

11. Huang Y.J., Sethi S., Murphy T. et al. Airway microbiome dynamics in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *J. Clin. Microbiol.* 2014, 52(8):2813-2823.
12. Man W.H., de Steenhuijsen Pijters W.A., Bogaert D. The microbiota of the respiratory tract: gatekeeper to respiratory health. *Nat. Rev. Microbiol.* 2017, 15: 259-270. doi: 10.1038/nrmicro.2017.14.
13. Morris A., Beck J.M., Schloss P.D. et al. Lung HIV microbiome project. Comparison of the respiratory microbiome in healthy nonsmokers and smokers. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2013, 187(10): 1067-75. doi: 10.1164/rccm.201210-1913OC.
14. Pragman A.A., Lyu T., Baller J.A. et al. The lung tissue microbiota of mild and moderate chronic obstructive pulmonary disease. *Microbiome.* 2018, 6(1): 7. doi: 10.1186/s40168-017-0381-4.
15. Sokolowska M., Frei R., Lunjani N. et al. Microbiome and asthma. *Asthma Res. Pract.* 2018, 4: 1. doi: 10.1186/s40733-017-0037-y.
16. Venkataraman A., Bassis C.M., Beck J.M. et al. Application of a neutral community model to assess structuring of the human lung microbiome. *MBio.* 2015, 6(1). pii: e02284-14. doi: 10.1128/mBio.02284-14.

Поступила 30.03.18

Контактная информация: Мазурина Светлана Александровна, к.б.н., 105064, Москва, М. Казенный пер., 5А, р.т. (495) 917-20-26

© О.Г.МАЛЫГИНА, Т.А.БАЖУКОВА, 2018

О.Г.Малыгина, Т.А.Бажукова

СТАНОВЛЕНИЕ МИКРОБИОЦЕНОЗА ТОЛСТОЙ КИШКИ У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ С ОЧЕНЬ НИЗКОЙ И ЭКСТРЕМАЛЬНО НИЗКОЙ МАССОЙ ТЕЛА НА ПЕРВОМ ГОДУ ЖИЗНИ

Северный государственный медицинский университет, Архангельск

Цель. Оценка качественного и количественного состава культивируемых микроорганизмов толстой кишки у недоношенных детей весом при рождении 1500 г и менее на протяжении первого года жизни. *Материалы и методы.* Проведено бактериологическое исследование фекалий у 58 недоношенных детей с массой тела 1500 г и менее, находившиеся под наблюдением в течение года. *Результаты.* В неонатальном периоде отмечается выраженный дефицит микробиоценоза толстой кишки у недоношенных детей. К 2-месячному возрасту происходит медленное формирование микрофлоры кишечника, преимущественно за счет бифидобактерий. К году жизни сформированной микробиоты толстой кишки у недоношенных детей не наблюдается, в первую очередь, за счет дефицита лактобацилл и позднего формирования типичных эшерихий. *Заключение.* У недоношенных детей с очень низкой массой тела и экстремально низкой массой тела при рождении процесс становления микробиоценоза толстой кишки замедлен. Этому способствует длительная госпитализация в стационаре, реанимационном отделении, отсутствие естественного вскармливания и антибактериальная терапия.

Журн. микробиол., 2018, № 5, С. 60—66

Ключевые слова: микробиота, толстая кишка, недоношенный ребенок

O.G.Malygina, T.A.Bazhukova

LARGE BOWEL MICROBIOCENTOSIS IN IMMATURE INFANTS WITH VERY LOW AND EXTREMELY LOW BODY WEIGHT IN THE FIRST YEAR OF LIFE

Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia

Aim. To assess qualitative and quantitative composition of culture large bowel bugs in immature infants with birth weight 1500 g and less during the first year of life. *Materials and methods.*

Fecal matter culturing has been done in 58 immature infants with body weight 1500 g and less, who were under supervision during the year. *Results.* A significant deficit of large bowel microbiocentosis in immature infants has been registered in the neonatal period. Up to 2 months of life a slow formation of bowel's microflora is observed mainly due to bifidus bacteria. Up to 1 year of life a formed colonic microbiota in immature infants was not observed firstly due to lactobacilli deficit and late formation of typical *Escherichia*. *Conclusion.* The process of large bowel microbiocentosis in immature infants with very low and extremely low birth weight is slowed down due to extended admission in the intensive care unit, absence of breast feeding and antybiotherapy.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 5, P. 60—66

