

На правах рукописи

ПУШКАРЕВА

Юлия Эдуардовна

**КЛИНИЧЕСКИЕ, МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВЕНТИЛЯТОР-
АССОЦИИРОВАННОГО ТРАХЕОБРОНХИТА У
НОВОРОЖДЕННЫХ С ТЯЖЕЛОЙ ДЫХАТЕЛЬНОЙ
НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ**

14.01.08 – Педиатрия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Екатеринбург – 2010

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Челябинская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» на базе Муниципального учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница № 1» г. Челябинска.

Научный руководитель

Доктор медицинских наук Федоров Игорь Анатольевич

Официальные оппоненты

Доктор медицинских наук,
профессор Зеленцова Вера Леонидовна

Доктор медицинских наук,
профессор Романенко Владислав Александрович

Ведущая организация

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Защита диссертации состоится «11» февраля 2010 г. в 10:00 часов на заседании совета по защите докторских диссертаций Д 208.102.02, созданного при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, д. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОУ ВПО УГМА Росздрава по адресу: 620028 г. Екатеринбург, ул. Ключевская, д. 17, а с авторефератом на сайте академии www.usma.ru.

Автореферат разослан «26» декабря 2009 года.

Ученый секретарь совета
по защите докторских диссертаций
доктор медицинских наук, профессор

Гришина И.Ф.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Респираторные расстройства у новорожденных занимают одно из лидирующих мест в структуре заболеваемости в неонатальный период (Геппе Н.А., Волков И.К., 2007, Суханова Л.П., Скляр М.С., 2008). Сегодня важной проблемой интенсивной терапии новорожденных становятся осложнения при проведении искусственной вентиляции легких (ИВЛ), частота которых существенно увеличилась при внедрении ИВЛ в практику неонатолога (Дементьева Г.М., 2001, Vendettuoli, V., 2007). Наиболее значимыми являются вентилятор-ассоциированные инфекционные осложнения, к которым относят вентилятор-ассоциированную пневмонию и вентилятор-ассоциированный трахеобронхит (Кешишян Е.С., 1996, Ahmed Q.A., Niederman M.S., 2001).

Частота вентилятор-ассоциированных пневмоний (ВАП) у новорожденных составляет от 37,6% до 58%, а летальность достигает 10% (Белобородова Н.В., 1996, Мархулия Х.М., 2005, Foglia E. et al., 2007, Geffers C., 2008). Частота ВАП на 1000 дней ИВЛ колеблется от 11,4 до 112,6 (Романенко В.А., Романенко К.В., 2008). Вентилятор-ассоциированный трахеобронхит (ВАТ) может являться одним из главных факторов риска развития вентилятор-ассоциированной пневмонии (Nseir S. et al., 2008, Craven D.E. et al., 2009). В литературе мы не обнаружили сведений о частоте возникновения ВАТ у новорожденных, весьма скудно представлены данные о клинических и лабораторных критериях диагностики этой патологии. Практический врач, как правило, субъективно оценивает симптоматику трахеобронхита и характер выделяемой больным мокроты, руководствуясь личным клиническим опытом. Учитывая, что ВАТ не входит в перечень инфекционных заболеваний, подлежащих обязательной регистрации у новорожденных, зачастую данный диагноз вообще не устанавливается. При этом, лечение

ВАТ может быть достаточно агрессивным с применением антибиотиков, оксигенотерапии, бронхолитической и муколитической ингаляционной терапии (Федоров И.А., 2009).

Массивная и длительная антибиотикотерапия, проводимая пациентам отделений реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), негативно влияет на биоценоз слизистых оболочек, становление местного и общего иммунитета новорожденного ребенка (Володин Н.Н., 2004). Это диктует необходимость поиска новых подходов к лечению и профилактике инфекционно-воспалительных заболеваний новорожденных детей. Одним из направлений предупреждения госпитальных инфекций в ОРИТ является применение специальных установок по очистке и обеззараживанию больничного воздуха, наиболее эффективными из которых являются палаты с однонаправленным потоком воздуха (Федотов А.Е., 2003).

Предрасположенность новорожденных к возникновению ИВЛ-ассоциированных инфекционных осложнений может быть обусловлена не только особенностями госпитальных штаммов микроорганизмов, но и состоянием иммунной системы новорожденных детей, в том числе несовершенством механизмов мукозального иммунитета респираторного тракта, его антиколониционной резистентности (Теплова С.Н., Алексеев Д.А., 2002). Исследование показателей местного иммунитета дыхательных путей во время проведения «агрессивной» респираторной терапии в условиях колонизации нозокомиальной микрофлорой является актуальным и перспективным направлением современной иммунологии и педиатрии (Володин Н.Н., 2004). В то же время использование палат с однонаправленным (ламинарным) потоком воздуха может явиться новой стратегией в профилактике и терапии ИВЛ-ассоциированных инфекционных осложнений у новорожденных с респираторной патологией. Вышеизложенное определило цель и задачи настоящего исследования.

Цель исследования. Определить клинические особенности вентилятор-ассоциированного трахеобронхита, характер микробного биоценоза, состояние мукозального иммунитета и антиколониционной резистентности респираторного тракта у новорожденных с тяжелой дыхательной недостаточностью.

Задачи исследования

1. Выявить клинические особенности вентилятор-ассоциированного трахеобронхита различной степени тяжести у новорожденных во время проведения ИВЛ и после экстубации.

2. Оценить характер и динамику микробной колонизации трахеобронхиального дерева у новорожденных в процессе ИВЛ.

