

ЛО СКИАВО

Людмила Алексеевна

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

14.01.08. – педиатрия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург

2015

Работа выполнена на кафедре детских болезней Федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова Министерства обороны Российской Федерации»

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

ГОНЧАР Наталья Васильевна

Официальные оппоненты:

ДЕГТЯРЕВ Дмитрий Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой Неонатологии ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России

БЕЛЬМЕР Сергей Викторович – доктор медицинских наук, профессор кафедры госпитальной педиатрии №2 педиатрического факультета ГОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России

Ведущее учреждение:

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится 15 декабря 2015 года в ___ часов на заседании совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 208.102.02 на базе ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 620028 г. Екатеринбург, ул. Репина, 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке им. В.Н. Климова ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Ключевская, д. 17, с текстом автореферата - на сайте ВАК Министерства образования и науки РФ: vak2.ed.gov.ru и на сайте университета: www.usma

Автореферат разослан «___» _____ 2015г.

Ученый секретарь

диссертационного совета Д 208.102.02

доктор медицинских наук, профессор

Гришина Ирина Федоровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 [Шабалов Н.П., 2006; Сурков Д.Н. и др. 2012].

Многочисленные осложнения недоношенности способствуют развитию острых и хронических заболеваний, неврологических нарушений [Володин Н.Н., 2009; Валиулина А.Я. и др., 2013; Brodsky D., 2008]. Значительную роль в показателях заболеваемости и смертности детей с очень низкой массой тела (ОНМТ) играют инфекционные осложнения, которые развиваются на фоне незрелости желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), аномальной микробной колонизации кишечника, неадекватной энтеральной нагрузки и других факторов [Каравалева С.А., 2002; Bin-Nun A., 2005].

В процессе выхаживания дети с ОНМТ получают парентеральное питание, длительную антибактериальную терапию с неоднократной сменой групп и поколений препаратов, чему сопутствует широкий спектр побочных явлений: дисбиоз, ослабление иммунитета, аллергические реакции, нарушение обменных процессов [Волянюк Е.В., 2010; Лысенко И.М. и др., 2008; Бенис Н.А., Самсонова Т.В., 2012].

Применение пробиотиков у взрослых и детей показало хорошие результаты в профилактике и лечении осложнений антибактериальной терапии [Захарова И.Н., Мазанкова Л.Н., 2011]. Зафиксирован эффект восстановления нормального биоценоза как в кишечнике, так и в организме в целом; противовоспалительный эффект пробиотиков, нормализация обменных процессов и пищеварения [Ткаченко Е.И., Суворов А.Н., 2009].

В педиатрии пробиотики применяются для улучшения функционального состояния ЖКТ, для лечения и профилактики дисфункций пищеварения [Смагин А.Ю., 2007]. В неонатологии разрешены пробиотические штаммы с доказанной безопасностью [Захарова И.Н., Мазанкова Л.Н., Дмитриева Ю.А., 2009; Корниенко Е.А., 2007; Андреева И.В., 2006].

В последние годы пробиотики успешно применяют у недоношенных детей для снижения частоты сепсиса, частоты и тяжести некротического энтероколита [Lin H.C. et al., 2005; Deshpande G., Rao S., Patole S., 2007]. Клинический эффект пробиотиков выражается в ускорении заселения кишечника тракта полезной микрофлорой, антагонистическом взаимодействии ее с патогенной флорой, модулировании иммунного ответа, ускорении созревания функции слизистой оболочки ЖКТ. Все это способствует профилактике инфекционных осложнений [Millar M., 2003; Schanler R.J., 2006; Deshpande G.C., 2007].

В качестве пробиотиков у детей используются такие представители микробиоты как *B. bifidus*, *B. infantis*, *B. brevis*, *B. lactis*, *S. termophilus*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. ramosus GG*, *S. boulardii* [Корниенко Е.А., 2007; Deshpande G., 2007]. Спектр пробиотиков для применения в неонатологии обычно ограничен: бифидобактерии и лактобациллы.

Вместе с тем, энтерококки являются естественными обитателями организма человека (чаще – *E. faecium* и *E. faecalis*, реже – *E. gilvus* и *E. pallens*), одними из первых колонизируют организм новорожденных, а система врожденного иммунитета не распознает их как врагов. Благодаря уникальной жизнеспособности (устойчивость к

низким значениям рН, к желчным кислотам, к широкому диапазону температур), энтерококки обитают во всех отделах ЖКТ, обнаруживаются во влагалище. Энтерококки принимают активное участие в метаболических процессах (синтезе витаминов, гидролизе сахаров, в частности лактозы, деконъюгировании желчных кислот) и элиминации патогенных бактерий из кишечника [Бондаренко В.М. и др., 2008]. Пробиотические штаммы энтерококков являются эффективными стимуляторами местного, гуморального и клеточного иммунитета [Мацулевич Т.В.; Бондаренко В.М., 2007], способны поддерживать адекватный для нормальной работы системы врожденного иммунитета уровень цитокинов широкого спектра [Суворов А.Н., 2007].

В литературе имеются описания применения пробиотического препарата Линекс, содержащего *E. faecium*, у недоношенных новорожденных с целью профилактики инфекционных осложнений [Горобченко В., Миллер Ю., Купряшина И., 2008].

В то же время, пробиотический штамм *E. faecium* L3 хорошо изучен с точки зрения безопасности; обладает выраженным антагонизмом к патогенной и условно-патогенной микрофлоре [Суворов А.Н., 2000; Yermolenko E., 2003; Tarasova E. et al., 2010]; не содержит генов патогенности, детектируемых методом ПЦР [Yermolenko E. et al., 2006]; способен устранять явления дисбиоза [Ермоленко Е.И. и др., 2008].

Пробиотический штамм *E. faecium* L3 входит в продукты питания, с лечебной целью используется в России более 15 лет. Эффективность использования препарата Ламинолакт на основе *E. faecium* L3 была показана в рандомизированных клинических исследованиях, посвященных лечению синдрома раздраженного кишечника [Симаненков В.И. и др., 2009], неспецифического язвенного колита, хеликобактер-пилори ассоциированной патологии [Симаненков В.И., Суворов А.Н., Соловьева О.И., 2009], а также в исследованиях по изучению комплексной реабилитации детей с белково-энергетической недостаточностью [Соколова М.И. и др., 2013].

Возможности использования пробиотических энтерококков у новорожденных, получающих антибиотики, а также у глубоко недоношенных новорожденных на этапе выхаживания в стационаре, в том числе для профилактики инфекционных осложнений на фоне врожденной иммунологической недостаточности, остаются мало изученными.

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 антибиотикотерапию, путем использования пробиотического штамма *E. faecium* L3.

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

3. Оценить влияние профилактического применения пробиотического штамма *E. faecium* L3 на частоту манифестации инфекционных осложнений и частоту возникновения эпизодов 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, 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 2,0 мл и недоношенных детей с ОНМТ в течение 14 дней в суточной дозе 1,5 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

Автор лично принимал участие в разработке дизайна исследования, самостоятельно проводил клинико-диагностический мониторинг 94 новорожденных детей, находящихся

на лечении в специализированном отделении многопрофильного стационара. Автором лично собраны анамнестические данные из первичной медицинской документации, результаты обследования внесены в индивидуальные карты пациентов и в компьютерную базу данных, проведена статистическая обработка результатов исследования. Доля участия автора в накоплении, в обобщении и анализе материала составила более 90%.

Апробация работы

По материалам диссертации опубликовано 19 печатных работ, в том числе 5 публикаций в научных журналах, рецензируемых ВАК. Основные результаты диссертационного исследования были заслушаны, обсуждены и одобрены на заседаниях: 15-го Юбилейного международного Славяно-Балтийского научного форума «Санкт-Петербург–Гастро-2013»; XIII Съезда 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-ого международного Славяно-Балтийского научного форума «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); II Российского конгресса «Функциональные заболевания в терапевтической и педиатрической практике» (Санкт-Петербург, 2015).

Внедрение в практику

Результаты исследования внедрены в практику работы специализированных отделений патологии новорожденных детей №9 и №10 Санкт-Петербургского государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Детская городская больница №1»; отделения патологии новорожденных детей с палатой реанимации и интенсивной терапии Санкт-Петербургского государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Детская городская больница №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 проведении лекций и 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 проведении лекций и практических занятий для врачей-интернов и клинических ординаторов.

Работа была поддержана выигранным автором грантом фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере «Разработка пробиотических компонентов питания для оптимизации вскармливания глубококондоношенных детей».

Получен патент РФ на изобретение «Способ прогнозирования успешности профилактики инфекционных осложнений у недоношенных детей» №2502995 от 27.12.2013. Получен патент РФ на изобретение «Способ лечения недоношенных новорожденных детей с очень низкой массой тела» №2514346 от 28.02.2014.

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

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 172 страницах машинописного текста и состоит из введения, 7 глав, выводов, практических рекомендаций и приложений. Работа иллюстрирована 28 рисунками и 37 таблицами. Библиография включает 166 источников, из них 69 – на иностранных языках.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Выборку новорожденных детей, вошедших в исследование, формировали в период 2011-2012 гг. в условиях специализированного отделения патологии новорожденных детей Санкт-Петербургского государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Детская городская больница №1» (главный врач – д.м.н. проф. А.В. Каган). Дети поступали из родильных домов Санкт-Петербурга и из отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных детей СПб ГБУЗ ДГБ №1. В состав выборки вошло 94 новорожденных пациента, которые образовали две группы: доношенные новорожденные (n=39) и недоношенные новорожденные с ОНМТ (n=55).

Доношенные новорожденные поступали в стационар с целью углубленного обследования и терапии по поводу заболеваний периода новорожденности. Критериями включения доношенных пациентов в исследование явились: гестационный возраст 38-41 недель; 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, в том числе родовые травмы с кровоизлияниями в головной мозг и с крупными инфарктами головного мозга.

Недоношенные новорожденные с ОНМТ поступали в отделение патологии новорожденных детей для продолжения выхаживания в условиях стационара. Критериями включения для недоношенных пациентов явились: ОНМТ 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 детей 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.

Клинико-анамнестические методы обследования новорожденных детей.

