05
<i>E. coli</i> с неизменными свойствами	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6)/10}$	$\frac{5,5 \times 10^5}{(1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6)/12}$	$\frac{1,0 \times 10^5}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^6)/11}$	p>0,05
<i>E. coli</i> сахаропозитивная	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^6)/1}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^6)/2}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^6)/4}$	p>0,05
<i>E. coli</i> гемолитическая	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^6)/2}$	$\frac{5,5 \times 10^5}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/6}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^6)/3}$	p>0,05
Клебсиеллы	$\frac{1,0 \times 10^3}{(1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6)/11}$	$\frac{1,0 \times 10^3}{(1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6)/18}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/18}$	p>0,05

Другие условно-патогенные микроорганизмы	$1,0 \times 10^3$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^3$)/1	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^5$) /5	$1,0 \times 10^3$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^5$)/6	p>0,05
<i>S. aureus</i>	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^6$)/3	$1,0 \times 10^4$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^4$) /2	$5,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^6$)/2	p>0,05
<i>Enterococcus</i>	$1,0 \times 10^3$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$)/23	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$) /22	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)/21	p>0,05
Грибы р. <i>Candida</i>	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^6$)/3	$1,0 \times 10^3$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^3$) /5	$5,5 \times 10^3$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^4$)/2	p>0,05
Основная группа (Наличие ИО, n=6)				
<i>Bifidobacterium</i>	$5,5 \times 10^8$ ($1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^9$)/6	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$)/6	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$)/6	p₁₋₂<0,05 p₁₋₃<0,05
<i>Lactobacillus</i>	$5,0 \times 10^8$ ($1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^9$)/6	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^7$)/6	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$)/6	p>0,05
Общее количество <i>E. coli</i>	$1,0 \times 10^5$ ($5,1 \times 10^4 - 5,5 \times 10^5$)/4	$5,5 \times 10^4$ ($5,5 \times 10^3 - 5,5 \times 10^5$)/4	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^6$)/6	p>0,05
<i>E. coli</i> с неизменными свойствами	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^5$)/1	$5,1 \times 10^5$ ($5,5 \times 10^3 - 1,0 \times 10^6$)/4	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^6$)/3	p>0,05
<i>E. coli</i> сахаропозитивная	$1,0 \times 10^3$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^3$)/2	-	-	p>0,05
<i>E. coli</i> гемолитическая	-	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^6$)/1	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^5$)/1	p>0,05
Клебсиеллы	$5,0 \times 10^3$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^6$)/2	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^6$)/5	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^6$)/5	p>0,05
Другие условно-патогенные микроорганизмы	-	$1,0 \times 10^3$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^3$)/1	-	p>0,05
<i>S. aureus</i>	-	$1,0 \times 10^4$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^4$)/1	-	p>0,05
<i>Enterococcus</i>	$1,0 \times 10^3$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^6$)/6	$1,0 \times 10^3$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^5$)/6	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$)/6	p>0,05
Грибы р. <i>Candida</i>	-	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^5$)/1	-	p>0,05
Группа сравнения (Отсутствие ИО, n=12)				
<i>Bifidobacterium</i>	$1,0 \times 10^9$ ($5,5 \times 10^8 - 1,0 \times 10^9$) /12	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$) /10	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$) /12	p>0,05
<i>Lactobacillus</i>	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9$) /12	$5,5 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^9$) /10	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9$) /12	p>0,05
Общее количество <i>E. coli</i>	$5,5 \times 10^5$ ($5,1 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$)/8	$5,5 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)/8	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$) /11	p>0,05
<i>E. coli</i> с неизменными свойствами	$1,0 \times 10^6$ ($5,5 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)/4	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)/5	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$)/8	p>0,05
<i>E. coli</i> сахаропозитивная	$1,0 \times 10^3$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^3$)/2	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^6$)/1	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^6$)/1	p>0,05
<i>E. coli</i> гемолитическая	$5,1 \times 10^4$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^5$)/2	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^6$)/1	$1,0 \times 10^6$ ($5,5 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)/4	p>0,05
Клебсиеллы	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)/5	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^7$)/7	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$)/9	p₁₋₂<0,05
Другие условно-	$5,1 \times 10^4$	$1,0 \times 10^3$	$5,5 \times 10^3$	p>0,05

патогенные микроорганизмы	$(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^5)/2$	$(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^3)/1$	$(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^4)/2$	
<i>S. aureus</i>	$\frac{1,0 \times 10^5}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^5)/1}$	$\frac{1,0 \times 10^5}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^5)/1}$	$\frac{1,0 \times 10^5}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^5)/3}$	p>0,05
<i>Enterococcus</i>	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/11}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/10}$	$\frac{1,0 \times 10^5}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/11}$	p>0,05
Грибы р. <i>Candida</i>	$\frac{1,0 \times 10^3}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^3)/1}$	$\frac{1,0 \times 10^5}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^5)/1}$	$\frac{5,1 \times 10^4}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^5)/2}$	p>0,05
Группа сравнения (Наличие ИО, n=14)				
<i>Bifidobacterium</i>	$\frac{1,0 \times 10^9}{(1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9)/13}$	$\frac{1,0 \times 10^9}{(1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9)/14}$	$\frac{1,0 \times 10^9}{(1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9)/14}$	p₁₋₂<0,05
<i>Lactobacillus</i>	$\frac{1,0 \times 10^7}{(1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^9)/13}$	$\frac{1,0 \times 10^9}{(1,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^9)/14}$	$\frac{1,0 \times 10^9}{(1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9)/14}$	p₁₋₂<0,05
Общее количество <i>E. coli</i>	$\frac{1,0 \times 10^4}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^5)/9}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/11}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/13}$	p₁₋₂<0,05 p₁₋₃<0,01
<i>E. coli</i> с неизменными свойствами	$\frac{1,0 \times 10^5}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/3}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/7}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^6)/9}$	p₁₋₂<0,05
<i>E. coli</i> сахаропозитивная	$\frac{5,5 \times 10^3}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^4)/2}$	$\frac{1,0 \times 10^5}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^5)/1}$	$\frac{5,1 \times 10^6}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^7)/2}$	p>0,05
<i>E. coli</i> гемолитическая	$\frac{5,5 \times 10^4}{(1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^5)/2}$	$\frac{1,0 \times 10^5}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^5)/2}$	$\frac{1,0 \times 10^5}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^7)/3}$	p>0,05
Клебсиеллы	$\frac{1,0 \times 10^5}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^5)/5}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^6)/9}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/11}$	p>0,05
Другие условно-патогенные микроорганизмы	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^6)/1}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^6)/3}$	$\frac{1,0 \times 10^5}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^5)/1}$	p>0,05
<i>S. aureus</i>	-	$\frac{1,0 \times 10^3}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^3)/1}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^5)/2}$	p>0,05
<i>Enterococcus</i>	$\frac{1,0 \times 10^5}{(1,0 \times 10^4 - 5,5 \times 10^6)/12}$	$\frac{5,5 \times 10^5}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/14}$	$\frac{5,5 \times 10^5}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/14}$	p>0,05
Грибы р. <i>Candida</i>	$\frac{1,0 \times 10^5}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^5)/1}$	$\frac{1,0 \times 10^3}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^3)/1}$	-	p>0,05

*Исследование 1 – при поступлении. *Исследование 2 – через 14 дней.
*Исследование 3 – через 28 дней.

Изучение изменения количества лактобацилл, определяемого методом ПЦР-РВ, у детей группы сравнения, имевших ИО, выявило достоверно высокое исходное их количество ($p_{1-2}, p_{1-3} < 0,01$) и отсутствие такового у детей без ИО (рис. 19.). При этом сравнение количества лактобацилл, определяемого бактериологическим методом (рис. 20.), у детей основной группы, имевших и не имевших ИО, выявило достоверно низкое их количество в исследовании 2 при ИО ($p < 0,001$). Выявленные изменения позволяют предположить, что

лактобациллы глубоконедоношенных детей имеют сниженные антагонистические свойства.

Анализ изменений общего количества кишечной палочки по данным бактериологического метода у детей группы сравнения выявил достоверное нарастание их количества в динамике наблюдения при ИО ($p_{1-2} < 0,05$, $p_{1-3} < 0,01$). Отсутствие подобных изменений общего количества *E. coli* имело место у детей основной группы вне зависимости от ИО и у детей группы сравнения без ИО (рис. 21.). Динамика количества *E. coli* с неизменными свойствами (так называемой, нормальной) у недоношенных детей группы сравнения подтверждает сделанное заключение (рис. 22.): в исследовании 2 на фоне развития ИО у детей отмечено достоверно более высокое количество нормальной *E. coli*, чем без таковых ($p < 0,05$).

Изучение динамики количества энтерококков, определяемого методом ПЦР-РВ (рис. 23.), у детей основной группы, выявило достоверное его нарастание на фоне ИО в исследовании 2 по сравнению с исходным уровнем ($p_{1-2} < 0,05$) и более высокие их показатели при наличии у детей ИО по сравнению с таковыми без ИО ($p < 0,01$). Однако сравнение количества энтерококков в периоде 2 у детей группы сравнения и основной группы, имевших ИО, не выявило достоверных различий ($p = 0,26$), что указывает на отсутствие связи выявленных изменений с использованием пробиотического штамма *E. faecium* L3 у детей основной группы. При отсутствии ИО у детей наблюдаемых групп количество энтерококков не менялось во всех исследованиях (1-2-3). Надо отметить, что по данным бактериологического метода исследования в динамике наблюдения не было выявлено достоверных различий количества энтерококков в наблюдаемых группах детей, имевших и не имевших ИО.

Исследование динамики количества *B. fragilis* – микроорганизма, относящегося к УПМ, у глубоконедоношенных детей наблюдаемых групп в зависимости от ИО позволило установить достоверное его нарастание в исследовании 3 у детей основной группы с ИО ($p < 0,0001$) (рис. 24.).

Динамика количества *C. difficile* у детей основной группы, не имевших ИО, характеризовалась достоверным его снижением по сравнению с исходным уровнем ($p_{1-2} < 0,05$; $p_{1-3} < 0,01$) (рис. 25.).

Изменения количества клебсиелл у недоношенных детей с ИО в наблюдаемых группах в исследованиях 1-2-3 достоверно не отличались (рис. 26.). Напротив, у детей группы сравнения, не имевших ИО, отмечалось достоверное повышение количества клебсиелл в исследовании 2 ($p_{1-2} < 0,05$) и снижение в исследовании 3 ($p_{2-3} < 0,01$).

Динамика количества золотистого стафилококка отличалась отсутствием достоверной разницы у детей основной группы и группы сравнения, не имевших ИО (рис. 27.). При сравнении динамики количества данного микроорганизма у детей с ИО в наблюдаемых группах отмечено его «появление» в исследовании 2 у детей основной группы и группы сравнения и «сохранение» в исследовании 3 только у детей группы сравнения, что, очевидно, способствовало улучшению исходов в основной группе и было связано с использованием пробиотического штамма *E. faecium* L3 у детей основной группы. Анализ динамики количества другой УПМ в наблюдаемых группах выявил аналогичные изменения (рис. 28.).

Таким образом, исследования особенностей состава просветной кишечной микробиоты у глубоко недоношенных детей в зависимости от развития ИО и программ терапии выхаживания в стационаре позволили установить относительную сохранность бифидобактерий, лактобацилл, кишечной палочки и энтерококков, более выраженную на фоне использования пробиотического штамма *E. faecium* L3. Обнаружено достоверное нарастание УПМ на фоне развития ИО (*B. fragilis*) и сдерживание процессов ее пролиферации (*C. difficile*, *S. aureus*) под влиянием терапии с включением пробиотического штамма *E. faecium* L3.

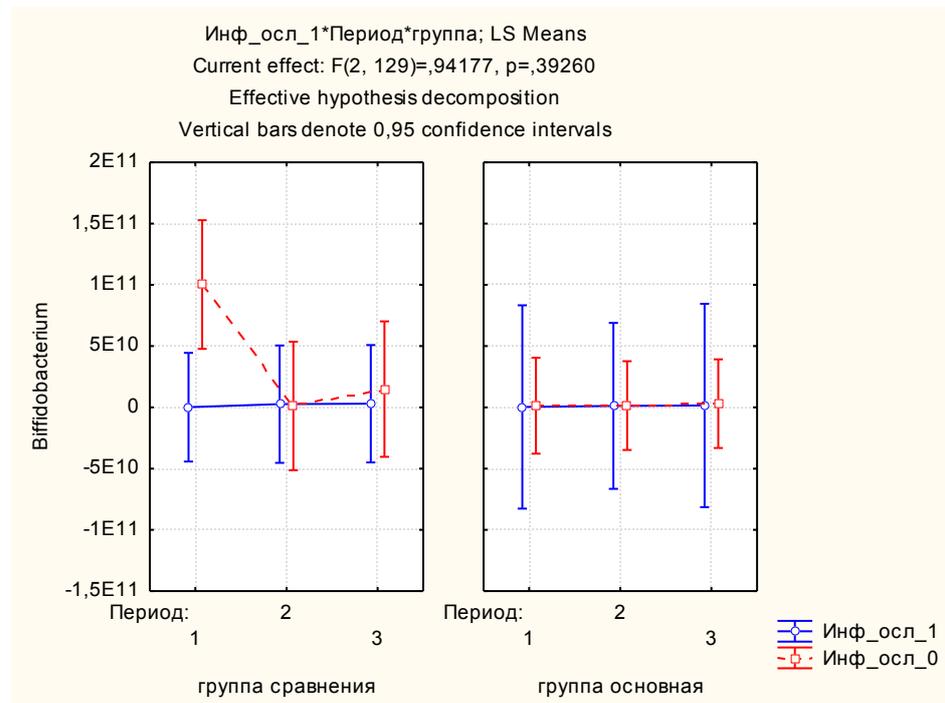


Рис. 17. Динамика количества бифидобактерий (КОЕ/г) по данным исследования фекалий методом ПЦР-РВ у недоношенных группы сравнения и основной группы в исследованиях 1-2-3 в зависимости от наличия ИО.

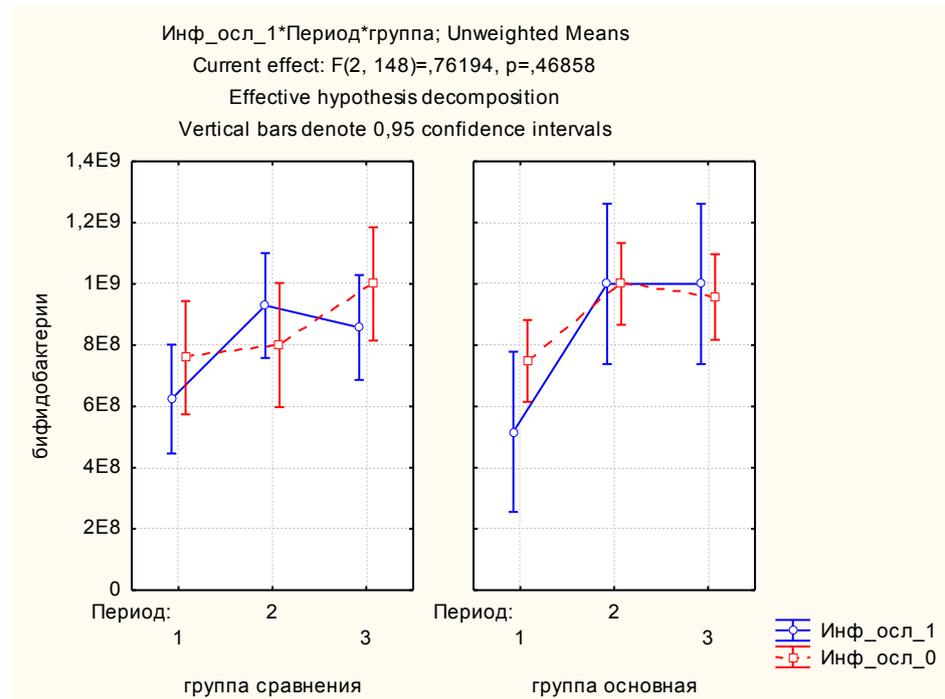


Рис. 18. Динамика количества бифидобактерий (КОЕ/г) по данным исследования фекалий бактериологическим методом у недоношенных группы сравнения и основной в исследованиях 1-2-3 в зависимости от наличия ИО.

