

Н.М. Ивахнишина¹, О.В. Островская¹, О.В. Кожарская², В.Г. Обухова², Е.Б. Наговицына¹, М.А. Власова¹

ДИАГНОСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ВНУТРИУТРОБНЫХ И ПОСТНАТАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ В АУТОПСИЙНОМ МАТЕРИАЛЕ ПОГИБШИХ МАЛОВЕСНЫХ ДЕТЕЙ

¹Хабаровский филиал ДНЦ ФПД – Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства, 680022, ул. Воронежская, 49, корп. 1, тел. 8-(4212)-98-05-91, e-mail: iomid@yandex.ru;²Перинатальный центр министерства здравоохранения Хабаровского края, 680028, ул. Истомина, 85, тел. 8-(4212)-45-40-03, e-mail: perinatalcenter@rambler.ru, г. Хабаровск

Резюме

Целью работы была верификация возбудителей инфекционных заболеваний в аутопсийном материале при перинатальной и постнатальной смертности недоношенных детей с помощью ПЦР. Исследованы плацента и органы 20 погибших детей, в том числе 5 – проживших до 7 дней жизни и 15 – проживших от 10 суток до 2 месяцев. Определяли широкий спектр возбудителей внутриутробных и постнатальных инфекций. Аутопсийный материал от детей, умерших в ранний неонатальный период, был инфицирован в 100 % случаев возбудителями инфекций, колонизирующих генитальный тракт женщин (микоплазмы, *Streptococcus pneumoniae*). При гибели детей в более позднем периоде зараженность органов погибших маловесных детей составила 60 %. Наряду с инфекционными агентами, входящими в биоценоз генитального тракта женщины, выявлены *Cytomegalovirus*, аденовирусы, грибы (*Candida albicans*, *Aspergillus fumigata*), возбудители нозокомальных инфекций (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*), гемофильная палочка (*Haemophilus influenzae*). Результаты работы показывают эффективность использования ПЦР для диагностики инфекций при перинатальной и младенческой смертности.

Ключевые слова: внутриутробные и постнатальные инфекции, ПЦР, погибшие маловесные дети.

Н.М. Ivakhnishina¹, O.V. Ostrovskaya¹, O.V. Kozharskaya², V.G. Obukhova², E.B. Nagovitsyna¹, M.A. Vlasova¹

INTRAUTERINE AND POSTNATAL INFECTION AGENTS DETECTED IN AUTOPSY MATERIAL OF LOST LOW-WEIGHT CHILDREN

¹Research Institute of Mother and Child Health Care, Khabarovsk – Khabarovsk Branch of the Far-Eastern Research Center of Respiratory Physiology and Pathology;²Perinatal Center, Khabarovsk

Summary

This study was aimed at PCR-assisted verification of infectious agents in the autopsy material of premature children who died in the perinatal and postnatal periods. Placentas and internal organs of twenty lost children, including five children who lived until the seventh day after birth and fifteen children who lived until the tenth day-two months after birth, were studied. A wide range of intrauterine and postnatal infection agents was identified. Autopsy material of children who died in an early neonatal period was 100 % infected by the pathogens colonizing female genital tract (mycoplasmas, *Streptococcus pneumoniae*). In children's death in a later period, internal organs of lost low-weight children were 60 % infected. In addition to the infectious agents inherent to female biocenosis, *Cytomegalovirus*, adenoviruses, fungi (*Candida albicans*, *Aspergillus fumigata*), and nosocomial infection agents (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*) were found. This study has shown that PCR is an efficient tool to diagnose infections in perinatal and infant mortality.

Key words: Intrauterine and postnatal infections, PCR, lost low-weight children.

Проблема невынашивания беременности и рождения детей с низкой массой тела – одна из наиболее актуальных в современном акушерстве и перинатологии. Это объясняется высоким риском перинатальной и младенческой заболеваемости и смертности недоношенных детей. В 2010 г. раньше срока были рождены 11,1 % от числа живорожденных детей в мире [7]. Среди умерших на первом году жизни недоношенные дети составляют 55-65 %, в основном за счет детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела [2, 6].