3. Определить особенности мукозального иммунитета и антиколониционной резистентности респираторного тракта у новорожденных с тяжелой дыхательной недостаточностью на основании исследования эндопульмональной цитогаммы и иммунологических показателей в трахеобронхиальных аспиратах.

4. Оценить влияние однонаправленного потока воздуха на частоту возникновения вентилятор-ассоциированных инфекционных осложнений, характер микрофлоры и состояние местного иммунитета дыхательных путей у новорожденных с респираторными нарушениями.

Научная новизна. Установлено, что частота вентилятор-ассоциированного трахеобронхита у обследованных новорожденных с РДСН и неонатальной аспирацией составила 50%, у новорожденных с перинатальным поражением ЦНС – 38,5%.

Новыми являются данные о цитологическом составе трахеобронхиальных аспиратов (ТБА) у новорожденных без бронхолегочных заболеваний. Предложено в цитологический анализ ТБА включать оценку нейтрофильно-макрофагального коэффициента (НМК). Впервые предложены две шкалы для диагностики и определения степени

тяжести вентилятор-ассоциированного трахеобронхита у новорожденных, находящихся на ИВЛ и после экстубации, на основании клинических признаков и данных эндопульмональной цитогаммы.

Установлено, что ИВЛ у новорожденных с РДСН приводит к изменению антиколониционного барьера слизистой оболочки респираторного тракта. Это проявилось увеличением содержания муцина в ТБА к моменту экстубации. Выявлены особенности местного иммунитета респираторного тракта у новорожденных, находящихся на ИВЛ: незрелость системы комплемента и острофазового ответа на мукозальном уровне у новорожденных с РДСН, снижение концентрации флогогенных медиаторов в ТБА к моменту экстубации у пациентов с ВАТ и ВАП, прямая зависимость срока достижения 40% концентрации кислорода при проведении ИВЛ от уровня интерлейкина-8 и С1 и С3 компонентов комплемента в ТБА у новорожденных с РДСН.

Было показано, что использование ламинарной палаты в терапии новорожденных с тяжелой дыхательной недостаточностью способствует снижению частоты возникновения вентилятор-ассоциированной пневмонии.

Теоретическая и практическая значимость работы. Исследование мукозального иммунитета и антиколониционной резистентности респираторного тракта у новорожденных с тяжелой дыхательной недостаточностью позволило выявить нарушения местной защиты трахеобронхиального дерева, способствующие возникновению ИВЛ-ассоциированных инфекционных осложнений. Предложенные шкалы клинических и лабораторных признаков ВАТ предоставили возможность диагностировать и определять степень тяжести вентилятор-ассоциированного трахеобронхита у новорожденных во время ИВЛ и после экстубации. Использование палаты с однонаправленным потоком воздуха в терапии обследованных новорожденных с тяжелой дыхательной

недостаточностью позволило уменьшить частоту возникновения вентилятор-ассоциированных инфекционных осложнений.

По результатам проведенного исследования получены приоритетные справки: № 2009127870 от 21.07.2009 на патент «Способ диагностики вентилятор-ассоциированного трахеобронхита у новорожденных, находящихся на ИВЛ» и № 2009127869 от 21.07.2009 на патент «Способ диагностики вентилятор-ассоциированного трахеобронхита у новорожденных, перенесших ИВЛ».

Положения диссертации, выносимые на защиту

1. Изменение антиколониционного барьера слизистой оболочки респираторного тракта, возникающее в процессе ИВЛ, незрелость системы комплемента и острофазового ответа на мукозальном уровне являются факторами, способствующими возникновению вентилятор-ассоциированных инфекционных осложнений у новорожденных с РДСН.

2. Исследование эндопульмональной цитогаммы, наряду с клиническими симптомами, позволяет более объективно диагностировать и определять степень тяжести вентилятор-ассоциированного трахеобронхита у новорожденных.

3. Использование палаты с однонаправленным потоком воздуха в терапии новорожденных с РДСН способствует уменьшению частоты возникновения вентилятор-ассоциированных инфекционных осложнений.

Внедрение. Результаты исследования внедрены в практику отделений детской реанимации и интенсивной терапии МУЗ ГКБ № 1 г. Челябинска и ГЛПУЗ ЧОДКБ, используются в учебном процессе со студентами педиатрического факультета, клиническими интернами, ординаторами и врачами-педиатрами на базе кафедры детских болезней и поликлинической педиатрии № 1 ГОУ ВПО «ЧелГМА Росздрава».

Апробация. Основные результаты работы доложены на VI Конгрессе пульмонологов и фтизиатров Уральского Федерального округа (г. Челябинск, 2006), городской конференции «Новые технологии в здравоохранении» (г. Челябинск, 2007), XIII Всероссийском научном форуме с международным участием «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (г. Санкт-Петербург, 2009), IV ежегодном конгрессе специалистов перинатальной медицины (г. Москва, 2009), XIX Национальном конгрессе по болезням органов дыхания (г. Москва, 2009). По теме диссертации опубликовано 10 работ.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 178 страницах и состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа иллюстрирована 52 таблицами. Указатель литературы содержит 229 источников, в том числе 84 отечественных и 145 зарубежных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Дизайн исследования. Настоящая работа проводилась на базе отделения детской реанимации и интенсивной терапии МУЗ ГKB № 1 города Челябинска (главный врач д.м.н. Алексеев Н.А.), кафедры детских болезней и поликлинической педиатрии № 1 (зав. кафедрой профессор Жаков Я.И.), кафедры клинической иммунологии и аллергологии (зав. кафедрой профессор Теплова С.Н.) ГОУ ВПО «ЧелГМА Росздрава» в период с 2003 по 2008 гг. В исследование вошло 72 новорожденных ребенка, поступивших в ОРИТ из родильных домов города Челябинска. Всем новорожденным проводилась аппаратная ИВЛ. 69 пациентов (95,8%) были госпитализированы в первые сутки жизни.