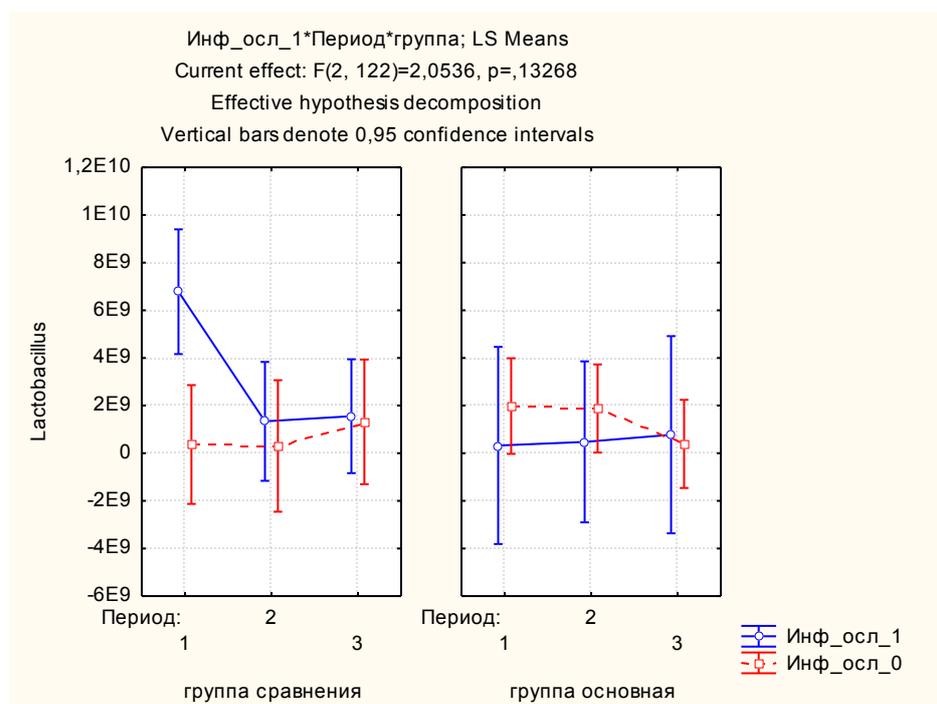


Рис. 19. Динамика количества лактобацилл (КОЕ/г) по данным исследования фекалий методом ПЦР-РВ у недоношенных группы сравнения и основной группы в исследованиях 1-2-3 в зависимости от наличия ИО.

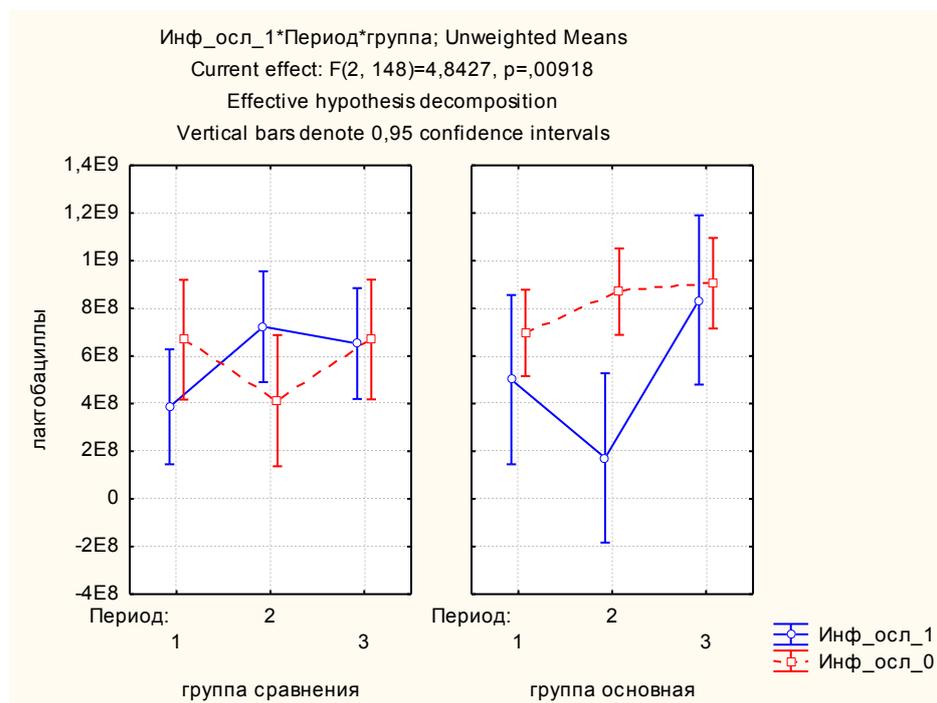


Рис. 20. Динамика количества лактобацилл (КОЕ/г) по данным исследования фекалий бактериологическим методом у недоношенных группы сравнения и основной в исследованиях 1-2-3 в зависимости от наличия ИО.

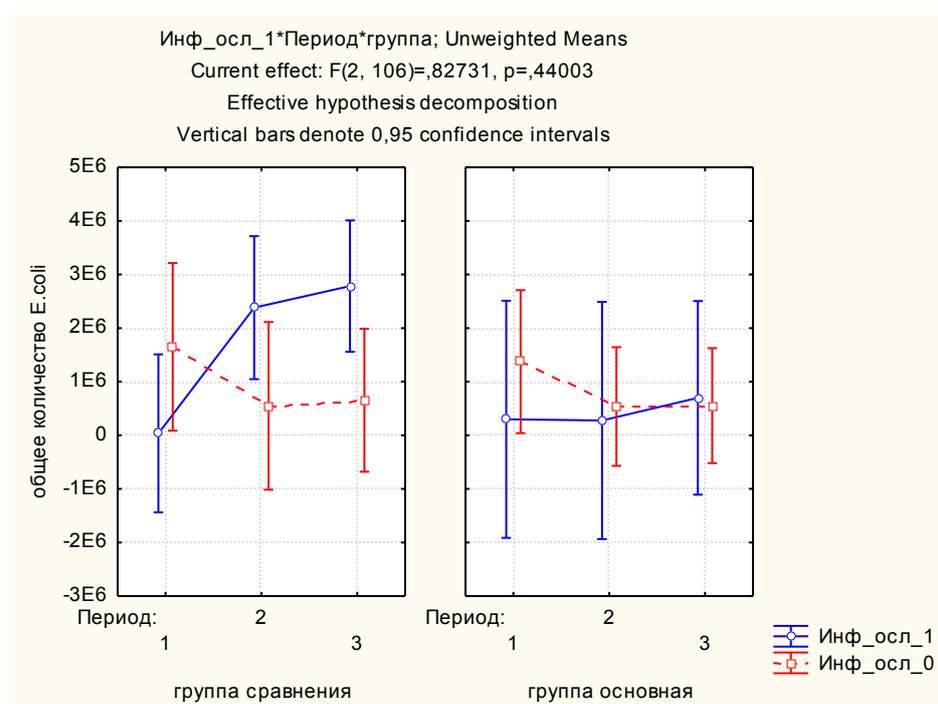


Рис. 21. Динамика общего количества *E. coli* (КОЕ/г) по данным исследования фекалий бактериологическим методом у недоношенных наблюдаемых групп в исследованиях 1-2-3 в зависимости от наличия ИО.

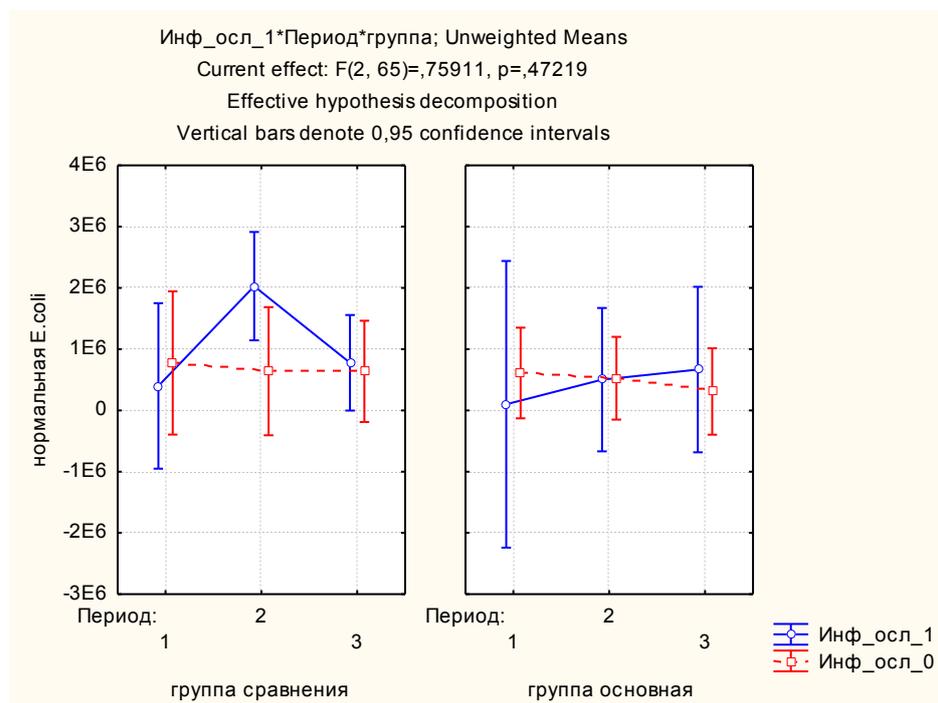


Рис. 22. Динамика количества нормальной *E. coli* (КОЕ/г) по данным исследования фекалий бактериологическим методом у недоношенных наблюдаемых групп в исследованиях 1-2-3 в зависимости от наличия ИО.

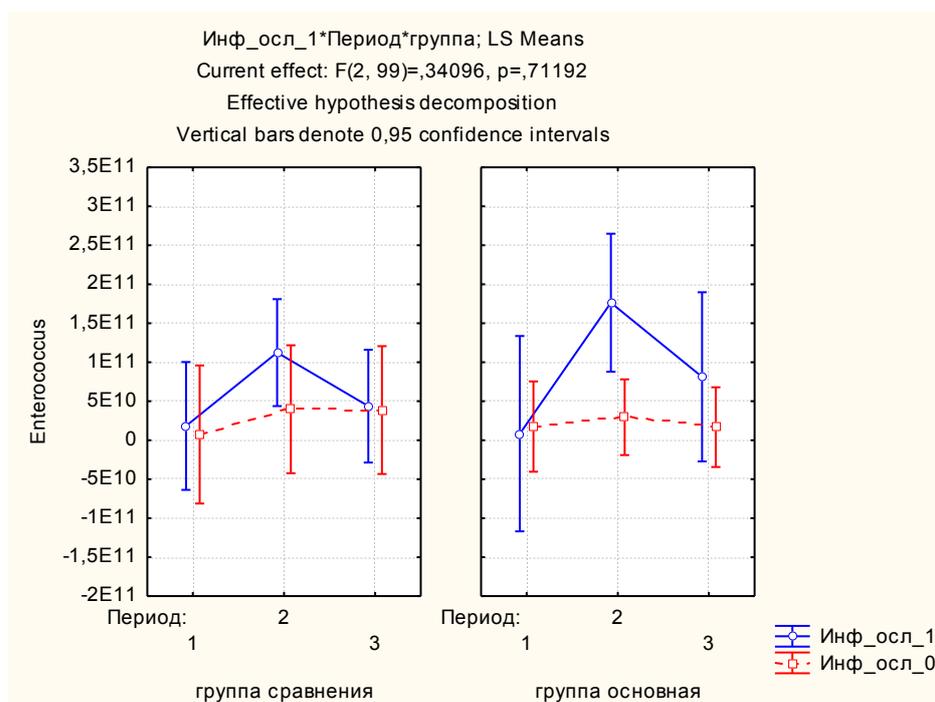


Рис. 23. Динамика количества энтерококка (КОЕ/г) по данным исследования фекалий методом ПЦР-РВ у недоношенных наблюдаемых групп в исследованиях 1-2-3 в зависимости от наличия ИО.

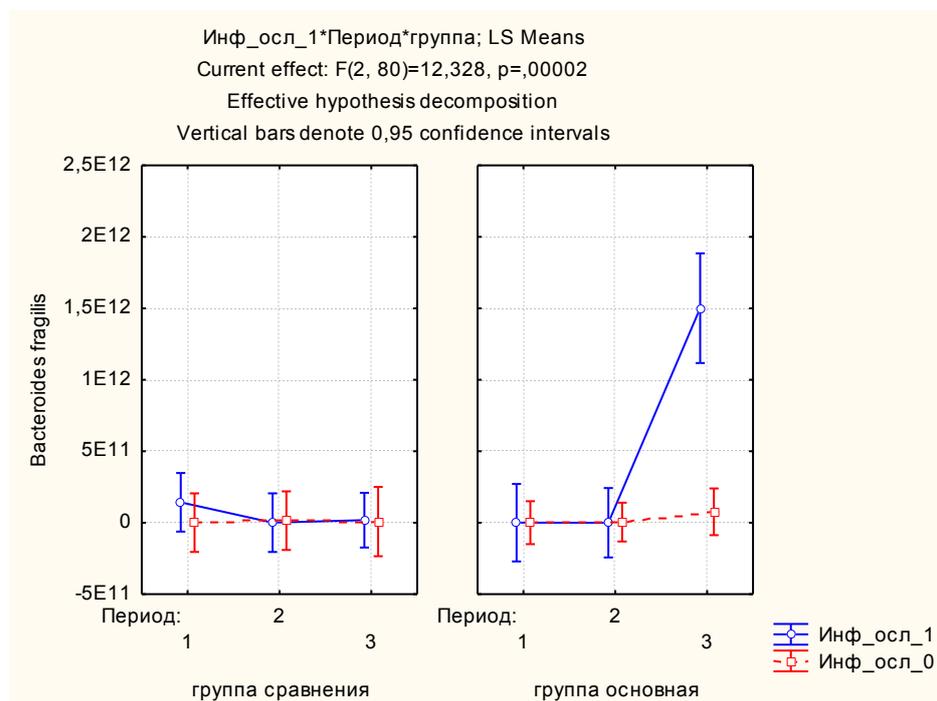


Рис. 24. Динамика количества *B. fragilis* (КОЕ/г) по данным исследования фекалий методом ПЦР-РВ у недоношенных наблюдаемых групп в исследованиях 1-2-3 в зависимости от наличия ИО.

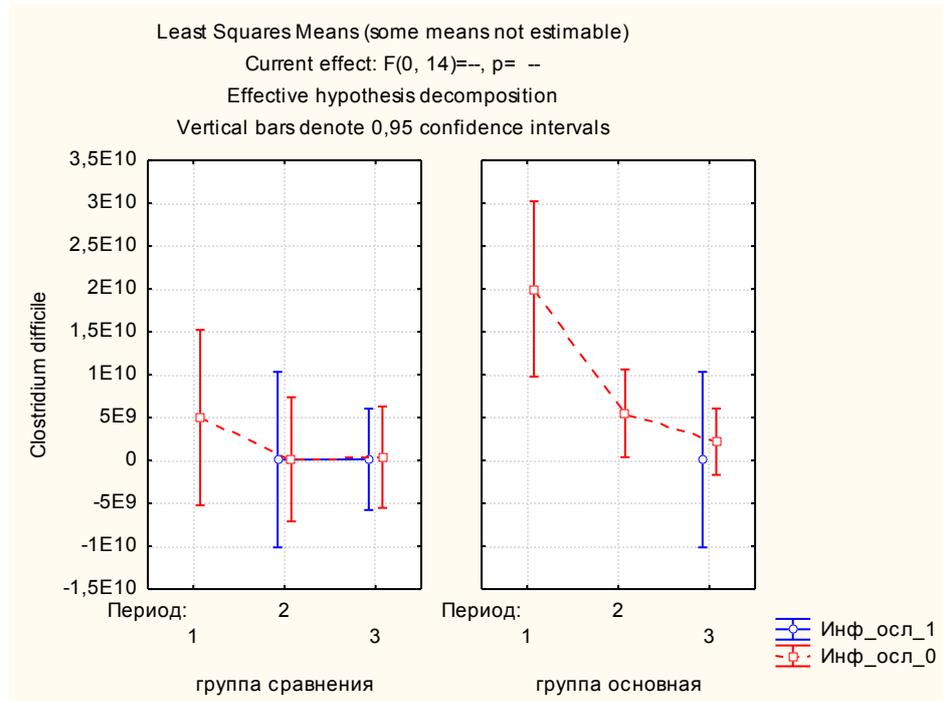


Рис. 25. Динамика количества *C. difficile* (КОЕ/г) по данным исследования фекалий методом ПЦР-РВ у недоношенных наблюдаемых групп в исследованиях 1-2-3 в зависимости от наличия ИО.