При сборе анамнеза пациентов обращали внимание на неблагоприятные факторы антенатального и интранатального периода: наличие у матери осложненного акушерско-гинекологического анамнеза (ОАГА), хронической интоксикации, хронической соматической патологии; течение беременности с осложнениями и угрозой прерывания, лечение антибактериальными препаратами. Из хронической соматической патологии выявляли хронический пиелонефрит и цистит, хронические заболевания ЛОР-органов (хронический ларингит и др.), как вероятные причины внутриутробного инфицирования плода. Под хронической интоксикацией понимали табакокурение, наркоманию, постоянный прием лекарственных препаратов. Оценивали характер вскармливания и динамику показателей физического развития до поступления детей в стационар; отмечали перенесенные заболевания, наличие патологии органов и систем. В процессе наблюдения новорожденных в стационаре проводили ежедневное тщательное объективное исследование по системам; оценивали динамику антропометрических показателей. При наличии показаний новорожденных детей консультировали у хирурга, невропатолога, офтальмолога и других специалистов.

Лабораторные методы исследования.

Всем наблюдаемым новорожденным пациентам 1 раз в 10 дней (или чаще, при наличии клинических показаний) проводили общепринятые методы исследования:

клинический анализ крови; общий анализ мочи; развернутая копрограмма; 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.

Оценку микробиоценоза кишечника проводили методами бактериологического исследования фекалий и ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ). У *доношенных детей* забор материала для исследования проводили двукратно: при поступлении и через 10 дней; у *недоношенных детей* – трехкратно: при поступлении в отделение, затем двукратно с интервалом 14 дней. Исследования фекальной микробиоты с оценкой количества анаэробных и аэробных микроорганизмов проводили в лаборатории «Explana» (руководитель – Суворова М.А.) с учетом рекомендаций Красноголовец В.Н. (1989) и в соответствии с ОСТ «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» (2003).

Чувствительность к антибиотикам 146 клинических штаммов условно-патогенных микроорганизмов (УПМ), 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). Исследовали чувствительность изолятов УПМ к бактериофагам: поливалентному клебсиеллезному, интести-бактериофагу, колипротейному бактериофагу, пиобактериофагу (Н. Новгород); пиополибактериофагу (Уфа), секста-бактериофагу (Пермь).

При исследовании микробиоты кишечника методом ПЦР-РВ с флуоресцентной детекцией результатов определяли количественное соотношение ДНК представителей облигатной и условно-патогенной микробиоты в фекальных образцах пациентов. Тотальную ядерную ДНК из фекальных образцов выделяли с использованием набора реагентов «ДНК-Экспресс» («Литех», Санкт-Петербург). Реакцию амплификации проводили в термоциклере «MiniOpticon» (Bio-Rad, США) с использованием Taq ДНК-полимеразы (ООО «Силекс», Москва). Количество выявляемых ДНК микроорганизмов рассчитывали на основе значений порогового цикла C_t по методу $2^{\Delta C_t}$.

Методы терапии.

Доношенные дети были рандомизированы на две группы. Группа 1 (сравнения) (n=18) получала стандартную терапию основного заболевания: антибиотики, нейротрофическую, дегидратационную, физиотерапию, фототерапию и др. Группа 2 (основная) (n=21) дополнительно к стандартной терапии получала внутрь пробиотический штамм *E. faecium* L3 (№ RU. 77.99.26.009.E.002272.02.11) в жидкой форме с титром не менее 10^8 КОЕ/мл по 1 мл 2 раза в день в течение 10 дней. Эффективность терапии доношенных новорожденных оценивали на основании отсутствия клинических признаков функциональных нарушений ЖКТ, наличия хорошего аппетита, регулярного стула без патологических примесей.

Недоношенные дети с ОНМТ также были рандомизированы на 2 группы: группа 1 (сравнения) (n=26) получала стандартную программу выхаживания; группа 2 (основная) (n=29) при достижении удерживаемого объема энтерального питания 5,0 мл получала дополнительно внутрь с питанием пробиотический штамм *E. faecium* L3 в жидкой форме по 0,5 мл 3 раза в день в течение 14 дней.

Стандартная программа выхаживания недоношенных детей с ОНМТ включала в себя адекватную респираторную терапию с использованием заменителя сурфактанта на первом этапе, транспортировку детей из родильного дома с сохранением теплового режима, инфузионную терапию, полное или частичное парентеральное питание, антибактериальную терапию. Стартовая антибактериальная терапия содержала 2 группы препаратов: пенициллины (ампициллин 100-150-200мг/кг/сут в/в) и аминогликозиды

(нетромицин, гентамицин 4-5 мг/кг/сут в/в). Смена антибактериальной терапии проводилась через 10-14 дней или ранее по показаниям. Вторым стандартным курсом антибактериальной терапии являлись цефалоспорины (клафоран, фортум 50 мг/кг/сут в/в) в сочетании с аминогликозидами (амикацин 10-15 мг/кг/сут в/в). По показаниям антибактериальную терапию продолжали препаратами карбапенемов (меронем 30-40 мг/кг/сут в/в капельно) и гликопептидов (ванкомицин 20-30 мг/кг/сут в/в капельно). При наличии данных анамнеза, указывающих на вирусное внутриутробное инфицирование, назначали противовирусные препараты (ацикловир от 10-30 до 60 мг/кг/сут, цимевен 10 мг/кг/сут), препараты специфических иммуноглобулинов человека (неоцитотект 1 мл/кг в/в капельно №3). Противогрибковую терапию проводили дифлюканом (6 мг/кг/сут). По показаниям назначали препараты человеческого иммуноглобулина (пентаглобин 3 мл/кг в/в капельно №3). В случаях развития синдрома апноэ назначали кофеин в/в или в/м по 0,5 мл, эуфиллин в/в капельно 2,4 мг/кг, ингаляционную терапию (беродуал, пульмикорт через небулайзер). Сопутствующая терапия, назначаемая по показаниям, включала: нейротрофики (глиатилин 0,3 мл 2 раза в сутки в/в или в/м №10; церебролизин 0,5 мл 1 раз в сутки; актовегин 0,5 мл 1 раз в сутки в/в или в/м №10); диуретики (лазикс, верошпирон); витамины группы В (в/в или в/м №10).

Инфузионную терапию проводили в соответствии с рекомендациями протоколов ведения недоношенных детей с ОНМТ. Использовали глюкозо-солевые растворы, приготовленные в аптеке стационара. Парентеральное питание проводили аминокислотными растворами (аминовен-инфант 10%) и жировыми эмульсиями (интралипид 20%).

Используя принцип максимально раннего энтерального питания, назначали минимальное трофическое питание материнским молоком или специализированной смесью. Стартовая нагрузка энтерального питания составляла 1,0 мл в кормление. Увеличение объема питания проводили постепенно, круглосуточно контролируя состояние ребенка. Обращали особое внимание на признаки развития острой пищевой непереносимости – так называемых «срывов питания» (СП): вздутия живота, обильных срыгиваний, наличия остаточного объема в желудке и патологических примесей в нем, задержки стула, изменения цвета кожных покровов, дыхательной недостаточности. В таком случае энтеральное питание отменяли, ребенка переводили на полное парентеральное питание. К терапии добавляли метронидазол (метрогил 7,5 мг/кг/сут в/в капельно). Возврат к энтеральному питанию осуществляли после купирования симптомов пищевой непереносимости и начинали с минимальных объемов. Калорийность парентерального и энтерального питания рассчитывали ежедневно в соответствии с рекомендуемыми нормами и увеличивали ее постепенно: с 60 ккал/кг/сут до 120-130 ккал/кг/сут. Соответственно увеличению калорийности и объема энтерального питания, постепенно снижали объем инфузионной терапии.

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

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

Эффективность программ выхаживания недоношенных с ОНМТ оценивали по весовым прибавкам, длительности парентерального питания, частоте возникновения ситуаций острой пищевой непереносимости, по частоте инфекционных осложнений, по характеру изменений гематологических показателей, длительности терапии

антибиотиками, длительности пребывания в стационаре, динамике состава кишечной микрофлоры. К инфекционным осложнениям относили диагностированную внутриутробную инфекцию (ВУИ), внутриамниотическую инфекцию (ВАИ), некротический энтероколит (НЭК).

Осуществляли фармакоэкономический анализ эффективности затрат, при проведении которого рассчитывали 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: $ICER = ПЗ\ метода\ 1 - ПЗ\ метода\ 2 / ЭФ\ метода\ 1 - ЭФ\ метода\ 2$.

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: $ЧБНЛ = 1 / CAP$, где CAP – снижение абсолютного риска, или разница между частотой (долей) «недостаточного эффекта» (неблагоприятного исхода) лечения в основной группе и группе сравнения.

Статистическая обработка результатов исследования.

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

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клиническая характеристика доношенных новорожденных

Группы доношенных новорожденных по исходным характеристикам (полу, возрасту, массе и длине тела при рождении) были сопоставимы между собой (таблица 1).

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

Таблица 1. Характеристика групп доношенных новорожденных пациентов

Признаки	Группа 1 (n=18)	Группа 2 (n=21)	Уровень значимости
Мальчики (абс. число/%)	11/61,1	12/57,1	$p > 0,05$
Девочки (абс. число/%)	7/38,9	9/42,9	$p > 0,05$
Возраст при поступлении, дней	2,7±0,6	3,2±0,7	$p > 0,05$
Масса тела при рождении, г	3460±120	3580±130	$p > 0,05$
Длина тела при рождении, см	51,9±0,6	52,0±0,4	$p > 0,05$

Структура заболеваний доношенных новорожденных была представлена асфиксией в родах и внутриутробной гипоксией в 33,3% случаев; аспирацией мекония – в 17,9%, врожденными пороками развития – в 15,4%, родовой травмой – в 10,3%, неонатальными желтухами – в 10,3%. Инфекционные заболевания (ВУИ и др.) имели 7,7% доношенных новорожденных.

До поступления в отделение патологии новорожденных на интенсивной терапии в стационаре более 10 дней находилось 2 детей (11,1%) группы 1 и 1 ребенок (4,8%) группы 2; менее 10 дней на интенсивной терапии находились 8 детей (44,4%) группы 1 и 12 детей (57,1%) группы 2 ($p>0,05$). Антибактериальную терапию до поступления в стационар получали 16 детей (88,9%) группы 1 и 20 детей (95,2%) группы 2 ($p>0,05$). Пробиотические препараты до начала исследования не получал ни один наблюдаемый пациент.

