

**СТАН ПОКАЗНИКІВ ІМУНІТЕТУ ТА БІОЦЕНОЗУ КИШЕЧНИКУ У  
НОВОНАРОДЖЕНИХ ДІТЕЙ НА ФОНІ КАНДИДОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ**

Сумський державний університет, медичний інститут (м. Суми)

Робота виконана у рамках науково-дослідної теми медичного інституту СумДУ «Вивчення стану здоров'я дитячого та дорослого населення Сумської області в умовах впливу несприятливих соціальних, економічних та екологічних чинників», № держреєстрації 0101U002098.

**Вступ.** На сьогоднішній час відзначається ріст інфекційно-запальних захворювань, викликаних умовно-патогенними грибами роду *Candida*. Так, частота інфекційно-запальних захворювань у новонароджених дітей впродовж останніх десятиріч практично не змінюється, не дивлячись на поширення спектру антибактеріальних препаратів, що використовуються, поліпшення способів виходжування та цілий ряд інших організаційних та лікувально-профілактичних заходів [5, 9, 10]. У свою чергу, інфекційно-запальні захворювання новонароджених – одна з пріоритетних проблем сучасної перинатальної медицини. Виникнення гнійно-септичних інфекцій у дітей в період новонародженості, кількість цих захворювань, клінічні форми і тяжкість їх перебігу помітно впливають на демографічні показники [4, 10]. В останні роки відмічається збільшення частоти інтранального інфікування плоду. Ранні терміни інфікування змінюють імунну відповідь плоду і новонародженої дитини на інфекційний процес [1, 2, 6]. Крім того, відсутність повної реєстрації гнійно-септичних інфекцій у пологових будинках, недостатні знання особливостей їх етіології та епідеміології не дають можливості оцінити поширеності перинатальних інфекцій і прийняти цілеспрямовані заходи для профілактики інфекційних захворювань, у тому числі кандидозної інфекції.

Період новонародженості характеризується недостатньою зрілістю імунної системи, у зв'язку з чим інфікування грибами роду *Candida*, представляє значну небезпеку у наслідку кандидозного процесу [11, 12].

**Мета і завдання дослідження.** Встановити закономірності імунологічних порушень при кандидозному ураженні кишечника у новонароджених дітей. Для досягнення поставленої мети були виконані такі завдання: 1) вивчення видового складу мікробіоти кишечника; 2) вивчення показників імунологічного профілю (В- та Т- лімфоцитів, рівень цитокінів та імуноглобулінів IgA, IgM, IgG).

**Об'єкт і методи дослідження.** Об'єкт дослідження – стан імунітету у новонароджених дітей (n = 45) з *Candida*-патологією кишечника (**табл. 1**).

Таблиця 1

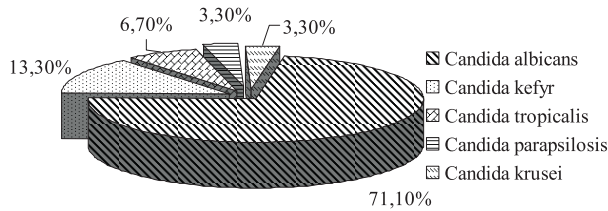
**Групи новонароджених дітей,  
які були обстежені**

Група	Нозологічна форма	Число обстежених (абс. од.)	%
Перша група (I)	Кандидоз кишечника	15	22,0
Друга група (II)	Бактеріально-кандидозні ентероколіти	15	
Третя група (III) (контрольна)	Практично здорові новонароджені діти, народжені природнім шляхом, у складі мікрофлори різних ділянок тіла <i>Candida</i> spp. не були виявлені	15	

При проведенні досліджень ідентифікацію виділених штамів грибів проводили за загально прийнятими методиками [3, 7, 8]. Оцінку мікробного обміненія кишечника проводили стандартними методами з використанням диференціально-діагностичних середовищ.