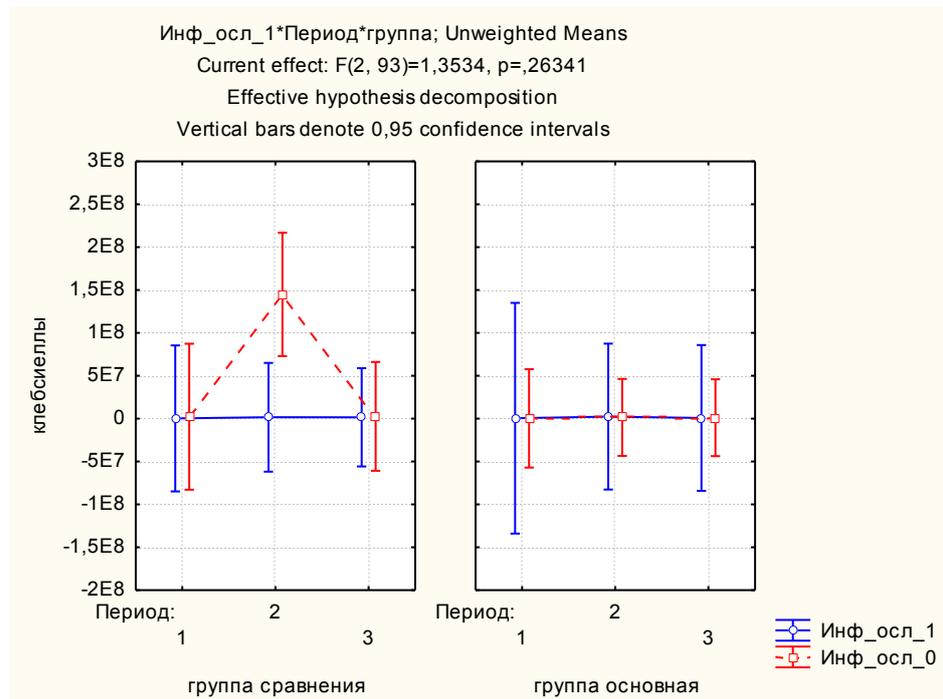


Рис. 26. Динамика количества клебсиелл (КОЕ/г) по данным исследования фекалий бактериологическим методом у недоношенных наблюдаемых групп в исследованиях 1-2-3 в зависимости от наличия ИО.

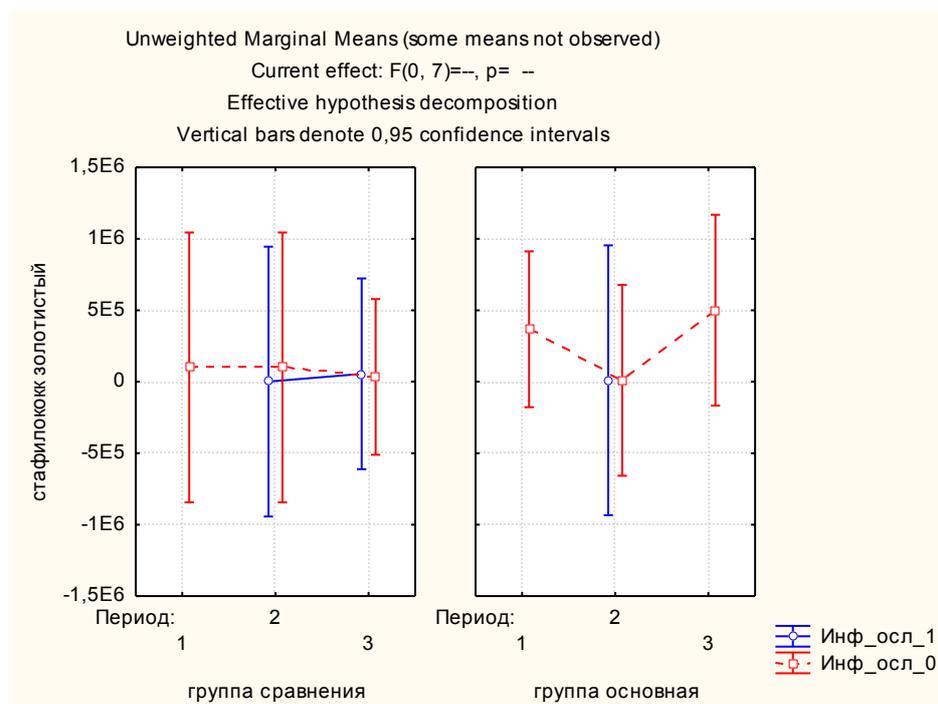


Рис. 27. Динамика количества *S. aureus* (КОЕ/г) по данным исследования фекалий бактериологическим методом у недоношенных наблюдаемых групп в исследованиях 1-2-3 в зависимости от наличия ИО.

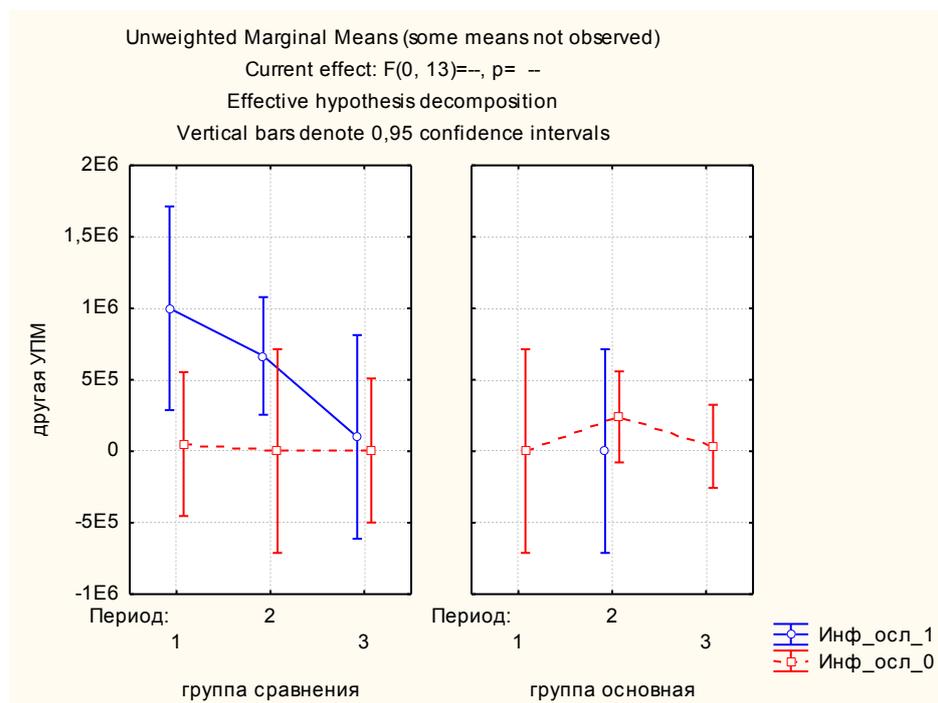


Рис. 28. Динамика количества другой УПМ (КОЕ/г) по данным исследования фекалий бактериологическим методом у недоношенных наблюдаемых групп в исследованиях 1-2-3 в зависимости от наличия ИО.

6.8. Прогнозирование успешности профилактики инфекционных осложнений у недоношенных детей

Прогнозирование успешности профилактики инфекционных осложнений у недоношенных новорожденных детей с ОНМТ в период выхаживания в стационарных условиях проводили с использованием методов многомерного статистического анализа путем учета перинатального анамнеза, клинико-лабораторных данных, использованных программ терапии.

Для определения детерминирующих факторов формирования осложнений инфекционного происхождения в процессе выхаживания недоношенных детей с ОНМТ был использован дискриминантный анализ [96]. Данный метод многомерной статистики позволил автоматически пошагово отобрать ограниченное число наиболее информативных признаков для решения поставленной задачи и представить их в виде линейных дискриминантных функций ЛДФ1 (отсутствие инфекционных осложнений) и ЛДФ2 (наличие инфекционных осложнений).

В полученную дискриминантную модель по данным обследования 51 новорожденного ребенка с ОНМТ вошли 6 признаков, включающих отягощенный акушерско-гинекологический анамнез матери, наличие у нее хронической никотиновой интоксикации, родоразрешение методом кесарева сечения, количество эшерихий в фекалиях детей по данным ПЦР-РВ, наличие эозинофилии в анализе крови, использование в терапии пробиотического штамма *E. faecium* L3 (таблица 6.12.). Наиболее информативными признаками созданной дискриминантной модели стали: эффект лечения детей пробиотической формой *E. faecium* L3 и ОАГА матери в периоде беременности. Коэффициенты линейных дискриминантных функций модели прогноза успешности профилактики инфекционных осложнений у недоношенных новорожденных детей приведены с таблице 6.13.

Таблица 6.12

Признаки, вошедшие в дискриминатную модель прогноза успешности профилактики инфекционных осложнений у недоношенных детей с ОНМТ в период выхаживания в стационаре и оценка их информативности

Наименование признаков и степень их выраженности	Коды признаков	Уровень значимости, р
Лечение с использованием пробиотического штамма <i>E. faecium</i> L3: 1 – нет; 2 – есть	X ₁	0,0003
Эозинофилия в крови: 0 – нет; 1 – есть	X ₂	0,2133
Количество эшерихий в фекалиях детей по данным метода ПЦР-РВ: 1 – мало, 2 – достаточно, 3 – много	X ₃	0,4190
Отягощенный акушерско-гинекологический анамнез матери ребенка: 0 – нет; 1 – есть	X ₄	0,0010
Хроническая никотиновая интоксикация матери: 0 – нет, 1 – есть	X ₅	0,2072
Роды методом кесарева сечения: 0 – нет; 1 – есть	X ₆	0,3696

Таблица 6.13

Коэффициенты линейных дискриминантных функций прогноза успешности профилактики инфекционных осложнений у недоношенных детей с ОНМТ в период выхаживания в стационаре

Коды признаков	ЛДФ1 (отсутствие инфекционных осложнений)	ЛДФ2 (наличие инфекционных осложнений)
X ₁	10,6796	7,59842
X ₂	4,7520	3,78453
X ₃	3,1286	2,76814
X ₄	-1,2862	0,74362
X ₅	-0,2726	0,92787
X ₆	-0,8717	-0,15004
Constant	-12,1976	-8,77751

Прогноз исходов определяли по формулам:

$$ЛКФ_1 = -12,2 - 1,29X_1 - 0,27X_2 - 0,87X_3 + 4,75X_4 + 3,13X_5 + 10,68X_6,$$

$$ЛКФ_2 = -8,78 + 0,74X_1 + 0,93X_2 - 0,15X_3 + 3,78X_4 + 2,77X_5 + 7,6X_6, \text{ где:}$$

X₁ – отягощенный акушерско-гинекологический анамнез (0 – нет; 1 – есть),

X₂ – хроническая никотиновая интоксикация матери (0 – нет; 1 – есть),

X_3 – родоразрешение методом кесарева сечения (0 – нет; 1 – есть),

X_4 – эозинофилия в клиническом анализе крови ребенка (0 – нет; 1 – есть),

X_5 – результат оценки количества эшерихий в фекалиях ребенка по данным метода ПЦР в реальном времени в сравнении с нормальными значениями (1 – недостаточное; 2 – нормальное; 3 – повышенное),

X_6 – использование в комплексной терапии недоношенного ребенка пробиотического штамма *E. faecium* L3 (1 – нет; 2 – есть).

Сравнивали значения показателей ЛКФ₁ и ЛКФ₂ и при ЛКФ₁ > ЛКФ₂ прогнозировали успешность профилактики инфекционных осложнений у недоношенных детей с ОНМТ в период выхаживания в стационаре [60].

Точность детерминирования факторов, способствующих манифестации осложнений инфекционного генеза, у недоношенных детей с ОНМТ по решающим правилам созданной дискриминантной модели составила 70% (14 из 20), точность определения факторов отсутствия инфекционных осложнений – 87,1% (27 из 31), общая точность модели – 80,4% (41 из 51); информативная достоверность модели была высокой – $p < 0,01$ (таблица 6.14.).

Таким образом, с помощью метода дискриминантного анализа было получено подтверждение роли использования пробиотического штамма *E. faecium* L3 в снижении частоты инфекционных осложнений у недоношенных детей с ОНМТ.

Необходимо подчеркнуть, что в комплекс прогностически значимых признаков успешности профилактики инфекционных осложнений у недоношенных детей вошел признак «количество эшерихий», что указывает на значение данных представителей индигенной микрофлоры кишечника в устойчивости к развитию инфекционного процесса.

Таблица 6.14.

Классификация недоношенных детей с ОНМТ по признаку «отсутствие инфекционных осложнений» и «наличие инфекционных осложнений» с помощью дискриминантной модели и наблюдавшиеся исходы лечения

Исходы	Отсутствие инфекционных	Наличие инфекционных	Всего наблюдавшихся	Прогнозируемая вероятность
--------	-------------------------	----------------------	---------------------	----------------------------

	осложнений	осложнений	детей	исходов, %
отсутствие инфекционных осложнений	27	4	31	87,1%
наличие инфекционных осложнений	6	14	20	70%
Всего в прогнозе	33	18	51	

Изучение влияний состояния индигенной микробиоты кишечника на резистентность к инфекционным осложнениям у недоношенных детей с ОНМТ было продолжено путем создания дополнительной модели прогноза с включением в комплекс прогностически значимых признаков количества бифидобактерий и лактобацилл в просветной кишечной микробиоте.

В полученную дополнительную дискриминантную модель прогноза успешности профилактики инфекционных осложнений у недоношенных детей по данным обследования 51 новорожденного ребенка с ОНМТ вошли 6 признаков, включающих отягощенный акушерско-гинекологический анамнез матери, наличие у нее хронической никотиновой интоксикации, родоразрешение методом кесарева сечения, количество бифидобактерий и количество лактобацилл в фекалиях детей по данным бактериологического исследования, наличие эозинофилии в анализе крови, использование в терапии пробиотического штамма *E. faecium* L3 (таблица 6.15.).

Коэффициенты линейных дискриминантных функций дополнительной модели прогноза успешности профилактики инфекционных осложнений у недоношенных новорожденных детей приведены с таблице 6.16.

Таблица 6.15

Признаки, вошедшие в дополнительную дискриминантную модель прогноза успешности профилактики инфекционных осложнений у недоношенных детей в период выхаживания в стационаре и оценка их информативности

Наименование признаков и степень их выраженности	Коды признаков	Уровень значимости, р
Лечение с использованием пробиотической формы на основе <i>E. faecium</i> L3: 1 – нет; 2 – есть	X ₁	0,00056

Эозинофилия в крови: 0 – нет; 1 – есть	X ₂	0,3034
Количество бифидобактерий в фекалиях детей по данным бактериологического метода: 1– мало, 2 – достаточно, 3 – много	X ₃	0,9517
Количество лактобацилл в фекалиях детей по данным бактериологического метода: 1– мало, 2 – достаточно, 3 – много	X ₄	0,8363
Отягощенный акушерско-гинекологический анамнез матери ребенка: 0 – нет; 1 – есть	X ₅	0,0159
Хроническая никотиновая интоксикация матери: 0 – нет, 1 – есть	X ₆	0,2424
Роды методом кесарева сечения: 0 – нет; 1 – есть	X ₇	0,3572

Таблица 6.16

Коэффициенты линейных дискриминантных функций дополнительной модели прогноза успешности профилактики инфекционных осложнений у недоношенных детей в период выхаживания в стационаре

Коды признаков	ЛДФ1 (отсутствие инфекционных осложнений)	ЛДФ2 (наличие инфекционных осложнений)
X ₁	9,33	6,41
X ₂	3,75	2,95
X ₃	0,97	1,00
X ₄	1,43	1,37
X ₅	0,26	2,17
X ₆	0,60	1,72
X ₇	-0,78	-0,03
Constant	-10,96	-8,15

Прогноз исходов, согласно дополнительной модели, определяли по формулам:

$$ЛКФ_1 = - 10,96 + 9,33X_1 + 3,75X_2 + 0,97X_3 + 1,43X_4 + 0,26X_5 + 0,60X_6 - 0,78X_7$$

$$ЛКФ_2 = - 8,15 + 6,41X_1 + 2,95X_2 + 1,0X_3 + 1,37X_4 + 2,17X_5 + 1,72X_6 - 0,03X_7,$$

где:

X₁ – использование в комплексной терапии недоношенного ребенка жидкой пробиотической формы *E. faecium* L3 (1 – нет; 2 – есть),

X_2 – эозинофилия в клиническом анализе крови ребенка (0 – нет; 1 – есть),

X_3 – количество бифидобактерий в фекалиях ребенка по данным бактериологического метода в сравнении с нормальными значениями (1 – недостаточное; 2 – нормальное; 3 – повышенное),

X_4 – количество лактобацилл в фекалиях ребенка по данным бактериологического метода в сравнении с нормальными значениями (1 – недостаточное; 2 – нормальное; 3 – повышенное),

X_5 – отягощенный акушерско-гинекологический анамнез (0 – нет; 1 – есть),

X_6 – хроническая никотиновая интоксикация матери (0 – нет; 1 – есть),

X_6 – родоразрешение методом кесарева сечения (0 – нет; 1 – есть),

Сравнивали значения показателей ЛКФ₁ и ЛКФ₂ и при ЛКФ₁ > ЛКФ₂ прогнозировали успешность профилактики инфекционных осложнений у недоношенных детей с ОНМТ в период выхаживания в стационаре.