Критерии включения пациентов в исследование:

1. Недоношенные новорожденные с острой дыхательной недостаточностью (ОДН) 3 степени на фоне РДСН.

2. Доношенные новорожденные с ОДН 3 степени на фоне неонатальной аспирации и перинатального поражения ЦНС.

3. Новорожденные с врожденными пороками развития желудочно-кишечного тракта и диафрагмы, поступившие для экстренного хирургического лечения.

Критерии исключения:

1. Новорожденные с проявлениями внутриутробной инфекции.
2. Новорожденные, родившиеся вне роддома.
3. Новорожденные, поступившие в ОРИТ позднее 2 суток жизни.

Материал и методы исследования. В зависимости от основного диагноза все пациенты были разделены на 4 группы: 1 группа – 32 новорожденных с РДСН (44,4%), 2 группа – 19 детей с врожденными пороками развития (26,4%), 3 группа – 13 детей (18,1%) с перинатальным поражением ЦНС, и 4 группа – 8 новорожденных (11,1%) с неонатальным аспирационным синдромом. При формулировке диагноза нами использовалась МКБ 10 пересмотра, классификация ОДН (Цыбулькин Э.К., 1994), классификация перинатальных поражений нервной системы у новорожденных (2000), методические рекомендации «Принципы ведения новорожденных с РДСН» под редакцией Н.Н. Володина (2008), классификация бронхолегочных заболеваний у детей (2008).

Всем новорожденным 1 группы был выставлен диагноз: «РДСН». 14 новорожденных 2 группы (73,7%) имели врожденную патологию желудочно-кишечного тракта, у 4 новорожденных отмечалась диафрагмальная грыжа, и у 1 ребенка – крестцово-копчиковая тератома. Из пациентов 2 группы нами была сформирована группа сравнения – дети без бронхолегочных заболеваний (n=14), у которых в процессе ИВЛ не возникли вентилятор-ассоциированные инфекционные осложнения. У новорожденных детей 3 группы причиной ОДН вентиляционного генеза являлось перинатальное поражение ЦНС (ПП ЦНС). 12 пациентам был

выставлен диагноз: «Церебральная ишемия 3 степени», 1 ребенку – «Гипоксически-травматическое поражение ЦНС 3 степени». 6 пациентов 4 группы наблюдалось с диагнозом: «Неонатальная аспирация мекония», и у 2 детей отмечалась «Неонатальная аспирация амниотической жидкости».

Средний гестационный возраст новорожденных 1 группы составил $33,3 \pm 0,4$ недели (min – 30 нед, max – 37 нед), у пациентов 2 группы - $37,1 \pm 0,4$ недель, в 3 группе - $37,7 \pm 0,5$ недель, и у новорожденных 4 группы - $37,9 \pm 1,2$ недель. На момент поступления в отделение группы новорожденных были сопоставимы по полу, возрасту и сопутствующей патологии. 97,1% пациентов имели ПП ЦНС 2-3 степени тяжести гипоксического генеза. Внутривентрикулярные кровоизлияния 2-3 степени отмечались у 12,5% новорожденных 1 группы. Конъюгационная желтуха была диагностирована у половины детей 1 группы и 25% пациентов других групп. ЗВУР 1 и 2 степени отмечалась у 15,6% новорожденных 1 группы и 21% детей 2 группы. Пациенты всех групп получали посиндромную терапию, включавшую ИВЛ, антибиотики, инфузионную и симптоматическую терапию. У детей 1, 3, 4 групп и у 9 новорожденных 2 группы ИВЛ была начата в роддоме, у 10 пациентов 2 группы – в послеоперационном периоде. Препараты экзогенного сурфактанта в лечении исследуемых новорожденных на этапе роддома не применялись.

Клиническое обследование пациентов проводилось с помощью общепринятых физикальных методов. Параклиническое обследование включало общие анализы крови и мочи, копрограмму, биохимические исследования, обследование на внутриутробные инфекции, инструментальное обследование пациентов, а также бактериологическое, цитологическое и иммунологическое исследование ТБА, проводимое на момент госпитализации и при экстубации.

Бактериологическое обследование осуществлялось по общепринятым методикам с целью идентификации микроорганизмов,

определения их диагностического титра и чувствительности к антибиотикам. Диагностическим считался титр 10^4 КОЕ\мл(мг).

Цитологические методы исследования: в суспензии ТБА подсчитывали общее количество клеток в камере Горяева; после центрифугирования при 2000 об/мин в течение 5 минут готовили два мазка: для подсчета эндопульмональной цитограммы и для определения липидов в альвеолярных макрофагах (методика Sheehan et Storey, 1957). Определялось процентное соотношение макрофагов (АМ), нейтрофилов, лимфоцитов и эозинофилов при сплошном подсчете не менее 200 клеток. Кроме того, подсчитывали общее количество липофагов – макрофагов, содержащих липиды, на 100 макрофагов воздухоносных путей, а также средний цитохимический коэффициент (СЦК), отражающий среднюю нагруженность липидами каждого макрофага. При подсчете СЦК использовали принцип Астальди (1957) и метод L. Kaplow (1955), основанные на выявлении различной степени интенсивности специфической окраски.