Key words: colonic microbiota, large bowel, immature infant

ВВЕДЕНИЕ

Микробиом кишечника человека является наиболее обширным микробным сообществом. Формирование микрофлоры кишечного тракта человека — многоэтапный процесс, на который оказывают влияние множество факторов [9]. К основным факторам, негативно влияющим на микрофлору новорожденного ребенка, относят: оперативное родоразрешение, позднее прикладывание к груди, искусственное вскармливание, антибактериальную терапию, продолжительность пребывания детей в отделении реанимации, а у недоношенных детей еще гестационный возраст и вес при рождении [4, 6, 8, 10]. Микробиота кишечника влияет на метаболические и иммунологические процессы человека, поэтому при изменении видового разнообразия микроорганизмов происходит развитие патологических процессов в различных органах и системах [1, 2]. С изменением микрофлоры кишечника связано развитие многих заболеваний: желудочно-кишечных, иммунных, аллергических и др. У здоровых доношенных детей процесс формирования микрофлоры толстой кишки наиболее физиологичный процесс, в отличие от недоношенных детей, особенно с очень низкой массой тела (ОНМТ) и экстремально низкой массой тела (ЭНМТ). В связи с этим, целью исследования является оценка качественного и количественного состава культивируемых микроорганизмов толстой кишки у недоношенных детей весом при рождении 1500 г и менее на протяжении первого года жизни.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено обследование 58 недоношенных детей с массой тела при рождении 1500 г и менее, находившихся под наблюдением в течение года. Бактериологическое исследование кала проводилось при поступлении детей в отделение патологии новорожденных и недоношенных детей Архангельской детской клинической больницы им. П.Г. Выжлецова (средний возраст детей составил 15 дней). Далее исследование кала осуществлялось при выписке из стационара (средний возраст детей 56 дней), в 6 и 12 месяцев. Средний гестационный возраст детей был 30 недель, средняя масса тела при рождении 1248 г. Лечение в отделении реанимации новорожденных (ОРН) получили 33 ребенка (57%). К выписке из стационара на грудном вскармливании находились 26 младенцев (45%), на искусственном вскармливании 32 ребенка (55%). Все дети получили антибактериальную терапию.

Проводили количественный и качественный учет состава микробной флоры фекалий. Количественный учет проводили путем мерного посева из исходного материала и/или из стандартных разведений на поверхность плотных питательных сред в количестве 0,03 мл и на жидкие питательные среды в объеме 1,0 мл разведения. Для оценки качественного состава микрофлоры толстой кишки фекалии засеивали на дифференциально-диагностические среды: 5% кровяной агар, среду Эндо (ГНЦ ПМБ, Оболенск), маннит-солевой агар (Conda «Pronadisa», Испания), Сабуро декстрозный агар (Conda «Pronadisa», Испания), Шадлера агар (Conda «Pronadisa», Испания), MRS агар (Conda «Pronadisa», Испания), железосодержащий сульфитный агар («HiMedia», Индия), агар с фенилаланином (Conda «Pronadisa», Испания), би-

фидум-среду и энтерококкагар (ГНЦ ПМБ, Оболенск). Все посеы культивировали при температуре 37°C в течении 24–48 часов. Идентификацию микроорганизмов проводили по морфологическим, тинкториальным, культуральным и биохимическим свойствам.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программы SPSS (м.18.0). Критический уровень значимости $p < 0,05$. Для построения факторных моделей взаимодействия микроорганизмов применяли метод факторного анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При бактериологическом исследовании микробиоты толстой кишки у недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ на момент поступления в отделение выявлен выраженный дефицит облигатной микрофлоры. Типичные *Escherichia coli* выявляли в 5,2% случаев в очень низком количестве 1,60 lg КОЕ/г; у 8,6% обследованных детей регистрировали лактобациллы (7,12 lg КОЕ/г); бифидобактерии определяли у 48,3% в численности 3,0 lg КОЕ/г. Следует отметить, что лактобациллы отсутствовали у детей с ЭНМТ.