Точность детерминирования факторов, способствующих манифестации осложнений инфекционного генеза, у недоношенных детей с ОНМТ по решающим правилам созданной дискриминантной модели составила 65% (13 из 20), точность определения факторов отсутствия инфекционных осложнений – 83,9% (26 из 31), общая точность модели – 76,5% (39 из 51); информативная достоверность модели была высокой – $p < 0,05$ (таблица 6.17.).

Таким образом, было получено подтверждение роли использования жидкой пробиотической формы на основе *E. faecium* L3 в снижении частоты инфекционных осложнений у недоношенных детей с ОНМТ и доказано участие индигенной микробиоты кишечника в улучшении исходов.

Классификация недоношенных детей с ОНМТ по признаку «отсутствие инфекционных осложнений» и «наличие инфекционных осложнений» с помощью дополнительной модели и наблюдавшиеся исходы лечения

Исходы	Отсутствие инфекционных осложнений	Наличие инфекционных осложнений	Всего наблюдавшихся детей	Прогнозируемая вероятность исходов, %
Отсутствие инфекционных осложнений	26	5	31	83,9%
Наличие инфекционных осложнений	7	13	20	65%
Всего в прогнозе	33	18	51	

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для выполнения поставленных в работе задач в период с 2011 по 2012 гг. в условиях специализированного отделения патологии новорожденных детей СПб ГБУЗ ДГБ №1 (главный врач – д.м.н. проф. А.В. Каган) было обследовано и пролечено 94 новорожденных пациента, которые образовали 2 группы: группа 1 – доношенные новорожденные дети (n=39) и группа 2 – недоношенные новорожденные с ОНМТ (n=55). Пациенты поступали из родильных домов Санкт-Петербурга и из отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных СПб ГБУЗ ДГБ №1.

Доношенные новорожденные поступали в стационар с целью углубленного обследования и проведения терапии по поводу заболеваний периода новорожденности. Критериями включения доношенных пациентов в исследование явились: гестационный возраст 38-41 недели; масса тела при рождении более 2500 г; соответствие массы тела гестационному возрасту. Критериями исключения доношенных новорожденных стали: грубые врожденные пороки развития, требующие хирургической коррекции в раннем неонатальном периоде; тяжелые формы патологии ЦНС.

Недоношенные новорожденные с ОНМТ поступали в отделение патологии новорожденных детей для продолжения выхаживания в условиях стационара. Критериями включения для недоношенных пациентов явились: очень низкая масса тела при рождении (1000-1500 г); гестационный возраст при рождении – от 28 до 34 недель; возраст жизни при поступлении в отделение патологии новорожденных детей – от 3 до 21 дней. Критериями исключения для недоношенных стали: грубые врожденные пороки развития, требующие хирургической коррекции в неонатальном периоде; тяжелые формы перинатальной патологии ЦНС; искусственная вентиляция легких в отделении реанимации и интенсивной терапии более 10 дней.

Доношенные дети были рандомизированы на две группы: группа 1 (группа сравнения, n=18) получала стандартную терапию основного заболевания; группа 2 (основная группа, n=21) с профилактической целью дополнительно к стандартной терапии получала пробиотический штамм *E. faecium* L3 в жидкой форме (с титром не менее 10^8 КОЕ/мл) по 1 мл 2 раза в день в течение 10 дней. Группы доношенных новорожденных по исходным характеристикам были сопоставимы между собой и значимо не отличались не только по полу, возрасту, массе и длине тела при рождении, но также по характеру вскармливания, частоте и длительности нахождения в отделении интенсивной терапии, частоте использования антибиотиков до поступления в стационар.

Перинатальный анамнез значительной части доношенных новорожденных отличался наличием различных неблагоприятных факторов. Осложненную беременность имели 69,2% матерей. Антибактериальную терапию во время беременности получали 10,3% матери. Имели хроническую интоксикацию 5,1%, хроническую соматическую патологию – 41% матерей. Перенесли ОРЗ во время беременности 7,7% матери, перенесли другие инфекции – 46,2%. Угрозу прерывания при беременности имели 15,4% матерей. Кесаревым сечением были рождены 28,2% доношенных детей.

В структуре заболеваний по основному клиническому диагнозу у доношенных новорожденных значительную часть (33,3%) представляли пациенты с асфиксией в родах и внутриутробной гипоксией. Далее следовали дети с аспирацией мекония (17,9%), пациенты с врожденными пороками развития (15,4%), родовой травмой (10,3%) и неонатальными желтухами (10,3%). Инфекционные заболевания (ВУИ и другие), как основной диагноз, имели 7,7% доношенных новорожденных.

Во время стационарного лечения в обеих группах доношенных новорожденных вероятность неблагоприятного влияния антибактериальной терапии на формирование микробиоценоза кишечника была одинаково высокой: антибиотики курсом более 7 дней в группе 1 получали 55,6% детей, в группе 2 –

52,4%; антибиотики курсом менее 7 дней в группе 1 получали 33,3% детей, в группе 2 – 42,9% ($p>0,05$).

Недоношенные дети были рандомизированы на 2 группы: группа 1 (группа сравнения, $n=26$) получала стандартную программу выхаживания; группа 2 (основная, $n=29$) дополнительно к стандартной программе выхаживания получала внутрь пробиотический штамм *E. faecium* L3 в жидкой форме (с титром не менее 10^8 КОЕ/мл) по 0,5 мл 3 раза в день в течение 14 дней. Группы пациентов были сопоставимы между собой по полу, гестационному возрасту, показателям массы и длины тела при рождении, показателям состояния при рождении по шкале Апгар, возрасту на момент поступления в отделение патологии новорожденных детей. Большинство новорожденных детей обеих групп получали искусственное вскармливание и, хотя группы пациентов различались по частоте грудного и смешанного вскармливания, общее число детей, получавших грудное молоко, было сопоставимо в обеих группах: в группе 1 – 28,0% детей, в группе 2 – 37,9% ($p>0,05$).

Большинство недоношенных детей с ОНМТ имели многочисленные неблагоприятные факторы перинатального анамнеза. ОАГА был установлен у 49,1% матерей наблюдаемых детей; хроническую соматическую патологию имели 45,5% матерей; антибактериальную терапию во время беременности получали 14,5%; хроническая интоксикация имела место у 20,0%; лечение по поводу угрозы прерывания беременности получали 60,0% матерей; кесаревым сечением были рождены 41,8% детей; лихорадку в родах имели 16,4% матерей. Сравнение групп недоношенных с ОНМТ по частоте неблагоприятных факторов перинатального анамнеза выявило различия только по частоте рожденных методом кесарева сечения (55,2% в основной группе и 28% в группе сравнения), что предполагало более высокий риск развития дисбиоза кишечника у детей основной группы.

Сравнение особенностей перинатального анамнеза у доношенных новорожденных и недоношенных с ОНМТ показало, что в группе недоношенных детей достоверно чаще отмечались такие неблагоприятные факторы анамнеза, как

хроническая интоксикация матери во время беременности (20% против 5,1%), угроза прерывания беременности (60% против 15,4%), быстрые роды (29,6% против 7,7%), лихорадка у родильницы (16,4% против 0%). Выявленные особенности перинатального анамнеза новорожденных детей подтверждают, что хроническая интоксикация беременных и инфекционный процесс в урогенитальном тракте являются важными факторами риска нарушений вынашивания беременности и рождения детей с ОНМТ.

Недоношенные пациенты обеих групп достоверно не отличались по частоте инвазивных вмешательств (центральный венокатетер более 10 дней в группе 1 имели 92,3% ребенка, в группе 2 – 93,1%), по частоте и длительности антибактериальной терапии (антибиотики курсом более 10 дней в группе 1 получали 92% детей, в группе 2 – 89,7%; смену курсов антибиотиков в группе 1 имели 80% детей, в группе 2 – 82,8%).

Частыми осложнениями глубокой недоношенности являлись: СДР, отмечаемый на первом этапе выхаживания, – у 61,8% детей; ГИЭ – у 81,8%, ретинопатия недоношенных – у 34,5%, ранняя анемия недоношенных – у 67,3%, ОАП – у 25,5%.

К инфекционным осложнениям относили ВУИ, ВАИ и НЭК. ВУИ была диагностирована у 16,4% детей: в группе 1 – у 23,1% детей, в группе 2 – 10,3% ($p>0,05$). Верифицировано 2 случая ВАИ. В одном случае была диагностирована ВАИ с поражением легких стрептококковой этиологии. В другом случае – ВАИ с поражением ЖКТ стафилококковой этиологии. В остальных 7 случаях этиология ВАИ не была расшифрована. ВУИ была диагностирована в группе 1 у 26,9%, в группе 2 – 10,3% детей ($p>0,05$). Верифицировано 3 случая ВУИ. ВУИ цитомегаловирусной этиологии была установлена у 2 пациентов (по одному в каждой группе), герпетической этиологии – у 1 ребенка (вирус герпеса 1 типа).

НЭК был диагностирован у 2 наблюдаемых детей, оба пациента из группы сравнения. В обоих случаях этиология не установлена, но в одном из этих случаев НЭК сочетался с ВАИ стафилококковой этиологии.

Согласно дизайну работы первоначально было изучено исходное состояние микробиоты кишечника доношенных и недоношенных новорожденных при поступлении в отделение патологии новорожденных. Оказалось, что у доношенных новорожденных и недоношенных с ОНМТ особенности состава микробиоты были однотипными: отмечалось умеренное снижение количества бифидобактерий, общего количества кишечной палочки и количества кишечной палочки с нормальной ферментативной активностью относительно нормальных значений [22], выявлено высокое содержание клебсиелл (у 87,2% и 81,5% детей, соответственно) и значительно реже – другой УПМ. Выявленные изменения микробиоты доношенных новорожденных и недоношенных с ОНМТ соответствовали пусковой фазе дисбиоза кишечника у детей раннего возраста, описанной Куваевой И.Б., Ладодо К.С. в 1991 г. [44]. Методом ПЦР-РВ бифидобактерии были определены у 100% доношенных и 94% недоношенных пациентов, лактобациллы – у большинства новорожденных (у 82,1% и 94% детей, соответственно); энтерококки – у 79,5% доношенных и 78% недоношенных детей. *B. fragilis* методом ПЦР-РВ были обнаружены у 30,8% доношенных и 54% недоношенных пациентов, *C. difficile* – у 10,3% и 28%, соответственно.

Кроме этого, сравнение количественного состава микробиоты кишечника у доношенных и недоношенных новорожденных при поступлении в стационар выявило достоверное более низкое содержание лактобацилл и одновременно более высокое содержание таких УПМ как цитробактер, ацинетобактер, энтеробактер, псевдомонас у доношенных новорожденных. Установлено достоверно более высокое общее бактериальное число микробиоты кишечника у недоношенных с ОНМТ ($3,0 \times 10^{10}$ ($4,0 \times 10^9 - 2,0 \times 10^{11}$) КОЕ/г) по сравнению с доношенными новорожденными ($2,5 \times 10^{10}$ ($4,0 \times 10^9 - 2,0 \times 10^{11}$) КОЕ/г; $p < 0,05$). В то же время, у недоношенных новорожденных в 1,8 раза чаще, чем у доношенных, выявляли *B. fragilis*, и в 2,7 раза чаще – *C. Difficile* ($p < 0,05$). Последнее отражало неблагоприятные изменения микробиоты кишечника у недоношенных с ОНМТ, находящихся на стационарном лечении.

Далее было проанализировано влияние профилактического использования пробиотического штамма *E. faecium* L3 на исходы терапии доношенных новорожденных и выхаживания недоношенных с ОНМТ.

Сравнение результатов использованных программ терапии доношенных новорожденных показало, что у 5 (27,8%) пациентов группы сравнения было зафиксировано кратковременное учащение и ухудшение характера стула, появление умеренного вздутия живота и необильных срыгиваний, что было расценено как функциональные нарушения ЖКТ, обусловленных дисбиотическими нарушениями микробиоты кишечника на фоне терапии антибиотиками. При этом ни у одного доношенного ребенка основной группы не было зарегистрировано признаков желудочной и кишечной диспепсии. Достоверных различий между группами детей по динамике анализируемых лабораторных показателей не было выявлено. Было установлено, что использование пробиотического штамма *E. faecium* L3 в комплексной терапии доношенных новорожденных способствовало достоверному снижению количества *C. difficile* (с $2,0 \times 10^9$ ($8,0 \times 10^7$ – $1,0 \times 10^{10}$) КОЕ/г до $1,5 \times 10^8$ ($1,0 \times 10^7$ – $5,0 \times 10^8$) КОЕ/г; $p < 0,05$) и достоверному повышению количественного уровня лактобацилл у детей основной группы ($1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9$ – $1,0 \times 10^9$) КОЕ/г) по сравнению с группой сравнения ($3,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^6$ – $3,0 \times 10^8$) КОЕ/г; $p < 0,05$), свидетельствовавшее о благоприятном воздействии пробиотика на микробиоту кишечника детей.

У доношенных новорожденных основной группы методом Wilcoxon'a было установлено достоверное нарастание бифидобактерий по данным исследования фекалий методом ПЦР-РВ и количества лактобацилл по данным бактериологического исследования, тогда как у детей группы сравнения подобных изменений выявлено не было. Изменения УПМ кишечника у доношенных новорожденных основной группы в парных исследованиях характеризовались достоверным повышением количества клебсиелл, что отражает преобладание клебсиелл в структуре нозокомиальной флоры данного стационара. Изучение патогенности клебсиелл выделенных от наблюдаемых пациентов обеих групп доношенных новорожденных на фоне терапии по данным

оценки чувствительности изолятов к антибиотикам не выявило достоверных различий в отношении большинства тестируемых препаратов. Средний уровень антибиотикочувствительности в динамике наблюдения у доношенных новорожденных основной группы и группы сравнения существенно не менялся (с $46 \pm 11,4\%$ до $43,2 \pm 11,7\%$ и с $55,8 \pm 10,8\%$ до $42,7 \pm 11,4\%$, соответственно; $p > 0,05$). Полученные данные позволяют сделать вывод об отсутствии нарастания количества штаммов клебсиелл, устойчивых к антибиотикам, в процессе кратковременного стационарного лечения наблюдаемых доношенных новорожденных.

Изучение результатов выхаживания недоношенных детей с ОНМТ показало, что программа выхаживания недоношенных детей в стационаре с применением пробиотического штамма *E. faecium* L3 отрицательно не влияла на длительность парентерального питания, не осложняла процесс введения энтерального питания недоношенным детям, не увеличивала частоту развития таких осложнений недоношенности как БЛД и РА, частоту неонатальных желтух. Сравнение частоты клинических признаков, характерных для негладкого течения выхаживания недоношенных с ОНМТ выявило достоверно более высокую частоту инфекционных осложнений (суммарно ВУИ, ВАИ и НЭК) у пациентов группы сравнения ($53,8\%$ против $20,7\%$; $p < 0,05$). Было отмечено также, что ситуации острой пищевой непереносимости были менее характерны для недоношенных основной группы ($20,7\%$ против $38,5\%$; $p > 0,05$).

По данным лабораторных исследований у пациентов группы сравнения была выявлена достоверно более высокая частота моноцитоза (100% против $82,8\%$; $p < 0,05$), что косвенно свидетельствовало о воспалительных процессах инфекционного происхождения и, очевидно, было связано со стимуляцией иммунитета микробными антигенами [92].