Иммунологические методы исследования:

Содержания белка и муцина определяли методом Кочетова Г.А. (1974) с помощью биуретовой реакции.

Определение количества интерлейкина-8 (ИЛ-8) и С-реактивного белка (СРБ) проводилось методом твердофазного иммуноферментного анализа: содержание ИЛ-8 (в пг/мл) тестировали используя тест-системы ООО «Цитокин» г. Санкт-Петербург; уровень СРБ определяли с помощью тест-системы производства «ИМТЕК» г. Москва (мг/л). Учет результатов производили на спектрофотометре «Multiscan Plus».

Определение уровня общей активности комплемента проводили методом титрования по 50% гемолизу (Резникова Л.С., 1967 в модификации Кэбот Е. и Мейер М., 1968). Уровень активности С1-С5

компонентов комплемента в ТБА определяли методом молекулярного титрования (Красильников А.П., 1984, Shinobu A., Tanaka S. et al., 1986).

Уровень продукции эндогенного оксида азота оценивали по концентрации конечных стабильных метаболитов оксида азота с помощью реакции Грисса (Scuiz K. et al., 1999).

В 2003 году в ОРИТ МУЗ ГКБ № 1 г. Челябинска была введена в эксплуатацию установка с однонаправленным потоком воздуха – ламинарная палата (БОВ – 001) производства ЗАО «Асептические медицинские системы», г. Миасс Челябинской области. Подобные установки обеспечивают уровень микробной загрязненности воздушной среды в палате менее 10 КОЕ/м³ воздуха, удаляя частицы размером до 0,5 мкм. Часть обследованных новорожденных получала лечение в условиях данной палаты. Рандомизацию пациентов проводили с помощью таблицы случайных чисел.

Статистические методы: полученные данные обрабатывались методами вариационной статистики с вычислением средней арифметической величины (M), средней ошибки средней арифметической (m) и стандартного отклонения (S). Сравнение проводилось по t-критерию Стьюдента. Для выявления взаимосвязей использовался корреляционный анализ (корреляция Пирсона). Соотношения величин, выраженных в процентах, оценивались непараметрическим методом углового преобразования Фишера. Статистически значимыми считались различия при величине $p < 0,05$. Вычисления производились с использованием программы «Statistica v.5.5a».

Результаты исследования и их обсуждение.

При анализе данных анамнеза матерей обследованных пациентов обращала на себя внимание высокая частота соматической (до 60,3%) и хронической инфекционной патологии (до 67,6%). Из осложнений течения беременности чаще всего встречались поздние гестозы и угроза

прерывания беременности (50% женщин), хроническая фетоплацентарная недостаточность и хроническая внутриутробная гипоксия плода (89-100% женщин). При этом у матерей новорожденных 1 группы достоверно чаще отмечались ОПГ-гестозы средней и тяжелой степени тяжести, чем у матерей пациентов 3 группы (78,6% ОПГ-гестозов в 1 группе против 28,6% в 3 группе). 48,6% исследуемых новорожденных родились путем оперативного родоразрешения. У повторнобеременных женщин отмечался отягощенный акушерско-гинекологический анамнез (у 17% - самопроизвольные выкидыши, у 83% - медаборты).

Мы установили, что ВАТ отмечался у 29 новорожденных всех исследуемых групп (40,3%), пневмония была диагностирована у 9 детей (12,5%). Принцип деления трахеобронхита на степени тяжести был заимствован нами из работы О.Г. Степанова (1995), в которой было выделено три степени тяжести ВАТ в зависимости от выраженности клинических симптомов: легкая, средне-тяжелая и тяжелая.

Наиболее часто ИВЛ-ассоциированные инфекционные осложнения встречались у новорожденных 1 группы: у 10 детей (31,3%) отмечался ВАТ легкой степени тяжести, у 6 пациентов (18,7%) – средне-тяжелый ВАТ, у 8 детей (25%) была диагностирована пневмония. У пациентов 4 группы частота инфекционных осложнений составила 62,5%: у 4 детей (50%) отмечался ВАТ (25% легкой степени, 25% средней степени тяжести), у 1 ребенка – ВАП. У новорожденных 3 группы встречался лишь ВАТ легкой степени, частота которого составила 38,5% (5 детей). Наименьший процент инфекционных осложнений (4 ребенка, 21%) был зарегистрирован у пациентов 2 группы, причем 3 случая средне-тяжелого ВАТ отмечались у больных с атрезией пищевода, сопровождавшейся трахеопищеводным свищом, и 1 случай ВАТ легкой степени – у ребенка с ложной диафрагмальной грыжей, сочетающейся с гипоплазией левого легкого.

Вентилятор-ассоциированные инфекционные осложнения у новорожденных с РДСН существенно увеличивали общую продолжительность ИВЛ и срок достижения 40% концентрации кислорода в подаваемой газовой смеси при проведении ИВЛ, а также удлинляли период экспекторации и время нормализации насыщения гемоглобина кислородом после экстубации по сравнению с неосложненным инфекцией течением РДСН, что неблагоприятно сказывалось на процессе адаптации новорожденных к самостоятельному дыханию (таблица 1).

Таблица 1.