В кишечном микробиоценозе преобладали факультативно-анаэробные микроорганизмы: энтерококки встречались у 55,2% детей в большом количестве (9,1 lg КОЕ/г). Видовой состав представлен: *Enterococcus faecium* (43,1%) и *E.faecalis* (13,8%). Вторыми по частоте выявления были представители рода *Staphylococcus* (48,3%), выделение которых отмечено в значительном количестве (6,82 lg КОЕ/г). Идентифицировано три вида: *S.epidermidis* (37,9%), *S.haemolyticus* (12,1%), *S.hominis* (1,7%). В 36,2% случаев высевали грибы рода *Candida* в численности 5,60 lg КОЕ/г, которые были представлены *C.tropicalis* (22,4%), *C.albicans* (10,3%) и *C.krusei* (5,2%).

Представители семейства *Enterobacteriaceae* и неферментирующие грамотрицательные (НГОБ) бактерии выявляли у 19,0% и 20,7% детей соответственно в численности, превышающей возрастную норму (5,7 и 7,4 lg КОЕ/г соответственно). Грамотрицательные энтеробактерии (ГОЭБ) представлены шестью родами (*Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp., *Serratia* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Hafnia*). Среди ГОЭБ наиболее часто выделяли *K.pneumoniae* (у 5,2%), с одинаковой частотой (3,4%) регистрировали *E.aerogenes* и *C.koseri*. Среди НГОБ чаще кишечник колонизировала *Pseudomonas aeruginosa* (12,1%) в значительной численности (7,5 lg КОЕ/г).

Выделение анаэробных представителей в раннем неонатальном периоде было на низком уровне, представлено только бактероидами (3,4%; 4,5 lg КОЕ/г).

Следовательно, микробиота толстой кишки у недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ характеризуется резким дефицитом облигатных представителей (лактобациллы и функционально значимые *E.coli*).

За период госпитализации в стационаре отмечено постепенное формирование облигатного пула толстой кишки у недоношенных детей, но сформированной микробиоты данного биотопа не было. Типичные *E.coli* выявляли к выписке из стационара у 60,3 % детей ($p < 0,001$) в количестве, соответствующем возрастной норме (8,1 lg КОЕ/г; $p < 0,001$); бифидобактерии статистически значимо регистрировали у 98,3% детей ($p < 0,001$) в количестве 9,0 lg КОЕ/г ($p < 0,001$). Интенсивность заселения лактобациллами оставалась низкой (29,3%; $p = 0,012$) с увеличением численности данных представителей (6,99 lg КОЕ/г). Практически в 2 раза (94,8%) отмечен рост энтерококков ($p < 0,001$) с одновременным увеличением среднего количества (10,8 lg КОЕ/г), при этом видовой пейзаж оставался без изменений. Обратная ситуация отмечена в отношении коагулазоотрицательных стафилококков (КОС), произошло статистически значимое снижение данных представителей до 18,9% ($p = 0,002$) за счет *S.haemolyticus* и *S.hominis*. С другой стороны, отмечено обсеменение толстой кишки *S.aureus* у 6,9 % детей в численности 4,38 lg КОЕ/г. Наблюдалось снижение выделения грибов рода *Candida* в 7 раз до 5,2% ($p < 0,001$) с уменьшением их численности (4,82 lg КОЕ/г) и сужением видового пейзажа до одного вида (*C.tropicalis*).

Частота выявления анаэробных представителей бактериоидов значительно возросла до 34,5% ($p < 0,001$) с одновременным увеличением численности данных микроорганизмов (5,7 lg КОЕ/г). Отмечено появление кластридий у 24,1% детей (4,0 lg КОЕ/г).

Следует отметить, что интенсивность обсеменения толстой кишки недоношенных детей ГОЭБ на момент выписки из стационара была достоверно выше (69,0%; $p < 0,001$) по сравнению с поступлением в отделение с одновременным расширением видового спектра до 10 представителей. Анализ микробного пейзажа данных представителей показал, что у недоношенных детей микробиоценоз толстой кишки представлен консорциумом из микроорганизмов, состоящим из двух видов. Наиболее значимый рост отмечен в отношении представителей рода *Klebsiella* spp. и *Serratia* spp. Среди указанных представителей увеличивалась контаминация за счет *K.pneumoniae* ($p = 0,007$) и *S.odorifera* ($p = 0,002$). У 22,4% детей появились лактозонегативные и у 3,4% гемолитические штаммы эшерихий в среднем количестве (8,22 lg КОЕ/г и 7,6 lg КОЕ/г соответственно). На фоне проводимого лечения частота НГОБ статистически значимо снизилась до 3,4 % ($p = 0,006$) при сохранении численности данных представителей на высоком уровне (7,71 lg КОЕ/г).