На фоне использования пробиотического штамма *E. faecium* L3 у недоношенных новорожденных имело место достоверное повышение энтерококков и одновременно достоверное снижение количества *C. difficile*, как при обследовании детей в конце курса применения *E. faecium* L3, так и через 14

дней после отмены пробиотика. При этом частота выявления *C. difficile* в динамике наблюдения (исследования 1-2-3) достоверно нарастала: 1/4,2%; 4/14,8%; 8/30,8% ($p_{1-3} < 0,01$). Учитывая достоверное снижение частоты инфекционных осложнений у детей основной группы относительно детей группы сравнения, необходимо отметить, что количественный показатель *C. difficile*, но не факт его обнаружения, является основным критерием негативного влияния терапии антибиотиками в условиях стационара, поэтому именно снижение количества *C. difficile* в составе микробиоты кишечника недоношенных указывало на благоприятные изменения микробиоценоза. Количество *C. difficile* в составе просветной микробиоты кишечника у детей группы сравнения на фоне стандартной программы выхаживания практически не менялось.

Другими подтверждениями положительного влияния на просветную кишечную микробиоту профилактического использования пробиотического штамма *E. faecium* L3 явилось достоверное нарастание количества лактобацилл и бифидобактерий в динамике наблюдения. Однако, одновременно отмечалось достоверное нарастание частоты выделения и количества клебсиелл. Следует отметить, что достоверное нарастание частоты выделения клебсиелл наблюдалось в обеих группах (в основной группе с 44,8% до 85,2%, $p_{1-3} < 0,001$; в группе сравнения с 40% до 76,9%, $p_{1-3} < 0,05$), что указывает на высокую инвазивность нозокомиального штамма. Однако, количество клебсиелл в основной группе нарастало лишь к 3 точке исследования (то есть через 14 дней после отмены пробиотика), в то время как в группе сравнения – уже во второй точке (через 14 дней после поступления). То есть, на фоне применения пробиотика количество клебсиелл у детей основной группы достоверно не нарастало. Анализ изменений состава кишечной микробиоты у недоношенных основной группы в период стационарного этапа выхаживания позволяет утверждать о достаточно высоком защитном потенциале индигенной микробиоты кишечника (бифидобактерии, лактобациллы) против УПМ (клебсиеллы и др.), что играет не последнюю роль в снижении частоты инфекционных осложнений.

Исследование частоты выявления изолятов клебсиелл, устойчивых к антибиотикам (уровня антибиотикочувствительности) на фоне терапии у недоношенных новорожденных основной группы показало достоверное повышение уровня чувствительности к норфлоксацину (с $28,6 \pm 8,4\%$ до $59,1 \pm 9,1\%$; $p < 0,05$) и к ципрофлоксацину (с $33,0 \pm 8,7\%$ до $71,4 \pm 8,4\%$; $p < 0,01$). И, напротив, в группе сравнения было отмечено достоверное снижение уровня чувствительности к ампициллину/сульбактаму (с $66,7 \pm 9,2\%$ до 0% ; $p < 0,001$), норфлоксацину (с $66,7 \pm 9,2\%$ до $35,7 \pm 9,4\%$; $p < 0,05$), ципрофлоксацину (с $66,7 \pm 9,2\%$ до $38,5 \pm 9,5\%$; $p < 0,05$), цефтазидиму (с $30,0 \pm 9,0\%$ до $7,1 \pm 5,0\%$; $p < 0,05$). Полученные данные свидетельствовали о снижении частоты выделения изолятов клебсиелл, устойчивых к антибиотикам, у недоношенных детей с ОНМТ на фоне использования в программе выхаживания пробиотического штамма *E. faecium* L3.

Через 14 дней после отмены пробиотика у детей основной группы не было отмечено существенных изменений чувствительности клебсиелл к тестируемым антибиотикам. В группе сравнения было отмечено нарастание чувствительности к амоксиклаву (с 0% до $15 \pm 7,0\%$; $p < 0,05$) и к цефтазидиму (с $7,1 \pm 5,0\%$ до $30 \pm 9,0\%$; $p < 0,05$), к тетрациклину (с $16,7 \pm 7,3\%$ до $18,8 \pm 7,7\%$; $p > 0,05$). Выявленные изменения, с одной стороны, показывают кратковременность положительного влияния пробиотика на снижение антибиотикорезистентности клебсиелл у недоношенных детей основной группы, с другой стороны, отражают становление собственных защитных сил у недоношенных группы сравнения. Следует отметить, что наиболее вероятным по частоте периодом развития НЭК являются первые три недели жизни, что необходимо учитывать, усиливая защитные и профилактические меры с момента поступления недоношенного ребенка в стационар. Вероятно поэтому, применение пробиотиков именно в первые 2 недели нахождения в стационаре сказывалось на снижении количества инфекционных осложнений, а выявленное кратковременное снижение количества клебсиелл, резистентных к антибиотикам, указывало на необходимость пролонгации применения пробиотика.

Результаты оценки чувствительности к бактериофагам изолятов клебсиелл недоношенных детей основной группы и группы сравнения в динамике наблюдения подтверждали результаты оценки чувствительности клебсиелл к антибиотикам. В группе сравнения была выявлена достоверно высокая чувствительность ($p < 0,05$) клебсиелл к пиобактериофагу ($65,0 \pm 9,4\%$) по сравнению с таковой к интести-бактериофагу ($30,0 \pm 9,0\%$) и колипротейному бактериофагу ($30,0 \pm 9,0\%$).

Следующим этапом исследования явилось изучение особенностей изменений микробиоты кишечника при развитии у недоношенных детей с ОНМТ ситуаций острой пищевой непереносимости, или т.н. «срывов питания» (СП). У недоношенных детей группы сравнения, имевших СП, отмечалась диспропорция индигенной микробиоты: исходно достоверно низкое количество бифидобактерий и высокое количество лактобацилл с последующим достоверным их снижением (по сравнению с таковыми у детей без СП).

У недоношенных основной группы, имевших СП, было отмечено исходно достоверно более низкое количество лактобацилл и низкое количество бифидобактерий (по сравнению с таковыми у детей без СП). В этой группе при СП было установлено достоверное нарастание общего бактериального числа и увеличение количества УПМ, а именно, *B. fragilis*, после отмены пробиотика. Исследование динамики *C. difficile* и клебсиелл при СП в наблюдаемых группах выявило более раннюю пролиферацию *C. difficile* и клебсиелл у недоношенных детей группы сравнения по сравнению с основной группой; последнее свидетельствовало о том, что ранняя пролиферация УПМ увеличивала частоту возникновения эпизодов СП. Полученные данные свидетельствовали о значении дефицита индигенной микробиоты в развитии эпизодов острой пищевой непереносимости у недоношенных детей с ОНМТ и сдерживающем влиянии использования пробиотического штамма *E. faecium* L3 на пролиферацию УПМ. Учитывая зафиксированное стимулирующее влияние пробиотика на рост индигенной микробиоты, а также сдерживающее влияние на рост УПМ, вероятно,

необходима пролонгация его применения как минимум до окончания антибиотикотерапии.

Далее был изучен характер изменений микробиоты кишечника у недоношенных с ОНМТ, имевших инфекционные осложнения (ИО). Изменения индигенной микробиоты кишечника в процессе наблюдения у детей группы сравнения, не имевших ИО, характеризовались достоверно более высоким исходным количеством бифидобактерий. У недоношенных детей группы сравнения, имевших ИО, было выявлено достоверно более высокое исходное количество лактобацилл (по сравнению с таковыми у детей без ИО), тогда как у детей основной группы, имевших ИО, было установлено достоверное снижение количества лактобацилл (по сравнению с таковыми у детей без ИО) после отмены пробиотика. Выявленные изменения показывают, что в неонатальном периоде лактобациллы - менее стабильная группа индигенных микроорганизмов по сравнению с бифидобактериями, и что защитная функция лактобацилл в снижении частоты ИО требует дальнейшего изучения.

Анализ изменений общего количества *E. coli* у недоношенных детей группы сравнения выявил достоверное нарастание их количества в динамике наблюдения при ИО. Отсутствие подобных изменений имело место у недоношенных детей основной группы вне зависимости от ИО и у детей группы сравнения без ИО. Полученные данные свидетельствуют о том, что развитие ИО у недоношенных с ОНМТ происходит на фоне нарастания общего количества кишечной палочки, а применение пробиотического штамма *E. faecium* L3 сдерживает этот рост. Требуется дальнейшего изучения вопрос вида кишечной палочки, пролиферирующей при развитии ИО.

Изучение изменений количества энтерококков у недоношенных детей основной группы, выявило достоверное его нарастание на фоне ИО в процессе наблюдения по сравнению с исходным уровнем и достоверно более высокие его показатели при наличии у детей ИО по сравнению с таковыми без ИО. Однако сравнение количества энтерококков в повторном исследовании (через 14 дней после поступления) у недоношенных детей группы сравнения и основной,

имевших ИО, не выявило достоверных различий, что указывало на отсутствие связи выявленных изменений с использованием пробиотического штамма *E. faecium* L3.

Следует отметить, что характер изменений количества *B. fragilis* и *C. difficile* в наблюдаемых группах недоношенных детей с ИО и без них в процессе наблюдения совпадал с таковыми у детей при развитии и отсутствии ситуаций СП. Данный факт указывает на тесную взаимосвязь выраженных расстройств микробиоценоза кишечника с ИО и СП у недоношенных детей с ОНМТ. Однотипные изменения УПМ кишечника при развитии ИО и ситуаций СП у недоношенных детей с ОНМТ, характеризовались контаминацией *C. difficile* в стационаре и выраженной пролиферацией *B. fragilis*.

В отношении изменений другой УПМ (клебсиеллы, стафилококк золотистый) и связи этих изменений с развитием ИО отмечено сдерживание процессов пролиферации УПМ у недоношенных детей под влиянием терапии с включением пробиотического штамма *E. faecium* L3.

Определение детерминирующих факторов формирования осложнений инфекционного происхождения в процессе выхаживания недоношенных с ОНМТ было получено методом дискриминантного анализа следующих факторов: ОАГА матери, наличие у нее хронической никотиновой интоксикации, родоразрешение методом кесарева сечения, количество эшерихий в фекалиях по данным ПЦР-РВ, наличие эозинофилии в анализе крови, использование в терапии пробиотического штамма *E. faecium* L3. Самым информативным признаком созданной дискриминантной модели определен эффект лечения с использованием пробиотического штамма *E. faecium* L3. Точность детерминирования факторов развития ИО составила 70%, точность определения факторов отсутствия ИО – 87,1%, общая точность модели – 80,4%; информативная достоверность модели была высокой ($p < 0,01$).

Изучение влияний индигенной микробиоты кишечника на резистентность к ИО у недоношенных с ОНМТ было продолжено путем создания дополнительной модели прогноза с включением в комплекс прогностически

значимых признаков, основанных на определении количества бифидобактерий и лактобацилл в кишечной микробиоте. В полученную дополнительную модель прогноза успешности профилактики ИО у недоношенных вошли 6 признаков, включающих ОАГА матери, наличие у нее хронической никотиновой интоксикации, родоразрешение методом кесарева сечения, количество бифидобактерий и количество лактобацилл в фекалиях ребенка по данным бактериологического исследования, наличие эозинофилии в анализе крови, использование пробиотического штамма *E. faecium* L3. Информативная достоверность модели была высокой ($p < 0,05$).

Таким образом, было получено подтверждение роли использования пробиотической формы *E. faecium* L3 в снижении частоты инфекционных осложнений у недоношенных детей с ОНМТ и участия индигенной микробиоты кишечника в улучшении исходов выхаживания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что недоношенные дети с ОНМТ – это группа высокого риска по развитию нарушений микробиоценоза кишечника и осложнений, связанных с ними. Независимо от имеющихся неблагоприятных факторов анамнеза, характер стандартной терапии и длительное выхаживание глубоконедоношенных детей в условиях стационара, сами по себе отрицательно влияют на формирование микробиоты кишечника и могут привести к неблагоприятным последствиям. Результаты проведенной работы позволяют считать патогенетически обоснованным применение пробиотического штамма *E. faecium* L3 для оптимизации выхаживания недоношенных детей с ОНМТ, обеспечивая снижение частоты реализации инфекционных осложнений и эпизодов острой пищевой непереносимости.

ВЫВОДЫ

1. Применение пробиотического штамма *E. faecium* L3 у доношенных новорожденных в стационаре в 100% случаев способствовало предупреждению развития диспептических расстройств (против 72,2% в группе сравнения; $p < 0,05$) и сопровождалось положительными изменениями в составе микробиоты

кишечника: отмечалось достоверное увеличение количества бифидобактерий и лактобацилл в парных выборках по данным метода Вилкоксона, а также снижение количества *C. difficile* с $2,0 \times 10^9$ КОЕ/г до $1,5 \times 10^8$ КОЕ/г ($p < 0,05$) по данным дисперсионного анализа.

2. Состав микробиоты кишечника у доношенных новорожденных по сравнению с недоношенными с ОНМТ характеризовался достоверно более низким общим бактериальным числом – $2,5 \times 10^{10}$ КОЕ/г и $3,0 \times 10^{10}$ КОЕ/г ($p < 0,05$), соответственно, и более низким количеством лактобацилл – $1,0 \times 10^7$ КОЕ/г и $1,0 \times 10^9$ КОЕ/г ($p < 0,05$), но более высоким содержанием УПМ (суммарно цитробактера, стафилококка, гемолитической кишечной палочки) – $5,5 \times 10^5$ КОЕ/г и $1,0 \times 10^3$ КОЕ/г ($p < 0,05$).

3. Использование с профилактической целью пробиотического штамма *E. faecium* L3 у недоношенных детей с ОНМТ способствовало достоверно более высоким прибавкам массы тела – $251,8 \pm 22$ г против $172,7 \pm 19,1$ в группе сравнения ($p < 0,05$), снижению частоты манифестации инфекционных осложнений (суммарно ВУИ, ВАИ и НЭК) – $6/20,7\%$ против $14/53,8\%$ в группе сравнения ($p < 0,05$), что сопровождалось достоверным снижением частоты моноцитоза – $24/82,8\%$ против $26/100\%$ в группе сравнения ($p < 0,05$); максимальной эффективности использованных программ выхаживания недоношенных с ОНМТ соответствовали оптимальные экономические показатели.

4. Применение пробиотического штамма *E. faecium* L3 у недоношенных детей способствовало значимому повышению защитного потенциала индигенной микробиоты кишечника против УПМ – в парных выборках по данным метода Вилкоксона отмечено быстрое нарастание количества бифидобактерий ($p_{1-2} < 0,01$; $p_{1-3} = 0,01$) при отсроченном нарастании количества лактобацилл ($p_{1-3} < 0,05$), а также «позднее» нарастание количества клебсиелл ($p_{1-3} < 0,05$), что сопровождалось достоверным снижением пролиферации *C. difficile* в динамике наблюдения: $2,0 \times 10^{10}$ КОЕ/г; $1,0 \times 10^9$ КОЕ/г ($p_{1-2} < 0,01$); $4,0 \times 10^8$ КОЕ/г ($p_{1-3} < 0,01$) по данным дисперсионного анализа.

5. На фоне использования пробиотического штамма *E. faecium* L3 у недоношенных детей с ОНМТ установлено снижение устойчивости клинических штаммов *K. pneumoniae* к антибиотикам: достоверное повышение чувствительности к норфлоксацину (с $28,6 \pm 8,4\%$ до $59,1 \pm 9,1\%$; $p < 0,05$) и к ципрофлоксацину (с $33,0 \pm 8,7\%$ до $71,4 \pm 8,4\%$; $p < 0,01$) при нарастании резистентности к антибиотикам изолятов *K. pneumoniae* у недоношенных группы сравнения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Недоношенные новорожденные с ОНМТ относятся к группе риска по развитию инфекционных осложнений, что определяет необходимость проведения неспецифической профилактики, в том числе, использование на старте стационарного этапа выхаживания назначения пробиотического штамма *E. faecium* L3 в жидкой форме с титром не менее 10^8 КОЕ/мл в дозе 0,5 мл 3 раза в день внутрь в течение минимум 14 дней.

2. Доношенным новорожденным детям для профилактики функциональных нарушений ЖКТ на фоне дисбиоза кишечника во время стационарного лечения показано назначение пробиотического штамма *E. faecium* L3 в жидкой форме с титром не менее 10^8 КОЕ/мл в дозе 1,0 мл 2 раза в день в течение минимум 10 дней.

3. Для прогнозирования вероятности развития инфекционных осложнений у недоношенных детей с ОНМТ может быть использована предложенная математическая дискриминантная модель.