По данным ряда авторов среди причин смерти новорожденных в неонатальном периоде ведущее значение принадлежит внутриутробным инфекциям [1, 8]. В Хабаровском крае первые ранговые места в структуре причин постнеонатальной смертности наряду с врожденными пороками занимают вирусные и бактериальные болезни, болезни органов дыхания [5].

В клинической практике инфекционно-воспалительные заболевания новорожденных подразделяют на внутриутробные (диагностируются в раннем неонатальном периоде) и постнатальные (приобретенные после рождения). Этиологическая структура инфекционно-воспалительных заболеваний у новорожденных зависит от путей передачи, срока гестации и других факторов. При трансплацентарном пути внутриутробного инфицирования особое значение имеет цитомегаловирусная, герпетическая инфекции, краснуха, туберкулез, сифилис. При восходящей ante- и интранатальной инфекции важная роль отводится стрептококкам группы В, кишечной палочке, анаэробным бактериям, хламидиям, микоплазме, цитомегаловирусу, листериям. Возбудителями постнатальных инфекционно-воспалительных процессов чаще являются коагулазонегативные стафилококки, золотистый ста-

филококк, синегнойная палочка, кишечная палочка, гемофильная палочка, аденовирусы, энтеровирусы, цитомегаловирусы, вирусы гриппа А, респираторно-синцитиальный вирус, кандиды и др. [1, 8].

Не существует устоявшихся алгоритмов выявления внутриутробных инфекций при фетоинфантильных потерях. Классические способы выявления микроорганизмов в аутопсийном материале трудоемки, дорогостоящи, занимают длительное время. Современные методы молекулярной диагностики позволяют в короткие сроки выявлять широкий спектр вирусов и бактерий, в том числе трудно культивируемых, в любом клиническом материале, в частности в аутопсийном. Это может быть использовано для этиологической верификации инфекционно-воспалительных процессов при перинатальной и постнатальной смертности недоношенных детей.

Цель исследования – определение частоты и спектра возбудителей перинатально значимых инфекций в образцах органов умерших недоношенных детей с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Материалы и методы

Работа проводилась на базе патологоанатомического отделения краевого «Перинатального центра». С помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) исследовали аутопсийный материал 20 случаев смерти недоношенных детей, в том числе 5 умерших в раннем неонатальном периоде до 7 суток жизни (1-я группа) и 15 случаев смерти в неонатальном и постнеонатальном периоде, дети прожили от 10 суток до 2 месяцев жизни (2-я группа). Изучали пробы плаценты и внутренних органов: головной мозг, сердце, легкие, почки, печень, селезенка. Определяли геном следующих возбудителей: *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* (*M.hom.*), *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum* (*Ur.ur.*), *Cytomegalovirus* (*CMV*), *Herpes simplex virus*, *Herpes human virus, 4 type*, *Herpes human virus, 6 type*, *Enteroviruses*, *Rubella*, *Parvovirus B19*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pneumoniae* (*S.pn.*), *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Pseudomonas aeruginosa* (*Ps.aer.*), *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* (*Kl.pn.*), *Haemophilus influenza* (*H.inf.*), *Candida albicans* (*Cand.alb.*), *Aspergillus fumigatus* (*Asp.fum.*). Использовали «Способ выявления возбудителей внутриутробных инфекций в аутопсийном материале от погибших плодов и новорожденных», разработанный нами совместно с сотрудниками ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора [4]. Работу осуществляли с помощью диагностических систем фирмы «ИнтерЛабСервис» (Москва).

По протоколам патологоанатомического описания проведен ретроспективный анализ анамнестических данных, течения беременности и перинатальных исходов в исследуемых группах.

Результаты и обсуждение

Возраст беременных женщин находился в пределах от 21 до 35 лет. Впервые беременность наступила только у одной женщины после бесплодия с помощью

