

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-200-4-78-86>

Особенности микробиоты недоношенных новорожденных с дефицитом массы тела

Самоукина А. М.¹, Алексеева Ю. А.¹, Страхова С. С.², Страхов М. А.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 170100, Тверь, ул. Советская, д. 4, Россия

² Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Тверской области «Областной клинический перинатальный центр имени Е. М. Бакуниной», 170036, г. Тверь, Петербургское ш., д. 115, к. 3

Для цитирования: Самоукина А. М.¹, Алексеева Ю. А.¹, Страхова С. С.², Страхов М. А. Особенности микробиоты недоношенных новорожденных с дефицитом массы тела. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2022;200(4): 78–86. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-200-4-78-86

✉ Для переписки:

Самоукина

Анна Михайловна

anna_samoukina@mail.ru

Самоукина Анна Михайловна, к.м.н., доцент, начальник научного отдела; заведующая кафедрой гигиены и экологии

Алексеева Юлия Александровна, д.м.н., профессор, заведующая кафедрой поликлинической педиатрии и неонатологии

Страхова Светлана Сергеевна, врач неонатолог-реаниматолог

Страхов Максим Александрович, к.м.н., доцент кафедры сердечно-сосудистой хирургии

Резюме

EDN: NMAAQA



Цель исследования. Микробиологический мониторинг условно-патогенной микрофлоры пищеварительного тракта у недоношенных новорожденных с различной степенью дефицита массы тела для обоснования групп риска и возможности персонализированного подхода к ведению таких пациентов.

Материалы и методы. В обсервационное исследование случай-контроль включены 67 недоношенных новорожденных (35 мальчиков и 32 девочки), разделенных на три группы в соответствии со степенью дефицита массы тела: низкой ($n=21$), очень низкой ($n=21$) и экстремально низкой ($n=25$) массой. Проведено комплексное обследование клинико-anamnestическими, лабораторными и клинико-функциональными методами диагностики, консультации невролога, офтальмолога, кардиолога. Микробиологический мониторинг условно-патогенной микрофлоры (УПМ) полости рта и других биотопов (поверхность ушной раковины, подмышечная впадина, плодная часть плаценты) проводился в 1-е, 3-и и 7-е сутки жизни. Биохимическая идентификация производилась с использованием тест-систем "Erba Lachema". Создание базы данных и статистическая обработка проводились с использованием пакетов программ Microsoft® Office® 2010, IBM® SPSS® Statistics 23.0, WinPEPI© 11.39.

Результаты. Частота выделения УПМ из полости рта новорожденных с дефицитом массы тела была достоверно выше в 1-е и 3-и сутки (точный тест Фишера, $p = 0,037$) и характеризовалась более широким спектром по сравнению с другими исследованными биотопами. Доминирующим представителем УПМ в большинстве биотопов являлся *S. epidermidis*, а также *K. pneumoniae*, *C. krusei*, *Burkholderia cepacia complex* и *S. maltophilia*. Выявлена корреляционная связь между качественными и количественными параметрами УПМ, а также числом контаминированных УПМ биотопов с уровнем массы тела и показателями резистентности недоношенных новорожденных с дефицитом массы.

Заключение. Микробиологический мониторинг УПМ биотопа полости рта и внутренней поверхности ушной раковины позволяет рассматривать эти микробиологические параметры в качестве прогностического критерия течения и исходов у недоношенных новорожденных с дефицитом массы. Дает возможность научно обосновать персонализированный подход к ведению таких пациентов, формированию групп риска, назначению коррекционных и превентивных мероприятий для создания адекватного профиля микробного заселения, профилактики инфекционной патологии и снижения риска неблагоприятного исхода.

Ключевые слова: микробиота, недоношенные новорожденные, дефицит массы тела, условно-патогенная микрофлора, *S. epidermidis*

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-200-4-78-86>

Features of microbiota in underweight premature infants

A. M. Samoukina¹, Yu. A. Alekseeva¹, S. S. Strakhova², M. A. Strakhov¹¹ Tver State Medical University, 4, Sovetskaya St., Tver, 170100, Russia² State Budgetary Institution of Health of the Tver Region "Regional Clinical Perinatal Center named after E. M. Bakunina", 115, building 3, Petersburg highway, Tver, 170036, Russia

For citation: Samoukina A. M., Alekseeva Yu. A., Strakhova S. S., Strakhov M. A. Features of microbiota in underweight premature infants. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2022;200(4): 78–86. (In Russ.) doi: 10.31146/1682-8658-ecg-200-4-78-86

Anna M. Samoukina, PhD, Associate Professor, Head of the Scientific Department; Head of the Department of Hygiene and Ecology; ORCID: 0000-0002-9405-0142, Scopus Author ID: 16064304800, Researcher ID: ABH-1272-2021

Yulia A. Alekseeva, MD, PhD, Professor, Head of the Department of Outpatient Pediatrics and Neonatology; ORCID: 0000-0001-6085-2852, Scopus Author ID: 56915897200

Svetlana S. Strakhova, neonatologist-resuscitator; ORCID: 0000-0002-8537-3265

Maksim A. Strakhov, Ph.D., Associate Professor of the Department of Cardiovascular Surgery; ORCID: 0000-0001-9604-4910

✉ Corresponding author:

Anna M. Samoukina,
anna_samoukina@mail.ru

Summary

The aim. Microbiological monitoring of the digestive tract opportunistic microflora in underweight premature newborns to substantiate risk groups and the possibility of a personalized approach to manage such patients.

Materials and methods. A case-control observational study included 67 preterm infants (35 boys and 32 girls), divided into three groups according to the underweight degree: low (n = 21), very low (n = 21) and extremely low (n = 25) mass. A comprehensive examination was carried out with clinical-anamnestic, laboratory and clinical-functional diagnostic methods, consultation of a neurologist, ophthalmologist, cardiologist. Microbiological monitoring of opportunistic microflora (UPM) of the oral cavity and other biotopes (auricle surface, armpit, fetal part of the placenta) was carried out on the 1st, 3rd and 7th days of life. Biochemical identification was carried out using test systems "Erba Lachema". Database creation and statistical processing were carried out using software packages of Microsoft® Office® 2010, IBM® SPSS® Statistics 23.0, WinPEPI© 11.39.