Список использованной литературы

1. Андреева, И. В. Доказательства обоснованности профилактического применения пробиотиков [Электронный ресурс] / И. В. Андреева // Фарматека. – 2006. - №6 (121). – Режим доступа: <http://www.pharmateca.ru/ru/archive/edition/1102>.
2. Антагонистическая активность энтерококков в отношении Streptococcus ruogenes [Текст] / Е. И. Ермоленко [и др.] // [Вест. СПб. Ун-та. - 2008. - Сер. 11. Медицина. - Вып. 3. – С. 137 – 144.](#)
3. Бактериальные пробиотики: биотехнология, клиника, алгоритмы выбора [Текст]/ Л. Н. Петров, Н. Б. Вербицкая, В. П. Добрица, Г. Н. Галкин.- СПб: Гос. НИИ ОЧБ, 2008. - 136 с.
4. Бельмер, С. В. Антибиотик-ассоциированный дисбактериоз кишечника [Текст]/ С. В. Бельмер // РМЖ. - 2004. - Т. 12, № 3. - С. 148 – 151.
5. Беляева, И. А. Эффективность использования пробиотиков у недоношенных детей [Электронный ресурс] / И. А. Беляева, М. Д. Митиш, Л. К. Катосова // РМЖ. Мать и дитя. Педиатрия. Детская гастроэнтерология и нутрициология. - 2 июля 2009. - № 15. – Режим доступа : http://www.rmj.ru/articles_6660.htm.
6. Бенис, Н.А. Клинико-функциональная характеристика недоношенных детей с экстремально-низкой и очень низкой массой тела при рождении и различными сроками гестации [Текст] / Бенис Н.А., Самсонова Т.В.// Детская медицина Северо-Запада. - 2012. - Т.3. - №1. - С. 26 – 29.
7. Бондаренко, В. М. «Острова» патогенности бактерий [Текст] / В. М. Бондаренко // Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунобиологии.– 2001. - № 4. – С. 67 – 74.
8. Бондаренко, В. М. Дисбактериоз кишечника как клинико-лабораторный синдром: современное состояние проблемы [Текст] / В. М. Бондаренко, Т. В. Мацулевич. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. - 304 с.

9. Бондаренко, В. М. Клебсиеллы и клебсиеллезы [Текст] / В. М. Бондаренко, С. В. Фиалкина, О. В. Агапова. – Тверь: Триада, 2008. – 160 с.
10. Бондаренко, В. М. Роль транслокации кишечной бактериальной аутофлоры и ее токсических биомолекул в патологии человека [Текст] / В. М. Бондаренко, Е. В. Рябинченко // Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунологии. - 2007. - № 5. - С. 86 - 93.
11. Бондаренко, В. М. Симбиотические энтерококки и проблемы энтерококковой оппортунистической инфекции [Электронный ресурс] / В. М. Бондаренко, А. Н. Суворов. - М. - 2007. – 30 с. - Режим доступа: <http://www.medi.ru/doc/1951126.htm>.
12. Ботина, С. Г. Видообразование у бактерий: сравнение генов 16S рРНК у близкородственных видов энтерококков [Текст] / С. Г. Ботина, В. В. Суходолец // Генетика. – 2006. – Т. 42, № 3. – С. 325 – 330.
13. Булатова, Е. М. Возможности селективной диетической коррекции нарушений кишечного микробиоценоза у детей раннего возраста, находящихся на искусственном вскармливании [Текст] / Е. М. Булатова, Т. Л. Пирцхелава // Вопросы детской диетологии. – 2004. – № 4. – С. 16 - 20.
14. Булатова, Е. М. Питание и формирование здоровой кишечной микрофлоры у детей первых месяцев жизни [Текст] / Е. М. Булатова, Т. В. Габруская, О. К. Нетребенко // Педиатрия. - 2007. – Т.86, № 3. – С. 84 - 89.
15. Валиулина, А. Я. Проблемы и перспективы успешного выхаживания и реабилитации детей, родившихся с низкой и экстремально низкой массой тела [Текст] / А. Я. Валиулина, Э. Н. Ахмадеева, Н. Н. Кривкина // Вестник современной клинической медицины. – 2013. – Т. 6, № 1. - С.34 - 37.
16. Влияние пробиотических энтерококков на функциональные характеристики кишечника крыс при дисбиозе, индуцированном антибиотиками [Текст] / Е. И. Ермоленко [и др.] // Вестн. СПб. Ун-та. – 2009. - Сер.11. Медицина. – Вып. 1. - С. 157 - 167.

17. Володин, Н. Н. Актуальность проблемы нозокомиальной инфекции в неонатологии [Текст] / Н. Н. Володин, С. А. Касихина // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. - 2004. - Т. 3, № 1.- С. 74 – 79.
18. Волянюк, Е. В. Особенности антибактериальной терапии у недоношенных детей [Текст]/ Е. В. Волянюк // Практическая медицина. - 2010. - № 40. - С. 49 – 52.
19. Вскармливание недоношенных детей [Текст] / В. А. Скворцова [и др.] // Лечащий врач. – 2006. - № 2. - С. 64 - 68.
20. Выбор пробиотика для рациональной терапии клебсиеллезной инфекции у детей [Текст] / Н. В. Гончар [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунобиологии. - 2009. - № 2. - С. 85 – 89.
21. Генетическая идентификация как метод определения патогенных и симбиотических штаммов энтерококков [Текст] / А. Е. Вершинин [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунобиологии – 2008. - № 5. – С. 83 – 87.
22. Гончар, Н. В. Диагностика дисбактериоза кишечника [Текст] / Н. В. Гончар // Детская гастроэнтерология: руководство для врачей/ под ред. проф. Н.П. Шабалова. - 2-е изд., перераб. и доп. – М.: МЕДпресс-информ. – 2013. - С. 130 – 134.
23. Гончар, Н. В. Дисбактериоз кишечника [Текст] / Н. В. Гончар // Педиатрия для родителей. - 2008. - № 1 (13). – С. 52 – 57.
24. Гончар, Н. В. Пробиотики в неонатологии [Текст] / Н. В. Гончар // Тезисы V Междисципл. конф. по акушерству, перинатологии, неонатологии «Здоровая женщина – здоровый новорожденный» ; Бюлл. Федерального центра сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова. – 2010. – № 6. – С. 20 – 21.
25. Гончар, Н. В. Пробиотические штаммы энтерококков как средства терапии и профилактики заболеваний кишечника у детей (обзор литературы) [Текст] / Н. В. Гончар, Л. А. Алехина, А. Н. Суворов // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. - 2013. – № 1. – С. 74 – 78.

26. Горобченко, В. Клиническая и бактериологическая эффективность пробиотика «Линекс» у недоношенных детей [Текст] / В. Горобченко, И. Купряшина, Ю. Миллер // Врач. – 2008. - № 5. – С. 70
27. Динамика антибиотикорезистентности возбудителей госпитальных инфекций в отделении реанимации [Электронный ресурс] / С. В. Сидоренко, С. П. Резван, С. А. Грудина, Г. В. Стерхова // Consilium medicum. – 2001. -Т. 3. - № 2. – Режим доступа : <http://consiliummedicum.com/media/consilium/index1.shtml>.
28. Динамика контаминации и персистенции *Clostridium difficile* в составе микробиоты кишечника у новорожденных детей во время антибиотикотерапии и приема пробиотического штамма *Enterococcus faecium* L3 [текст] / Ло Скиаво Л.А., Гончар Н.В., Федорова М.С., Суворов А.Н.// Антибиотики и химиотерапия, 2013. – Т. 58. - № 11-12. – С. 13 – 18.
29. Дисбактериозы кишечника, причины возникновения, диагностика, применение бактериальных биологических препаратов: пособие для врачей и студентов [Текст]/ Н. М. Грачева [и др.]. - М. - 1999. – 46 с.
30. Дисбиоз кишечника. Руководство по диагностике и лечению [Текст] / под ред. Е.И. Ткаченко, А.Н. Суворова. – СПб.: ИнформМед, - 2009. – 276 с.
31. Ермоленко, Е. И. Бактериоцины энтерококков: проблемы и перспективы использования (обзор литер.) [Текст] / Е. И. Ермоленко// Вест. СПб. Ун-та. – 2009. - Сер. 11. Медицина. - Вып. 3. – С. 78 – 93.
32. Заплатников, А. Л. Внутриутробные инфекции: диагностика, лечение, профилактика [Электронный ресурс] / А. Л. Заплатников, Н. А. Коровина // Лечащий врач. – 2005. - № 8. – Режим доступа : <http://www.lvrach.ru/2005/08/4532901/>.
33. Захарова, И. Н. Антибиотик-ассоциированные диареи у детей: проблема и решение: учебное пособие для врачей [Текст] / И. Н. Захарова, Л. Н. Мазанкова. - М.: Изд-во РМАПО, 2011. – 47 с.
34. Захарова, И. Н. Современные пробиотики для коррекции микробиоценоза кишечника у детей [Текст]/ И. Н. Захарова, Л. Н. Мазанкова, Ю. А.

- Дмитриева // Вопросы современной педиатрии.- 2009. - Т.8, № 2.- С. 113-117.
35. Значение использования пробиотика в снижении частоты инфекционных осложнений у недоношенных детей [текст] / Ло Скиаво Л.А. [и др.] // Антибиотики и химиотерапия, 2014. – Т. 59. – № 1–2. – С. 29 – 34.
36. Караваяева, С. А. Диагностика и особенности клинического течения некротического энтероколита у детей [Текст] / С. А. Караваяева // Вестник хирургии.- 2002.- Т. 161, № 4.- С. 41 - 46.
37. Караваяева, С. А. Хирургическое лечение некротического энтероколита : автореф. дис. ...докт. мед. наук : 14.00.35 ; 14.00.09 [Текст] / Караваяева Светлана Александровна. – СПб., 2002. – 41с.
38. Климовицкая, Е. Г. Клинико-микробиологическая эффективность пробиотиков Бифидумбактерина форте и Бифиформа при лечении острых кишечных инфекций у детей раннего возраста [Текст] / Е. Г. Климовицкая, В. А. Романов, В. П. Киселев // Матер. VIII Всерос. съезда эпидемиол., микробиол. и паразитол. - М., 2002. – С. 184 – 185.
39. Клиническая и фармакоэкономическая целесообразность использования пробиотического штамма энтерококка в комплексной программе выхаживания недоношенных детей [текст] / Гончар Н.В [и др.]// Педиатрическая фармакология. – 2015. – Т. 12. – № 1. – С. 22 – 29.
40. Клинические особенности и реабилитация детей с белково-энергетической недостаточностью из социально-неблагополучных семей [Текст] / М. И. Соколова [и др.] // Педиатр. – 2013. - № 4 (2). – С. 70 - 74.
41. Корниенко, Е. А. Возможности коррекции функциональных расстройств желудочно-кишечного тракта у детей раннего возраста [Текст] / Е. А. Корниенко, С. С. Кубалова, М. А. Суворова // Материалы 14-го Международного Славяно-Балтийского научного форума «Санкт-Петербург–ГASTРО-2012». - Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2012. - № 2–3. – С. 43.

42. Корниенко, Е. А. Современные принципы выбора пробиотиков [Текст] / Е. А. Корниенко // Детские инфекции. – 2007. - № 3. - С. 64 - 69.
43. Корниенко, Е. А. Заболевания желудочно-кишечного тракта [Текст] / Е. А. Корниенко, Н. П. Шабалов // Неонатология: учебное пособие: в 2 т.- Т. 2.- 3-е изд., испр. и доп. – М.: МЕДпресс-информ, 2004.- С. 301 – 350.
44. Коррекция микробиоценоза у детей раннего возраста с последствиями перинатальной патологии [Текст] / Т. В. Турти [и др.] // Педиатрическая фармакология.- М. – 2009. – Т. 6, № 5 – С. 61 - 64.
45. Коршунов, В. М. Дисбактериозы кишечника [Текст] / В. М. Коршунов, В. В. Володин, Б. А. Ефимов // Детская больница. - 2000. - № 1. - С. 66 - 74.
46. Кулаков, В. И. Профилактика, диагностика и лечение невынашивания беременности [Электронный ресурс] / В. И. Кулаков, В. М. Сидельникова, А. А. Агаджанова // Письмо министерства здравоохранения РФ от 11.04.2003 №2510/3796-03-32. –Режим доступа : <http://www.webapteka.ru/phdocs/doc4643.html>.
47. Лечебные смеси в питании грудных детей [Текст] / Т. Э. Боровик [и др.] // Лечащий врач. – 2007. - № 1. – С. 18 - 26.
48. Ло Скиаво, Л. А. Влияние пробиотика *Enterococcus faecium* L3 на микрофлору кишечника недоношенных детей и исходы антибиотикотерапии [Текст] / Л. А. Ло Скиаво, Н. В. Гончар, А. Н. Суворов // Педиатрия Санкт-Петербурга. Опыт, инновации, достижения. Материалы V Российского форума с международным участием, 16–17 сентября 2013 г. - СПб., 2013. – С. 89 - 90.
49. Логадырь, Т. А. Коррекция микрофлоры кишечника при дисбактериозах различной этиологии с помощью энтерококков : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 03.00.07 [Текст] / Логадырь Татьяна Алексеевна. - М., 1990. – 24 с.
50. Мазанкова, Л. Н. Микроэкология кишечника у детей в норме и при патологии [Текст] / Л. Н. Мазанкова, А. М. Запруднов // Российские медицинские вести. - 1996. - № 1. - С. 34 - 43.

51. Малов, В. А. Антибиотик-ассоциированные поражения кишечника [Текст] / В. А. Малов // Врач. - 2000. - № 10. - С. 16 – 19.
52. Методическое письмо Минздрава России «Первичная и реанимационная помощь новорожденным детям» от 21 апреля 2010 г. N 15-4/10/2-3204 [Электронный ресурс] / А. Г. Антонов [и др.] – Режим доступа : http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_102275
53. Мухина, Ю. Г. Макронутриенты в питании недоношенных детей [Текст] / Ю. Г. Мухина, А. И. Чубарова, В. П. Гераськина // Детская больница. – 2002. - № 2. – С. 28 - 34.
54. Наблюдение глубоко недоношенных детей на амбулаторном этапе: учебное пособие [Текст]/ А. Ф. Бабцева [и др.].- Благовещенск: Буквица, 2011.- 34 с.
55. Неонатология: национальное руководство [Текст] / под ред. Н. Н. Володина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 749 с.
56. Неонатология [Текст] / под ред. Т.Л. Гомеллы, М.Д. Каннигам; пер. с англ. – М.: Медицина, 1998 – 637 с.
57. Особенности колонизационной резистентности новорожденных педиатрического отделения для недоношенных детей в ДОКБ [Текст] / Лысенко И.М. [и др.] // Охрана материнства и детства. - 2008. - №1-11.- С.105–110.;
58. ОСТ 91500.11.0004-2003 (приложение) Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника / Утвержден Приказом Министерства здравоохранения РФ № 231 от 09.06.2003. – М., 2003. – 82 с.
59. Пат. 2246957 Российская Федерация. МПК А 61 Р 1/04, А 61 К 35/74. Способ лечения хронического Н. Рylogi ассоциированного гастрита препаратом Ламинолакт [текст]/ Симаненков, В. И., Суворов, А. Н., Захарова, Н. В., Боваева Д. И., Соловьева О. И.; заявитель и патентообладатель СПбМАПО. - №2002129641/14; заявл. 04.11.02; опубл. 27.02.05, Бюл. № 6. - 6 с.
60. Пат. 2502995 Российская Федерация. Способ прогнозирования успешности профилактики инфекционных осложнений у недоношенных детей :

[Электронный ресурс] / Гончар, Н. В., Алехина Л. А., Суворов А. Н., Григорьев С. Г. ; патентообладатель Федеральное государственное казенное военное образовательное учреждение высшего профессионального образования Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова (ВМедА). - № 2012141867 ; заявл. 01.10.12 ; зарегистрирован в Гос. Реестре изобретений РФ 27.12.13 ; Бюлл. «Изобретения». – № 36. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM)

61. Постинфекционный синдром раздраженного кишечника: есть ли место в терапии пробиотикам? [Текст] / В. И. Симаненков [и др.] // Инфекционные болезни. - 2009. - Т. 7, № 3. – С. 68 – 75.
62. Пробиотики в питании недоношенных детей (обзор литературы) [Текст] / Ло Скиаво Л.А. [и др.] // Вопросы практической педиатрии, 2014. – №6. – С. 32 – 36.
63. Проблемы лечения псевдомембранозного колита у детей [Текст] / П. Б. Коренев, Н. А. Джахая, Н. В. Гончар, Думова Н. Б. // Материалы 11-го Международного Славяно-Балтийского научного форума «Санкт-Петербург –Гастро-2009». - Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. - 2009. – № 2 – 3. – С 39.
64. Протокол инфузионной терапии и парентерального питания новорожденных [Текст] /А. В. Мостовой, М. Е. Пруткин, К. Д. Горелик, А. Л. Карпова. – СПб. : Изд-во ГОУ ВПО СПбГПМА, 2011. – 23 с.
65. Протокол энтерального питания новорожденных с ЭНМТ и ОНМТ [Электронный ресурс] /СПБГПМУ, 2013. – Режим доступа : http://neonatalspb.ru/d/158505/d/protokol-enteralnogo-pitaniya-enmt-i-onmt-spbgpmu-05.10.13-final_1.pdf
66. Протоколы диагностики, лечения и профилактики внутриутробных инфекций у новорожденных детей [Текст] /под ред. Н. Н. Володина. - М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2002. - 104 с.

