

РАЗДЕЛ I. БИОЛОГИЯ

УДК.579.2

Абдуллаева Н.В. , Гусейнова Л.А.**.*

**Азербайджанская Республиканская противочумная станция
им. С. Имамалиева (г. Баку)*

***Бакинский государственный университет (Азербайджан)*

К ВОПРОСУ СМЕШАННЫХ ИНФЕКЦИЙ ВИРУСНО- БАКТЕРИАЛЬНОГО ХАРАКТЕРА У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ

N. Abdullayeva , L. Huseynova***

**S. Imamaliyev Republican Antiplague Station
of the Ministry of Health of Azerbaijan, Baku*

***Baku State University, Azerbaijan*

ON THE PROBLEM OF MIXED VIRAL-BACTERIAL INFECTIONS IN PREMATURE INFANTS

Аннотация. С целью выявления и изучения особенностей течения микст-инфекций и влияния их на тяжесть и течение инфекционной патологии детского контингента представлялось целесообразным проведение комплексных – вирусологических и бактериологических исследований. Анализ результатов бактериологических исследований выявил ведущую роль бактерий рода стафилококков. В ходе исследований было выявлено стабильное и длительное изменение нормальной микрофлоры на фоне ОРВИ в направлении дисбактериоза. В ходе бактериологического, вирусологического иммунологического исследования было установлено нарушение у больных детей и их матерей-родильниц. Было выявлено изменение в адаптивном звене и активация гуморального звена. Установлена важность и необходимость иммунокоррекции.

Ключевые слова: микст инфекция, вирус, бактерия, адаптивное звено, иммунокоррекция.

Abstract. To reveal and study the peculiarities of mixed infections and their effect on the severity and clinical course of infectious pathology in children, we found it reasonable to perform complex – virological and bacteriological – research. Analysis of the results of biological investigations showed that the Staphylococcus bacteria play the leading role in mixed viral-bacterial infections. The research revealed a stable and long-term change in the normal microflora balance, which leads to dysbiosis in the course of infant respiratory distress syndrome (IRDS) with staphylococcus infection. Microbiological, virological and immunological investigations made it possible to establish immune deficiency in babies and puerperae. We found changes in the adaptive immune response and activity of humoral immune system, which makes immunocorrection therapy necessary and important.

Key words: mixed infection, virus, bacteria, adaptive immune response, immunocorrection.

В настоящее время в патологии новорожденных, в том числе недоношенных детей, все большее значение приобретают ассоциации микроорганизмов как этиологический фактор. По данным многих авторов, сочетание вирусно-бактериальных инфекций, в частности пневмонии, встречается чаще и протекает значительно тяжелее, чем вирусные или бактериаль-

ные в отдельности [8]. При этом стафилококк является основным, хотя и не единственным компонентом, обуславливающим летальный исход гриппозной инфекции в период вспышки или эпидемии. Ряд исследований показал высокую распространенность среди новорожденных с осложненным течением раннего неонатального периода гриппозной (41,1%), РС-вирусной (14,4%), парагриппозной (11,2%) инфекций [5]. С целью выявления и изучения особенностей течения микстинфекций и влияния их на тяжесть и течение инфекционной патологии детского контингента представлялось целесообразным проведение комплексных – вирусологических и бактериологических исследований материала от больных детей. Учитывая, что в основе специфики проявления той или иной патологии лежит состояние иммунного статуса организма представлялось необходимым изучение иммунных сдвигов как клеточного, так и гуморального звеньев при смешанных инфекциях. В связи с изложенным нами совместно с клиницистами НИИ педиатрии им. К. Фараджевой (отделение для недоношенных детей) была проведена комплексная работа по изучению специфики заболеваний у недоношенных детей вирусно-бактериального характера с исследованием иммунного статуса новорожденных и матерей-родильниц.

Материалы и методы исследований

Клинические наблюдения с вирусологическими и бактериологическими исследованиями проводились на 156-ти недоношенных детях, поступивших в НИИ педиатрии из различных родильных домов г. Баку на первой неделе жизни в тяжелом состоянии. Из анамнеза было выявлено, что матери этих детей во время беременности или непосредственно перед родами перенесли острые респираторные заболевания (ОРЗ). Диагноз внутриутробной респираторной вирусной инфекции ставился на основании данных анамнеза, клинических проявлений заболевания и положительных результатов лабораторных исследований. Лабораторные исследования включали серо-

логические исследования парных сывороток от больных в реакции торможения гемагглютинации [1], экспресс-диагностику гриппа и других ОРВИ методом флюоресцирующих антител (МФА – прямой метод Кунса) [1, 9], а также общепринятые бактериологические методы исследования [6].