Таким образом, можно отметить, что к 1,5–2-месячному возрасту микробиота толстой кишки не сформирована, поэтому нами было проведено дальнейшее наблюдение за данной группой детей.

В возрасте 6 месяцев со 100% частотой определялись бифидобактерии и энтерококки в количестве, соответствующем возрастной норме (11,0 lg КОЕ/г; $p < 0,001$ и 8,4 lg КОЕ/г; $p < 0,001$ соответственно). С одинаковой частотой регистрировали *E.faecalis* и *E.faecium*. Вместе с тем, произошло увеличение типичных кишечных палочек до 93,1% случаев ($p = 0,012$) в количестве 8,8 lg КОЕ/г, а лактобацилл до 74,1% ($p < 0,001$) в численности 6,0 lg КОЕ/г ($p = 0,028$). Обнаружение лактозонегативных штаммов *E.coli* осталось на прежнем уровне (25,9%) при значительном увеличении в 4 раза гемолизинпродуцирующих штаммов эшерихий (13,8%) в сравнении с показателями на момент выписки из стационара. Частота выявления других энтеробактерий осталась без изменений (63,8%). Анализ видового спектра показал сужение разнообразия микроорганизмов до 7 представителей. Наиболее часто (в 34,4% случаев) выявляли клебсиеллы (*K.pneumoniae* — 24,1%, *K.oxytoca* — 10,3%) со средней микробной обсемененностью 7,5 lg КОЕ/г. У 10,3% детей были обнаружены представители рода *Citrobacter* — *C.freundii* (6,9%; 3,8 lg КОЕ/г) и *C.koseri* (3,4%; 3,0 lg КОЕ/г). Значительно снизился процент выделения представителей рода *Serratia* (3,4%), при увеличении *Proteus vulgaris* (13,8%) и отсутствии регистрации представителей рода *Enterobacter*. Частота встречаемости КОС продолжала снижаться до 10,3% и была представлена монокультурой (*S.epidermidis*). Кроме того, происходило увеличение контаминации толстой кишки *S.aureus* (10,3%; 3,6 lg КОЕ/г). Дрожжеподобные грибы рода *Candida* были также обнаружены у 10,3% детей (4,4 lg КОЕ/г). Видовой пейзаж представлен тремя штаммами: *S.albicans* (3,4%; 5,1 lg КОЕ/г), *S.tropicalis* (3,4%; 3,1 lg КОЕ/г), *S.kefyr* (3,4%; 4,4 lg КОЕ/г). К 6-месячному возрасту происходила полная элиминация НГОБ из толстой кишки.

Увеличивался анаэробный пул кишечной микробиоты. Бактероиды выделяли у 60,3% детей в количестве 7,0 lg КОЕ/г; клостридии у 13,8% детей в численности 3,0 lg КОЕ/г.

Следовательно, к возрасту 6 месяцев происходит дальнейшее формирование микробиоты толстой кишки, однако у 25,9% детей сохраняется дефицит лактобацилл, 39,7% бактериоидов.

К 1 году жизни формируется в 100% нормальный пул *E.coli* (8,3 lg КОЕ/г), однако при этом продолжали значительно нарастать гемолизипродуцирующие штаммы кишечных палочек (29,3%). Представители семейства *Enterobacteriaceae* оставались без изменений (67,2%), но происходила постоянная сукцессия видового разнообразия. Схожая картина отмечена и в отношении КОС. Частота выявления осталась на прежнем уровне (13,8%) при изменении видового спектра — появлении *S.saprophyticus*. Продолжалось дальнейшее увеличение анаэробных микроорганизмов, бактериоиды регистрировали у 82,7% ($p = 0,039$) детей в среднем количестве 7,0 lg КОЕ/г ($p = 0,003$); клостридии — у 17,2% (4,0 lg КОЕ/г). Также отмечен рост частоты встречаемости грибов рода *Candida* (25,9%) со снижением их численности до 3,0 lg КОЕ/г и с преобладанием *S.albicans* (3,2 lg КОЕ/г).