Results. The frequency of opportunistic microflora isolated from the oral cavity of underweight newborns was significantly higher on the 1st, 3rd days (Fisher's exact test, p = 0.037) and was characterized by a wider spectrum compared to other studied biotopes. The dominant representative of opportunistic microflora in most biotopes was *S. epidermidis*, as well as *K. pneumoniae*, *C. krusei*, *Burkholderia cepacia complex*, and *S. maltophilia*. There was revealed a correlation link between the qualitative and quantitative parameters of opportunistic microflora, as well as the number of opportunistic microflora contaminated biotopes with the level of body weight and resistance indicators of underweight premature newborns.

Conclusion. Microbiological monitoring of opportunistic microflora of the oral cavity and the inner surface of the auricle biotope makes it possible to consider these microecological parameters as a prognostic criterion for the course and outcomes in premature infants with underweight, as well as to scientifically substantiate a personalized approach to the management of such patients, the formation of risk groups, the appointment of corrective and preventive measures to form adequate profile of microbial colonization, prevent of infectious pathology and the decrease risk of an unfavorable outcome.

Keywords: microbiota, premature newborns, underweight, opportunistic microflora, *S. epidermidis*

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Введение

Многочисленные исследования последнего десятилетия подтверждают, что микробиота пищеварительного тракта является важным регулятором физиологических процессов, иммунной резистентности и поведения [1–5]. В связи с внедрением молекулярно-генетических подходов,

обладающих высокой специфичностью и чувствительностью, проведено детальное изучение качественного и количественного состава микробиоты организма человека, доказательно обоснована роль микробиома, сообщества микроорганизмов и их геномов [6–10].

Исследования отечественных и зарубежных ученых показали, что микробиота пищеварительного тракта обладает широким спектром разнообразия на индивидуальном и популяционном уровне и рассматривается, сегодня, как дискретный орган [11, 12]. В свою очередь, микробиота полости рта анатомически и физиологически является начальным отделом пищеварительного тракта, определяет колонизационную резистентность и формирование микробиоты других биотопов организма человека. Кроме того, рядом авторов показано, что в различных биотопах обнаружены идентичные условно-патогенные микроорганизмы, «микробные маркеры» микробиологического неблагополучия. Это указывает на потенциальную способность бактерий к транслокации через естественные барьеры, диссеминацию на фоне незрелости иммунной системы, несостоятельности механизмов специфической и неспецифической иммунной резистентности, реализуемые посредством клеточных и гуморальных механизмов специфической и неспецифической резистентности [13–15].

В настоящее время установлено, что микробиота полости рта и микробиом плаценты имеет сходные микробиологические характеристики, обуславливающие возможность транслокации бактерий из полости рта в плаценту с током крови в период внутриутробного развития. Данный механизм

транслокации был доказан в экспериментальных работах с животными [16–18].

Однако следует отметить, что в настоящее время недостаточно исследователей работ, посвященных комплексному исследованию клинико-морфофизиологических и микробиологических особенностей недоношенных детей с малым гестационным возрастом и дефицитом массы тела, которые относятся к группе высокого риска в отношении вероятности возникновения тяжелой инфекционной патологии и выживаемости в целом с учетом характера родовспоможения, применения массивной антибиотикотерапии, факторов ассоциированных с матерью (возраст, наличие патологии и др.). Требуется дальнейшего изучения аспекты динамического изменения состава микробного пейзажа данных пациентов в течение первой недели жизни для выявления и обоснования объективных критериев формирования групп риска и эффективного совершенствования тактики их ведения, включая использование пробиотиков [19–25].

Цель настоящего исследования – микробиологический мониторинг условно-патогенной микрофлоры пищеварительного тракта у недоношенных новорожденных с различной степенью дефицита массы тела для обоснования групп риска и возможности персонализированного подхода к ведению таких пациентов.

Материалы и методы

Исследование проведено на базе научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России, ГБУЗ ТО «Областной клинический перинатальный центр им. Е. М. Бакуниной» и ГБУЗ ТО «Центр специализированных видов медицинской помощи им. В. П. Аваева» (г. Тверь).

Настоящее исследование проводилось в рамках выполнения государственного задания (рег. № АААА-А18–118031690017–7) с соблюдением основных биоэтических правил (заключение Этического комитета ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России от 21.01.2018 г.).

Настоящее исследование имело наблюдательный характер, по дизайну соответствовало типу исследования сравнения с контролем (исследование случай-контроль) с тремя группами. Нами были обследованы недоношенные дети с гестационным возрастом менее 37 недель с низкой, очень низкой и экстремально низкой массой тела. Необходимый размер выборки рассчитан для порогового уровня статистической значимости (альфа-ошибки) 5%, мощности (бета-ошибки) – 20%, распространенности основных переменных и минимально значимых различий, выявленных в пилотном исследовании. Итоговую выборку составили 67 недоношенных новорожденных с дефицитом массы тела, в том числе 21 новорожденный с экстремально низкой массой тела (ЭНМТ), 21 новорожденный с очень низкой массой тела (ОНМТ) и 25 – с низкой массой тела (НМТ). По половому составу группы были статистически сопоставимы (35 мальчиков и 32 девочки).

В ходе работы проводилось комплексное обследование новорожденных с учетом клинико-анамнестических данных, лабораторных и клинико-функциональных методов диагностики, а также заключения консультативных осмотров узких специалистов (невролога, офтальмолога, кардиолога), учитывался характер применяемой антибактериальной, гормональной и иммуннокорригирующей терапии, а также наличие соматических осложнений в период пребывания в отделении реанимации.