Иммунологические исследования проводили с использованием набора моноклональных антител (ООО «Сорбент»Россия), в т. ч. определение Т-лимфоцитов (СД3+), Т-хелперов (сд4+), цитотоксических супрессоров (СД8+), В-лимфоцитов (СД19+), натуральных киллеров (НК, СД16/56) – методом иммунофлуоресценции; определение уровней иммуноглобулинов классов ЭgG , ЭgA , ЭgM – методом радиальной иммунодиффузии по Манчини [10]; ЦИК (циркулирующие иммунные комплексы) определялись методом преципитации с ПЭГ-6000 - спектрофотометрией при длине волны 450нм [2]. Вычислялся гематологический индекс Кребса (ИК) – отношением суммы процентного содержания нейтрофилов к лимфоцитам [3]. Фагоцитарную активность нейтрофилов определяли по модифицированной методике [4]. Контрольную группу составили 10 условно здоровых женщин и 10 условно здоровых новорожденных детей.

Результаты исследования

При исследовании больных детей осложнения клинической картины наслоением бактериальной флоры выявлялись, в основном, при гриппе А/Н1N1 и А/Н3N2/ в 62% случаях. При гриппе В было отмечено наименьшее число бактериальных осложнений – в 48% случаях. Бронхопневмонии, развившиеся на фоне ОРВИ у 64% детей, носили очаговый характер, у 14% – сегментарный. При гриппе А и парагриппе бронхопневмония развивалась в первые дни заболевания и с бурным течением. У больных с неблагоприятным преморбидным фоном заболевание принимало затяжной характер. Аденовирусная и гриппозная инфекции, этиологически связанные с вирусом гриппа В, осложнялись бронхопневмонией в более поздние сроки. Заболевание

принимало затяжное течение и с обструктивным синдромом.

Анализ результатов бактериологических исследований выявил ведущую роль бактерий рода стафилококков в спектре бактериального наслоения – в 48% случаях ОРВИ сочетались со стафилококковой инфекцией. Сочетание ОРВИ со стафилококковой инфекцией (особенно с *St.aureus*) в этиологии заболевания характеризовалось длительной лихорадкой, волнообразным характером клинического течения и длительным субфебрилитетом. Вместе с тем в 36% случаях одним из основных возбудителей бактериальных пневмоний являлись микроорганизмы из рода стрептококков, в частности *S.pneumonia*. Наряду с отмеченным, при бактериологическом обследовании детей выявлялся следующий спектр патогенов: *St.aureus*, *St.epidermidis*, *Str.pyogenes*, *Kl.pneumonia*, *E.coli*, *C.albicans*, *Ps.aeruginosa*, в целом составляющий 83,8% инфицированности от общего числа обследованных детей. Спектр бактериальной флоры у матерей-родильниц включал ряд возбудителей в различных сочетаниях (*St.aureus*, *St.epidermidis*, *Str.pneumonia*), в целом составляющий 92,8 % инфицированности от общего числа обследованных матерей. Микст-инфекция (бактериально-бактериальная) составила 33,8%; микст-инфекция (вирусно-бактериальная) составила 14,1% случаев. Представляет интерес возросший удельный вес условно-патогенных грамотрицательных микроорганизмов в инфекционной патологии человека. В наших исследованиях в 16% случаев было выявлено наслоение на вирусную инфекцию синегнойной палочки *Ps.aeruginosa*, обладающей, как известно, высокой природной устойчивостью к антибиотикам. Определенный научно-практический интерес представляет некоторое подтверждение возможной трансплацентарной передачи вирусной инфекции у 18 % обследованных нами больных детей, у которых в анамнезе матерей-родильниц на поздних сроках беременности регистрировались ОРВИ.

В ходе исследований было выявлено стабильное и длительное изменение нормаль-

ной микрофлоры на фоне ОРВИ в направлении дисбактериоза – в 43% случаях. Данный факт, по-видимому, является результатом изменения иммунного статуса, что, возможно, является основой для активизации бактериальной флоры. Вышеотмеченное полагало необходимость изучения иммунологических сдвигов при микст-инфекциях в организме детей и их матерей-родильниц. При исследовании иммунного статуса у матерей с микст-инфекцией выявлены структурные и функциональные изменения в различных звеньях иммунитета, отражающие недостаточность иммунного ответа на возбудитель и являющиеся лабораторными признаками вторичного иммунодефицита (табл. 1). Обнаружена гипоглобулинемия – при достоверном снижении средних значений уровня IgM ($p < 0,001$), содержание IgG и IgA было снижено относительно группы здоровых статистически незначимо ($p > 0,05$). При структурном изменении высокий уровень IgG и IgA отмечен у 11,8% и 5,9% больных соответственно, а в 17,6% случаев указанные показатели были сопоставимы с нормальными значениями. У всех больных отмечалось низкое содержание IgM-антител, что свидетельствует об угнетении функций нейтрализации патогенных микробов у больных с микст-инфекцией.