Імунологічне обстеження включало в себе кількісну оцінку у крові субпопуляцій лімфоцитів: CD3+, CD4+, CD8+ (М-ПОК, за допомогою еритроцитарних діагностикумів товариства НВЛ «Гранум», м. Харків); CD16+, CD20+, CD95+ (імунофлюоресцентним методом за допомогою моноклональних антитіл ЗАТ «Сорбент-сервіс», м. Москва). Кількісний та якісний склад імуноглобулінів у копрофільтратах проводили методом простої радіальної імунодифузії в гелі за G. Mancini et al. Рівень цитокінів визначали за методом імуоферментного аналізу (ІФА) по рекомендованим протоколам до тест-системи фірми «Вектор-Бест» (м. Новосибірськ, Росія).

**Результати досліджень та їх обговорення.** При обстеженні дітей трьох основних груп нами було ідентифіковано 45 штамів грибів роду *Candida*. Проведений аналіз (**рис.**) мікологічного дослідження дітей I та II груп показав, що основним етіологічним агентом є *Candida albicans* (71,1 ± 4,9 % всіх виділених штамів *Candida* spp.), на другому місці за частотою виділення із кишечника знаходиться *Candida kefyr*; на третьому - *Candida tropicalis*; на четвертому - *Candida parapsilosis* та *Candida krusei*.



**Рис. Видовий склад грибів роду Candida виділених із кишечника новонароджених.**

При аналізі показників мікробіоценозу кишечника було встановлено, що у неонатальний період у дітей II групи збільшується масивність обсіменіння грибами роду Candida (табл. 2).

**Таблиця 2**

**Розподіл дітей II групи залежно від масивності обсіменіння слизової кишечника Candida spp. (%)**

День обстеження	Відсоток дітей, у яких виділено гриби у кількості (КУО/г (P±m))				
	≤ 10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup> -10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup> -10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup> -10 <sup>6</sup>
3 – 5 доба життя	60,0±3,6	20,0 ± 2,1	20,0 ± 2,1	0	0
18 – 29 доба життя	13,3±1,6	40,0 ± 2,6	33,3 ± 2,4	6,7 ± 1,1	6,7 ± 1,1

На наш погляд, це обумовлено, по-перше, ймовірно характером адаптаційних змін імунної системи, по-друге, зміною патогенних властивостей супутніх умовно-патогенних мікроорганізмів, у тому числі Candida spp. (табл. 3).

**Таблиця 3**

**Результати вивчення адгезивних властивостей культуральних форм Candida spp., виділених від новонароджених дітей I та II груп**

Candida spp.	Ступінь адгезії			
	нульовий	низький	середній	високий
	кількість штамів, %			
Candida albicans	6,25	9,35	37,50	46,90
Candida kefyr	0	33,30	66,70	0
Candida tropicalis	0	33,30	33,30	33,3
Candida parapsilosis	0	50,00	50,0	0
Candida krusei	0	0	100	0

При вивченні адгезивних властивостей культуральної форми Candida spp., нами встановлений той факт, що серед високоадгезивних штамів Candida spp., 60,0±1,5% були виділені в асоціації з коагулазопозитивними та коагулазонегативними стафілококами, з вираженими патогенними властивостями.

Вірогідність виникнення та тяжкість перебігу у багатьому визначається особливостями взаємодії Lactobacillus spp. та Candida spp. Фізіологічно цінним компонентом біоценозу товстої кишки є Lactobacillus spp. – облигатно або факультативно анаеробні молочнокислі бактерії [2]. Аналізуючи кількісний склад мікробного обсіменіння досліджуваного матеріалу висіяного на Rogosa SL-агар, нами виявлений той факт, що Lactobacillus spp. у кількості ≥ 10<sup>4</sup> на 25 - 29 добу життя виявлялися лише у 20,0±2,5% дітей I групи та 40,0±1,9% II групи, котрі знаходилися на грудному вигодовуванні з перших днів життя. При чому, дана масивність обсіменіння такими бактеріями не відповідає віковій нормі. Для порівняння у 77,3±3,6% дітей III групи лактобактерії виявлялися на 25 - 29 добу життя у кількості ≥ 10<sup>7</sup>КУО/г.

Для більш детального вивчення причин розвитку Candida-патології кишечника були вивчені показники гуморальної та клітинної ланки імунітету новонароджених дітей, обстежених груп.

При кандидозній інфекції кишечника у новонароджених дітей (I група) був зареєстрований лейкоцитоз (p < 0,01), нейтрофіліоз (p < 0,01), моноцитоз (p < 0,02) (табл. 4).