Длительность ИВЛ, экспекторации, сроки достижения 40% концентрации кислорода и нормализации сатурации в зависимости от тяжести инфекционных осложнений при РДСН ($M \pm m$, сут)

Осложнения/ признак	без осложнен.	ВАТ легкой ст.	ВАТ средней ст.	ВАП
	1	2	3	4
Длительность ИВЛ	4,9±0,5*	6,9±0,7#	13,7±1,1	18,0±4,2
Срок достижения 40% кислорода	2,3±0,2**	3,0±0,5##	8,5±1,7	12,8±5,1
Длительность экспекторации	3,1±0,4^	12,5±1,0^^	22,7±1,9	32,8±4,5
Срок нормализа- ции Sat O ₂	1,2±0,1°	1,3±0,2°°	2,1±0,2	2,7±0,4

*- $P < 0,05$ между 1 и 3, 1 и 4

#- $P < 0,05$ между 2 и 3, 2 и 4

^- $P < 0,05$ между 1 и 2, 1 и 3, 1 и 4

°- $P < 0,05$ между 1 и 3, 1 и 4

** - $P < 0,05$ между 1 и 3

- $P < 0,05$ между 2 и 3

^^ - $P < 0,05$ между 2 и 3, 2 и 4

°° - $P < 0,05$ между 2 и 3, 2 и 4

Нами установлены особенности микробной колонизации трахеобронхиального дерева у обследованных новорожденных. На момент госпитализации микробный пейзаж ТБА был представлен преимущественно сапрофитными штаммами стафилококка и грибами рода *Candida*, что, по данным литературы, характерно для родовых путей материнского организма (Минасян В.С., Самсыгина Г.А., Ламбург О.Б.,

2007). В процессе ИВЛ во всех группах больных отмечалась тенденция к увеличению контаминации респираторного тракта микрофлорой: на момент госпитализации положительные посевы ТБА отмечались у 61,1% новорожденных, при экстубации – у 82,8% пациентов. У всех детей в посевах ТБА доминировала грамположительная кокковая флора как при поступлении в ОРИТ ($p < 0,05$ в 1 группе), так и при окончании ИВЛ ($p < 0,05$ в 1 и 3 группах). При экстубации отмечалось увеличение спектра выделяемой микрофлоры, появление большего количества микробных ассоциаций. При возникновении ВАТ у новорожденных с РДСН к моменту окончания ИВЛ в посевах ТБА достоверно чаще, чем у детей с ВАП и новорожденных без ВАТ, выявлялись *Streptococcus viridans* и *Streptococcus ruogenes* как в монокультуре, так и в ассоциациях с грамотрицательной флорой. У половины новорожденных с ВАП при экстубации обнаруживалась *Pseudomonas aeruginosa*, что согласуется с литературными данными (Мархулия Х.М., 2005, Ветрова Е.В., 2007, Vendettuoli V. et al., 2007, Zhu X.L. et al., 2007).

Следующим этапом работы было цитологическое исследование ТБА обследованных новорожденных, которое выявило существенное увеличение общего количества лейкоцитов (С) в ТБА к моменту экстубации у пациентов всех групп ($p < 0,05$ для 1 и 4 групп), что могло свидетельствовать о привлечении на поверхность слизистой оболочки дыхательных путей фагоцитирующих клеток. Существенное увеличение общего количества лейкоцитов в ТБА к моменту окончания ИВЛ было отмечено у новорожденных с РДСН при возникновении и увеличении степени тяжести ВАТ (С при неосложненном течении РДСН - $3,8 \pm 0,2 \times 10^9$ /л, при легком ВАТ - $4,7 \pm 0,2 \times 10^9$ /л, при средне-тяжелом ВАТ - $5,4 \pm 0,2 \times 10^9$ /л, $p < 0,05$).

Нами получены данные эндопульмональной цитограммы новорожденных группы сравнения: С – $1,6 \pm 0,2 \times 10^9$ /л, АМ – $59,2 \pm 5,3\%$,

нейтрофилы – $34,4 \pm 4,7\%$, лимфоциты – $5,6 \pm 1,4\%$, эозинофилы – $0,8 \pm 0,4\%$, липофаги – $36,9 \pm 6,6\%$, СЦК – $1,3 \pm 0,2$ у.е., НМК – $0,69 \pm 0,15$. Существенных различий в данных показателях при поступлении детей в ОРИТ и экстубации выявлено не было. При сравнении цитологических показателей новорожденных 1 и сравнительной групп при поступлении в ОРИТ мы получили достоверные различия только по общему количеству лейкоцитов ТБА (в 1 группе С - $2,9 \pm 0,2 \times 10^9/\text{л}$, $p < 0,05$). У новорожденных с РДСН к моменту экстубации отмечалось существенное увеличение относительного количества нейтрофилов (с $40,8 \pm 4,5\%$ до $56,5 \pm 5,5\%$, $p < 0,05$) и уменьшение процента АМ (с $52,4 \pm 4,6\%$ до $35,8 \pm 5,1\%$, $p < 0,05$) в ТБА. Отмечено достоверное увеличение НМК при экстубации (с $1,14 \pm 0,29$ до $2,29 \pm 0,54$), что также свидетельствовало о повышении доли нейтрофилов в ТБА к моменту окончания ИВЛ. Наибольшие значения НМК были выявлены у пациентов с ВАТ средней степени тяжести ($3,63 \pm 1,5$) и ВАП ($3,11 \pm 0,98$). По-видимому, повышение относительного количества нейтрофилов и снижение процента макрофагов в ТБА происходило в ответ на колонизацию респираторного тракта микрофлорой и развитие воспалительного процесса в слизистой оболочке дыхательных путей (Маянский Д.Н., 1991).