Микробиологический мониторинг условно-патогенной микрофлоры проводился в 1-е, 3-и и 7-е сутки после рождения. Для скрининговой оценки состояния микробиоты пищеварительного тракта производился забор биологического материала из полости рта, начального отдела пищеварительного тракта [26, 27]. Также проведено бактериологическое исследование биоматериала с внутренней поверхности ушной раковины, подмышечной впадины, поверхности плодной части плаценты, отделяемого эндотрахеальной трубки при санации трахеобронхиального дерева, включающее определение чувствительности к антибактериальным и противогрибковым препаратам. Биохимическая идентификация микроорганизмов производилась с использованием тест-систем “Erba Lachema” автоматического ридера “Multiskan – Ascent” с последующей интерпретацией результатов с помощью соответствующего программного обеспечения.

Создание базы данных и статистическая обработка проводились с использованием пакетов программ Microsoft® Office® 2010 (Microsoft Corporation,

Tulsa, OK, USA), IBM® SPSS® Statistics 23.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) и WinPEPI© 11.39 (J. H. Abramson).

Качественные данные представлены в виде абсолютных значений и долей (%), количественные – где это возможно, в виде $M \pm m$. Различия между количественными величинами в нескольких группах оценивались при помощи бутстрэп-варианта дисперсионного анализа с апостериорным критерием Тьюки. В случае, когда таких групп было две, использовался тест Стьюдента или его гетероскедастический аналог – тест Саттертуайта

для независимых переменных. При очевидно ненормальных распределениях использовались тест Манна-Уитни для независимых переменных в случае двух сравниваемых групп и Краскала-Уоллиса – при независимых переменных, для сравнения более двух групп. Статистическая значимость различий между качественными переменными в группах и таблицах небольшой размерности оценивалась при помощи точного критерия Фишера. В любом случае, в качестве пограничного уровня статистической значимости принимали значение одно или двустороннего $p=0,05$.

Результаты

Условно-патогенные микроорганизмы выделены из полости рта у 19% новорожденных с дефицитом массы тела в 1-е и 3-и сутки. На 7-е сутки доля пациентов, из полости рта которых были выделены представители условно-патогенной микрофлоры (УПМ) снизилась до 7,5% (рисунок 1). Данные различия были статистически значимыми (точный тест Фишера, $p = 0,037$).

Однако, в группах с различным дефицитом массы тела выявлены особенности частоты встречаемости условно-патогенных микроорганизмов в динамике. Так, в группе с ОНМТ наблюдалось снижение частоты встречаемости УПМ, которая составляла 24%, 14% и 5% соответственно в 1-е, 3- и 7-е сутки. В группе с НМТ на 3-и сутки наблюдалось резкое увеличение частоты выделения условно-патогенных микроорганизмов с последующим выраженным, в 7 раз, снижением частоты выделения УПМ ($p = 0,012$) на фоне применения

антибиотикотерапии. В группе новорожденных с ЭНМТ частота встречаемости микроорганизмов на 7-е сутки жизни практически не менялась в динамике (14% – 19%), несмотря на использование антибиотикотерапии.

Превалентность условно-патогенных микроорганизмов, выделенных из полости рта обследованных недоношенных новорожденных, с различным дефицитом массы тела в динамике также имела ряд особенностей в аспекте качественных и количественных параметров (рисунок 2).

Так в 1-е и 3-и сутки наблюдался наиболее разнообразный микробный пейзаж по сравнению с представительством УПМ на 7-е сутки. В 1-е сутки в 4,5% случаев преобладали *S. epidermidis* и *E. coli* 677, в 3% случаев – *K. pneumoniae* и *E. faecalis*, и в 1,5% случаев – *S. mitis*, *C. krusei*, *Burkholderia cepacia complex*. На 3-е сутки в 6% случаев доминировал *S. epidermidis*, что соответствует и данным

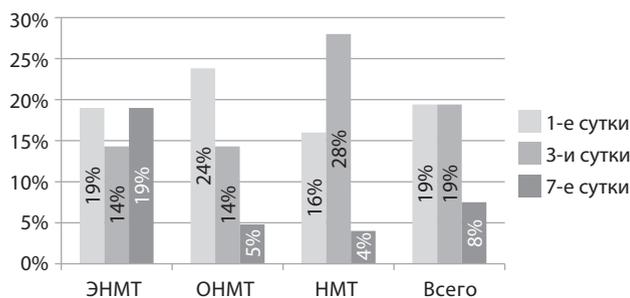


Рисунок 1.
Частота встречаемости УПМ в полости рта недоношенных новорожденных с недостатком массы тела в динамике

Figure 1.
The frequency of opportunistic microflora occurrence in the oral cavity of underweight premature newborns in dynamics

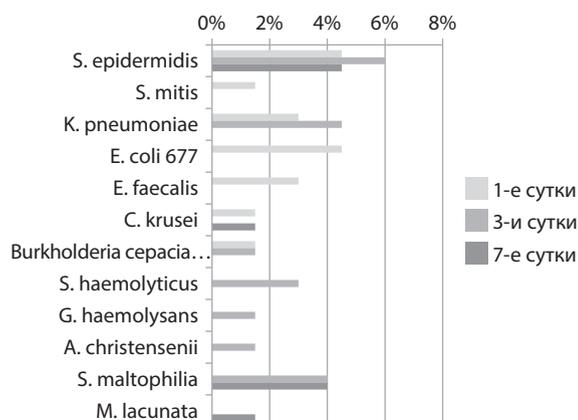


Рисунок 2.
Превалентность УПМ в полости рта недоношенных новорожденных с недостатком массы тела в динамике

Figure 2.
The prevalence of opportunistic microflora in the oral cavity of underweight premature newborns in dynamics

Рисунок 3.
Превалентность УПМ в полости рта недоношенных новорожденных с ЭНМТ в динамике

Figure 3.
The prevalence of opportunistic microflora in the oral cavity of premature infants with extremely low body weight in dynamics