**Таблиця 4**

**Зміни у загальному аналізі крові у новонароджених дітей I групи**

Група обстежених дітей	Показник, що вивчався			
	лейкоцити, 10 <sup>9</sup> /л	моноцити, 10 <sup>9</sup> /л	нейтрофіли, 10 <sup>9</sup> /л	лімфоцити, 10 <sup>9</sup> /л
I, n = 15	12,5±0,50*	0,75±0,07**	5,71±0,46*	6,79±0,28
III, n = 15	10,6±0,4	0,57±0,05	3,1±0,19	6,89±0,32

**Примітка:** \* - достовірна відмінність (p < 0,01); \*\* - достовірна відмінність (p < 0,02) у порівнянні з групою здорових дітей.

Як видно із таблиці 4 кількість лейкоцитів у дітей I та контрольної груп відрізнялася. Так, кількість лейкоцитів крові була статистично достовірно (p < 0,02) вища у дітей I групи (12,7±0,51410<sup>9</sup>/л. Таким чином, загальна лейкоцитарна реакція у дітей з кандидозом кишечника (при масивності обсіменіння кишечника ≥ 10<sup>4</sup> КУО/г матеріалу) носить виражений характер.

При вивченні адаптивної імунної відповіді у дітей I та II груп, яке проводилося на 18 – 29 добу життя, були встановлені суттєві зміни у імунному статусі (табл. 5).

Таблиця 5

**Значимі показники імунологічного профілю новонароджених дітей на 18 – 29 добу життя**

Показники	I група	II група	III (референтна норма)
CD-3+, 10 <sup>9</sup> /л	5,45±0,20	3,97±0,14*	5,5±0,3
CD-4+, 10 <sup>9</sup> /л	3,2±0,16*	1,96±0,09*	2,5±0,12
CD-16+, 10 <sup>9</sup> /л	0,49±0,06*	0,63±0,07	0,65±0,08
CD-20+, 10 <sup>9</sup> /л	0,78±0,09*	1,56±0,14	1,6±0,18
CD-8+, 10 <sup>9</sup> /л	0,89±0,09*	1,63±0,03*	1,3±0,11
CD-95+, 10 <sup>9</sup> /л	0,16±0,20*	0,10±0,04	0,09±0,10

**Примітка:** \* - достовірна відмінність (p < 0,05) у порівнянні з групою здорових дітей.

Як видно із даних наведених у таблиці 5, імунологічні показники у дітей I групи (18 – 29 доба життя) з вираженим кандидозом кишечника, характеризувалися: зменшенням кількості CD-16+ та CD-8+ лімфоцитів (p < 0,05), на фоні підвищеної експресії CD-95+ та збільшення кількості CD-4+ лімфоцитів. Крім того, у дітей даної групи спостерігається підвищення рівня нейтрофілів (до 5,71±0,46·10<sup>9</sup>/л). Такі імунологічні «зсуви» свідчать про перерозподіл клітин у вогнище запалення, викликаного Candida spp.

Для дітей II групи з кандидозно-бактеріальним ентероколітом було також характерно (табл. 5): підвищення (p < 0,05) відносної кількості CD-8+ лімфоцитів; кількість CD-16+ лімфоцитів у межах норми; дисбаланс CD-4+ та CD-8+ лімфоцитів з підвищенням рівня останніх. Така імунологічна картина пояснює зменшення (p < 0,05) кількості CD4+, які є високочутливими до впливу факторів запалення, яке спостерігається при асоційованому ентероколіті.

Враховуючи те, що при асоційованому ентероколіті суттєве значення відіграють екзо- та ендотоксини бактеріальної мікрофлори, то це і пояснює високу апоптичну готовність лімфоцитів до клітинної смерті.

Кількість В-лімфоцитів (CD-20+) була практично однаковою як у дітей II групи (1,56±0,14·10<sup>9</sup>/л), так і у дітей контрольної групи (1,6±0,18·10<sup>9</sup>/л), (p < 0,05). Кількість апоптичних клітин (CD-95+) у дітей II групи не мала статистично достовірного зсуву порівняно з контрольною групою дітей.