У новорожденных с неонатальной аспирацией при поступлении в отделение процент АМ был значимо ниже, а относительное количество нейтрофилов, липофагов и СЦК – выше, чем в группе сравнения. При экстубации эти различия сохранились. НМК у пациентов 4 группы оказался существенно выше, чем у детей сравнительной группы ($p < 0,05$), как на момент поступления ($1,72 \pm 0,37$), так и при экстубации ($2,92 \pm 0,7$). Полученные данные не противоречат концепции многих исследователей о том, что нагруженность АМ липидными включениями отражает не только воспалительные изменения в респираторном тракте, но и является показателем наличия аспирационного синдрома различной этиологии

(Ahrens P. et al., 1999, Furuya M.E. et al., 2007). Кроме того, повреждение слизистой оболочки дыхательных путей меконием могло способствовать увеличению адгезивных свойств бронхиального эпителия и развитию на этом фоне инфекционного процесса.

Нами предложены две шкалы диагностики и определения степени тяжести ВАТ во время проведения ИВЛ и после экстубации на основании клинических признаков и показателей эндопульмональной цитограммы. В зависимости от суммы баллов, полученной в результате оценки всех параметров, можно диагностировать и определить степень тяжести ВАТ.

Следующим этапом нашей работы было исследование показателей мукозального иммунитета трахеобронхиального дерева во всех группах детей. В процессе ИВЛ у пациентов всех групп не отмечалось значимого изменения содержания белка в ТБА, а концентрация муцина имела тенденцию к повышению. У детей с РДСН к моменту экстубации содержание муцина в ТБА существенно увеличилось (при поступлении – $0,43 \pm 0,03$ мг/мг белка против $0,59 \pm 0,04$ мг/мг белка при экстубации, $p < 0,05$). Увеличение содержания муцина может способствовать повышению вязкости мокроты и снижению мукоцилиарного клиренса, что ухудшает антиколониционные свойства слизистой оболочки дыхательных путей и способствует присоединению инфекции (Кобылянский В.И., 2008). Значимых различий в содержании муцина в ТБА у новорожденных с неосложненным течением РДСН и ИВЛ-ассоциированными инфекционными осложнениями различной степени тяжести мы не получили. По-видимому, повышение содержания муцина в ТБА в процессе проведения ИВЛ не являлось реакцией только на инфекционный фактор, а свидетельствовало о суммарной неспецифической реакции респираторного эпителия на различные повреждающие агенты.

В процессе ИВЛ существенное снижение уровня ИЛ-8 в ТБА было отмечено только у новорожденных группы сравнения; у пациентов

исследуемых групп отмечалась тенденция к уменьшению содержания ИЛ-8 в ТБА на момент экстубации независимо от основного диагноза и возникновения осложнений. Концентрация ИЛ-8 в ТБА у новорожденных с РДСН прямо коррелировала со сроком достижения 40% концентрации кислорода ($r = 0,36$, $p < 0,05$) при проведении ИВЛ и относительным количеством нейтрофилов в ТБА ($r = 0,54$, $p < 0,05$). У пациентов с РДСН, осложнившимся развитием ВАП, уровень ИЛ-8 в ТБА при экстубации находился в сильной прямой зависимости от относительного количества нейтрофилов ($r = 0,85$) и липофагов ($r = 0,76$, $p < 0,05$), что вполне закономерно, учитывая, что главной функцией ИЛ-8 является рекрутирование нейтрофилов, а одними из основными клетками, синтезирующих ИЛ-8, являются макрофаги (Маянский А.Н., 2005, Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2008, Walsh D. et al., 2001).

Существенное снижение уровня СРБ к моменту экстубации было выявлено только у пациентов 3 группы (с $0,34 \pm 0,05$ мг/мг белка до $0,2 \pm 0,02$ мг/мг белка, $p < 0,05$). У новорожденных 1 и 3 групп концентрация СРБ на момент экстубации прямо коррелировала с гестационным возрастом ($r = 0,42$ для пациентов 1 группы, $r = 0,71$ для детей 3 группы, $p < 0,05$), т.е. способность к синтезу СРБ повышалась с увеличением гестационного возраста.

При анализе системы комплемента в ТБА у обследованных детей было выявлено, что при поступлении в ОРИТ активность компонента С1 у детей 1 группы ($1,98 \pm 0,1 \times 10^8$ ед.эф.мол./мг белка) была существенно выше, чем у пациентов 4 группы ($1,28 \pm 0,4 \times 10^8$ ед.эф.мол./мг белка, $p < 0,05$); на момент экстубации у новорожденных с неонатальным аспирационным синдромом общая активность комплемента (СН 50) достоверно превышала данный показатель у детей с РДСН ($6,2 \pm 1,1$ у.е./мг белка в 4 группе, $3,7 \pm 0,5$ у.е./мг белка в 1 группе, $p < 0,05$). Это подтверждается данными И.А. Федорова (1993), В. Salvesen et al. (2008),

которые показали, что аспирация мекония сопровождается активацией системы комплемента на системном уровне. У новорожденных с РДСН содержание компонентов комплемента в ТБА, так же как СРБ, находилось в умеренной прямой зависимости от гестационного возраста ($r = 0,43$, $p < 0,05$). Кроме того, у пациентов 1 группы повышение содержания в ТБА С1 и С3 фрагментов комплемента (так же как ИЛ-8) прямо коррелировало с удлинением срока достижения 40% концентрации кислорода во вдыхаемой газовой смеси при проведении ИВЛ ($r = 0,48$, $p < 0,05$). При неосложненном инфекцией течении РДСН в процессе респираторной терапии в ТБА не отмечалось значимой динамики содержания фрагментов комплемента. У пациентов с ИВЛ-ассоциированными инфекционными осложнениями к моменту окончания ИВЛ отмечалось достоверное снижение концентрации С2, С4 и С5 компонентов комплемента в ТБА ($p < 0,05$). Снижение концентрации данных медиаторов воспаления в ТБА к моменту окончания ИВЛ можно рассматривать как признак, свидетельствующий о стихании воспалительного процесса в слизистой оболочке респираторного тракта (Теплова С.Н., Алексеев Д.А., 2002).