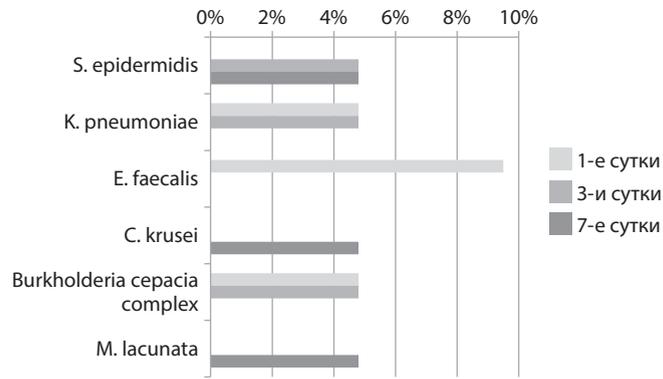


Рисунок 4.
Превалентность УПМ в полости рта недоношенных новорожденных с ОНМТ в динамике

Figure 4.
The prevalence of opportunistic microflora in the oral cavity of premature infants with very low body weight in dynamics

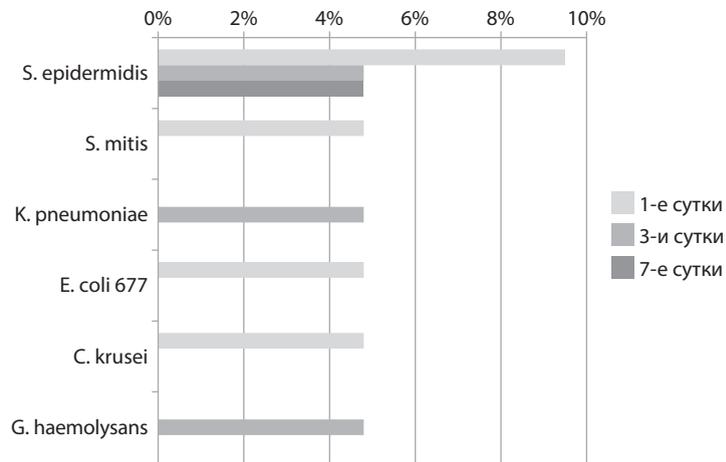


Рисунок 5.
Превалентность УПМ в полости рта недоношенных новорожденных с НМТ в динамике

Figure 5.
The prevalence of opportunistic microflora in the oral cavity of premature infants with low body weight in dynamics

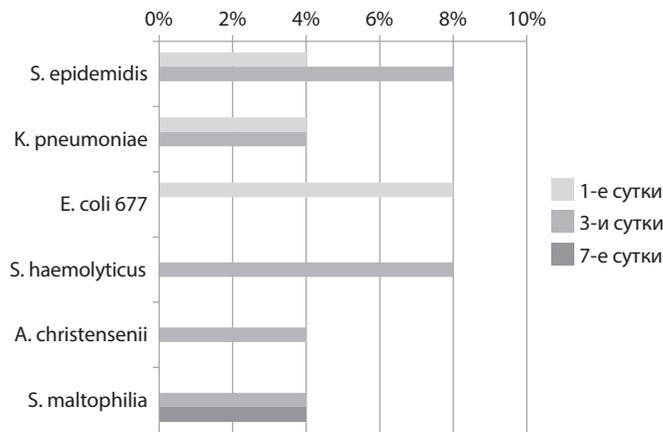
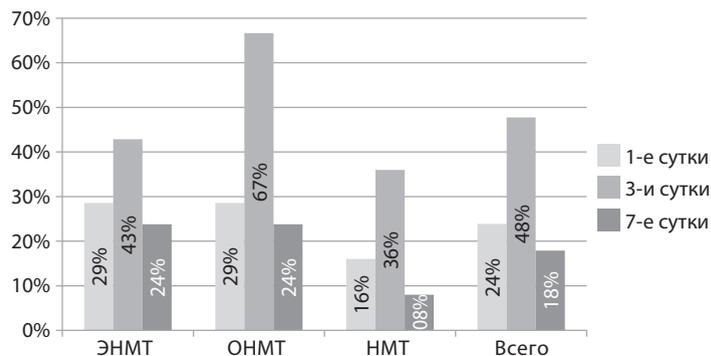


Рисунок 6.
Частота встречаемости УПМ в подмышечных впадинах у недоношенных новорожденных с недостатком массы тела в динамике

Figure 6.
The frequency of opportunistic microflora occurrence in the armpits of underweight premature newborns in dynamics



других научно-исследовательских работ в этой области научных знаний. На втором месте по частоте встречаемости на 3-и сутки, в 4,5% случаев, находилась *K. pneumoniae*. В 4% случаев были выделены *S. maltophilia*, в 3% – *S. haemolyticus* и в 1,5% – *Burkholderia cepacia complex*, *G. haemolysans* и *A. christensenii*. На 7-е сутки микробный пейзаж полости рта новорожденных с НМТ, ОНМТ и ЭНМТ становился более однообразным. Лидирующее положение также принадлежало *S. epidermidis* (4,5%), в 4% случаев была выделена *S. maltophilia*, а в 1,5% случаев – *C. krusei* и *M. lacunata*.

Следует отметить, что по результатам настоящего исследования, на 1-е, 3-и и 7-е сутки встречался только один условно-патогенный микроорганизм – *S. epidermidis*. Более стабильная частота выделения (дважды из трех серий забора биоматериала) по результатам проведенного нами исследования, была также характерна для *K. pneumoniae*, *C. krusei*, *Burkholderia cepacia complex* и *S. maltophilia*.

При анализе частоты встречаемости различных представителей УПМ в аспекте массы новорожденного был выявлен ряд особенностей микробного пейзажа полости рта и его изменений в 1-е, 3-и и 7-е сутки после рождения (рисунок 3). Так, в 1-е сутки после рождения из полости рта пациентов с ЭНМТ были выделены следующие условно-патогенные микроорганизмы: *E. faecalis* (9,5%), *K. pneumoniae* (4,8%) и *Burkholderia cepacia complex* (4,8%). На 3-и сутки обсемененность двумя последними представителями УПМ сохранялась на прежнем уровне, *E. faecalis* не был выделен, а в 4,8% случаев был выделен и идентифицирован *S. epidermidis*. На 7-е сутки в микробном пейзаже произошло замещение *K. pneumoniae* и *Burkholderia cepacia complex* на других представителей УПМ, *C. krusei* и *M. lacunata* в 4,8% случаев.