Грудное вскармливание получали 6 детей (33,3%) группы 1 и 8 (38,1%) группы 2; смешанное вскармливание получали 8 детей (44,4%) группы 1 и 5 (28,3%) группы 2 ($p>0,05$). Антибиотики в период стационарного лечения курсом более 7 дней получали 10 детей (55,6%) группы 1 и 11 (52,4%) группы 2 ($p>0,05$). В обеих группах доношенных новорожденных вероятность неблагоприятного влияния антибактериальной терапии на микробиоту кишечника и функциональное состояние ЖКТ была одинаково высокой.

Клиническая характеристика недоношенных детей с ОНМТ

Группы недоношенных детей с ОНМТ были сопоставимы между собой по исходным характеристикам: полу, гестационному возрасту, показателям массы и длины тела при рождении, показателям состояния при рождении по шкале Апгар, возрасту на момент поступления в отделение (таблица 2).

Таблица 2. Характеристика групп наблюдаемых недоношенных пациентов

Признаки	Группа 1 (n=26)	Группа 2 (n=29)	Уровень значимости, p
Мальчики (абс. число/%)	11/42,3	14/48,3	$p>0,05$
Девочки (абс. число/%)	15/57,7	15/51,7	$p>0,05$
Гестационный возраст (нед.)	28,9±0,4	29,1±0,4	$p>0,05$
Масса тела при рождении, г	1197±37	1210±40	$p>0,05$
Длина тела при рождении, см	37,0±0,5	37,0±0,5	$p>0,05$
Показатели по шкале Апгар на 1 мин (баллы)	5,3±0,3	5,4±0,4	$p>0,05$
Показатели по шкале Апгар на 5 мин (баллы)	6,5±0,2	6,1±0,3	$p>0,05$
Возраст детей на момент поступления, дн.	3,6±0,9	3,0±0,4	$p>0,05$

Недоношенные дети с ОНМТ имели многочисленные неблагоприятные факторы перинатального анамнеза. ОАГА был установлен у 49,1% матерей; 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 особенностей перинатального анамнеза у недоношенных и доношенных новорожденных показало, что у недоношенных достоверно чаще отмечались: хроническая интоксикация матери во время беременности (37,7% и 5,1%; $p<0,05$), угроза прерывания беременности (60% и 15,4%; $p<0,0001$), быстрые роды (29,6% и 7,7%; $p<0,01$), лихорадка родильниц, обусловленная урогенитальной инфекцией (16,4% и 0%; $p<0,05$). Хроническая интоксикация и инфекции урогенитального тракта являются не только важными факторами риска невынашивания беременности, но также значительно нарушают процессы формирования микробиоты кишечника недоношенных детей.

Сравнение групп недоношенных с ОНМТ по частоте неблагоприятных факторов перинатального анамнеза выявило различия только по частоте рождения методом

кесарева сечения (29,2% в группе 1 и 55,2% в группе 2; $p < 0,05$), что предполагало более высокий риск развития дисбиоза кишечника у детей основной группы.

Большинство пациентов обеих групп получали искусственное вскармливание. Общее число детей, получавших грудное и смешанное вскармливание, в группах достоверно не отличалось: в группе 1 – 28,0% детей, в группе 2 – 37,9% ($p > 0,05$).

Недоношенные группы 1 и группы 2 также достоверно не отличались по частоте наличия центрального венокатетера более 10 дней (92,3% и 93,1 %, соответственно; $p > 0,05$); частоте терапии антибиотиками курсом более 10 дней (92% и 89,7%; $p > 0,05$), частоте смены курсов антибиотиков (80% и 82,8%; $p > 0,05$). Выявленные особенности питания и лечения недоношенных детей с ОНМТ не могли не оказать неблагоприятного влияния на становление кишечной микробиоты.

Частыми осложнениями у недоношенных с ОНМТ были следующие: синдром дыхательных расстройств (СДР) на этапе выхаживания в родильном доме (61,8%); гипоксически-ишемическая энцефалопатия (81,8%), ретинопатия недоношенных (34,5%), ранняя анемия недоношенных (РА) (67,3%), открытый артериальный проток (25,5%).

Инфекционные осложнения (таблица 3) были диагностированы у 20 (36,4%) недоношенных с ОНМТ, при этом достоверно чаще у детей группы сравнения. ВУИ диагностировали у 9 (16,4%) детей. Верифицировано 3 случая ВУИ, что составило 22,2% (цитомегаловирусной этиологии – 2, герпетической этиологии (ВПГ1 типа) – 1). ВАИ была диагностирована у 10 (18,2%) детей. Верифицировано 2 случая: 1 – ВАИ с поражением легких стрептококковой этиологии, 1 – ВАИ с поражением ЖКТ стафилококковой этиологии. НЭК был диагностирован у 2 (3,6%) детей, в обоих случаях этиология не была установлена, но в одном случае НЭК сочетался с ВАИ стафилококковой этиологии. Оба случая не потребовали хирургического вмешательства и наблюдались у детей группы сравнения.

Таблица 3. Частота негладкого течения выхаживания недоношенных с ОНМТ (абс.ч./%)

Исследуемые признаки	Группа сравнения		Группа основная		Критерий Pearson χ^2	Уровень значимости, p
	нет	есть	нет	есть		
ЦВК 10 дн.	3/11,5%	23/88,5%	2/6,9%	27/93,0%	0,02	$p > 0,05$
Терапия антибиотиками >10дн.	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	12/46,2%	14/53,8%	23/79,3%	6/20,7%	6,51	$p < 0,05$

Результаты фармакоэкономического анализа 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 была незначительной. По данным анализа эффективности затрат было установлено, что эффективность выхаживания детей в основной группе была значительно выше ($CER_2 = 49802,5$), чем в группе сравнения ($CER_1 = 81182,6$). По данным инкрементального анализа затрат ($ICER = 6060,6$) 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 составил 3,03. Это означает, что число больных, которых нужно лечить, чтобы предотвратить один неблагоприятный исход в группе сравнения, равно трем.

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.

Результаты исследования состояния микробиоты кишечника доношенных новорожденных и недоношенных с ОНМТ

По данным дисперсионного анализа у доношенных и недоношенных новорожденных особенности состава микробиоты кишечника при поступлении в отделение патологии новорожденных были однотипными: отмечалось умеренное снижение количества бифидобактерий, общего количества кишечной палочки и кишечной палочки с нормальной ферментативной активностью; выявлено высокое содержание клебсиелл и другой УПМ, что соответствовало пусковой фазе дисбиоза кишечника у детей раннего возраста, описанной Куваевой И.Б., Ладодо К.С. (1991). Сравнение данных исследования микробиоты кишечника у доношенных и недоношенных детей методом дисперсионного анализа (таблица 4) выявило достоверное низкое содержание лактобацилл и более высокое содержание «другой» УПМ (суммарно цитробактера, стафилококка, гемолитической кишечной палочки) у доношенных детей. Высокое ОБЧ у недоношенных детей являлось отражением активной микробной колонизации на фоне незрелости и пониженной резистентности ЖКТ.

Таблица 4. Сравнение состава кишечной микробиоты доношенных и недоношенных новорожденных по данным дисперсионного анализа

Изучаемые качественные показатели	Количественные показатели (КОЕ/г; Med(Qн-Qв) в группах доношенных и недоношенных новорожденных	
	Доношенные новорожденные (n=39)	Недоношенные с ОНМТ (n=55)
ОБЧ (ПЦР-РВ)	$2,5 \times 10^{10}$ ($4,0 \times 10^9 - 2,0 \times 10^{11}$) (n=38)	$3,0 \times 10^{10}$ ($4,0 \times 10^9 - 2,0 \times 10^{11}$) (n=42)*
Лактобациллы (БАК)	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^{10}$) (n=39)	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^9$) (n=54)*
Бифидобактерии (БАК)	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$) (n=39)	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^9$) (n=54)
Общее количество кишечной палочки (БАК)	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$) (n=34)	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^6$) (n=48)
Кишечная палочка с нормальной ферментативной активностью (БАК)	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$) (n=27)	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$) (n=32)
Клебсиеллы (БАК)	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$) (n=34)	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$) (n=44)
Энтерококк (БАК)	$1,0 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$) (n=39)	$1,0 \times 10^5$ ($1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6$) (n=53)
«Другая» УПМ (цитробактер, стафилококк, гемолитическая кишечная палочка) (БАК)	$5,5 \times 10^5$ ($5,4 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6$) (n=4)	$1,0 \times 10^3$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^5$) (n=9) *

Примечание: * – $p < 0,05$

У недоношенных с ОНМТ в 5,7 раза чаще, чем у доношенных новорожденных, выявляли сахарозопозитивные штаммы кишечной палочки; в 4,7 раза чаще – гемолитические кишечные палочки; в 2,5 раза чаще – золотистый стафилококк (эпидермальный стафилококк выявляли только у недоношенных детей); в 1,6 раза чаще – другие условно-патогенных микроорганизмы; в 1,5 раза чаще – грибы рода *Candida*.

Методом ПЦР-РВ у недоношенных детей в 1,8 раза чаще, чем у доношенных новорожденных, выявляли *B. fragilis* и в 2,7 раза чаще – *C. difficile*, что отражало прогностически неблагоприятные изменения микробиоты кишечника у недоношенных с ОНМТ, с рождения получающих антибиотикотерапию.

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

Сравнение клинических 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, обусловленные дисбиотическими нарушениями кишечника. В то же время, ни у одного ребенка основной группы не было зарегистрировано признаков желудочной и кишечной диспепсии ($p < 0,05$).

При оценке динамики лабораторных показателей на фоне лечения у детей обеих групп было отмечено устранение воспалительных изменений в гемограмме и биохимическом анализе крови. Достоверных различий между группами детей по динамике всех анализируемых лабораторных показателей не было выявлено.

В процессе наблюдения имело место нарастание частоты эозинофилии в основной группе (с 28,6% до 47,6%; $p > 0,05$) и в группе сравнения (с 16,7% до 44,4%; $p > 0,05$). В основной группе отмечено недостоверное нарастание частоты умеренных воспалительных изменений в копрограмме (с 4,8% до 14,3%; $p > 0,05$), в группе сравнения частота воспалительных изменений в копрограмме не менялась (11,1%; 11,1%).