Інтерпретація імунологічних показників у період новонародженості доволі складна, тому що в цей період життя дитина знаходиться під впливом трансплацентарного материнського імунітету. В цей період на імунну систему дитини «обвалюється» антигенний каскад. Звичайно, адаптивні імунні реакції, у нормі, після народження «вмикаються» поступово. Первинна імунна відповідь, клітинна та гуморальна, направлена на формування адекватної імунної відповіді. Але саме цей період є найбільш вразливим для дитини.

При дослідженні мукозального імунітету були отримані дані про зменшення вмісту IgG у копрофільтратах дітей I групи порівняно із групою здорових дітей, а у дітей II групи – підвищення концентрації IgG та IgM (табл. 6).

Найнижчий рівень IgM та IgG було зафіксовано у дітей з кандидозом кишечника, у біоценозі якого виявлялися Candida spp. у кількості ≥ 10<sup>4</sup> КУО/г матеріала. Такий характер змін у гуморальній ланці імунітету пояснює неефективність гуморальної відповіді проти грибів роду Candida у дітей I групи. Можливо, це пов'язано з порушенням антигенпрезентації, яку здійснюють фагоцити. Внаслідок чого відбувається порушення послідовності продукції антитіл. У дітей з кандидозно-бактеріальними ентероколитами збільшення концентрації IgM може бути пов'язаним з наявністю супутнього чинника – умовно-патогенних мікроорганізмів, що опосередковують тимуснезалежну гуморальну імунну відповідь.

Таблиця 6

**Концентрація імуноглобулінів у копрофільтратах новонароджених дітей, досліджуваних груп**

Група дітей	Концентрація імуноглобулінів (M±m)		
	IgA, г/л	IgM, г/л	IgG, г/л
I	0,11±0,01	0,08±0,01	0,09±0,01*
II	0,08±0,01*	0,21±0,02	0,20±0,02
III	0,12±0,01	не виявл.	0,16±0,01

**Примітка:** \* - достовірна відмінність (p < 0,05) у порівнянні із групою здорових дітей.

Враховуючи те, що IgM новонароджені діти продукують особисто, IgG – передаються через плаценту матері, а IgA – діти отримують через молоко, то наступним етапом нашого дослідження стало вивчення впливу годування на імунологічні показники при кандидозі кишечника.

Порівняння результатів рівня основних імуноглобулінів у копрофільтратах дітей I та II груп показало, що у дітей I групи рівень IgA був у межах референтної норми (табл. 6). Це пов'язано з тим, що всі діти цієї групи знаходилися на грудному вигодовуванні. І навпаки, у дітей II групи рівень IgA був менше ніж референтна норма, при чому 53,3% дітей даної групи були на штучному вигодовуванні. Встановлено, що у дітей з кандидозно-бактеріальним ентероколітом спостерігається підвищення рівня IgG та IgM у копрофільтратах ніж у дітей контрольної групи, що говорить про більше антигенне навантаження імунної системи даної групи дітей та більшу проникність слизової оболонки кишечника для імуноглобулінів.

**Висновки.** Неінвазивний кандидоз кишечника у новонароджених дітей супроводжується зменшенням кількості CD-16+ та CD-8+ лімфоцитів (p < 0,05), на фоні підвищеної експресії CD-95+, збільшення кількості CD-4+ лімфоцитів та нейтропенії. Такі

особливості імунореактивності свідчать про перерозподіл клітин у вогнище запалення, викликаного *Candida spp.* та супроводжуються зменшенням кількості представників індигенної мікрофлори у дітей даної групи.

Імунний статус новонароджених з кандидозно-бактеріальними ентероколітами на 18 – 29 добу життя характеризується дисбалансом CD-4+ та CD-8+ лімфоцитів з підвищенням рівня останніх. Зниження кількості CD4+ клітин, які є високочутливими

до компонентів запалення, свідчить про те, що при кандидозно-бактеріальному ентероколіті провідним чинником є супутня бактеріальна мікрофлора, яка стимулює гуморальну ланку імунітету. Цей висновок підтверджується виявленням збільшення рівня IgG та IgM.

**Перспективи подальших досліджень** пов'язані з вивченням впливу клінічних та пробіотичних штамів індигенної мікрофлори на показники місцевого імунітету.