Среднее значение циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) статистически недостоверно отличались от такового в контроле ($p > 0,05$). Однако в целом уровень ЦИК превышал показатель группы здоровых лиц, а в 11,8% случаев количество ЦИК сопоставимо с контрольной группой. При анализе содержания субпопуляций лимфоцитов у обследованных матерей с микст-инфекцией выявлены нарушения, выражающиеся в дисбалансе между Т-хелперами (CD4+) и цитотоксическими супрессорами (CD8+). Отмечалось снижение среднего количества общего пула Т-лимфоцитов (CD3+) и статистически незначимое повышение (CD4+) лимфоцитов, а уровень (CD8+) лимфоцитов повышался лишь у 5,9%. Итак, в среднем все показатели клеточной системы практически не отличались от показателей здоровых мате-

Таблица 1

**Параметры иммунного статуса у диады мать-новорожденный
с микст-инфекцией (M±m)**

Иммунологические параметры	Матери условно здоровые (n=10)	Матери с микст-инфекцией (n=17)	Дети условно здоровые (n=10)	Дети с микст-инфекцией (n=17)
IgG, г/л	11,8±0,8	10,3±0,5	4,0±0,25	5,1±0,37*
IgA, г/л	2,0±0,1	1,6±0,2	0,3±0,03	1,37±0,19*
IgM, г/л	1,4±0,09	0,57±0,08	0,59±0,12	0,62±0,08
ЦИК, усл. Ед	65,5±2,8	58,8±4,8	30,0±2,1	28,8±2,7
CD3 ⁺ , %	56,6±1,2	53,4±1,3	58,8±0,9	47,4±1,2*
CD4 ⁺ , %	28,3±0,9	30,3±0,9	33,5±1,3	29,3±1,1*
CD8 ⁺ , %	28,0±1,4	25,4±0,6	19,8±0,5	27,5±1,2*
CD4 ⁺ /CD8	1,02±0,02	1,18±0,02*	1,7±0,06	1,05±0,02*
CD19 ⁺ , %	15,5±0,7	25,8±0,8*	19,4±0,7	24,5±1,1*
CD16 ⁺ , %	13,8±0,9	19,2±1,3*	11,4±0,5	18,6±1,5*
Фагоцитоз, %	22,8±1,2	32,5±0,9*	27,1±1,1	23,9±0,6*
Палочкоядерные нейтрофилы, %	1,3±0,2	2,4±0,3*	2,0±0,2	6,7±1,1*
Сегментоядерные нейтрофилы, %	65,9±1,2	66,2±0,8	28,4±0,9	37,9±2,4*
Лимфоциты, %	22,8±1,2	22,9±0,6	55,2±3,2	36,3±3,0*
ИК (сегмент/лимфоцит)	3,02±0,2	2,8±0,09	0,6±0,05	1,18±0,02*

* – статистическая значимость различий относительно условно здоровы

рей, т. е. не отмечалось адекватного ответа на антигенную стимуляцию.

При структурном анализе параметров Т-звена иммунитета уровень CD4⁺ лимфоцитов был выше нормы у 64,7%, а у 5,9% обследованных матерей – снижен, что отражало отсутствие адекватного ответа цитотоксических супрессоров на активную микст-инфекцию. Этот факт подтверждается также снижением в 35,3% случаев, либо регистрацией на уровне показателя здоровых в 23,5% случаях из числа CD3⁺ клеток. Только у 41,2% женщин с микст-инфекцией наблюдали повышение уровня CD3⁺ лимфоцитов, что необходимо для адекватного иммунного ответа. Вместе с тем у подавляющего большинства женщин (70,6%) установлена гиперреактивность системы CD16⁺ – натуральных Т-киллеров, играющих ведущую роль в уничтожении поврежденных аномальных (злокачественных, мутантных, инфицированных внутриклеточными патогенами, вирусами)

клеток. Снижение CD16⁺ клеток определялось в 17,6% случаев, а в 29,4% случаев определялся уровень, сопоставимый с группой здоровых женщин. Следует отметить также существенное повышение ($p < 0,001$) фагоцитарной функции нейтрофилов (табл.1), что свидетельствует об активности неспецифической антибактериальной защиты больных при микст-инфекции.