Из полости рта недоношенных новорожденных с ОНМТ в 1-е сутки были выделены *S. epidermidis* (9,5%), *S. mitis*, *E. coli* 677 и *C. krusei* в 4,8% случаев. На 3-и сутки также произошло изменение микробного пейзажа, характеризующееся снижением частоты выделения *S. epidermidis* до 4,8%, отсутствием *S. mitis*, *E. coli* 677 и *C. krusei* и появлением в 4,8% случаев *K. pneumoniae* и *G. haemolysans*. На 7-е сутки из полости рта недоношенных новорожденных с ОНМТ в 4,8% случаев был выделен только один представитель УПМ – *S. epidermidis* (рисунок 4).

Микробный пейзаж полости рта недоношенных новорожденных с НМТ в 1-е сутки был представлен в 8% случаев *E. coli* 677, а в 4% случаев были выделены *S. epidermidis* и *K. pneumoniae*. На 3-и сутки частота выделения *S. epidermidis* увеличилась до 8%, тогда как частота встречаемости *K. pneumoniae* осталась прежней и составила 4% случаев. В микробном пейзаже также были представлены в 8% случаев *S. haemolyticus*, в 4% – *A. christensenii* и *S. maltophilia*. К 7-м суткам из полости рта недоношенных новорожденных с НМТ была выделена *S. maltophilia* в 4% случаев (рисунок 5).

Для сравнительной характеристики представительства УПМ пищеварительного тракта были исследованы и другие биотопы недоношенных новорожденных с недостатком массы тела. По результатам нашего исследования из подмышечных

впадин недоношенных новорожденных с дефицитом массы тела представители УПМ были выделены в 24%, 48% и 18% случаев соответственно в 1-е, 3-и и 7-е сутки (рисунок 6). Следовательно, доля недоношенных новорожденных, из подмышечных впадин которых были выделены условно-патогенные микроорганизмы, значительно выше на 3-и сутки по сравнению с 1-ми и 7-ми сутками жизни и данные различия были статистически значимыми (точный тест Фишера с апостериорным попарным сравнением категорий с поправкой Сидак, $p = 0,001$).

Статистически значимые различия на фоне применения антибиотикотерапии соответствовали на 1-е, 3-и и 7-е сутки наблюдались у недоношенных новорожденных групп ОНМТ и НМТ ($p = 0,010$ и $p = 0,039$, соответственно), тогда как, в группе новорожденных с ЭНМТ частота встречаемости представителей УПМ в подмышечных впадинах изменилась, однако осталась статистически незначимой (точный тест Фишера, $p = 0,489$). При сравнении качественных параметров микрофлоры полости рта и подмышечных впадин, выявлено, что спектр УПМ менее многообразен и характеризуется отсутствием таких представителей УПМ, как *S. mitis*, *E. coli* 677, *M. lacunata* и *G. haemolysans*, а также появлением *Micrococcus spp.* и *S. acidominimus*. Также, в 1-е и 3-и сутки наблюдался наиболее разнообразный микробный пейзаж по сравнению со спектром условно-патогенных микроорганизмов на 7-е сутки. В 1-е сутки в 7,5% случаев встречался *S. epidermidis*. На втором месте по частоте встречаемости *K. pneumoniae* и *E. faecalis* – 4,5%, *Micrococcus spp.* – в 3%, *S. acidominimus*, *A. christensenii* и *Burkholderia cepacia complex* – в 1,5% случаев. На 3-и сутки значительно доминирует *S. epidermidis* (25,4%), на втором месте также *K. pneumoniae* (6%), затем *E. faecalis* и *C. krusei* (4,5%), в 3% случаев *S. haemolyticus* и в 1,5% – *S. acidominimus*, *Burkholderia cepacia complex* и *S. maltophilia*. На 7-е сутки микробный пейзаж подмышечных впадин, также как и полости рта новорожденных с НМТ, ОНМТ и ЭНМТ становился более однообразным. Лидирующее положение также принадлежало *S. epidermidis* (7,5%), в 4,5% случаев был выделен *E. faecalis*, в 3% – *C. krusei*, а в 1,5% случаев – *K. pneumoniae* и *S. haemolyticus*. Кроме того, 30% УПМ, включая *S. epidermidis*, *K. pneumoniae* и *E. faecalis* были выделены как в 1-е, так и на 3-и и 7-и сутки.

Поскольку последние исследования с использованием современных молекулярно-генетических методов показали сходство микробиома плаценты и микробиоты полости рта, как входных ворот для формирования микробиоты пищеварительного тракта, в рамках настоящего исследования было проведено выделение условно-патогенных микроорганизмов данного биотопа. Из плодной части плаценты недоношенных новорожденных с различным дефицитом массы тела в 40% были выделены условно-патогенные микроорганизмы. Наибольшая частота встречаемости УПМ была выявлена в группе новорожденных с ЭНМТ и с ОНМТ и составила 52,4% и 42,9% случаев соответственно, с незначительным преобладанием в группе с ЭНМТ. У детей с НМТ эта частота была

практически в два раза меньше и составила 24% случаев. Доминирующим представителем УПМ, выделенным из плаценты недоношенных новорожденных с дефицитом массы тела являлся *S. epidermidis*. Различия между частотой встречаемости *S. epidermidis* и других представителей УПМ были статистически значимыми (точный тест Фишера, $p = 0,001$ с поправкой Сидак).

Бактериологическое исследование биоматериала уха показало узкий спектр условно-патогенных микроорганизмов с преобладанием *S. epidermidis*.