В процессе работы была отмечена существенная динамика уровня метаболитов оксида азота (NO) в ТБА у новорожденных с ОДН на фоне ПП ЦНС (3 группа): к моменту экстубации содержание нитрита и суммарного количества метаболитов оксида азота в ТБА у пациентов данной группы достоверно увеличилось. Возможно, стимулом к повышению продукции NO у новорожденных 3 группы явилась перенесенная интранатальная гипоксия, так как, согласно ряду исследований, в ответ на кратковременную гипоксию наблюдается резкое повышение продукции NO (Андреева А.А. и др., 2004). У новорожденных с РДСН мы не выявили значимой динамики содержания производных NO в ТБА к моменту экстубации, хотя уровень метаболитов оксида азота при поступлении в ОРИТ у детей с РДСН был сопоставим с их содержанием в

ТБА у пациентов других групп. Вероятно, длительная стимуляция продукции NO могла привести к истощению активности индуцибельной NO-синтазы у недоношенных новорожденных к моменту окончания ИВЛ. Возможно, отсутствие нарастания уровня оксида азота в ТБА могло быть обусловлено снижением относительного количества АМ к моменту экстубации, так как макрофаги воздухоносных путей являются одними из главных продуцентов NO (Pechkovsky D.V. et al., 2002).

Последним этапом нашей работы являлся анализ влияния однонаправленного потока воздуха на исследуемые клиничко-лабораторные показатели. В первых трех группах пациентов было выделено две подгруппы в зависимости от пребывания детей в палате с однонаправленным потоком воздуха. Рандомизацию больных проводили с помощью таблицы случайных чисел. Терапия в условиях данной палаты осуществлялась с момента госпитализации в ОРИТ.

При лечении новорожденных с РДСН в условиях палаты с однонаправленным потоком воздуха было отмечено: существенное снижение частоты возникновения ВАП (7,1% против 38,9% у детей, получавших лечение вне ламинарной палаты, $p < 0,05$) и тенденция к уменьшению степени тяжести ВАТ (14,3% против 22,2% ВАТ средней степени тяжести), а также тенденция к сокращению длительности ИВЛ ($7,8 \pm 1,1$ сут против $11,9 \pm 2,1$ сут) и продолжительности госпитализации в ОРИТ ($14,2 \pm 1,5$ сут и $20,9 \pm 2,7$ сут). У новорожденных, получавших лечение вне ламинарной палаты, на момент экстубации отмечалась тенденция к увеличению доли нозокомиальных микроорганизмов в посевах ТБА, прежде всего *Streptococcus viridans* и *Streptococcus pyogenes*, а также *Pseudomonas aeruginosa*.

У новорожденных 1 и 2 исследуемых групп, получавших терапию в палате с однонаправленным потоком воздуха, на момент экстубации мы не отметили значимого повышения процента липофагов в ТБА в отличие от

пациентов данных групп, не получавших лечение в ламинарной палате. У пациентов 3 группы, получавших лечение в условиях палаты с однонаправленным потоком воздуха, относительное количество липофагов в ТБА и СЦК к моменту экстубации существенно снизились ($p < 0,05$). Это могло свидетельствовать об уменьшении фагоцитарной активности АМ в условиях «чистого воздуха». У новорожденных с РДСН, получавших терапию в палате с однонаправленным потоком воздуха, к моменту экстубации не отмечалось существенного увеличения содержания муцина в ТБА в отличие от пациентов с РДСН, не получавших лечение в ламинарной палате.

Таким образом, проведенное нами исследование показало, что у новорожденных в процессе ИВЛ происходило изменение антиколониционного барьера слизистой оболочки трахеобронхиального дерева, способствующее контаминации дыхательных путей микрофлорой. У новорожденных и, особенно, недоношенных детей возможна трансформация колонизации респираторного тракта в вентилятор-ассоциированный трахеобронхит.

ВЫВОДЫ

1. Частота вентилятор-ассоциированного трахеобронхита у обследованных новорожденных с РДСН и неонатальным аспирационным синдромом составила 50%, у новорожденных с перинатальным поражением ЦНС – 38,5%. Срок достижения 40% концентрации кислорода при проведении ИВЛ, общая продолжительность ИВЛ, а также время нормализации сатурации кислорода и длительность экспекторации после экстубации существенно увеличивались при нарастании степени тяжести вентилятор-ассоциированного трахеобронхита.

2. При возникновении вентилятор-ассоциированного трахеобронхита у новорожденных с РДСН к моменту экстубации в посевах трахеобронхиальных аспиратов достоверно чаще выявлялись *Streptococcus*

viridans и pyogenes. У половины новорожденных с вентилятор-ассоциированной пневмонией при экстубации в посевах трахеобронхиальных аспиратов обнаруживалась *Pseudomonas aeruginosa*.

3. Вентилятор-ассоциированный трахеобронхит сопровождался достоверным увеличением общего количества лейкоцитов в трахеобронхиальных аспиратах и повышением нейтрофильно-макрофагального коэффициента выше 1,0. При нарастании степени тяжести трахеобронхита отмечалось дальнейшее значимое повышение лейкоцитоза в трахеобронхиальных аспиратах и увеличение значения нейтрофильно-макрофагального коэффициента.