Таким образом, к первому году жизни полной сформированной микробиоты толстой кишки у данной группы детей не наблюдалось.

В результате исследования микрофлоры толстой кишки у недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ выявлены качественные и количественные изменения как облигатной, так и условно патогенной микрофлоры, поэтому мы попытались определить основные факторы, влияющие на микробиологическое формирование «главного» биотопа организма человека.

Нами проведен факторный анализ формирования микробиоты толстой кишки от длительности сохранения изменений микрофлоры после госпитализации детей в ОРН и вида вскармливания.

Проведенный факторный анализ микрофлоры толстой кишки показал, что после ОРН первый фактор представлен ГОЭБ (0,8) и бифидобактериями (0,7), в сравнении с детьми без лечения в ОРН, у данной группы детей уровень ГОЭБ был отрицательный (-0,9) при формировании грамположительной кокковой флоры: энтерококки (0,7) и КОС (0,6). Во второй фактор (после ОРН) вошли также представители госпитальной флоры — НГОБ (0,8) при снижении заселения КОС (-0,8). У детей без госпитализации в ОРН второй фактор представлен анаэробными представителями — бактероидами (0,8) и дрожжеподобными грибами рода *Candida* (0,8). Следует заметить, что после ОРН бактероиды и грибы рода *Candida* смещаются в четвертый фактор, при этом бактероиды имеют отрицательное значение (-0,6). Третий фактор продемонстрировал формирование лактобацилл независимо от реанимационных мероприятий, однако уровень данного представителя выше у детей без лечения в ОРН (0,9).

Таким образом, госпитализация в ОРН способствует контаминации толстой кишки госпитальными представителями (ГОЭБ и НГОБ), при этом медленнее заселяются КОС и энтерококки и, как следствие, происходит замедленное формирование облигатно-анаэробного пула.

В силу физиологических особенностей, незрелости недоношенным детям с массой тела менее 1500 г при рождении требуется длительный этап выхаживания в условиях стационара, в связи с этим, нами проведен анализ микрофлоры кишечника у данной группы детей от длительности госпитализации. При госпитализации детей до 30 дней в первом факторе были представители облигатного звена — бактероиды (0,5) и лактобациллы (0,5), на фоне этого с меньшей частотой происходит обсеменение толстой кишки *S.aureus* (-0,7) и клостридиями (-0,6). Второй фактор показывает антагонистические отношения между бифидобактериями (0,6) и ГОЭБ (-0,7) при заселении гемолизин-продуцирующих штаммов эшерихий (0,6) и энтерококков (0,5). В четвертый фактор вошли КОС (0,6) при отрицательных значениях лактозонегативных *E.coli* (-0,6).

При госпитализации детей в отделении патологии новорожденных и недоношенных детей от 31-40 дней первый фактор отражает контаминацию кишечника ГОЭБ (0,7). Вторым фактором демонстрирует, что заселение облигатными микроорганизмами бифидобактериями (0,7) и лактобациллами (0,7) приводит к снижению выделения НГОБ (-0,5). В составе третьего фактора были представители облигатного анаэробного звена — бактероиды (0,8) и типичные *E.coli* (0,7), которые обеспечивают снижение контаминация *S.aureus* (-0,6). В четвертый фактор вошли грамположительные кокки, обладающие антагонистической способностью энтерококков (0,6) и КОС (-0,8). Заселение энтерококками снижает численность КОС, и наоборот.

С увеличением длительности госпитализации детей от 41 до 50 дней продолжается контаминация толстой кишки лактозонегативными *E.coli* (0,8) и появляются лактобациллы (0,8), на фоне этого сдерживается формирование пула анаэробной флоры — бактероидов (-0,7) и снижается контаминация ГОЭБ (-0,7). Вторую группу факторов представляли бифидобактерии (0,7), которые обладали антагонистической активностью в отношении дрожжеподобных грибов *Candida* (-0,8) и КОС (-0,8). Третий микробиологический фактор показывает заселение толстой кишки типичными *E.coli* (0,7), клостридиями (0,6) и снижение уровня НГОБ (-0,6). Наличие обратных связей свидетельствует о положительном влиянии типичных эшерихий на элиминацию НГОБ. Четвертый фактор определяет постепенное заселение толстой кишки энтерококками (0,8).