67. Различие по набору генов патогенности пробиотических и клинических штаммов энтерококков [Текст] / В. М. Бондаренко [и др.] // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2008. - № 1. – С. 28 - 32.
68. Руш, К. Микробиологическая терапия. Теоретические основы и практическое применение [Текст] / К. Руш, Ф. Руш. - М.: Арнебия, 2003. – 153 с.
69. Рыбальченко, О. В. Микробиота кишечника человека [Текст] / О. В. Рыбальченко, В. М. Бондаренко, В. П. Добрица // Атлас ультраструктуры микробиоты кишечника человека. – СПб.: ИИЦ ВМА. - 2008. – С. 9 – 17.
70. Рюмина, И. И. Особенности вскармливания недоношенных детей [Текст] / И. И. Рюмина, М. М. Яковлева // РМЖ. – 2011. – 19 (3). – С. 146 - 150.
71. Самоукина, А. М. Перспективные штаммы энтерококков и лактококков для создания новых пробиотических препаратов: автореф. дис. ... канд. мед. наук : 03.00.07 [Текст] / Самоукина Анна Михайловна. - Тверь. - 2006. – 24 с.
72. Сатуновская, С. П. Энтерококк и молочнокислый стрептококк, их антагонистические свойства и вопрос о возможности использования в терапии и профилактике : автореф. дис. ... канд. мед. наук [Текст] / Сатуновская Серафима Павловна. - Свердловск, 1952. – 24 с.
73. Седов, В. И. Биология и таксономия энтерококков: автореф. дис. ... докт. мед. наук : 03.00.07 [Текст] / Седов Вениамин Иванович. - М., 1984. – 41 с.
74. Симаненков, В. И. Возможности пробиотической терапии при неспецифическом язвенном колите [Текст] / В. И. Симаненков, А. Н. Суворов, О. И. Соловьева // [Вест. СПб. Ун-та.](#) – 2009. - Сер.11. Медицина. - Вып. 2. – С. 54 – 60.
75. Скрининг непатогенных антагонистически активных штаммов *Enterococcus faecium* [Текст] / В. М. Червинец, В. М. Бондаренко, А. М. Самоукина, Ю. В. Червинец // Журнал микробиологии, иммунологии, эпидемиологии. – 2007. - № 1. – С. 57–61.

76. Смагин, А. Ю. Пробиотики и пребиотики у новорожденных и детей грудного возраста (обзор литературы) [Электронный ресурс] / А. Ю. Смагин // Интенсивная терапия. – 2007. - Т. 3. - № 2. - Режим доступа: www.icjcorp.ru/2007-02-03.html.
77. Современные стратегии выхаживания недоношенных детей [Текст]/ Д. Н. Сурков [и др.]// Детская медицина Северо-Запада.- 2012.- Т. 3, № 1.- С. 4 - 9.
78. Суворов, А. Н. Микробиота детей [Текст] / А. Н. Суворов // Природа. - 2011. - № 11. – С. 14 - 21.
79. Ткаченко, Е. И. Питание, микробиоценоз и интеллект человека [Текст] / Е. И. Ткаченко, Ю. П. Успенский. – СПб. : СпецЛит, 2006. – 590 с.
80. Тюрин, Н. А. Детские болезни: учебник [Текст] / Н. А. Тюрин, Л. Г. Кузьменко. – Часть 1. - М.: Изд-во РУДН, 2004. – 610 с.
81. Угнетение репликации вирусов простого герпеса пробиотическими бактериями в системе *invitro* [Текст] / Е. И. Ермоленко [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2010. - № 4. – С. 25 - 29.
82. Учайкин, В. Ф. Инфекционные болезни и вакцинопрофилактика у детей : учебник для вузов [Текст] / В. Ф. Учайкин, Н. И. Нисевич, О. В. Шамшева. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 687 с.
83. Феклисова, Л. В. Клинико-лабораторное контролируемое исследование эффективности пробиотика со штаммом *Enterococcus faecium* SF-68 в лечении детей, больных ротавирусным гастроэнтеритом [Текст] / Л. В. Феклисова // Врач. – 2007. - № 8. – С. 57 – 61.
84. Формирование микробиоценоза кишечника у детей, находящихся на искусственном вскармливании [Электронный ресурс] / И. Н. Захарова, Е. Н. Суркова, Ю. А. Дмитриева, Л. В. Бегиашвили // [Практика педиатра](http://www.pediatr-pract.ru/). – 2010. – март/апрель. – С.28 - 32. – Режим доступа: <http://www.medi.ru/doc/j01100328.htm>.
85. Хавкин А. И. Микрофлора пищеварительного тракта [Текст] / А. И. Хавкин. – М.: Фонд социальной педиатрии, 2006. – 416 с.

86. Хаертынов, Х. С. Современные подходы к лечению неонатального сепсиса [Текст] / Х. С. Хаертынов, М. А. Сатрутдинов // Вестник современной клинической медицины. - 2013. - Т. 6, № 6.- С. 95 - 99.
87. Чертков, К. Л. Характеристика биологических свойств энтерококков, выделенных из различных биотопов : автореф. дис. ... канд. мед. наук :03.00.07 [Текст] / Чертков Константин Леонидович. - Оренбург, 2001. – 24 с.
88. Шабалов, Н. П. Неонатальный сепсис: клиника, диагностика, лечение [Текст] / Н. П. Шабалов, Д. О. Иванов // Медицинский академический журнал.- 2001. – Т. 1, № 3. – С.81 – 88.
89. Шабалов, Н. П. Неонатология : учебн. пособие: в 2 т. [Текст] / Н. П. Шабалов. – Т. 2. – Изд. 3-е, испр. и доп. - М. : МЕДпресс-информ, 2004. – 640 с.
90. Шабалов, Н. П. Неонатология : учебн. пособие: в 2 т. [Текст]/ Н.П. Шабалов. – Т. 1. –изд. 4-е, испр. и доп. - М. : МЕДпресс-информ, 2006. – 608 с.
91. Шабалов, Н. П. Проблемы классификации внутриутробных инфекций [Текст] / Н. П. Шабалов // Педиатрия. - 2000. - № 1. - С. 87 - 91.
92. Шабалов, Н. П. Сепсис новорожденных [Текст] / Н. П. Шабалов, Д. О. Иванов, Н. Н. Шабалова // Новости фармакотерапии. – 2000. – № 7. – С. 62 – 69.
93. Шендеров, Б. А. Медицинская микробная экология и функциональное питание.- В 3т.- Т. 3: Пробиотики и функциональное питание [Текст] / Б. А. Шендеров. - М.: ГРАНТЬ, 2001. — 288 с.
94. Щеглов, В. С. Выявление токсина *Clostridium difficile* у пациентов, обследуемых по поводу дисбиоза кишечника [Текст] / Материалы 14-го Международного Славяно-Балтийского научного форума «Санкт-Петербург–ГАСТРО-20012». - Гастроэнтерология Санкт-Петербурга, 2012. - № 2–3. – М. 45.

95. Щербаков, П. Л. Антибиотик-ассоциированная диарея у детей: особенности коррекции микрофлоры [Текст] / П. Л. Щербаков, А. А. Нижевич, В. Р. Амирова // Вопросы практической педиатрии. - 2010. - Т. 5. - № 5. - С. 44 – 51.
96. Юнкеров, В. И. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований [Текст] / В. И. Юнкеров, С. Г. Григорьев, М. В. Резванцев. – 3-е изд., доп. - СПб. : ЭЛБИ-СПб., 2011. – 318 с.
97. Яцык, Г. В. Особенности пищеварительной системы у недоношенных детей : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.09 [Текст] / Яцык Галина Викторовна. - М., - 1980. – 49с.
98. A prospective study of *Clostridium difficile* infection and colonization in pediatric oncology patients [Internet] / D. Burgner [et al.] // *Pediatr. Infect. Dis. J.* -1997. – Vol. 16, № 12. – P. 1131 – 1134. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=9427457>.
99. Alam, N. H. Treatment of infection diarrhea in children [Text] / N. H. Alam// *Paediatr. Drugs.*- 2003.- Vol. 5, №3.- P. 151–165.
100. Antagonistic activity of *Enterococcus faecium* L3 against different groups of pathogenic streptococci [Text] / editor Kadaba, S. Sriprakash. -Amsterdam: Elsevier – 2006. – 380 с.
101. Applicability of a bacteriocin-producing *Enterococcus faecium* as a co-culture in Cheddar cheese manufacture [Internet] / M. R. Foulquie Moreno [et al.] // *Int. J. Food Microbiol.* - 2003. - Vol. 81, № 1. – P. 73 – 84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12423920>.
102. Assessment of bacterial diversity in breast milk using culture-dependent and culture-independent approaches [Internet]/ Jost T., Lacroix C., Braegger C., Chassard C. // *Br J Nutr.* - 2013. - Vol. 14. - P. 1-10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23507238>
103. Assessment of intestinal microbiota modulation ability of *Bifidobacterium* strains in in vitro fecal batch cultures from preterm neonates

- [Internet] / Arboleya S. [et al.] // *Anaerobe.* - 2013. - Vol. 19. – P. 9-16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23154045>
104. Assessment of intestinal microbiota modulation ability of *Bifidobacterium* strains in in vitro fecal batch cultures from preterm neonates [Internet]/ Arboleya S. [et al.] // *Anaerobe.* - 2013. - Vol. 19. - P. 9-16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23154045>
105. Bacterial counts of intestinal *Lactobacillus* species in infants with colic [Internet] / F. Savino [et al.]// *Pediatr. Allergy. Immunol.* – 2005. - № 16. – P. 72 - 75. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15693915>.
106. Bergogne-Berezin, E. Opportunistic nosocomial multiply resistant bacterial infections: their treatment and prevention [Internet] / E. Bergogne-Berezin, D. Decre, M. L. Joly-Guillou // *J. Antimicrob. Chemother.* - 1993. - 32. (Suppl A) – P. 39 – 47. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7755661>.
107. Brodsky, D. Primary care of premature infant [Text] / D. Brodsky, M. A. Ouellette. - *Sunders Elsevier*, 2008. – 319c.
108. Bryant, K. *Clostridium difficile* infections in children [Internet] / K. Bryant, L. C. McDonald // *Pediatr. Infect. Dis. J.* – 2009. - № 28. – P. 145 – 146. Available from: http://www.journals.lww.com/pidj/citation/2009/02000/Clostridium_difficile_infections_in_children.14.aspx.
109. Characterization of genes homologous to the general stress-inducible genes *gls24* in *Enterococcus faecalis* and *Lactococcus lactis* [Internet] / J. C. Giard, N. Verneuil, Y. Auffray, A. Hartke // *FEMS Microbiol. Lett.* - 2002. - Vol. 206, № 2. - P. 235 – 239. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11814669>.
110. *Clostridium difficile* in children: colonization and disease [Internet] / D. A. Enoch [et al.] // *J. Infect.* – 2011. – Vol. 63, № 2. – P. 105 – 113. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21664931>.

111. Clostridium difficile in preterm neonates [Internet] / R. Cardines [et al.] // Microbiologica. – 1988. – Vol. 11, № 3. – P. 259 – 261. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3173125>.
112. Conditions of bifidobacterial colonization in preterm infants: a prospective analysis [Text] /M. J. Butel [et al.] // J. Ped. Gastroenterol. Nutr. – 2007. – Vol. 44, № 5.- P. 577 – 582.
113. Deshpande, G. Probiotics for prevention of necrotising enterocolitis in preterm neonates with very low birthweight: a systematic review of randomised controlled trials [Internet] / G. Deshpande, S. Rao, S. Patole // Lancet. - 2007. - May 12. – Vol. 369, № 9573. – P. 1614-20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17499603>.
114. Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health [Internet]/ Matamoros S. [et al.] // Trends Microbiol. - 2013. - Vol. 21, N 4. - P. 167-73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23332725>
115. Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health [Internet]/ Matamoros S. [et al.]// Trends in Microbiology. - 2013. - Vol. 21, Iss. 4. - P. 167-173. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23332725>
116. Eaton, T. J. Molecular screening of Enterococcus virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates [Internet] / T. J. Eaton, M. J. Gasson. // Appl. Environ. Microbiol. – 2001. - Vol. 67, № 4. – P. 1628 – 35. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11282615>.
117. Enterococci as probiotics or autoprobiotics [Text] / A. Suvorov [et al.] // International conference « Prebiotics and probiotics potential for human health», Sofia, 18 April 2011. – Sofia, 2011. - P.104–112.
118. Evaluation of diet and growth in children with and without atopic eczema: follow-up study from birth to 4 years [Internet] / K. Laitinen [et al.] // Br. J. Nutr. - 2005 Oct. – Vol. 94, № 4. – P. 565 - 574. Available from: <http://www.journals.cambridge.org/action/displayAbstract?fromPage=online&aid=921112&fileId=S0007114505002187>.

119. Factors involved in the colonization and survival of bifidobacteria in the gastrointestinal tract [Internet]/ González-Rodríguez I. [et al.] // FEMS Microbiol Lett. - 2013. - Vol. 340, N 1. - P. 1-10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23181549>
120. Gut microbiota of healthy Canadian infants: profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months [Internet]/ Azad M.B. [et al.] // CMAJ. - 2013. - Vol. 185, N 5. - P. 385-94. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3602254/>
121. Hammerman, C. Probiotics and neonatal intestinal infection [Internet] / C. Hammerman, M. Kaplan // Current opinion in infectious diseases. -Jun 2006. - Vol. 19, No. 3. - P. 277 - 282. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16645490>.
122. Impact on human intestinal microflora of an Enterococcus faecium probiotic and vancomycin [Internet] / B. Lund [et al.] // Scand. J. Infect. Dis. – 2000. - Vol. 32, № 6. – P. 627 – 632. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11200372>.
123. Influence of Different Probiotic Lactic Acid Bacteria on Microbiota and Metabolism of Rats with Dysbiosis [Text] / E. Ermolenko [et al.] // Bioscience of Microbiota, Food and Health. – 2013. – Vol. 32, № 2. – P. 41 - 49.
124. Influence of synthetic peptide inductors on antibacterial activity of enterococci [Text] / E. Yermolenko, A. Kolobov, A. Chernysh, A. Suvorov // Benef. Microbes. – 2011. – Vol. 2, № 1. – P. 9 - 13.
125. Intestinal inflammatory biomarkers and outcome in pediatric Clostridium difficile infections [Internet]/ El Feghaly R.E., Stauber J.L., Tarr P.I., Haslam D.B. // J Pediatr. – 2013. – Vol. 163, N 6. - P. 1697-1704.e2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24011765>
126. Intestinal microbial profiles in extremely preterm infants with and without necrotizing enterocolitis [Internet]/ Normann E., Fahlén A., Engstrand L., Lilja H.E. // Acta Paediatr. - 2013. - Vol. 102, N 2. - P. 129-36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23082780>

127. Kim, J. H. Necrotizing enterocolitis: the road to zero [Internet] / J. H. Kim // *Semin. Fetal. Neonatal. Med.* – 2014. – N 19 (1). - P. 39-44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24268863>.
128. Klein, G. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract [Internet] / G. Klein // *Int. J. Food Microbiol.* - 2003. - Vol. 88, № 2 – 3. – P. 123 – 131. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14596985>.
129. Malene, S. Bacterial colonization and gut development in preterm neonates [Internet]/ Malene S.C., Mette B., Per T. Sangild. // *Early Human Development.* - 2012. - Vol. 88, Suppl 1. - P. S41-S49. Available from: <http://www.researchgate.net/publication/221784567>
130. Martens, U. Probiotic treatment of irritable bowel syndrome in children [Internet] / U. Martens, P. Enck, E. Zieseniss // *Ger. Med. Sci.* - 2010; Mar. – Vol. 2, № 8. – Doc. 07. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20234804>.
131. Maternal antenatal treatments influence initial oral microbial acquisition in preterm infants [Internet]/ Hendricks-Muñoz K.D. [et al.] // *Am J Perinatol.* - 2013. - Vol. 30, N 1. - P. 47-52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22814801>
132. Maternal intrapartum antibiotics and decreased vertical transmission of *Lactobacillus* to neonates during birth [Internet]/ Keski-Nisula L. [et al.] // *Acta Paediatr.* - 2013. - Vol. 102, N 5. - P. 480-5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23398392>
133. Millar, M. Probiotics for preterm neonates? [Internet] / Millar M, Wilks M, Costeloe K. // *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* - 2003. – Vol. 88, №5 – P. 354 - 358. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1721619>.
134. Molecular characterization of bacterial colonization in the preterm and term infant's intestine [Internet]/ Hallab J.C. [et al.] // *Indian J Pediatr.* - 2013. - Vol. 80, N 1. - P. 1-5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22576294>