ЭКО. У остальных зарегистрировано от 2 до 13 беременностей. Большинство пациенток имели отягощенный акушерско-гинекологический анамнез: уреоплазмоз, хламидиоз, трихомониаз выявлены у 30,0 % женщин, воспалительные гинекологические заболевания диагностированы у 15 %. Спонтанные выкидыши и искусственные аборты предшествовали настоящей беременности в 45 % случаев. Беременность протекала на фоне ожирения и тиреоидита у 5 % женщин, обострение пиелонефрита установили – у 10 % женщин. Плацентарная недостаточность отмечена – у 85,0 %. Гестоз выявлен у 30 % пациенток, угроза невынашивания – у 40 %, внутриутробная гипоксия плода – в 15 % случаев. Роды развивались с преждевременным излитием околоплодных вод у 30 % женщин. В 1-й группе роды произошли на 26-29 неделе гестации. Масса тела детей при рождении варьировала от 960 до 1590 г (средняя масса тела – 1233 г). Во 2-й группе беременность завершилась на 26-33 неделе. Масса тела при рождении составила от 860 до 2205 г (средняя масса тела – 1479 г).

Морфологическое исследование плацент выявило признаки хронической плацентарной недостаточности (50,0 %), воспалительные изменения – 85,0 % инволюционно-дистрофические изменения – 25,0 %, пороки развития плаценты, отрицательно влияющие на плод, течение беременности и родов (плаценту, окруженную валиком, краевое прикрепление пуповины) – 25 %. Преждевременную отслойку плаценты установили в 20,0 % случаев, нарушения кровообращения – в 20,0 %, нарушения водно-солевого обмена – в 15,0 %.

Основной причиной смерти по результатам патологоанатомического заключения в 1-й группе стали: синдром дыхательных расстройств и аспирационная пневмония (1), синдром дыхательных расстройств и внутрижелудочковое кровоотечение (1), генерализованная внутриутробная инфекция с вовлечением 2-5 органов (3). Во 2-й группе бронхопневмония стала основной причиной смерти в 5 случаях, внутриутробная инфекция в генерализованной форме – в 4, неонатальный сепсис – в 3, некротически-язвенный колит – в 3.

Молекулярно-генетические исследования показали, что образцы органов умерших детей 1-й группы инфицированы в 100 % случаев возбудителями инфекций, колонизирующих генитальный тракт женщин, попадающих в плаценту и плод восходящим путем или при прохождении через родовый канал матери – микоплазмы, пневмококк (таблица). Во 2-й группе оказались инфицированными органы 60,0 % исследованных погибших детей. Наряду с инфекционными агентами, составляющими биоценоз генитального тракта женщины, во 2-й группе выявлены аденовирусы, грибы (*Cand.alb.*, *Asp.fum.*), возбудители назокомиальных инфекций (*Ps.aer.*, *Kl.pn.*), гемофильная палочка (*H.inf.*), а также *CMV*. Цитомегаловирус способен персистировать и репродуцироваться в лимфоцитах человека, может попасть в плод антенатально гематогенным или восходящим путем или интранатально в период родов. *CMV* выявляется в генитальных мазках женщин г. Хабаровска в 2-5 % случаев [3].

Таблица

Спектр инфекционных агентов, выявленных в аутопсийном материале при гибели недоношенных детей методом ПЦР

Пробы органов умерших недоношенных детей	
1-я группа – дети прожили до 7 дней (n=5)	2-я группа – дети прожили от 8 дней до 2 мес. (n=15)
моноинфекции	
Ur.ur. – 2 S.pn – 1	M.hom. – 1 Ur.ur. – 2 CMV – 1
смешанные инфекции	
M.hom. + Ur.ur. – 1 M.hom. + Ur.ur. + S.pn. – 1	Ur.ur. + S.pn. + CMV + Cand. alb. – 1 Ur.ur. + Adeno – 1 Ur.ur. + M.hom. + H.inf – 1 Adeno + Asp.fum. – 1 P.aer. + Kl.pn. – 1
всего инфицировано (абс./%)	
5/100 %	9/60,0 %

Анализ частоты определения отдельных инфекционных агентов показывает, что чаще всего в органах погибших недоношенных детей выявляются микоплазмы (Ur.ur. – 45 %, M.hom. – 20 %). Геном других возбудителей выявляли в единичных случаях. В 30 % наблюдений результаты ПЦР оказались отрицательными в отношении исследованных инфекций. Не было установлено таких возбудителей, как *Chlamydia tra-*

chomatis, *Mycoplasma genitalium*, *Herpes simplex virus*, *Herpes human virus*, 4 type, *Herpes human virus*, 6 type, *Enteroviruses*, *Rubella*, *Parvovirus B19*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*.