4. У новорожденных с РДСН в процессе ИВЛ было выявлено изменение антиколониционных свойств слизистой оболочки дыхательных путей, о чем свидетельствовало достоверное увеличение содержания муцина в трахеобронхиальных аспиратах к моменту экстубации.

5. У недоношенных новорожденных выявлена незрелость механизмов острофазового ответа и системы комплемента на мукозальном уровне: при уменьшении гестационного возраста отмечалось снижение концентрации С-реактивного белка и компонентов комплемента в трахеобронхиальных аспиратах.

6. Неонатальный аспирационный синдром сопровождался увеличением содержания белка и муцина в трахеобронхиальных аспиратах в первые сутки жизни, а к моменту экстубации – существенным увеличением общей активности системы комплемента на мукозальном уровне.

7. Использование в терапии новорожденных с РДСН палаты с однонаправленным потоком воздуха способствовало достоверному снижению частоты возникновения вентилятор-ассоциированной

пневмонии (7,1% против 38,9% у новорожденных, получавших лечение вне ламинарной палаты).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для диагностики вентилятор-ассоциированного трахеобронхита у новорожденных во время ИВЛ и после экстубации рекомендовано проведение суммарной балльной оценки клинических симптомов и показателей эндопульмональной цитограммы на основании предложенных нами шкал.

2. Результат анализа эндопульмональной цитограммы на момент экстубации необходимо учитывать при выборе тактики дальнейшей антибактериальной терапии у новорожденных с вентилятор-ассоциированным трахеобронхитом.

3. Полученные нами показатели цитологического состава ТБА у новорожденных без бронхолегочных заболеваний рекомендовано использовать в качестве условной нормы при интерпретации данных эндопульмональной цитограммы новорожденных с респираторными нарушениями.

4. Для снижения риска возникновения ИВЛ-ассоциированных инфекционных осложнений рекомендовано использование в интенсивной терапии новорожденных детей с респираторной патологией систем с однонаправленным потоком воздуха или других устройств, обеспечивающих аналогичный класс чистоты помещения.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Пушкарева, Ю.Э. Применение ламинарной системы для лечения новорожденных детей с респираторным дистресс-синдромом / Ю.Э. Пушкарева, И.А. Федоров // Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины. – Материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 50-летию образования Читинской государственной медицинской академии. – Чита, 2003. – С. 198.

2. Пушкарева, Ю.Э. Состояние местного иммунитета

респираторного тракта у новорожденных, находящихся на искусственной вентиляции легких / Ю.Э. Пушкарева, И.А. Федоров, Е.В. Давыдова // Современные проблемы медицинской науки и практики. – Сборник научных работ VI Конгресса пульмонологов и фтизиатров Уральского Федерального округа. – Челябинск, 2006. – С. 177-180.

3. Пушкарева, Ю.Э. Применение ламинарной системы очистки воздуха для лечения новорожденных детей с респираторным дистресс-синдромом / Ю.Э. Пушкарева, И.А. Федоров // Новые технологии в здравоохранении. – Челябинск, 2007. – С. 203-204.

4. Пушкарева, Ю.Э. Оценка эффективности ламинарной системы при лечении новорожденных с респираторным дистресс-синдромом и врожденной хирургической патологией по клиническим и лабораторным данным / Ю.Э. Пушкарева, И.А. Федоров // **Уральский медицинский журнал.** – 2008. – Т. 53, № 13. – С. 77-83.

5. Пушкарева, Ю.Э. Применение ламинарной палаты в интенсивной терапии новорожденных детей с респираторным дистресс-синдромом и врожденной хирургической патологией / Ю.Э. Пушкарева, И.А. Федоров // Научные и практические аспекты оказания медицинской помощи детям (выпуск 3). – Челябинск, 2009. – С. 112-114.

6. Пушкарева, Ю.Э. Особенности эндопульмональной цитограммы у новорожденных детей, находившихся на ИВЛ, в условиях ламинарной палаты / Ю.Э. Пушкарева // Научные и практические аспекты оказания медицинской помощи детям (выпуск 3). – Челябинск, 2009. – С. 114-117.

7. Пушкарева, Ю.Э. Содержание оксида азота в трахеобронхиальных аспиратах у новорожденных с РДС при возникновении ИВЛ-ассоциированных инфекционных осложнений / Ю.Э. Пушкарева, И.А. Федоров // **Медицинская иммунология.** – 2009. – Т. 11, № 4-5. – С. 416-417.

8. Пушкарева, Ю.Э. Интерлейкин-8 в трахеобронхиальных аспиратах как лабораторный критерий возникновения ИВЛ-ассоциированных инфекционных осложнений у новорожденных с респираторным дистресс-синдромом / Ю.Э. Пушкарева, И.А. Федоров // Лабораторная медицина в свете Концепции развития здравоохранения России до 2020 года. – М.: Лабора, 2009. – С. 158-159.

9. Пушкарева, Ю.Э. Вентилятор-ассоциированный трахеобронхит у новорожденных / Ю.Э. Пушкарева, И.А. Федоров // Вопросы практической педиатрии. – 2009. – Т. 4, приложение 1. – С. 54.

10. Пушкарева, Ю.Э. Частота вентилятор-ассоциированного трахеобронхита у новорожденных с респираторным дистресс-синдромом / Ю.Э. Пушкарева, И.А. Федоров // Материалы XIX Национального конгресса по болезням органов дыхания. – Москва, 2009. – № 117.