Из крови новорожденных в группах ЭНМТ, ОНМТ и НМТ представители УПМ не выделены.

На формирование микробиоты пищеварительного тракта у недоношенных новорожденных

оказывают влияние не только эндогенные, но и экзогенные факторы, в частности при проведении различных медицинских манипуляций. Наибольшая частота выделения условно-патогенных микроорганизмов с эндотрахеальной трубки при санации трахеобронхиального дерева также была выявлена в группе недоношенных новорожденных с ЭНМТ и составила 23,8% случаев. У детей с ОНМТ эта частота составила 9,5%, а у детей группы с НМТ представители УПМ были выделены лишь в 4% случаев. Доминирующим представителем являлся *E. faecalis*, а также были выделены *S. epidermidis*, *C. glabrata*, *K. pneumoniae*, *S. mitis*, *Burkholderia cepacia complex* и представители рода *Acinetobacter*.

Обсуждение

Одной из основных целей настоящего исследования являлось определение качественных и количественных параметров УПМ в микробиоме полости рта, как начального отдела пищеварительного тракта, у недоношенных новорожденных с дефицитом массы тела в динамике и в сравнительном аспекте с другими биотопами. Это, в свою очередь, позволит выявить биомаркеры экологического неблагополучия и обосновать формирование групп риска с последующим проведением персонализированной превентивной и коррекционной терапии, в частности, с использованием пробиотиков.

Изучение качественных и количественных параметров нами проводилось с использованием бактериологического метода, который в данном случае позволил не только выделить условно-патогенные микроорганизмы, но и определить их различные фенотипические свойства, в частности, чувствительность к противомикробным препаратам, наличие факторов патогенности [28, 29]. Кроме того, в лечебных учреждениях достаточно часто используют данный метод определения УПМ, по сравнению с молекулярно-генетическим подходом.

При анализе качественных и количественных параметров УПМ в полости рта недоношенных новорожденных с ЭНМТ было выявлено, что частота встречаемости микроорганизмов на 7-е сутки практически не изменялась в динамике по сравнению с группами с ОНМТ и НМТ. Это можно объяснить тем, что колонизационная резистентность данного биотопа выше у детей с ОНМТ и НМТ по сравнению с недоношенными новорожденными с ЭНМТ, что позволяет элиминировать большинство представителей условно-патогенной микрофлоры на фоне антибиотикотерапии. Сходная тенденция, коррелирующая с уровнем общей резистентности наблюдалась и в других исследованных биотопах.

Кроме того, наиболее часто встречающимся условно-патогенным микроорганизмом в исследованных биотопах у недоношенных новорожденных с недостатком массы тела в динамике по результатам настоящего исследования являлся *S. epidermidis*. Это объясняется наибольшей распространенностью данного микроорганизма во внутрибольничном микробном сообществе и его более выраженной, по сравнению с другими

микроорганизмами, устойчивостью во внешней среде и делает его перспективным для использования в качестве биомаркера, учитывая адекватность и экономическую эффективность диагностического подхода, возможность определения антибиотикограммы, факторов патогенности и других фенотипических свойств. Также высокая частота выделения по результатам настоящего исследования, была характерна для *K. pneumoniae*, *C. krusei*, *Burkholderia cepacia complex* и *S. maltophilia*, что описано в результатах научно-исследовательских работ и других авторов [30].

Одним из основных факторов, влияющих на микробный пейзаж, является использование массивной антибиотикотерапии у данного контингента новорожденных с целью профилактики инфекционной патологии, однако, следует учитывать и влияние целого ряда других экзогенных и эндогенных факторов, а также анатомические и физиологические особенности отдельных биотопов. При определении УПМ подмышечных впадин у недоношенных новорожденных с недостатком массы тела были выявлены статистически значимые различия частоты выделения в динамике в сравнительном аспекте с микробиотой пищеварительного тракта. Так, на фоне применения антибиотикотерапии, на 3-и сутки по сравнению с 1-ми и 7-ми сутками жизни выявлено достоверное увеличение частоты выделения УПМ в группах недоношенных новорожденных с ОНМТ и НМТ. Следует учитывать тот факт, что частота выделения условно-патогенных микроорганизмов с внутренней поверхности ушной раковины была достоверно ниже ($p < 0,05$) по сравнению с другими биотопами и характеризовалась узким спектром УПМ, представленной *S. epidermidis*, представителями рода *Candida* и *E. faecalis*. Кроме того, выявлена корреляционная связь между качественными и количественными параметрами УПМ, а также числом контаминированных УПМ биотопов с уровнем массы тела и показателями резистентности недоношенных новорожденных с дефицитом массы.

Определение условно-патогенных микроорганизмов в динамике позволило выявить следующую закономерность, в 1-е и 3-е сутки выделялся более широкий спектр представителей

условно-патогенной микрофлоры, который значительно сокращался и становился менее разнообразным на 7-е сутки жизни. Это объясняется тем, что на формирование нормальной микрофлоры необходимо время, а также непосредственный контакт с матерью, которого чаще всего лишены дети с НМТ, ЭНМТ и ОНМТ, которые находятся в отделении патологии новорожденных. В связи с этим их микробный пейзаж формируется из представителей микрофлоры медицинского персонала и госпитальной микрофлоры. Кроме того, данный микробный пейзаж формируется на фоне использования массивной антибактериальной терапии и характеризуется присутствием преимущественно антибиотикорезистентных штаммов УПМ.

Наиболее стабильная, и в большинстве случаев высокая, частота выделения УПМ была выявлена в группе недоношенных новорожденных с ЭНМТ по сравнению с группой НМТ. Данная тенденция наиболее прослеживалась в биоматериале эндотрахеальной трубки 23,8%, 9,5% и 4% соответственно

для ЭНМТ, ОНМТ и НМТ. Тенденция к более стабильной частоте выделения сходной УПМ наблюдалась и в полости рта новорожденных с ЭНМТ. Таким образом, у детей с более низкой массой тела, приводящая к более выраженному снижению общей резистентности, наблюдалась более высокая частота выделения представителей УПМ. Данный факт можно объяснить тем, что колонизационная резистентность различных биотопов выше у детей с ОНМТ и НМТ по сравнению с недоношенными новорожденными с ЭНМТ, что позволяет элиминировать большинство условно-патогенных микроорганизмов на фоне антибиотикотерапии.