**Клиническая эффективность применения пробиотического штамма
E. faecium L3 в программах выхаживания недоношенных детей с ОНМТ**

При сравнении недоношенных детей группы 1 и группы 2 по показателям средней ($M \pm m$) продолжительности парентерального питания (19,8 \pm 2,2 дн.; 18,0 \pm 1,9 дн.; $p > 0,05$), срокам до перевода на полное энтеральное питание (20,3 \pm 2,2 дн.; 18,8 \pm 1,9 дн.; $p > 0,05$), частоте симптомов умеренного вздутия живота (25%; 15,4%; $p > 0,05$), частоте эпизодов изменения характера стула и учащения дефекаций (25%; 23,1%; $p > 0,05$), частоте диагностики РА (72,4%; 65,4%; $p > 0,05$), выявления СДР (55,2%; 65,4%; $p > 0,05$), бронхолегочной дисплазии (БЛД) (13,8%; 7,7%; $p > 0,05$), неонатальной желтухи (17,2%; 7,7%; $p > 0,05$) с использованием статистических критериев Стьюдента и Pearson- χ^2 нам не удалось выявить достоверных различий.

Из приведенных данных следует, что программа выхаживания недоношенных детей с ОНМТ с применением пробиотического штамма *E. faecium* L3 отрицательно не влияла на длительность парентерального питания, не осложняла процесс введения энтерального питания, не увеличивала частоту развития таких осложнений недоношенности как СДР и БЛД, не увеличивала частоту РА и неонатальных желтух, не увеличивала общую длительность стационарного этапа выхаживания.

Анализ результатов изучения динамики массы тела у наблюдаемых групп детей выявил достоверно более высокие прибавки массы тела в период применения пробиотического штамма *E. faecium* L3 у детей основной группы (таблица 3).

Таблица 5. Динамика показателей массы тела ($M \pm m$) наблюдаемых групп детей с ОНМТ

Исследуемые показатели массы тела	Группа 1 (n=23)	Группа 2 (n=25)
Масса тела при поступлении в г	1241,7 \pm 35,5	1275,4 \pm 40
Масса тела через 2 недели в г	1417,8 \pm 39,5	1527,2 \pm 55,2
Масса тела через 4 недели в г	1750 \pm 51,6	1851,6 \pm 67,5
Прибавка массы тела через 2 недели в г	172,7 \pm 19,1	251,8 \pm 22*
Прибавка массы тела через 4 недели в г	322,5 \pm 20,5	317,8 \pm 30,5

* – $p < 0,05$

Изучение клинических признаков, характерных для негладкого течения выхаживания недоношенных детей с ОНМТ, выявило достоверно более высокую частоту формирования инфекционных осложнений у пациентов группы сравнения – 14 (53,8%) против 6 (20,7%) у пациентов основной группы ($p < 0,05$) (таблица 3).

Ситуации острой пищевой непереносимости с меньшей частотой отмечались у детей основной группы – 6 (20,7%) против 10 (38,5%; $p > 0,05$) у детей группы сравнения. «Срывы питания» были причиной возвращения к полному парентеральному питанию, чем значительно деформировали программу выхаживания недоношенных детей.

Частота лабораторных признаков негладкого течения выхаживания наблюдаемых групп недоношенных детей с ОНМТ приведена в таблице 5.

Таблица 6. Частота лабораторных признаков негладкого течения выхаживания недоношенных детей с ОНМТ (абс. число/%)

Исследуемые показатели	Группа 1 (n=26)		Группа 2 (n=29)		Критерий Пирсона- χ^2	Уровень значимости, p
	нет	есть	нет	есть		
Положительный высеив 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	$p > 0,05$

Положительный высеив из крови в сочетании с лейкоцитозом, являясь признаками системной воспалительной реакции, отмечались с одинаковой частотой в обеих группах. У детей группы сравнения была выявлена достоверно более высокая частота моноцитоза. Полагают, что моноцитоз у больных первых месяцев жизни является проявлением воспалительных процессов инфекционного происхождения и связан со стимуляцией иммунитета микробными антигенами [Шабалов Н.П., Иванов Д.О., Шабалова Н.Н., 2000].

Оценка динамики состава кишечной микробиоты в группах доношенных новорожденных на фоне проводимой терапии

Изучение изменений индигенной микробиоты кишечника у доношенных новорожденных методом Вилкоксона для парных выборок выявило у детей основной группы достоверное нарастание бифидобактерий по данным ПЦР-РВ и количества лактобацилл по данным бактериологического исследования фекалий. У детей группы сравнения достоверных изменений состава бифидо- и лактофлоры кишечника под влиянием терапии не выявлено. При этом у детей основной группы было отмечено достоверное повышение количества клебсиелл по данным бактериологического исследования при отсутствии такового по данным ПЦР-РВ. У детей группы сравнения методом Вилкоксона не выявлено достоверных изменений количества *K. pneumonia* в фекалиях по данным бактериологического и ПЦР-РВ методов.

Изучение состава микробиоты кишечника в динамике наблюдения по данным ПЦР-РВ методом дисперсионного анализа показало достоверное снижение уровня *C. difficile* у детей основной группы (таблица 6). У детей группы сравнения не было выявлено достоверных изменений (таблица 7).

Таблица 7. Результаты оценки динамики состава микробиоты кишечника доношенных новорожденных детей основной группы (n=21) по данным ПЦР-РВ

Исследуемые качественные показатели	Количественные показатели (КОЕ/г; Med(Qн-Qв))		Уровень значимости различий
	Исследование 1*	Исследование 2*	
ОБЧ	$6,0 \times 10^{10}$ ($4,0 \times 10^9 - 2,0 \times 10^{11}$) (n=21)	$1,0 \times 10^{11}$ ($4,0 \times 10^{10} - 2,0 \times 10^{11}$) (n=21)	$p > 0,05$
<i>Bifidobacterium</i>	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^6 - 7,0 \times 10^7$) (n=21)	$7,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9$) (n=21)	$p > 0,05$
<i>Lactobacillus</i>	$5,0 \times 10^7$ ($5,0 \times 10^6 - 5,0 \times 10^8$) (n=17)	$3,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^6 - 3,0 \times 10^8$) (n=21)	$p > 0,05$
<i>E. coli</i>	$4,4 \times 10^8$ ($1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^{10}$) (n=20)	$2,0 \times 10^8$ ($4,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^{10}$) (n=21)	$p > 0,05$

<i>Enterococcus</i>	$4,0 \times 10^8$ ($2,0 \times 10^6 - 4,0 \times 10^9$) (n=19)	$2,0 \times 10^9$ ($8,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^{10}$) (n=18)	p>0,05
<i>B. fragilis</i>	$4,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^{11}$) (n=6)	$2,0 \times 10^{10}$ ($5,5 \times 10^5 - 1,5 \times 10^{11}$) (n=8)	p>0,05
<i>C. difficile</i>	$2,0 \times 10^9$ ($8,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^{10}$) (n=3)	$1,5 \times 10^8$ ($1,0 \times 10^7 - 5,0 \times 10^8$) (n=10)	p<0,05
<i>K.pneumoniae</i>	$1,0 \times 10^8$ ($1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^9$) (n=11)	$1,0 \times 10^8$ ($2,5 \times 10^7 - 6,0 \times 10^8$) (n=12)	p>0,05

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

Таблица 8. Результаты оценки динамики состава микробиоты кишечника доношенных новорожденных детей группы сравнения (n=18) по данным ПЦР-РВ

Исследуемые качественные показатели	Количественные показатели (КОЕ/г; Med(Qн-Qв))		Уровень значимости различий
	Исследование 1*	Исследование 2*	
ОБЧ	$2,0 \times 10^{10}$ ($4,0 \times 10^9 - 2,0 \times 10^{11}$) (n=17)	$5,5 \times 10^{10}$ ($2,0 \times 10^{10} - 1,0 \times 10^{11}$) (n=18)	p>0,05
<i>Bifidobacterium</i>	$2,0 \times 10^7$ ($8,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^9$) (n=18)	$4,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^7 - 2,0 \times 10^8$) (n=17)	p>0,05
<i>Lactobacillus</i>	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^5 - 9,0 \times 10^9$) (n=15)	$2,5 \times 10^7$ ($2,5 \times 10^6 - 4,5 \times 10^8$) (n=16)	p>0,05
<i>E. coli</i>	$1,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^6 - 2,0 \times 10^9$) (n=17)	$5,0 \times 10^9$ ($5,0 \times 10^8 - 2,0 \times 10^{10}$) (n=18)	p>0,05
<i>Enterococcus</i>	$5,5 \times 10^6$ ($1,0 \times 10^5 - 6,0 \times 10^9$) (n=12)	$1,3 \times 10^9$ ($3,1 \times 10^6 - 1,8 \times 10^{10}$) (n=16)	p>0,05
<i>B. fragilis</i>	$5,2 \times 10^7$ ($3,0 \times 10^5 - 2,0 \times 10^{10}$) (n=6)	$1,4 \times 10^7$ ($8,0 \times 10^5 - 9,0 \times 10^7$) (n=12)	p>0,05
<i>C. difficile</i>	$4,0 \times 10^8$ ($4,0 \times 10^8 - 4,0 \times 10^8$) (n=1)	$3,0 \times 10^7$ ($3,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^8$) (n=7)	p>0,05
<i>K.pneumoniae</i>	$1,5 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^6 - 3,0 \times 10^8$) (n=10)	$4,0 \times 10^7$ ($6,0 \times 10^6 - 3,0 \times 10^8$) (n=11)	p>0,05

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

Сравнение наблюдаемых групп непараметрическим методом Mann-Whitney в исследовании 1 не выявило достоверных различий, в исследовании 2 было отмечено достоверно более высокое количество лактобацилл у детей основной группы (p=0,05).

Оценка динамики состава микробиоты кишечника в группах недоношенных новорожденных с ОНМТ на фоне использованных программ выхаживания

В динамике наблюдения у детей основной группы было установлено достоверное быстрое нарастание количества бифидобактерий и отсроченное достоверное нарастание количества лактобацилл; у детей группы сравнения отмечено отсроченное нарастание количества бифидобактерий и отсутствие динамики количества лактобацилл (таблица 9).