135. Morgan, M. E. Klebsiella infection in a neonatal intensive care unit: role of bacteriological surveillance. [Internet] / M. E. Morgan, C. A. Hart, R. W. Cooke // *J. Hosp. Infect.* – 1984. – Dec. - № 5 (4). – P. 377 -385. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6085092>.
136. Mysorekar, I.U. Microbiome in parturition and preterm birth [Internet] / I.U. Mysorekar, B. Cao // *Semin. Reprod. Med.* 2014, Jan. – N 32 (1). – P. 50 – 55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24390921>
137. Neurodevelopmental and growth outcomes of extremely low birth weight infants after necrotizing enterocolitis [Internet] / S. R. Hintz [et al.] // *Pediatrics.* – 2005. – Vol. 115, № 3. - P. 696 – 703. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15741374>.
138. Ogier, J.- C. Safety assessment of dairy microorganisms: The Enterococcus genus [Internet] / J.- C. Ogier, P. Serror // *Int. J. Food Microbiol.* – 2008. -Vol. 126, № 3. – P. 291 – 301. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17889954>.
139. Oral Probiotics Prevent Necrotizing Enterocolitis In Very Low Birth Weight [Internet] / A. Bin-Nun [et al.] // *Neonates Pediatrics.* - 2005. - № 147. – P. 192 - 196. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16126048>.
140. Oral probiotics reduce the incidence and severity of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants [Internet] / H. C. Lin [et al.]// *Pediatrics.* – 2005, Jan. – Vol. 115, № 1. - P. 1 – 4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15629973>.
141. Panigrahi, P. Probiotics and prebiotics in neonatal necrotizing enterocolitis: New opportunities for translational research [Internet] / P. Panigrahi // *J. Pathophysiology.* – 2014. – N 21(1).-P. 35 - 46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24594006>
142. Peripartum Clostridium difficile infection: case series and review of the literature [Internet] / K . W. Garey [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2008. – Vol. 199, № 4. – P. 332 – 337. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18639213>.

143. Phenotypic and genotypic analyses of lactic acid bacteria in local fermented food, breast milk and faeces of mothers and their babies [Internet] / R. Albesharat [et al.] // *Syst. Appl. Microbiol.* – 2011. - Vol. 34 (2). – P. 148–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21300508>.
144. Pillar, C.M. Enterococcal virulence-pathogenicity island of *E. faecalis* [Internet] / C. M. Pillar, M. S. Gilmore // *Front. Biosci.* – 2004. - Vol. 9. – P. 2335 – 46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15353291>.
145. Postnatal amniotic fluid intake reduces gut inflammatory responses and necrotizing enterocolitis in preterm neonates [Internet]/ Siggers J.[et al.] // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* - 2013. - Vol. 304, N 10. - P. G864-75. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23518680>
146. Postnatal amniotic fluid intake reduces gut inflammatory responses and necrotizing enterocolitis in preterm neonates [Internet]/ Siggers J. [et al.] // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* - 2013. - Vol. 304, N 10. - P. G864-75. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23518680>
147. Prebiotic and probiotic supplementation prevents rhinovirus infections in preterm infants: a randomized, placebo-controlled trial [Internet] /R. Luoto [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2014. – N 133 (2). – P. 405 - 413. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24131826>
148. Probiotics feeding in prevention of urinary tract infection, bacterial sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants. A prospective double-blind study [Internet] / C. Dani [et al.] // *Biol. Neonate.* – 2002. – Vol. 82, № 2. – P.103 – 08. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12169832>.
149. Probiotics for treatment of acute diarrhoea in children: randomised clinical trial of five different preparations [Internet] / R. B. Canani [et al.] // *J. Pediatr.* – 2008. - Vol. 152, № 1. – P. 142. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17690340>.
150. Probiotics have clinical, microbiologic, and immunologic efficacy in acute infectious diarrhea [Internet] / C. C. Chen [et al.] // *Pediatr. Infect. Dis. J.* – 2010.

- Vol. 29, № 2. – P. 135 – 138. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20135748>.
151. Prospective assessment of the gastroesophageal microbiome in VLBW neonates [Internet]/ Milisavljevic V. [et al.]// BMC Pediatr. - 2013. - Vol. 13. - P. 49. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1471-2431/13/49>
152. Recurrent infection with epidemic *Clostridium difficile* in a peripartum woman whose infant was asymptotically colonized with the same strain [Internet] / M.T. Hecker [et al.] // Clin. Infect. Dis. – 2008. – Vol. 46, № 6. – P. 956 – 957. Available from: <http://www.cid.oxfordjournals.org/content/46/6/956.full>.
153. Saavedra, J. M. Clinical applications of probiotic agents [Internet] / J. M. Saavedra // Am. J. Clin. Nutr. – 2001. – Vol. 73, № 6. – P. 1147 – 1151. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11393193>.
154. Salminen, S. Clinical uses of probiotics for stabilising gut mucosal barrier: successful strains and future challenges [Internet] / S. Salminen, E. Isolauri, E. Salminen // Anton. Leeuwenhoek. – 1996. - Vol. 70. – P. 347 – 358. Available from: <http://www.link.springer.com/article/10.1007%2F0395941>.
155. Salminen, S. Gut flora in normal and disordered states (review) [Internet] / S. Salminen, E. Isolauri, T. Onnela // Chemotherapy. - 1995. - V. 41. - Suppl. 1 - P. 1 – 15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7671648>.
156. Sarantinopoulos, P. Citrate metabolism by *Enterococcus faecalis* FAIR-E 229 [Internet] / P. Sarantinopoulos, G. Kalantzopoulos, E. Tsakalidou // Appl. Environ. Microbiol. – 2001. – Vol. 67, № 12. – P. 5482 - 5487. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11722896>.
157. Schanler, R.J. Probiotics and necrotising enterocolitis in premature neonates [Internet] / R.J. Schanler // Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed . – 2006. – Vol. 91, № 6 – P. 395 – 7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2672748>.

158. Survey for virulence among *Enterococcus faecalis* isolated from different sources [Internet] / R. Creti [et al.] // J. Med. Microbiol. – 2004. - Vol. 53, № 1. - P. 13 – 20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14663100>.
159. Systemic inflammation associated with severe intestinal injury in extremely low gestational age newborns [Internet]/ Martin C.R. [et al.] // Fetal Pediatr Pathol. - 2013. - Vol. 32, N 3. - P. 222-34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23002960>
160. Tang, P. Limited clinical utility of Clostridium difficile toxin testing in infants in a pediatric hospital [Internet] / P. Tang, M. Roscoe, S. E. Richardson // Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. – 2005. – Vol. 52, № 2. – P. 91 – 94. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15964495>
161. The development of gut microbiota in critically ill extremely low birth weight infants assessed with 16S rRNA gene based sequencing [Internet] / T. Drell [et al.] // Gut Microbes. – 2014. – Vol.56 №3.- P. 304-12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25184833>
162. The individual-specific and diverse nature of the preterm infant microbiota [Internet]/ Barrett E. [et al.] // Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. - 2013. - Jan 8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23303303>
163. The influence of probiotic enterococci on the microbiota and cytokines expression in rats with dysbiosis induced by antibiotics [Text] / E. Tarasova [et al.] // Benef. Microbes. – 2010. – Vol. 1, № 3. - P. 265 - 270.
164. The microbiome and development: a mother's perspective [Internet] / Prince A.L., Antony K.M., Ma J., Aagaard K.M.// Semin. Reprod. Med. - 2014. – N 32 (1). – P. 14 - 22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24390916>
165. Update of Clostridium difficile – associated disease due to PCR ribotype 027 in Europe [Internet] / E. J. Kuijper [et al.] // Eurosurveillance. – 2007. – Vol. 12. - № 6. – P. 163 – 166. Available from: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=714>.

166. Woodgate, P. Medical therapy for infantile colic [Internet] / P. Woodgate, L. Cooke, H. Webster// Cochrane Database Syst. Rev. – 2005. - № 4. Article ID CD004382 (CD-ROM)

Приложение 1

КЛИНИЧЕСКИЕ ПРИМЕРЫ

Пример №1

Недоношенная девочка Б., (история болезни № 330, 2012 г.) поступила в Детскую городскую больницу № 1 Санкт-Петербурга на 2-е сутки жизни с клиническими признаками дыхательных расстройств, врожденного порока сердца (открытый артериальный проток), с проявлениями гипоксически-ишемической энцефалопатии. Родилась на 27 неделе гестации с массой тела 1000 г, длиной тела 34 см. Роды быстрые. Мать ребенка имеет ОАГА, курит, во время беременности и после родов получала лечение антибиотиками. Девочка с рождения находилась на искусственной вентиляции легких, имела центральный венозный катетер более 10 дней, получала антибиотикотерапию длительностью более 10 дней со сменой препаратов. Ребенку произведено хирургическое закрытие открытого артериального протока. Диагностированы ретинопатия недоношенных, бронхолегочная дисплазия. Инфекционных осложнений не установлено. Длительность парентерального питания составила 25 дней. Перевод на энтеральное питание проводился с последовательным использованием формул Алфаре, ПреНАН, НАН Гипоаллергенный. В клиническом анализе крови выявлялись: лейкоцитоз, моноцитоз, признаки анемии. В копрограммах не было отмечено патологических отклонений. В бакпосеве кала на 5-й день жизни ребенка в титрах 10^6 КОЕ/г выделены гемолитическая кишечная палочка и *K. mobilis*. По данным исследования кишечной микрофлоры методом ПЦР в реальном времени выявлено нормальное количество *Bacteroides fragilis*, низкое количество лактобацилл и бифидобактерий, повышенное количество кишечной палочки, нормальное количество энтерококка.

Девочка получала комплексное лечение с использованием дополнительно в профилактических целях внутрь жидкой пробиотической формы *E. faecium* L3 по 0,5 мл 3 раза в день в течение 14 дней, назначение которой было произведено с

помощью расчета ЛКФ₁ (отсутствие инфекционных осложнений) и ЛКФ₂ (наличие инфекционных осложнений):

$$\text{ЛКФ}_1 = -12,2 - 1,29 \times 1 - 0,27 \times 1 - 0,87 \times 0 + 4,75 \times 0 + 3,13 \times 3 + 10,68 \times 2 = 16,99$$

$$\text{ЛКФ}_2 = -8,78 + 0,74 \times 1 + 0,93 \times 1 - 0,15 \times 0 + 3,78 \times 0 + 2,77 \times 3 + 7,6 \times 2 = 16,40,$$

где X₁=1; X₂=1; X₃=0; X₄=0; X₅=3; X₆=2 и ЛКФ₁>ЛКФ₂.

Стандартная терапия выхаживания не обеспечивала ребенку гарантии отсутствия инфекционных осложнений, т.к. ЛКФ₁< ЛКФ₂:

$$\text{ЛКФ}_1 = -12,2 - 1,29 \times 1 - 0,27 \times 1 - 0,87 \times 0 + 4,75 \times 0 + 3,13 \times 3 + 10,68 \times 1 = 6,31$$

$$\text{ЛКФ}_2 = -8,78 + 0,74 \times 1 + 0,93 \times 1 - 0,15 \times 0 + 3,78 \times 0 + 2,77 \times 3 + 7,6 \times 1 = 8,8, \text{ где } X_1=1;$$

X₂=1; X₃=0; X₄=0; X₅=3; X₆=1.

Длительность стационарного этапа выхаживания недоношенного ребенка составила 84 дня, выписана домой в удовлетворительном состоянии с массой тела 2000 г.

Пример №2

Недоношенный мальчик Б., (история болезни № 1790, 2012 г.) поступил в Детскую городскую больницу № 1 Санкт-Петербурга на 4-е сутки жизни с клиническими признаками синдрома дыхательных расстройств 1 ст., с проявлениями гипоксически-ишемической энцефалопатии. Родился на 29 неделе гестации с массой тела 1260 г, длиной тела 38 см. Мать ребенка имеет ОАГА, страдает хроническим пиелонефритом; получала стационарное лечение по поводу угрозы прерывания беременности. Девочка после рождения имела центральный венозный катетер более 10 дней, получала антибиотикотерапию длительностью более 10 дней со сменой препаратов. Имела проявления конъюгационной гипербилирубинемии. Инфекционных осложнений не установлено. Длительность парентерального питания составила 13 дней. Перевод на энтеральное питание проводился с последовательным использованием формул Алфаре, ПреНАН, НАН Гипоаллергенный. В клиническом анализе крови выявлялись: лейкоцитоз, моноцитоз, эозинофилия, признаки анемии. В копрограммах не было отмечено патологических отклонений. В бакпосеве кала на 7-й день жизни ребенка условно-патогенной микрофлоры не вывлено. По данным исследования кишечной

микрофлоры методом ПЦР в реальном времени выявлено отсутствие *Bacteroides fragilis*, лактобацилл и энтерококка, низкое количество бифидобактерий и кишечной палочки.

Мальчик получала комплексное лечение с использованием дополнительно в профилактических целях внутрь жидкой пробиотической формы *E. faecium* L3 по 0,5 мл 3 раза в день в течение 14 дней, назначение которой было произведено с помощью расчета ЛКФ₁ (отсутствие инфекционных осложнений) и ЛКФ₂ (наличие инфекционных осложнений):

$$\text{ЛКФ}_1 = -12,2 - 1,29 \times 1 - 0,27 \times 0 - 0,87 \times 0 + 4,75 \times 1 + 3,13 \times 1 + 10,68 \times 2 = 15,48$$

$$\text{ЛКФ}_2 = -8,78 + 0,74 \times 1 + 0,93 \times 0 - 0,15 \times 0 + 3,78 \times 1 + 2,77 \times 1 + 7,6 \times 2 = 13,72,$$

где $X_1=1$; $X_2=0$; $X_3=0$; $X_4=1$; $X_5=1$; $X_6=2$ и $\text{ЛКФ}_1 > \text{ЛКФ}_2$.

Стандартная терапия выхаживания не обеспечивала ребенку гарантии отсутствия инфекционных осложнений, т.к. $\text{ЛКФ}_1 < \text{ЛКФ}_2$:

$$\text{ЛКФ}_1 = -12,2 - 1,29 \times 1 - 0,27 \times 0 - 0,87 \times 0 + 4,75 \times 1 + 3,13 \times 1 + 10,68 \times 1 = -4,37$$

$$\text{ЛКФ}_2 = -8,78 + 0,74 \times 1 + 0,93 \times 0 - 0,15 \times 0 + 3,78 \times 1 + 2,77 \times 1 + 7,6 \times 1 = 1,2,$$

где $X_1=1$; $X_2=0$; $X_3=0$; $X_4=1$; $X_5=1$; $X_6=1$.

Длительность стационарного этапа выхаживания недоношенного ребенка составила 52 дня, выписан домой в удовлетворительном состоянии с массой тела 2050 г.

Приложение 2

ПОЛУЧЕННЫЕ ПАТЕНТЫ

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2502995

СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ УСПЕШНОСТИ
ПРОФИЛАКТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У
НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ

Патентообладатель(ли): *Федеральное государственное казённое
военное образовательное учреждение высшего
профессионального образования Военно-медицинская
академия им. С.М. Кирова (ВМедА) (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2012141867

Приоритет изобретения 01 октября 2012 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре
изобретений Российской Федерации 27 декабря 2013 г.

Срок действия патента истекает 01 октября 2032 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Б.П. Симонов



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2514346

СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ НЕДОНОШЕННЫХ
НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ С НИЗКОЙ МАССОЙ ТЕЛА

Патентообладатель(ли): *Федеральное государственное казённое
военное образовательное учреждение высшего профессионального
образования Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова
Министерства обороны Российской Федерации (ВМедА) (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2012136671

Приоритет изобретения **27 августа 2012 г.**

Зарегистрировано в Государственном реестре
изобретений Российской Федерации **28 февраля 2014 г.**

Срок действия патента истекает **27 августа 2032 г.**

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Б.П. Симонов