Полученные в результате проведенного исследования данные позволили рассматривать состояние микробиоты пищеварительного тракта, в частности микробиоты полости рта, как интегральный показатель состояния здоровья в целом, отражающий состояние не только локальной, но и общей резистентности организма, что согласуется с рядом научно-исследовательских работ [13, 26, 31–33].

Заключение

Таким образом, микробный пейзаж полости рта, как начального отдела пищеварительного тракта у недоношенных детей с НМТ, ОНМТ и ЭНМТ характеризуется различным спектром и частотой выделения условно-патогенных микроорганизмов, которые коррелируют с экзогенными и эндогенными факторами (недостатком массы тела, возрастом, применение антибиотикотерапии и др.). Качественные и количественные показатели микробиоты отражают сложные динамические взаимосвязи специфической иммунной резистентности и адаптационных резервов организма. Микробиологический мониторинг УПМ биотопа

полости рта и внутренней поверхности ушной раковины позволяет рассматривать эти микробиологические параметры в качестве прогностического критерия течения и исходов у недоношенных новорожденных с дефицитом массы. Дает возможность научно обосновать персонализированный подход к ведению таких пациентов, формированию групп риска, назначению коррекционных и превентивных мероприятий для создания адекватного профиля микробного заселения, профилактики инфекционной патологии и снижения риска неблагоприятного исхода.

Финансирование исследования проводилось в рамках выполнения государственного задания рег. № АААА-А18-118031690017-7

Литература | References

1. Sassone-Corsi M., Raffatellu M. No vacancy: how beneficial microbes cooperate with immunity to provide colonization resistance to pathogens. *J Immunol.* 2015 May 1; 194(9): 4081–7. doi: 10.4049/jimmunol.1403169
2. Heederik D., von Mutius E. Does diversity of environmental microbial exposure matter for the occurrence of allergy and asthma? *J Allergy Clin Immunol.* 2012 Jul; 130(1):44–50. doi: 10.1016/j.jaci.2012.01.067
3. Yang Y., Tian J., Yang B. Targeting gut microbiome: A novel and potential therapy for autism. *Life Sci.* 2018 Feb 1;194:111–119. doi: 10.1016/j.lfs.2017.12.027
4. Strati F., Cavalieri D., Albanese D., et al. New evidences on the altered gut microbiota in autism spectrum disorders. *Microbiome.* 2017 Feb 22;5(1):24. doi: 10.1186/s40168-017-0242-1
5. Vuong H. E., Hsiao E. Y. Emerging Roles for the Gut Microbiome in Autism Spectrum Disorder. *Biol Psychiatry.* 2017 Mar 1;81(5):411–423. doi: 10.1016/j.biopsych.2016.08.024
6. Robles-Sikasaka R., Ly M., Boehm T., et al. Association between living environment and human oral viral ecology. *ISME J.* 2013 Sep; 7(9):1710–24. doi: 10.1038/ismej.2013.63
7. Ly M., Abeles S. R., Boehm T. K., Robles-Sikasaka R., et al. Altered oral viral ecology in association with periodontal disease. *mBio.* 2014 May; 20;5(3): e01133–14. doi: 10.1128/mBio.01133-14
8. Turnbaugh P. J., Ley R. E., Hamady M., et al. The human microbiome project. *Nature.* 2007 Oct 18; 449(7164):804–10. doi: 10.1038/nature06244
9. Costello E. K., Lauber C. L., Hamady M., et al. Bacterial community variation in human body habitats across space and time. *Science.* 2009 Dec 18; 326(5960):1694–7. doi: 10.1126/science.1177486
10. Angelakis E., Bachar D., Yasir M., et al. Comparison of the gut microbiota of obese individuals from different geographic origins. *New Microbes New Infect.* 2018 Nov 22; 27:40–47. doi: 10.1016/j.nmni.2018.11.005
11. Pechkurov D. V., Turti T. V., Belyaeva I. A., et al. Intestinal Microflora in Children: from Formation Disturbances Prophylaxis to Preventing Non-Infectious