На фоне длительной госпитализации (более 51 дня) первый фактор свидетельствует о заселении биотопа толстой кишки условно патогенными и патогенными представителями: *S.aureus* (0,9), дрожжеподобные грибы *Candida* (0,8) и лактозонегативные эшерихии (0,7) на фоне продолжающегося заселения бактериоидами (0,9). Второй фактор соответствует продолжающейся контаминации кишечника ГОЭБ (0,7) и ростом КОС (0,9) и клостридий (0,9). И только в третьем и четвертом факторах у данных детей сосредоточены облигатные представители: бифидобактерии (0,9) и энтерококки (0,8) — третий фактор, лактобациллы (0,9) и типичные *E.coli* (0,6) — четвертый фактор.

Таким образом, продолжительный процесс выхаживания детей в условиях стационара значительно изменяет характер микробиоты толстой кишки с более поздним заселением облигатными представителями.

В проведенных ранее исследованиях показано, что характер вскармливания влияет на микрофлору толстой кишки [3, 7]. Факторный анализ продемонстрировал, что на грудном вскармливании на первый план (первый фактор) выступают облигатные представители: бифидобактерии (0,7) и лактобациллы (0,6), при этом замедляется рост дрожжеподобных грибов *Candida* (-0,7), что является благоприятным моментом в формировании микробиоты толстой кишки. На искусственном вскармливании в первый фактор вошли эшерихии как типичные (0,8), так и лактозонегативные (0,7). Второй фактор не выявил значимых различий взаимосвязи микрофлоры от вскармливания. Третий и четвертый фактор продемонстрировали, что на искусственном вскармливании происходит более позднее формирование лактобацилл (0,8; третий фактор) при контаминации данного биотопа ГОЭБ (0,7; четвертый фактор). Обратная ситуация получена на естественном вскармливании — ГОЭБ (-0,9).

Таким образом, естественное вскармливание способствует более физиологичному формированию микрофлоры толстой кишки.

Следовательно, на процесс становления микробиоты толстой кишки недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ влияет одновременно множество факторов, основными являются: госпитализация в ОРН, длительность выхаживания в условиях стационара, характер вскармливания и антибактериальная терапия, что приводит к неадекватной колонизации кишечника [5].

Нами проанализировано дальнейшее становление микрофлоры кишечника в возрасте 6 и 12 месяцев от характера вскармливания.

На грудном вскармливании сохранялась схожая структура первого фактора, что и при выписке детей из стационара, доминировали бифидобактерии (0,9) и лактобациллы (0,6) при отрицательном значении типичных *E.coli* (-0,9). Сохранившаяся тенденция указывает на значимость грудного молока в формировании микрофлоры.

На искусственном кормлении в возрасте 6 месяцев первый фактор представлен лактозонегативными эшерихиями (0,9) при отрицательном значении ГОЭБ (-0,8). *E.coli* с измененными свойствами доминируют в первом факторе с момента выписки из стационара до 6-месячного возраста. К году происходит обратное изменение взаимосвязей между лактозонегативными *E.coli* (-0,7) и ГОЭБ (0,5). В структуре второго фактора в 6 и 12 месяцев имеется схожая картина во взаимосвязи типичных эшерихий и бифидофлоры, на фоне этого в 6 месяцев имеются отрицательные значения дрожжеподобных грибов *Candida* (-0,5), а в 12 месяцев — клостридий (-0,6). Третий фактор в 6 месяцев представлен теми же микроорганизмами, что и при выписке из стационара (лактобациллы, 0,8 и *S.aureus*, 0,6). В возрасте 12 месяцев утрачивается данная связь, на смену лактобациллам приходят энтерококки. К четвертому фактору в возрасте 6 месяцев относились облигатные анаэробы: бактериоиды (0,8) и клостридии (0,7). К году в структуре четвертого фактора остаются лактобациллы (0,8).

Следовательно, на искусственном вскармливании происходит постоянная сукцессия микроорганизмов с преобладанием ГОЭБ и эшерихий с измененными свойствами.