Таблица 9. Оценка динамики индигенной микробиоты кишечника по данным бактериологического исследования фекалий у недоношенных детей с ОНМТ

Качественные показатели	Количественные показатели (КОЕ/г; Med(Qн-Qв) / число исследований			Уровень значимости различий
	Исследование 1*	Исследование 2*	Исследование 3*	
Основная группа(n=29)				
<i>Bifidobacterium</i>	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^9$)/29	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$)/29	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$)/27	p₁₋₂<0,001 p₁₋₃<0,001
<i>Lactobacillus</i>	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^9$)/29	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9$)/29	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$)/27	p₁₋₃<0,05
Группа сравнения(n=26)				
<i>Bifidobacterium</i>	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^9$)/25	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$)/24	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$)/26	p₁₋₃<0,05
<i>Lactobacillus</i>	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^9$)/25	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9$)/24	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9$)/26	p>0,05

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

Методом Вилкоксона для парных выборок у детей основной группы также было выявлено достоверное нарастание бифидобактерий ($p_{1-2}<0,01$; $p_{1-3}=0,010$), лактобацилл ($p_{1-3}<0,05$) и ОБЧ ($p_{1-3}<0,05$); в динамике наблюдения отмечено нарастание количества эшерихий в группе сравнения ($p_{1-2}<0,05$; $p_{1-3}<0,05$) и в основной группе ($p_{1-2}<0,05$; $p_{1-3}<0,01$).

Кроме того, по данным бактериологического исследования фекалий у детей основной группы было установлено относительно «позднее» нарастание количества клебсиелл ($p_{1-3}<0,05$), а у детей группы сравнения – относительно «раннее» их нарастание ($p_{1-2}<0,05$). Однако частота выделения клебсиелл быстрее нарастала у детей основной группы – 44,8%; 79,3%; 85,2% ($p_{1-2}<0,001$; $p_{1-3}<0,001$), чем у детей группы сравнения – 40,0%; 66,7%; 76,9% ($p_{1-3}<0,05$).

По данным ПЦР-РВ у детей основной группы в динамике было отмечено достоверное нарастание количества энтерококков ($p_{1-2}<0,05$) и достоверное снижение количества *C. difficile* ($p_{1-2}<0,01$; $p_{1-3}<0,01$). В группе сравнения достоверных изменений состава микробиоты кишечника не было выявлено (таблица 9).

Частота выделения *C. difficile* из фекалий была сопоставима в основной группе и группе сравнения: в исследовании 1 – 4,2% и 3,9%, в исследовании 2 – 14,3% и 11,5%, в исследовании 3 – 29,6% и 24%, соответственно ($p>0,05$). Учитывая достоверное снижение частоты инфекционных осложнений у детей основной группы, надо отметить, что количество *C. difficile*, но не факт его обнаружения, является одним из основных критериев негативного влияния терапии антибиотиками в условиях стационара. Поэтому снижение количества *C. difficile* в составе микробиоты кишечника недоношенных детей основной группы свидетельствовало о благоприятных изменениях микробиоценоза.

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

Таблица 10. Оценка динамики состава микробиоты кишечника по данным исследования фекалий методом ПЦР-РВ у недоношенных детей с ОНМТ

Качественные показатели	Количественные показатели (КОЕ/г; Med(Qн-Qв)/число исследований			Уровень значимости различий
	Исследование 1*	Исследование 2*	Исследование 3*	
Основная группа (n=29)				
ОБЧ	$\frac{2,0 \times 10^{10}}{(6,5 \times 10^8 - 2,0 \times 10^{11})/24}$	$\frac{3,0 \times 10^{11}}{(8,0 \times 10^{10} - 9 \times 10^{11})/28}$	$\frac{3,5 \times 10^{11}}{(3,0 \times 10^{10} - 3 \times 10^{12})/26}$	$p>0,05$
<i>Lactobacillus</i>	$\frac{6,0 \times 10^7}{(1,0 \times 10^3 - 8,0 \times 10^8)/21}$	$\frac{6,5 \times 10^7}{(2,0 \times 10^7 - 8,0 \times 10^8)/26}$	$\frac{1,0 \times 10^8}{(5,5 \times 10^6 - 6,0 \times 10^8)/24}$	$p>0,05$
<i>Bifidobacterium</i>	$\frac{2,0 \times 10^7}{(5,0 \times 10^6 - 5,0 \times 10^8)/22}$	$\frac{2,0 \times 10^8}{(5,0 \times 10^6 - 2,0 \times 10^9)/27}$	$\frac{8,0 \times 10^7}{(2,0 \times 10^7 - 3,0 \times 10^8)/25}$	$p>0,05$
<i>B. fragilis</i>	$\frac{1,0 \times 10^8}{(1,0 \times 10^3 - 5,0 \times 10^8)/24}$	$\frac{6,0 \times 10^7}{(1,0 \times 10^7 - 4,0 \times 10^8)/27}$	$\frac{6,0 \times 10^8}{(3,0 \times 10^8 - 6 \times 10^9)/26}$	$p>0,05$
<i>C. difficile</i>	$\frac{2,0 \times 10^{10}}{(2,0 \times 10^{10} - 2,0 \times 10^{10})/3}$	$\frac{1,0 \times 10^9}{(5,0 \times 10^8 - 1,1 \times 10^{10})/1}$	$\frac{4,0 \times 10^8}{(2,0 \times 10^8 - 4 \times 10^9)/8}$	$p_{1-2}<0,01$ $p_{1-3}<0,01$
<i>E. coli</i>	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^7)/24}$	$\frac{5,0 \times 10^8}{(6,0 \times 10^6 - 2,0 \times 10^{11})/27}$	$\frac{2,0 \times 10^{10}}{(1 \times 10^7 - 1 \times 10^{11})/26}$	$p>0,05$
<i>Enterococcus</i>	$\frac{9,0 \times 10^9}{(4,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^{10})/24}$	$\frac{1,0 \times 10^{10}}{(2,0 \times 10^9 - 7,0 \times 10^{10})/27}$	$\frac{5,5 \times 10^9}{(2,0 \times 10^9 - 2 \times 10^{10})/26}$	$p_{1-2}<0,05$
Группа сравнения(n=26)				
ОБЧ	$5,0 \times 10^{10}$	$1,0 \times 10^{11}$	$1,0 \times 10^{11}$	$p>0,05$

	$(1,0 \times 10^{10} - 3,0 \times 10^{11})/18$	$(7,0 \times 10^9 - 3,0 \times 10^{11})/15$	$(8,0 \times 10^{10} - 3,0 \times 10^{11})/15$	
<i>Bifidobacterium</i>	$\frac{5,5 \times 10^7}{(8,0 \times 10^6 - 3,0 \times 10^8)/24}$	$\frac{4,0 \times 10^7}{(1,0 \times 10^6 - 5,0 \times 10^8)/22}$	$\frac{2,0 \times 10^8}{(4,0 \times 10^7 - 4,0 \times 10^9)/21}$	p>0,05
<i>Lactobacillus</i>	$\frac{1,0 \times 10^8}{(1,0 \times 10^6 - 2,0 \times 10^9)/21}$	$\frac{2,5 \times 10^8}{(1,5 \times 10^8 - 1,0 \times 10^9)/20}$	$\frac{1,0 \times 10^5}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/22}$	p>0,05
<i>B. fragilis</i>	$\frac{4,5 \times 10^7}{(1,0 \times 10^7 - 3,0 \times 10^8)/26}$	$\frac{8,0 \times 10^7}{(3,0 \times 10^6 - 2,0 \times 10^8)/26}$	$\frac{1,0 \times 10^8}{(1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9)/25}$	p>0,05
<i>C. difficile</i>	$\frac{5,0 \times 10^9}{(5,0 \times 10^9 - 5,0 \times 10^9)/1}$	$\frac{1,0 \times 10^8}{(8,0 \times 10^7 - 2,0 \times 10^8)/6}$	$\frac{1,0 \times 10^8}{(1,0 \times 10^8 - 2,0 \times 10^8)/4}$	p>0,05
<i>E. coli</i>	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^7)/26}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^{10})/26}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^3 - 4,0 \times 10^{10})/25}$	p>0,05
<i>Enterococcus</i>	$\frac{1,0 \times 10^{10}}{(4,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^{10})/26}$	$\frac{7,0 \times 10^9}{(3,0 \times 10^9 - 3,0 \times 10^{10})/26}$	$\frac{1,5 \times 10^{10}}{(1,5 \times 10^9 - 6,0 \times 10^{10})/25}$	p>0,05

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

Таким образом, анализ изменений состава кишечной микробиоты у недоношенных детей с ОНМТ позволил выявить высокий защитный потенциал индигенной микробиоты кишечника против УПМ у детей основной группы, что, очевидно, обеспечило снижение частоты инфекционных осложнений.

Результаты изучения чувствительности УПМ кишечника (*K. pneumoniae*) к антибиотикам и бактериофагам у доношенных и недоношенных новорожденных

УПМ кишечника новорожденных детей наиболее часто была представлена клебсиеллами, выделяемых в титрах 10^3 КОЕ/г и более. Среди выделенных клебсиелл преобладала *K. pneumoniae* в исследованиях 1-2 у доношенных новорожденных ($64,1\% \pm 6,2\%$; $69,2\% \pm 7,4\%$; $p_{1-2} > 0,05$) и также в исследованиях 1-2-3 у недоношенных с ОНМТ ($38,2\% \pm 6,6\%$; $49,1\% \pm 7,4\%$; $65,5\% \pm 6,4\%$; $p_{1-2} > 0,05$; $p_{1-3} < 0,01$).

Изучение чувствительности изолятов *K. pneumoniae* к антибиотикам у доношенных детей наблюдаемых групп на фоне терапии не выявило достоверных различий в отношении большинства тестируемых препаратов. Средний уровень чувствительности изолятов *K. pneumoniae* к антибиотикам в динамике наблюдения (исследования 1-2) у доношенных новорожденных основной группы ($46 \pm 11,4\%$; $43,2 \pm 11,7\%$; $p > 0,05$) и группы сравнения ($55,8 \pm 10,8\%$; $42,7 \pm 11,4\%$; $p > 0,05$) не менялся.

Исследование средней чувствительности клинических штаммов *K. pneumoniae* к шести тестируемым бактериофагам в исследовании 1 выявило ее высокий уровень 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 *K. pneumoniae* в обеих группах составила 100%. Полученные данные позволяют сделать вывод об отсутствии нарастания количества клебсиелл, устойчивых к антибиотикам и бактериофагам, в процессе кратковременного стационарного лечения доношенных новорожденных.