- Diseases. *Pediatric pharmacology*. 2016;13(4):377–381. (In Russ.) doi: 10.15690/pf.v13i4.1611
- Печкуров Д. В., Турти Т. В., Беляева И. А. и соавт. Микробиота кишечника у детей: от профилактики нарушений становления к предупреждению неинфекционных заболеваний. *Педиатрическая фармакология*. 2016;13(4):377–383. doi: 10.15690/pf.v13i4.1611
12. Mackie R. I., Sghir A., Gaskins H. R. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr*. 1999 May;69(5):1035S–1045S. doi: 10.1093/ajcn/69.5.1035s
 13. Belda-Ferre P., Alcaraz L. D., Cabrera-Rubio R., et al. The oral metagenome in health and disease. *ISME J*. 2012 Jan; 6(1):46–56. doi: 10.1038/ismej.2011.85
 14. Ardisson A. N., de la Cruz D. M., Davis-Richardson A. G., et al. Meconium microbiome analysis identifies bacteria correlated with premature birth. *PLoS One*. 2014 Mar 10;9(3): e90784. doi: 10.1371/journal.pone.0090784
 15. Jakobsson H. E., Abrahamsson T. R., Jenmalm M. C., et al. Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by caesarean section. *Gut*. 2014 Apr;63(4):559–66. doi: 10.1136/gutjnl-2012-303249
 16. Pelzer E., Gomez-Arango L. F., Barrett H. L., et al. Review: Maternal health and the placental microbiome. *Placenta*. 2017 Jun; 54:30–37. doi: 10.1016/j.placenta.2016.12.003
 17. Aagaard K., Ma J., Antony K. M., et al. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med*. 2014 May 21;6(237):237ra65. doi: 10.1126/scitranslmed.3008599
 18. Collado M. C., Rautava S., Aakko J., et al. Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid. *Sci Rep*. 2016 Mar 22;6:23129. doi: 10.1038/srep23129
 19. Angelakis E., Merhej V., Raoult D. Related actions of probiotics and antibiotics on gut microbiota and weight modification. *Lancet Infect Dis*. 2013 Oct;13(10):889–99. doi: 10.1016/S1473-3099(13)70179-8
 20. Zheng J., Xiao X., Zhang Q., et al. The Placental Microbiome Varies in Association with Low Birth Weight in Full-Term Neonates. *Nutrients*. 2015 Aug 17;7(8):6924–37. doi: 10.3390/nu7085315
 21. Salminen S., Gibson G. R., McCartney A. L., et al. Influence of mode of delivery on gut microbiota composition in seven year old children. *Gut*. 2004 Sep;53(9):1388–9. doi: 10.1136/gut.2004.041640
 22. Dominguez-Bello M. G., Costello E. K., Contreras M., et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Jun 29;107(26):11971–5. doi: 10.1073/pnas.1002601107
 23. Kristensen K., Henriksen L. Cesarean section and disease associated with immune function. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 Feb;137(2):587–90. doi: 10.1016/j.jaci.2015.07.040
 24. Blaser M. Antibiotic overuse: Stop the killing of beneficial bacteria. *Nature*. 2011 Aug 24;476(7361):393–4. doi: 10.1038/476393a
 25. Biasucci G., Benenati B., Morelli L., et al. Cesarean delivery may affect the early biodiversity of intestinal bacteria. *J Nutr*. 2008 Sep;138(9):1796S–1800S. doi: 10.1093/jn/138.9.1796S
 26. Davydov B. N., Samoukina A. M., Mikhailova E. S., et al. Variations of oral fluid microbiota in healthy children and adolescents. *Stomatologiya*. 2017; 96(1):56–59. (In Russ.) doi: 10.17116/stomat201796156-59
 - Давыдов Б. Н., Самоукина А. М., Михайлова Е. С. и соавт. Варианты микрофлоры ротовой жидкости у практически здоровых детей и подростков. *Стоматология*. 2017, Т. 96, № 1, С. 56–59. doi: 10.17116/stomat201796156-59
 27. Samoukina A. M., Mikhailova E. S., Chervinets V. M., et al. Microbiological monitoring of oral fluid of clinically healthy children. *Stomatologiya*. 2015; 94(1):11–13. (In Russ.) doi: 10.17116/stomat201594111-13
 - Самоукина А. М., Михайлова Е. С., Червинец В. М. и соавт. Микробиологический мониторинг ротовой жидкости у клинически здоровых детей. *Стоматология*. 2015, Т. 94, № 1, С. 11–13. doi: 10.17116/stomat201594111-13
 28. Kurakin G. F., Samoukina A. M., Potapova N. A. Bacterial and Protozoan Lipoxigenases Could be Involved in Cell-to-Cell Signaling and Immune Response Suppression. *Biochemistry*. 2020; 85(9):1048–1071. (In Russ.) doi: 10.1134/S0006297920090059
 - Куракин Г. Ф., Самоукина А. М., Потапова Н. А. Липоксигеназы бактерий и простейших могут участвовать в межклеточной сигнализации и подавлении иммунного ответа. *Биохимия*. 2020, Т. 85, № 9, С. 1256–1273. doi: 10.31857/S0320972520090067
 29. Chervinets V. M., Chervinets Iu. V., Samoukina A. M., et al. Biofilm formation by antagonistic strains of oral *Lactobacillus*. *Stomatologiya*. 2012; 91(1):16–19. (In Russ.) PMID: 22678601.
 - Червинец В. М., Червинец Ю. В., Самоукина А. М. и соавт. Формирование биопленок антагонистическими штаммами лактобацилл полости рта. *Стоматология*. 2012, Т. 91, № 1, С. 16–19.
 30. Chervinets V. M., Chervinets Y. V., Petrova O. A., et al. Gastrointestinal microbiota of the newborns of the first month of life of the Tver region. *Klin Lab Diagn*. 2018;63(9):579–583. (In Russ.) doi: 10.18821/0869-2084-2018-63-9-579-583
 - Червинец В. М., Червинец Ю. В., Петрова О. А. и соавт. Микробиота желудочно-кишечного тракта новорожденных первого месяца жизни Тверской области. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018; 63(9):579–583. doi: 10.18821/0869-2084-2018-63-9-579-583
 31. Makarova S. G., Broeva M. I. Different Factors Influencing Early Stages of Intestine Microbiota Formation. *Pediatric pharmacology*. 2016;13(3):270–282. (In Russ.) doi: 10.15690/pf.v13i3.1577
 - Макарова С. Г., Броева М. И. Влияние различных факторов на ранние этапы формирования кишечной микробиоты. *Педиатрическая фармакология*. 2016;13(3):270–282. doi: 10.15690/pf.v13i3.1577
 32. Yakushin A. S., Ukraintsev S. E., Denisov M. Yu. Intestinal Microbiota: Early Formation, Health Effects, and Correction Ways. *Current Pediatrics*. 2017;16(6):487–492. (In Russ.) doi:10.15690/vsp.v16i6.1821
 - Якушин А. С., Украинцев С. Е., Денисов М. Ю. Кишечная микробиота: формирование в раннем возрасте, влияние на здоровье, способы коррекции. *Вопросы современной педиатрии*. 2017;16(6):487–492. doi:10.15690/vsp.v16i6.1821
 33. Buccigrossi V., Nicastro E., Guarino A. Functions of intestinal microflora in children. *Curr. Opin. Gastroenterol*. 2013 Jan; 29(1):31–8. doi: 10.1097/MOG.0b013e32835a3500