Проведена этиологическая верификация летальных инфекций у маловесных детей. Установлены спектр и частота возбудителей, инфицирующих органы умерших. Аутопсийный материал от детей, умерших в ранний неонатальный период, был инфицирован в 100 % случаев возбудителями инфекций, колонизирующих генитальный тракт женщин (микоплазмы, *Streptococcus pneumoniae*). При гибели детей в более позднем периоде инфицированность органов погибших маловесных детей составила 60 %. Наряду с инфекционными агентами, составляющими биоценоз генитального тракта женщины, выявлены *Cytomegalovirus*, аденовирусы, грибы (*Candida albicans*, *Aspergillus fumigata*), возбудители назокомиальных инфекций (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*), гемофильная палочка (*Haemophilus influenzae*). Результаты исследования позволяют рассматривать ПЦР как эффективный метод, который в перспективе может быть внедрен в практику лабораторной диагностики при перинатальной и младенческой смертности.

Литература

1. Зубков В.В., Байбарина Е.Н., Рюмина И.И., Дегтярев Д.Н. Диагностическая значимость признаков пневмонии у новорожденных детей // Акушерство и гинекология. – 2012. – № 7. – С. 68-73.
2. Кулаков В.И., Мурашко Л.Е. Преждевременные роды. – М.: Медицина, 2002. – С. 176-178.
3. Островская О.В. Внутриутробные инфекции, клинично-морфологическая оценка современной специфической диагностики: автореферат ... дис. д-ра мед. наук. – Хабаровск, 2009. – 44 с.
4. Островская О.В., Ивахнишина Н.М., Власова М.А. и др. Способ выявления возбудителей внутриутробных инфекций в аутопсийном материале от погибших плодов и новорожденных: методические рекомендации. – Хабаровск, 2012. – 22 с.

5. Ступак В.С., Сенькевич О.А., Колесникова С.М., Шумилова Н.В. Состояние постнеонатальной смертности в Хабаровском крае // Дальневосточный медицинский журнал. – 2012. – № 4. – С. 112-116.
6. Abbot Laptook R. Admission Temperature of Low Birth Weight infants: Prediktors and Associated Morbidities // Pediatrics. – 2007. – № 1. – P. 119-123.
7. Blencowe H., Cousens S., Oestergaard M.Z., et al. National, regional and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: a systematic analysis and implications // The Lancet. – 2012. – Vol. 379. – P. 2162-2172.
8. Nissen M.D. Congenital and neonatal pneumonia // Paediatr. Respir. Rev. – 2007. – Vol. 8, № 3. – P. 195-203.

Literature

1. Zubkov V.V., Baibarina E.N., Ryumina I.I., Degtyarev D.I. Diagnostic significance of pneumonic signs in newborns // Akusherstvo i Ginekologia. – 2012. – № 7. – P. 68-73.
2. Kulakov V.I., Murashko L.E. Preterm Childbirth. – M.: Meditsina, 2002. – P. 176-178.
3. Ostrovskaya O.V. Intrauterine infections, clinical and morphological evaluation of modern specific diagnostics: author's abstract. ... thesis for postdoctoral degree in medicine. – Khabarovsk, 2009. – P. 44.
4. Ostrovskaya O.V., Ivakhnishina N.M., Vlasova M.A., et al. Method of intrauterine infection agents detection in autopsy material of lost fetuses and newborns: guidelines. – Khabarovsk, 2012. – P. 22.

5. Stupak V.S., Senkevich O.A., Kolesnikova S.M., Shumilova N.V. Postneonatal mortality situation in Khabarovsk Kray // The Far Eastern Medical Journal. – 2012. – № 4. – P. 112-116.
6. Abbot Laptook R. Admission temperature of low birth weight infants: predictors and associated morbidities // Pediatrics. – 2007. – № 1. – P. 119-123.
7. Blencowe H., Cousens S., Oestergaard M.Z., et al. National, regional and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: a systematic analysis and implications // The Lancet. – 2012. – Vol. 379. – P. 2162-2172.
8. Nissen M.D. Congenital and neonatal pneumonia // Paediatr. Respir. Rev. – 2007. – Vol. 8, № 3. – P. 195-203.