Исследование чувствительности изолятов *K. pneumoniae* к антибиотикам на фоне терапии (в исследованиях 1-2) у недоношенных детей основной группы показало 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 $71,4 \pm 8,4\%$; $p < 0,01$). Напротив, в группе сравнения было отмечено достоверное снижение 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 устойчивости к антибиотикам у изолятов клебсиелл, выделенных их фекалий недоношенных с ОНМТ на фоне использования в программе выхаживания пробиотического штамма *E. faecium* L3.

Через 14 дней после отмены пробиотика (исследование 3) у детей основной группы не было отмечено существенных изменений чувствительности изолятов клебсиелл к тестируемым антибиотикам. В группе сравнения у изолятов клебсиелл было отмечено нарастание чувствительности к амоксиклаву (с 0% до $15 \pm 7,0\%$; $p < 0,05$) и к цефтазидиму (с

7,1±5,0% до 30±9,0%; p<0,05). Выявленные изменения, с одной стороны, показали кратковременность положительного влияния *E. faecium* L3 на снижение устойчивости к антибиотикам, у изолятов клебсиелл, выделенных у недоношенных детей основной группы, что позволяет предположить необходимость более длительного применения пробиотика. С другой стороны, в группе сравнения нарастание чувствительности изолятов клебсиелл к антибиотикам указывало на становление собственных защитных сил, однако этот эффект наблюдался не ранее, чем через 2 недели выхаживания детей в стационаре.

Исследование динамики средней чувствительности изолятов *K. pneumoniae* к шести тестируемым бактериофагам в исследованиях 1-2-3 не выявило достоверных различий в основной группе (83,1±7,0%; 78,0±7,7%; 89,0±5,8%; p>0,05) и группе сравнения (38,3±9,5%; 32,0±9,1%; 43,0±9,7%; p>0,05). Уровень чувствительности к тестируемым бактериофагам в основной группе в исследованиях 1-2-3 и в группе сравнения в исследованиях 1-2 достоверно не отличался. В исследовании 3 в группе сравнения была выявлена достоверно высокая чувствительность клебсиелл к фиобаактериофагу (65,0±9,4%) по сравнению с таковой к интести-бактериофагу (30,0±9,0%; p<0,05) и колипротейному бактериофагу (30,0±9,0%; p<0,05).

Результаты исследования микробиоты кишечника у недоношенных детей с ОНМТ, имевших эпизоды нарушения толерантности к пище (срывов питания)

Как было отмечено выше, эпизоды «срывов питания» (СП) чаще имели место у недоношенных новорожденных группы сравнения (38,5%), чем у детей основной группы (20,7%), получавших пробиотический штамм *E. faecium* L3.

Исследование микробиоты кишечника детей показало, что при СП общее бактериальное число имело выраженные колебания (таблица 11). У детей основной группы, имевших СП, в исследовании 3 общее бактериальное число было максимальным, что обусловлено достоверным увеличением количества УПМ, а именно, *B. fragilis*. Полученные данные позволяют предположить целесообразность пролонгации применения пробиотического штамма *E. faecium* L3 для дальнейшего сдерживания роста УПМ.

У детей группы сравнения, имевших СП, было отмечено исходно достоверно более высокое количество лактобацилл и недостоверно исходно пониженное количество бифидобактерий, что свидетельствовало о значении диспропорции лакто- и бифидофлоры в развитии эпизодов пищевой непереносимости у недоношенных детей с ОНМТ.

Таблица 11. Динамика состава микробиоты кишечника у недоношенных детей с ОНМТ в по данным исследования фекалий бактериологическим методом (БАК) и ПЦР-РВ в зависимости от наличия «срывов питания» и программ выхаживания (фрагмент)

Качественные показатели	Количественные показатели (КОЕ/г; Med(Qн-Qв) / число исследований			Уровень значимости различий
	Исследование 1*	Исследование 2*	Исследование 3*	
Основная группа (отсутствие СП, n=23)				
ОБЧ	$\frac{3,0 \times 10^{10}}{(4,0 \times 10^9 - 2,0 \times 10^{11})/19}$	$\frac{3,0 \times 10^{11}}{(1,0 \times 10^{11} - 1,0 \times 10^{12})/23}$	$\frac{3,0 \times 10^{11}}{(2,0 \times 10^{10} - 1,0 \times 10^{11})/20}$	p>0,05
<i>Lactobacillus</i>	$\frac{1,0 \times 10^8}{(2,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9)/17}$	$\frac{9,0 \times 10^7}{(3,0 \times 10^7 - 8,0 \times 10^8)/22}$	$\frac{4,5 \times 10^8}{(1,0 \times 10^7 - 8,0 \times 10^8)/18}$	p>0,05
<i>Bifidobacterium</i>	$\frac{1,6 \times 10^8}{(5,0 \times 10^6 - 7,0 \times 10^8)/18}$	$\frac{5,0 \times 10^8}{(7,0 \times 10^6 - 2,0 \times 10^9)/23}$	$\frac{2,0 \times 10^8}{(2,0 \times 10^7 - 6,0 \times 10^8)/19}$	p>0,05
<i>B. fragilis</i>	$\frac{1,0 \times 10^8}{(1,0 \times 10^7 - 5,0 \times 10^8)/14}$	$\frac{8,5 \times 10^7}{(3,0 \times 10^7 - 8,0 \times 10^8)/18}$	$\frac{5,0 \times 10^8}{(1,0 \times 10^8 - 3,0 \times 10^9)/10}$	p>0,05
<i>C. difficile</i>	$\frac{2,0 \times 10^{10}}{(2,0 \times 10^{10} - 2,0 \times 10^{10})/1}$	$\frac{1,0 \times 10^9}{(5,0 \times 10^8 - 1,1 \times 10^{10})/4}$	$\frac{1,8 \times 10^9}{(3,0 \times 10^8 - 4,0 \times 10^9)/4}$	p>0,05
<i>K. pneumoniae</i> (БАК)	$\frac{1,0 \times 10^5}{(1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^6)/13}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/17}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/19}$	p>0,05
Основная группа (наличие СП, n=6)				
ОБЧ	$\frac{3,0 \times 10^8}{(3,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9)/5}$	$\frac{3,0 \times 10^{11}}{(4,0 \times 10^{10} - 4,0 \times 10^{11})/5}$	$\frac{3,0 \times 10^{12}}{(2,0 \times 10^{11} - 4,0 \times 10^{12})/6}$	p ₁₋₂ <0,05 p ₁₋₃ <0,05
<i>Lactobacillus</i>	$1,0 \times 10^3$	$2,0 \times 10^7$	$4,0 \times 10^7$	p>0,05

	$(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^5)/4$	$(1,0 \times 10^5 - 5,2 \times 10^8)/4$	$(1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^8)/6$	
<i>Bifidobacterium</i>	$\frac{7,5 \times 10^6}{(3,0 \times 10^6 - 5,5 \times 10^7)/4}$	$\frac{5,0 \times 10^6}{(4,0 \times 10^6 - 1,5 \times 10^8)/4}$	$\frac{4,5 \times 10^7}{(1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^8)/6}$	p>0,05
<i>B. fragilis</i>	$\frac{1,0 \times 10^7}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^7)/3}$	$\frac{1,0 \times 10^7}{(1,0 \times 10^3 - 4,0 \times 10^7)/3}$	$\frac{3,0 \times 10^{10}}{(4,0 \times 10^8 - 3,0 \times 10^{12})/3}$	p ₁₋₂ <0,0001 p ₁₋₃ <0,0001
<i>C. difficile</i>	-	-	$\frac{3,5 \times 10^8}{(2,0 \times 10^8 - 3,2 \times 10^9)/4}$	p>0,05
<i>K. pneumonia</i> (БАК)	-	$\frac{1,0 \times 10^4}{(1,0 \times 10^4 - 1,0 \times 10^5)/6}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(5,5 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/4}$	p>0,05
Группа сравнения (отсутствие СП, n=16)				
ОБЧ	$\frac{3,5 \times 10^{10}}{(8,0 \times 10^9 - 1,9 \times 10^{11})/12}$	$\frac{1,0 \times 10^{11}}{(8,0 \times 10^9 - 3,0 \times 10^{11})/11}$	$\frac{1,0 \times 10^{11}}{(2,0 \times 10^{10} - 3,0 \times 10^{11})/10}$	p>0,05
<i>Lactobacillus</i>	$\frac{7,5 \times 10^8}{(5,1 \times 10^7 - 2,0 \times 10^9)/12}$	$\frac{2,0 \times 10^8}{(2,0 \times 10^8 - 9,5 \times 10^8)/12}$	$\frac{2,0 \times 10^8}{(5,0 \times 10^7 - 3,0 \times 10^8)/13}$	p>0,05
<i>Bifidobacterium</i>	$\frac{5,0 \times 10^7}{(3,0 \times 10^6 - 3,0 \times 10^8)/15}$	$\frac{3,0 \times 10^7}{(7,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^8)/15}$	$\frac{4,0 \times 10^8}{(4,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^{10})/12}$	p>0,05
<i>B. fragilis</i>	$\frac{3,0 \times 10^7}{(5,5 \times 10^6 - 5,3 \times 10^8)/8}$	$\frac{5,0 \times 10^7}{(1,0 \times 10^6 - 2,0 \times 10^8)/9}$	$\frac{1,5 \times 10^8}{(1,0 \times 10^7 - 2,0 \times 10^{10})/8}$	p>0,05
<i>C. difficile</i>	$\frac{5,0 \times 10^9}{(5,0 \times 10^9 - 5,0 \times 10^9)/1}$	$\frac{1,4 \times 10^8}{(8,0 \times 10^7 - 2,0 \times 10^8)/2}$	$\frac{1,5 \times 10^8}{(7,5 \times 10^7 - 6,0 \times 10^8)/4}$	p>0,05
<i>K. pneumonia</i> (БАК)	$\frac{1,0 \times 10^5}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^5)/6}$	$\frac{5,5 \times 10^5}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/10}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^6)/13}$	p>0,05
Группа сравнения (наличие СП, n=10)				
ОБЧ	$\frac{1,3 \times 10^{11}}{(1,0 \times 10^{10} - 1,0 \times 10^{12})/6}$	$\frac{1,0 \times 10^{11}}{(1,5 \times 10^9 - 2,0 \times 10^{11})/4}$	$\frac{3,0 \times 10^{11}}{(1,0 \times 10^{11} - 1,0 \times 10^{12})/5}$	p>0,05
<i>Lactobacillus</i>	$\frac{1,0 \times 10^7}{(1,0 \times 10^6 - 6,0 \times 10^9)/9}$	$\frac{5,5 \times 10^8}{(2,1 \times 10^7 - 1,5 \times 10^9)/8}$	$\frac{2,0 \times 10^9}{(7,0 \times 10^8 - 5,0 \times 10^9)/9}$	p ₁₋₂ <0,05
<i>Bifidobacterium</i>	$\frac{6,0 \times 10^7}{(2,0 \times 10^7 - 3,0 \times 10^8)/9}$	$\frac{5,0 \times 10^{17}}{(1,0 \times 10^6 - 8,0 \times 10^8)/7}$	$\frac{2,0 \times 10^8}{(3,0 \times 10^7 - 4,0 \times 10^9)/9}$	p>0,05
<i>B. fragilis</i>	$\frac{7,5 \times 10^7}{(1,0 \times 10^7 - 3,0 \times 10^8)/6}$	$\frac{1,0 \times 10^8}{(6,0 \times 10^7 - 3,0 \times 10^8)/5}$	$\frac{1,0 \times 10^7}{(1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9)/5}$	p>0,05
<i>C. difficile</i>	-	$\frac{1,0 \times 10^8}{(1,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^8)/1}$	$\frac{1,0 \times 10^8}{(1,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^8)/2}$	p>0,05
<i>K. pneumonia</i> (БАК)	$\frac{5,5 \times 10^5}{(1,0 \times 10^5 - 5,5 \times 10^6)/4}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^6)/6}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/7}$	p>0,05