Полученные результаты позволили сделать следующее заключение, что у недоношенных детей с ОНМТ и ЭНМТ при рождении процесс становления микробиоценоза толстой кишки замедлен, что отражается, в первую очередь, на сохраняющемся дефиците лактофлоры, позднем формировании типичных эшерихий. Длительная

госпитализация в стационаре, реанимационном отделении, отсутствие естественного вскармливания и антибактериальная терапия способствуют контаминации толстой кишки ГОЭБ, которые сохраняются длительное время.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беляева И.А., Бомбардинова Е.П., Турти Т.В., Митиш М.Д., Потехина Т.В. Кишечная микробиота у недоношенных детей — современное состояние проблемы (обзор литературы). Педиатрическая фармакология. 2015, 12 (3): 296-303.
2. Кафарская Л.И., Ефимов Б.А., Постникова Е.А., Донских Е.Е. Особенности становления микрофлоры у детей раннего возраста. Детские инфекции. 2006, 1: 6-11.
3. Лифшиц К., Захарова И.Н., Дмитриева Ю.А. Влияние кишечного микробиома в норме и патологии. Медицинский совет. 2017, 1: 155-159.
4. Макарова С.Г., Намазова-Баранова Л.С. Кишечная микробиота и использование пробиотиков в практике педиатра. Что нового? Педиатрическая фармакология. 2015, 12 (1): 38-45.
5. Малыгина О.Г., Бажукова Т.А. Влияние антибиотиков на формирование микроэкологии у недоношенных детей с низкой и экстремально низкой массой тела при рождении. Журн. микробиол. 2014, 1: 61-65.
6. Набока Ю.Л., Рымашевский А.Н., Свирава Э.Г., Брагина Л.Е. Формирование микрофлоры пищеварительного тракта новорожденных в динамике. Журн. микробиол. 2012, 3: 65-70.
7. Пахомовская Н.Л., Потапов А.С., Вольнец Г.В. Дисбактериоз кишечника. Медицинский совет. 2015, 6: 38-42.
8. Печуров Д.В., Турти Т.В., Беляева И.А., Тяжева А.А. Микробиота кишечника у детей: от профилактики нарушений становления к предупреждению неинфекционных заболеваний. Педиатрическая фармакология. 2016, 13 (4): 377-383.
9. Чаплин А.В., Ребриков Д.В., Болдырева М.Н. Микробиом человека. Вестник РГМУ. 2017, 2: 5-13.
10. Toscano M., De Grandi R., Grossi E. et al. Role of the human breast milk-associated microbiota on the newborns' immune system: a mini review. Front. Microbiol. 8:2100. DOI: 10.3389/fmicb. 2017.02100.

Поступила 06.03.18

Контактная информация: Малыгина Ольга Геннадьевна,
163000, Архангельск, пр. Троицкий, 51, р.т. (818)28-57-65

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

Е.В.Цветкова^{1,2}, Г.М.Алешина², Л.Е.Леонова¹, О.В.Шамова^{1,2}, Е.В.Романовская¹, В.Н.Кокряков^{1,2}

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА θ -ДЕФЕНСИНОВ ИЗ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ ГАМАДРИЛА *Papio hamadryas*

¹Санкт-Петербургский государственный университет, ²Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

Цель. Изучение функциональных свойств катионных антимикробных пептидов θ -дефенсинов, выделенных из лейкоцитов крови гамадрила *Papio hamadryas*. *Материалы и методы.* θ -Дефенсины гамадрила были выделены из экстрактов лейкоцитарной массы методами ультрафильтрации, препаративного электрофореза и обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. В качестве тестовых микроорганизмов использовали грамотрицательные бактерии *Escherichia coli*, грамположительные бактерии *Listeria monocytogenes* и *Staphylococcus aureus*, грибы *Candida albicans*. Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) определяли, тестируя последовательные разведения исследуемых пептидов методом радиальной диффузии в агарозном геле. Микробицидное действие оценивали методом подсчета выживших КОЕ после инкубации с пептидами. Влияние θ -дефенсинов на проницаемость мембран *E.coli* оценивали с помощью хромогенных маркеров о-нирофенил- β -D-галактопиранозида и нитроцефина. *Результаты.* Сравнительный анализ антимикробных свойств θ -дефенсинов гамадрила показал, что