Координаты для связи с авторами: Ивахнишина Наталья Михайловна – канд. биол. наук, старший научный сотрудник группы молекулярно-генетической диагностики лаборатории комплексных методов исследования бронхо-легочной и перинатальной патологии Хабаровского филиала ДНЦ ФПД – НИИ ОМиД, тел.: 8-(4212)-98-05-91, +7-924-203-59-65, e-mail: namiiv@list.ru; Островская Ольга Васильевна – д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник, руководитель группы молекулярно-генетической диагностики лаборатории комплексных методов исследования бронхо-легочной и перинатальной патологии Хабаровского филиала ДНЦ ФПД – НИИ ОМиД; Наговицына Елена Борисовна – канд. мед. наук, старший научный сотрудник группы молекулярно-генетической диагностики лаборатории комплексных методов исследования бронхо-легочной и перинатальной патологии Хабаровского филиала ДНЦ ФПД – НИИ ОМиД; Власова Марина Александровна – канд. мед. наук, старший научный сотрудник группы молекулярно-генетической диагностики лаборатории комплексных методов исследования бронхо-легочной и перинатальной патологии Хабаровского филиала ДНЦ ФПД – НИИ ОМиД; Кожарская Ольга Валерьевна – врач-патологоанатом высшей категории, заведующая патолого-анатомическим отделением КГБУЗ «Перинатальный центр» МЗ ХК; Обухова Виктория Глебовна – врач-патологоанатом высшей категории КГБУЗ «Перинатальный центр» МЗ ХК.



УДК 616.15:612.017]:616.61-002.151.001.8(571.62)

А.Ю. Мартыненко, Г.С. Томилка, Г.Г. Обухова

ДИНАМИКА ЦИТОКИНОВ ПРИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКЕ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ

Дальневосточный государственный медицинский университет,
680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел. 8-(4212)-76-13-96, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru, г. Хабаровск

Резюме

Определены концентрации провоспалительных цитокинов TNF, IL-2, α -интерферона (α -IFN) и γ -интерферона (γ -IFN) в сыворотке крови 40 больных ГЛПС. Забор крови на исследование проводился в различные периоды болезни у больных с тяжёлым и среднетяжёлым течением заболевания. Выявлено повышение в разгаре ГЛПС в сыворотке крови уровня провоспалительных цитокинов (TNF, IL-2, α -IFN и γ -IFN). Обнаружена достоверная корреляционная связь между уровнями TNF, IL-2, α - и γ -интерферонами в сыворотке крови больных ГЛПС и степенью тяжести течения, а также степенью выраженности острой почечной недостаточности.

Ключевые слова: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС), цитокины, клиника, острая почечная недостаточность, сыворотка крови, иммунология, Хабаровский край.

A.Y. Martinenko, G.S. Tomilka, G.G. Obukhova

CYTOKINES DYNAMICS IN HEMORRHAGIC FEVER WITH RENAL SYNDROME

Far Eastern State Medical University, Khabarovsk

Summary

The authors determined concentration of anti-inflammatory cytokines TNF, IL-2, α -interferon (α -IFN) and γ -interferon (γ -IFN) in blood serum of 40 patients with HFRS. Blood samples were taken at different stages of the disease development in patients with a severe and moderate course of the infection. At the peak of the disease, an increase in anti-inflammatory cytokines (TNF, IL-2, α -IFN and γ -IFN) was revealed. A reliable correlation between the levels of TNF, IL-2, α - and γ -interferons in blood serum of patients with HFRS and the severity of a disease course as well as the degree of acute renal failure was demonstrated.

Key words: hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS), cytokines, course, acute renal failure, blood serum, immunology, Khabarovsk region.

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) на Дальнем Востоке России характеризуется более тяжёлым течением, чем в других регионах Евразии в связи с циркуляцией на её территории генотипа вируса Hantaan [7, 11]. Многочисленные осложнения, утяжеляющие состояние больных ГЛПС, трудности в

диагностике на ранних этапах, которые не позволяют в ряде случаев вовремя назначить этиотропную терапию, малоэффективность при позднем назначении этиотропных препаратов, заставляют исследователей продолжать изучение патогенеза данного заболевания с целью выяснения неизученных факторов влияющих