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

Изучение динамики *C. difficile* методом ПЦР-РВ и *K. pneumonia* бактериологическим методом (БАК) при СП (таблица 11) выявило несколько более раннюю контаминацию *C. difficile* (обнаружение ее в исследовании 2) и *K. pneumonia* (обнаружение ее в исследовании 1) у недоношенных детей группы сравнения по сравнению с основной группой (обнаружение *C. difficile* в исследовании 3 и *K. pneumonia* в исследовании 2). Последнее, очевидно, могло иметь влияние на более частое развитие СП у детей группы сравнения.

Результаты исследования микробиоты кишечника у недоношенных детей с ОНМТ, имевших инфекционные осложнения

Изменения индигенной микробиоты кишечника по данным метода ПЦР-РВ у 12 детей группы сравнения, не имевших инфекционные осложнения (ИО), характеризовались достоверно высоким исходным количеством бифидобактерий (таблица 12) и значительным его снижением в динамике наблюдения ($p_{1-2}<0,01$; $p_{1-3}<0,05$). Полученные результаты свидетельствуют о том, что необходимый исходный кворум бифидобактерий способствует снижению риска развития ИО у недоношенных новорожденных с ОНМТ.

Изучение состава индигенной микробиоты у 14 детей группы сравнения, имевших ИО, выявило достоверно более высокое исходное количество лактобацилл (p_{1-2} , $p_{1-3}<0,01$) и отсутствие такового у детей без ИО. Выявленные особенности позволяют предположить, что лактобациллы недоношенных новорожденных детей с ОНМТ не обладают достаточными защитными свойствами, что требует дальнейшего изучения.

Анализ изменений общего количества кишечной палочки по данным метода ПЦР-РВ не выявил достоверных различий у детей наблюдаемых групп, как при развитии ИО, так и

при их отсутствии. В то же время по данным бактериологического метода у детей группы сравнения при развитии ИО в динамике наблюдения было отмечено достоверное нарастание общего количества кишечной палочки ($p_{1-2}<0,05$, $p_{1-3}<0,01$). Отсутствие подобных изменений общего количества кишечной палочки имело место у детей основной группы вне зависимости от ИО и у детей группы сравнения без ИО.

Изучение динамики количества энтерококков по данным ПЦР-РВ, у детей основной группы, выявило достоверное его нарастание при развитии ИО ($n=6$) в исследовании 2 по сравнению с исходным уровнем ($p_{1-2}<0,05$) и более высокие его показатели в исследовании 2 при наличии ИО по сравнению с таковыми без ИО ($p<0,01$). Однако сравнение количества энтерококков в исследовании 2 у детей группы сравнения и основной группы, имевших ИО, не выявило достоверных различий ($p=0,26$), что указывало на отсутствие связи данного показателя с использованием пробиотического штамма *E. faecium* L3 у детей основной группы. При отсутствии ИО у недоношенных детей с ОНМТ общее количество энтерококков не менялось.

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

Динамика количества клебсиелл по данным бактериологического исследования фекалий характеризовалась достоверным его увеличением в исследовании 2 при отсутствии ИО у детей группы сравнения ($p_{1-2}<0,05$).

Таблица 12. Динамика состава микробиоты кишечника у недоношенных детей с ОНМТ по данным исследования фекалий бактериологическим методом (БАК) и ПЦР-РВ в зависимости от наличия инфекционных осложнений и программ выхаживания (фрагмент)

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>Lactobacillus</i>	$6,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^9$)/17	$6,5 \times 10^7$ ($2,5 \times 10^7 - 3,5 \times 10^8$)/20	$1,0 \times 10^8$ ($5,5 \times 10^6 - 4,0 \times 10^8$)/20	$p>0,05$
<i>Bifidobacterium</i> (БАК)	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^9$)/23	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$)/23	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$)/20	$p_{1-2}<0,01$ $p_{1-3}<0,05$
<i>B. fragilis</i>	$1,0 \times 10^8$ ($1,0 \times 10^3 - 5,0 \times 10^8$)/12	$1,5 \times 10^8$ ($2,0 \times 10^7 - 9,0 \times 10^8$)/16	$4,0 \times 10^8$ ($1,0 \times 10^8 - 6,0 \times 10^9$)/10	$p>0,05$
<i>C. difficile</i>	$2,0 \times 10^{10}$ ($2,0 \times 10^{10} - 2,0 \times 10^{10}$)/1	$1,0 \times 10^9$ ($5,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^{10}$)/4	$5,0 \times 10^8$ ($3,0 \times 10^8 - 5,0 \times 10^9$)/7	$p_{1-2}<0,05$ $p_{1-3}<0,01$
<i>Enterococcus</i>	$7,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 2,0 \times 10^{10}$)/14	$1,0 \times 10^{10}$ ($1,0 \times 10^9 - 4,5 \times 10^{10}$)/20	$5,0 \times 10^9$ ($2,0 \times 10^9 - 2,0 \times 10^{10}$)/18	$p>0,05$
Основная группа (наличие ИО, n=6)				
<i>Lactobacillus</i>	$2,5 \times 10^8$ ($1,0 \times 10^3 - 6,5 \times 10^8$)/4	$4,3 \times 10^8$ ($1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^9$)/6	$5,5 \times 10^8$ ($5,0 \times 10^7 - 1,5 \times 10^9$)/4	$p>0,05$
<i>Bifidobacterium</i> (БАК)	$5,5 \times 10^8$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$)/6	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$)/6	$1,0 \times 10^9$ ($1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9$)/6	$p_{1-2}<0,05$ $p_{1-3}<0,05$
<i>B. fragilis</i>	$5,5 \times 10^7$ ($5,0 \times 10^6 - 5,5 \times 10^8$)/4	$4,0 \times 10^7$ ($1,0 \times 10^3 - 4,0 \times 10^7$)/5	$1,5 \times 10^{12}$ ($3,0 \times 10^9 - 3,0 \times 10^{12}$)/2	$p_{1-2}<0,0000001$ $p_{1-3}<0,0000001$
<i>C. difficile</i>	-	-	$1,0 \times 10^8$ ($1,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^8$)/1	$p>0,05$
<i>Enterococcus</i>	$9,0 \times 10^9$ ($6,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^{10}$)/3	$7,5 \times 10^{10}$ ($5,0 \times 10^9 - 3,0 \times 10^{11}$)/6	$1,2 \times 10^{10}$ ($2,5 \times 10^9 - 1,6 \times 10^{11}$)/4	$p_{1-2}<0,05$
Группа сравнения (отсутствие ИО, n=12)				
<i>Lactobacillus</i>	$1,0 \times 10^8$ ($1,0 \times 10^6 - 7,0 \times 10^8$)/11	$2,0 \times 10^8$ ($4,0 \times 10^7 - 3,0 \times 10^8$)/9	$3,5 \times 10^8$ ($2,0 \times 10^8 - 2,0 \times 10^9$)/10	$p>0,05$
<i>Bifidobacterium</i>	$2,5 \times 10^8$	$4,9 \times 10^6$	$7,0 \times 10^7$	$p_{1-2}<0,01$

	$(3,0 \times 10^6 - 5,0 \times 10^8)/10$	$(5,0 \times 10^5 - 6,0 \times 10^8)/10$	$(3,0 \times 10^7 - 2,0 \times 10^{10})/9$	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
Клебсиеллы (БАК)	$\frac{1,0 \times 10^5}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/5}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^7)/7}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/9}$	p₁₋₂<0,05
Группа сравнения (наличие ИО, n=14)				
<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> (БАК)	$\frac{1,0 \times 10^9}{(1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9)/13}$	$\frac{1,0 \times 10^9}{(1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9)/14}$	$\frac{1,0 \times 10^9}{(1,0 \times 10^9 - 1,0 \times 10^9)/14}$	p₁₋₂<0,05
<i>Lactobacillus</i> (БАК)	$\frac{1,0 \times 10^7}{(1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^9)/13}$	$\frac{1,0 \times 10^9}{(1,0 \times 10^8 - 1,0 \times 10^9)/14}$	$\frac{1,0 \times 10^9}{(1,0 \times 10^7 - 1,0 \times 10^9)/14}$	p₁₋₂<0,05
<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> (БАК)	$\frac{1,0 \times 10^4}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^5)/9}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/11}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^3 - 1,0 \times 10^6)/13}$	p₁₋₂<0,05 p₁₋₃<0,01
<i>E. coli</i> с неизменными свойствами (БАК)	$\frac{1,0 \times 10^5}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/3}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^5 - 1,0 \times 10^6)/7}$	$\frac{1,0 \times 10^6}{(1,0 \times 10^6 - 1,0 \times 10^6)/9}$	p₁₋₂<0,05

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

В отношении другой УПМ (суммарно: цитробактера, ацинетобактера, энтеробактера, псевдомонас), стафилококка золотистого, грибов рода *Candida* не было отмечено достоверных изменений в группах недоношенных детей с ИО и без таковых.