### Список літератури

1. Амирова В. Р. Характер колонизации грибами рода *Candida* и их лекарственная устойчивость у новорожденных в акушерством стационаре / В. Р. Амирова, Э. Н. Ахмадеева, Т. А. Малиевская // Российский педиатрический журнал. – 2001. - № 6. – С. 8 – 10.
2. Анохина Г. А. Роль микрофлоры кишечника в норме и патологии / Г. А. Анохина, Н. В. Харченко // Здоров'я України XXI сторіччя. – 2007. – № 7 (1). – С. 12 - 14.
3. Брилис В. И. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов / В. И. Брилис, Т. А. Брилеие, Х. Б. Ленцнер // Лаб. Дело. - 1986. - № 4. - С. 210 - 212.
4. Булатова Е.М. Роль пребиотиков в состоянии кишечной микробиоты грудных детей / Е. М. Булатова, И. С. Волкова, О. К. Нетребенко // Педиатрия. – 2008. – Т. 87, № 5. – С. 87 – 92.
5. Бурова С. А. Современные представления о грибковой патологии пищеварительного тракта / С. А. Бурова // Лечащий врач. - 2005. – № 6. - С. 52 - 56.
6. Елинов Н. П. Особенности патогенных и условно-патогенных грибов, механизмов развития микотических процессов *in vivo* / Н. П. Елинов // Проблемы мед. микологии. - 2001. - Т. 3, № 2. - С. 39-40.
7. Лисовская С. А. Новые подходы в изучении адгезивных свойств патогенных штаммов *Candida albicans* / С. А. Лисовская, Н. И. Глушко // Проблемы медицинской микологии. - 2006. - Т. 8, № 2. - С. 58.
8. Перечень основных методов и критериев диагностики микозов: Методические рекомендации. СП б МАЛО, С-Пб., 2001.- 24 с.
9. Самсыгина Г. А. Кандидоз новорожденных детей / Г. А. Самсыгина // Педиатрия. – 2008. – Т. 87, № 5. – С. 111 – 115.
10. Сельнікова О.П. Внутрішньо-лікарняні інфекції – актуальна проблема сучасної епідеміології / О. П. Сельнікова, О.І. Поліщук, Л. В. Авдеева // Матері-али міжнар. наук.-практ. конф. “Проблеми епідеміології, діагностики, клініки, лікування та профілактики інфекційних хвороб”, присвяченої пом'яті академіка Л.В. Громашевського. - Київ, 2002. - С. 129-132.
11. Antibody response to *Candida* and its use in clinical practice / L. Klingspor, T. H. Eberhard, G. Stintzing [et al.] // J. Mycoses. – 1994. – Vol. 37, № 5 – 6. – P. 199 – 204.
12. Shoham S. The immune response to fungal infections / S. Shoham, S. M. Levitz // Brit.J.Haematol. – 2005. – Vol. 129. – P. 569 – 582.

УДК 577.27:616.992:579.262

### СТАН ПОКАЗНИКІВ ІМУНІТЕТУ ТА БІОЦЕНОЗУ КИШЕЧНИКУ У НОВОНАРОДЖЕНИХ ДІТЕЙ НА ФОНІ КАНДИДОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ

Івахнюк Т.В.

**Резюме.** У статті проаналізовано результати імунологічних та мікробіологічних досліджень новонароджених дітей. Встановлено, що у дітей на тлі кандидозу кишечника і кандидозно-бактеріального ентероколіту основним етіологічним агентом є *Candida albicans* ( $71,1 \pm 4,9\%$  всіх виділених штамів *Candida spp.*).  $60,0 \pm 1,5\%$  культуральних форм *Candida spp.* проявляли високу ступінь адгезії в асоціації з стафілококами. При неінвазивному кандіозі кишечника у новонароджених дітей спостерігається зменшення кількості CD16+ ( $0,49 \pm 0,06 \cdot 10^9/\text{л}$ ) і CD8+ лімфоцитів ( $0,89 \pm 0,09 \cdot 10^9/\text{л}$ ) ( $p < 0,05$ ), на тлі підвищеної експресії CD95+, збільшення кількості CD4+ лімфоцитів ( $3,2 \pm 0,16 \cdot 10^9/\text{л}$ ) і нейтропенії ( $5,71 \pm 0,46 \cdot 10^9/\text{л}$ ). Імунний статус новонароджених з кандидозно-бактеріальними ентероколітами на 18 - 29 добу життя характеризується дисбалансом CD4+ (зниження кількості до  $1,96 \pm 0,09 \cdot 10^9/\text{л}$ ) і CD8+ лімфоцитів з підвищенням рівня останніх і збільшенням рівня IgG  $0,20 \pm 0,02 \text{ г/л}$  і IgM  $0,21 \pm 0,02 \text{ г/л}$ .