Анализ показателей периферической крови у матерей с микст-инфекцией (табл. 1) выявил снижение Индекса Кребса (ИК), неизменное число лимфоцитов, незначительное повышение сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов, что свидетельствует о ядерном сдвиге и напряжении иммунитета. В целом при исследовании иммунного статуса матерей с микст-инфекцией отмечены структурные и функциональные изменения в различных звеньях иммунитета, отражающие недостаточность иммунного ответа на возбудитель и являющиеся лабораторными

признаками вторичного иммунодефицита. Обследованием 17 новорожденных детей с микст-инфекцией, рожденных от матерей с микст-инфекцией было выявлено, что у новорожденных наряду с повышением в 3,4 раза, ($p < 0,001$) палочкоядерных и сегментоядерных (в 1,3 раза, $p < 0,001$) нейтрофилов отмечалось достоверное снижение количества лимфоцитов до $36,3 \pm 3,0\%$ (при норме $55,2 \pm 3,2\%$; $p < 0,001$), что связано со снижением резистентности организма новорожденных под влиянием микст-инфекций. Индекс Кребса (ИК) у новорожденных был выше (в 1,97 раза, $p < 0,001$) относительно условно-здоровых новорожденных. Микст-инфекция оказывала влияние и на неспецифические факторы защиты. Фагоцитарная активность нейтрофилов была снижена статистически значимо ($p < 0,05$).

В иммунограмме новорожденных снижался уровень CD3+ Т-лимфоцитов ($p < 0,001$) за счет субпопуляции Т-хелперов CD4+. Достоверно повышалась доля CD8+ цитотоксических супрессоров и снижался индекс иммунорегуляции (CD4+/CD8+) до $1,05 \pm 0,02$. Наряду с этим отмечалось повышение относительно количества CD16+ лимфоцитов в 1,6 раза ($p < 0,001$) относительно условно здоровых новорожденных. Уровень CD19+ лимфоцитов был достоверно повышен, что отражает готовность В-лимфоцитов к продукции антител и возможной антигенной стимуляции. Сывороточные концентрации иммуноглобулинов IgG, IgA, IgM, способствующие формированию иммунологической реактивности, достоверно повышалась у новорожденных с микст-инфекцией. Уровень IgG повысился в 1,3 раза ($p < 0,05$), IgA – в 4,6 раза ($p < 0,01$), IgM – в 1,1 раза ($p > 0,05$). Уровень ЦИК у новорожденных в разгар пневмонии был снижен и составил $28,8 \pm 2,7$ усл. ед. Незначительная концентрация ЦИК говорит о полноценной опсонизации IgG и, соответственно, выведении иммунных комплексов из организма. Таким образом, наличие микст-инфекции у новорожденных, рожденных от матерей с микст-инфекцией, приводит к изменению

показателей клеточного адаптивного звена и к некоторой активности гуморального звена иммунитета, что должно учитываться при назначении терапии микст-инфекции, включая проведение иммунокоррекции.

Выводы:

1. У матерей с микст-инфекцией выявлены лабораторные признаки вторичного иммунодефицита.

2. У новорожденных с микст-инфекцией отмечается активность гуморальных факторов иммунологической реактивности на микст-инфекцию.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Воробьев А.А., Быков А.С., Караулов А.В. Иммунология и аллергология. М.: Практическая медицина, 2006. 288 с.
2. Гриневиц Ю.А., Алферов А.Н. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных // Лаб. дело. 1981. № 8. С. 493-495.
3. Дябкин Е.В., Дунаевская С.С., Антюфриев Д.А. Изучение интегральных гематологических индексов у больных с механической желтухой доброкачественного генеза // Клиническая лабораторная диагностика. 2010. № 3. С. 42-44.
4. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунограмма в клинической практике. М.: Наука, 1990. 224 с.
5. Лозовская Л.С. и др. Патология матери, плода и ребенка, связанная с вирулентными энтеровирусами, передающимися вертикально // Акушерство и гинекология. 1995. № 2. С. 26-30.
6. Поздеев О. К. Медицинская микробиология. М, Изд. группа «Гэотар-Медиа», 2010. 568 с.
7. Снастина Т.И., Чистякова И.В., Белоцкий С.М. Иммунологические особенности смешанной гриппозно-стафилококковой инфекции. М., 1984. 72 с.
8. Старшов П.Д., Чепик Е.Б. Проблемы гриппа и острые респираторные заболевания // Сб. тр. ВНИИ гриппа. 1978. № 21. С. 34-38.
9. Coons A.H. The morphological aspects of virus infection of cells as revealed by fluorescent antibody. IN.: The Nature of Virus, London, 1957. P. 203-207.
10. Manchini G, Vaerman J.P, Carbonera A., Heremans J.E. A jingle adial-diffuzion methal for the immunological guantitation of protein protides of the biological fluids / Ed.N.Piiters Austerdam; L; N; Yelsevier, 1965. P. 370-379.