Прогнозирование успешности профилактики инфекционных осложнений у недоношенных детей с ОНМТ

Для определения детерминирующих факторов формирования осложнений инфекционного происхождения в процессе выхаживания недоношенных детей с ОНМТ в стационаре был использован дискриминантный анализ. В полученную дискриминантную модель пошагово были отобраны 6 информативных признаков: ОАГА матери, хроническая интоксикация матери, роды методом кесарева сечения, общее количество эшерихий в фекалиях детей по данным ПЦР-РВ, эозинофилия в анализе крови, использование в программе выхаживания детей пробиотического штамма *E. faecium* L3.

Наиболее информативными признаками созданной дискриминантной модели стали: эффект использования пробиотического штамма *E. faecium* L3 (p=0,0003) и ОАГА матери (p=0,0010). Точность детерминирования факторов, способствующих манифестации осложнений инфекционного генеза, у недоношенных с ОНМТ по решающим правилам дискриминантной модели составила 70%, точность определения факторов отсутствия инфекционных осложнений – 87,1%, общая точность модели – 80,4%; информативная достоверность модели была высокой – p<0,01.

Таким образом, по данным результатов дискриминантного анализа было получено подтверждение роли профилактического использования пробиотического штамма *E. faecium* L3 в снижении частоты ИО у недоношенных детей с ОНМТ.

ВЫВОДЫ

1. Применение пробиотического штамма *E. faecium* L3 у доношенных новорожденных в стационаре в 100% случаев способствовало предупреждению развития диспептических расстройств (отсутствие последних отмечалось в 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. pneumonia* 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. pneumonia* 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Алехина Л.А. Некротический энтероколит у глубоконедоношенных детей: вопросы и возможные пути решения // Бюллетень Федерального Центра сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова. Материалы V Междисциплинарной конференции по

- акушерству, перинатологии, неонатологии «Здоровая женщина – здоровый новорожденный». – 2012, № 6. – С. 3 – 5.
2. Микробный пейзаж кишечника у новорожденных детей с очень низкой массой тела/ Алехина Л.А., Гончар Н.В., Суворов А.Н., Суворова М.А. // Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей. Материалы XIX Международного конгресса детских гастроэнтерологов России и стран СНГ. – М.: ИД «МЕДПРАКТИКА-М», 2012. – С. 208 – 209.
3. Алехина Л.А. Результаты изучения *in vitro* метаболических свойств закваски на основе пробиотического штамма *E. faecium* L3 / Алехина Л.А., Суворов А.Н., Гончар Н.В. // Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей. Материалы XIX Международного конгресса детских гастроэнтерологов России и стран СНГ. – М.: ИД «МЕДПРАКТИКА-М», 2012. – С. 71 – 72.
4. Динамика состава кишечной микробиоты у недоношенных детей в период выхаживания их в условиях специализированного стационара / Алехина Л.А., Суворов А.Н., Гончар Н.В., Суворова М.А. // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга, 2012. Материалы конференции– № 2. – С. 3.
5. Микробиота кишечника новорожденных детей с очень низкой массой тела при рождении/ Алехина Л.А., Гончар Н.В., Суворова М.А., Федорова М.С.// **Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии**. Приложение № 40. Материалы конференции. – 2012. – № 5. – С. 116. (импакт-фактор 0,606).
6. Влияние пробиотика *E. faecium* L3 на кишечную микрофлору и частоту «срывов питания» у недоношенных новорожденных детей / Алехина Л.А., Суворова М.А., Гончар Н.В., Суворов А.Н. // Диск. Бюллетень Федер. Центра сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова, 2012. – Приложение 3. Тезисы VII междисц. конф. по акушерству, перинатологии, неонатологии «Здоровая женщина – здоровый новорожденный», посвящ. 165-летию В.Ф. Снегирева, 15-16 ноября 2012 г. – С. 3.
7. Изменение чувствительности к антибиотикам и фагам клинических штаммов клебсиелл под влиянием использования пробиотика *E. faecium* L3 / Алехина Л.А., Суворова М.А., Гончар Н.В., Суворов А.Н. // **Медицинский академический журнал. Прилож. 2012. Материалы II Всеросс. научн. конф. молодых ученых «Проблемы биомедицинской науки третьего тысячелетия» 12-14 ноября 2012 г. – С. 303 – 305. (импакт-фактор 0,284).**
8. Алехина Л.А. Частота выявления *C. difficile*, гемолитической *E.coli* и *K. pneumoniae* в фекалиях недоношенных новорожденных детей / Алехина Л.А., Гончар Н.В., Суворова М.А.// Гастроэнтерология Санкт-Петербурга, 2012. – № 4. Материалы 9-й Сев.-Зап. научн. гастроэнтерол. сессии. – М2.
9. Протекторное влияние пробиотика *E. faecium* L3 на микробиоту кишечника новорожденных детей / Ло Скиаво (Алехина) Л.А., Гончар Н.В., Федорова М.С., Суворов А.Н., Григорьев С.Г. // Материалы Юбилейного XX Международного конгресса детских гастроэнтерологов России и стран СНГ «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей».– М.: ИД «МЕДПРАКТИКА-М», 2013. – С. 30 – 32.
10. Особенности кишечной микробиоты доношенных и недоношенных новорожденных детей в условиях стационара / Ло Скиаво (Алехина) Л.А., Гончар Н.В., Федорова М.С., Суворов А.Н.// Материалы Юбилейного XX Международного конгресса детских гастроэнтерологов России и стран СНГ «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей». – М.: ИД «МЕДПРАКТИКА-М», 2013. – С. 32 – 34.
11. Гончар Н.В. Пробиотические штаммы энтерококков как средства терапии и профилактики заболеваний кишечника у детей / Гончар Н.В., Алехина Л.А., Суворов А.Н.// **Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология, 2013. – № 1. – С. 74 – 78. (импакт-фактор 0,129).**

12. Ло Скиаво (Алехина) Л.А. Влияние пробиотика *E. faecium* L3 на микрофлору кишечника недоношенных детей и исходы антибиотикотерапии / Ло Скиаво (Алехина) Л.А., Гончар Н.В., Суворов А.Н. // Диск Союза педиатров РФ (Санкт-Петербургское отделение). Материалы V Российского Форума с Международным участием «Педиатрия Санкт-Петербурга: опыт, инновации, достижения» 16-17 сентября 2013 г. – С. 89 – 90.
13. Способ прогнозирования успешности профилактики инфекционных осложнений у недоношенных детей / Гончар Н.В., Алехина Л.А., Суворов А.Н., Григорьев С.Г. // Заявка на изобретение от 01.10.2012, регистрационный № 2012141867. Патент РФ на изобретение № 2502995 от 27.12.2013. Бюллетень «Изобретения». – № 36, 2013.
14. Динамика контаминации и персистенции *Clostridium difficile* в составе микробиоты кишечника у новорожденных детей во время антибиотикотерапии и приема пробиотического штамма *Enterococcus faecium* L3/ Ло Скиаво Л.А., Гончар Н.В., Федорова М.С., Суворов А.Н. // Антибиотики и химиотерапия, 2013. – Т. 58. - № 11-12. – С. 13 – 18. (импакт-фактор – 0,323).
15. Значение использования пробиотика в снижении частоты инфекционных осложнений у недоношенных детей / Ло Скиаво Л.А., Гончар Н.В., Суворов А.Н., Шабалов Н.П., Григорьев С.Г. // Антибиотики и химиотерапия, 2014. – Т. 59. – № 1–2. – С. 29 – 34. (импакт-фактор – 0,323).
16. Частота выявления *Faecalibacterium prausnitzii* и их доля относительно *Bacteroides fragilis* у новорожденных детей / Гончар Н.В., Ло Скиаво Л.А., Суворов А.Н., Федорова М.С. // Материалы VI Росс. Форума с междунар. участием, посв. 120-летию А.Ф. Тура и 80-летию каф. пропедевтики детских болезней СПбГПМУ «Педиатрия Санкт-Петербурга: Опыт, инновации, достижения». – С. 229 – 230.
17. Оптимизация выхаживания недоношенных детей с очень низкой массой тела с использованием пробиотического штамма энтерококка / Гончар Н.В., Ло Скиаво Л.А., Суворов А.Н., Федорова М.С. // Учебно-методическое пособие для врачей, клинических ординаторов, интернов. – СЗГМУ им. И.И. Мечникова. СПб., – 2014. – 32 с.
18. Пробиотики в питании недоношенных детей / Ло Скиаво Л.А., Гончар Н.В., Суворов А.Н., Шабалов Н.П., Федорова М.С. // Вопросы практической педиатрии, 2014. – №6. – С. 32 – 36.
19. Клиническая и фармакоэкономическая целесообразность использования пробиотического штамма энтерококка в комплексной программе выхаживания недоношенных детей / Гончар Н.В., Ло Скиаво Л.А., Суворов А.Н., Шабалов Н.П., Колбин А.С., Касимова А.Р. // Педиатрическая фармакология, 2015. – Т. 12. – № 1. – С. 22 – 29.

РАСШИФРОВКА АББРЕВИАТУР

ВАИ – внутриамниотическая инфекция	ПЦР-РВ – полимеразная цепная реакция в реальном времени
ВПГ – вирус простого герпеса	РА – ранняя анемия недоношенных
ВУИ – внутриутробная инфекция	СП – ситуации острой пищевой непереносимости («срывы питания»)
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт	СДР – синдром дыхательных расстройств
ИО – инфекционное осложнение	УПМ – условно-патогенные микроорганизмы
КОЕ – колониеобразующая единица	ЦВК – центральный венозный катетер
НЭК – некротический энтероколит	ЦНС – центральная нервная система
ОАГА – осложненный акушерско-гинекологический анамнез	
ОБЧ – общее бактериальное число	
ОНМТ – очень низкая масса тела	