**Ключові слова:** *Candida spp.*, новонароджені, біоценоз, імунореактивність.

УДК 577.27:616.992:579.262

### СОСТОЯНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУНИТЕТА И БИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА У НОВОРОЖДЕННЫХ НА ФОНЕ КАНДИДОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

Ивахнюк Т.В.

**Резюме.** В статье проанализированы результаты иммунологических и микробиологических исследований новорожденных детей. Установлено, что у детей на фоне кандидоза кишечника и кандидозно-бактериального энтероколита основным этиологическим агентом является *Candida albicans* ( $71,1 \pm 4,9\%$  всех выделенных штаммов *Candida spp.*).  $60,0 \pm 1,5\%$  культуральных форм *Candida spp.* проявляли высокую степень адгезии в ассоциации с стафилококками. При неинвазивном кандидозе кишечника у новорожденных детей наблюдается уменьшение количества CD16+ ( $0,49 \pm 0,06 \cdot 10^9 / \text{л}$ ) и CD8+ лимфоцитов ( $0,89 \pm 0,09 \cdot 10^9 / \text{л}$ ) ( $p < 0,05$ ), на фоне повышенной экспрессии CD95+, увеличения количества CD4+ лимфоцитов ( $3,2 \pm 0,16 \cdot 10^9 / \text{л}$ ) и нейтропении ( $5,71 \pm 0,46 \cdot 10^9 / \text{л}$ ). Иммунный статус новорожденных с кандидозно-бактериальными энтероколитами на 18 - 29 сутки жизни характеризуется дисбалансом CD4+ (снижение количества до  $1,96 \pm 0,09 \cdot 10^9 / \text{л}$ ) и CD8+ лимфоцитов с повышением уровня последних и увеличением уровня IgG  $0,20 \pm 0,02 \text{ г/л}$  и IgM  $0,21 \pm 0,02 \text{ г/л}$ .

**Ключевые слова:** *Candida spp.*, новорожденные, биоценоз, иммунореактивность.

UDC 577.27:616.992:579.262

### State Immunity Parameters And Biocenosis Of The Intestine In Newborn Children With Candidiasis

Ivakhnyuk T.V.

**Summary.** Result of the immunological and microbiological studies of newborns. It is established that the children against intestinal candidiasis and *Candida*-bacterial enterocolitis major etiologic agent is *Candida albicans* ( $71,1 \pm 4,9\%$  of all isolates *Candida spp.*).  $60,0 \pm 1,5\%$  of cultural forms of *Candida spp.* showed a high degree of adhesion in association with staphylococci. On noninvasive intestinal candidiasis in infants, a decrease of CD16+ ( $0,49 \pm 0,06 \cdot 10^9 / \text{l}$ ) and CD8+ lymphocytes ( $0,89 \pm 0,09 \cdot 10^9 / \text{l}$ ) ( $p < 0,05$ ) at background of increased expression of CD95+, increasing the number of CD4+ T cells ( $3,2 \pm 0,16 \cdot 10^9 / \text{l}$ ) and neutropenia ( $5,71 \pm 0,46 \cdot 10^9 / \text{l}$ ). Immune status of infants with *Candida*-bacterial enterocolitis in 18 - 29 day life is characterized by an imbalance of CD4+ (reduction of up to  $1,96 \pm 0,09 \cdot 10^9 / \text{l}$ ) and CD8+ lymphocytes with higher levels of recent and increasing levels of IgG  $0,20 \pm 0,02 \text{ g/l}$  and IgM  $0,21 \pm 0,02 \text{ g/l}$ .

**Key words:** *Candida spp.*, newborns, biocenosis, immunoreactivity.

Стаття надійшла 29.11.3011 р.

Рецензент – проф. Похилько В.І