

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕСС-ТЕСТОВ В ДИАГНОСТИКЕ НЕКРОТИЧЕСКОГО ЭНТЕРОКОЛИТА У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ

Алтынбаева Г. Б., Алимухамедов У. Р.

Казахский национальный медицинский университет имени С.Д.

Асфендиярова Казахстан, Алматы¹

Центр перинатологии и детской кардиохирургии² Казахстан, Алматы

Ключевые слова: недоношенность, некротический энтероколит, фекальный кальпротектин, прокальцитонин, экспресс-диагностика

Резюме: Целью исследования явилась оценка значимости экспресс-тестов в ранней диагностике НЭК у недоношенных детей. Проведено проспективное когортное исследование 115 недоношенных детей, родившихся в Центре перинатологии и детской кардиохирургии г. Алматы. Наряду с традиционными методами исследования, проводились специальные исследования маркеров инфекционного процесса и неинвазивные экспресс-методы для диагностики некротического энтероколита.

Resume: The aim of the study was to evaluate the significance of express tests in the early diagnosis of premature babies NEC. There was prosecuted prospective cohort study of 115 low-birth-weight premature infants, born in the Center for Perinatology and Children's Cardiac Surgery in Almaty. Along with traditional methods of research, special studies of markers of the infectious process and non-invasive express methods for early diagnosis of necrotizing enterocolitis were carried out.

Актуальность. Некротический энтероколит (НЭК) проявляется у 2-5 % пациентов, находящихся в отделениях интенсивной терапии новорожденных. Частота НЭК отличается в разных странах. Так, в США встречается в 7-11% среди новорожденных с очень низкой массой тела; в Канаде - 5,1% среди новорожденных <33 недель гестации, в Швеции - 5,8% среди новорожденных <27 нед. гестации, в Швейцарии 3-4% среди новорожденных <32 нед. гестации [1]. В целом, частота НЭК достигает до 10-20% среди детей, родившихся с очень низкой массой тела (менее 1500 гр.) [2]. В Республике Казахстан частота НЭК остается неизвестной в связи с тем, что это заболевание входит в общий показатель заболеваемости новорожденных. Общеизвестным является факт того, что наиболее сложно некротизирующий энтероколит протекает у недоношенных новорожденных с экстремально и очень низкой массой тела при рождении. В исследованиях Linsell L. et al. (2016) показано, что недоношенные дети имеют высокую склонность к развитию НЭК в силу морфологических особенностей ЖКТ и часто имеющегося место у этой группы детей дисбактериоза [3,4].

Наибольший процент летальности от этого заболевания отмечается среди детей, родившихся с массой тела менее 1000 гр. [5]. При развитии терминальной стадии заболевания, по данным Henderson, G. et al., (2009) летальность в этой группе достигает 54–60% даже в экономически развитых странах [6,7].

В настоящее время большинство неонатологов признают целесообразность изучения и внедрения дополнительных методов ранней диагностики НЭК [8,9].

Учитывая ограниченность проведения инвазивных процедур у маловесных детей и трудности, связанных с техникой забора крови, использование неинвазивных экспресс-методов в диагностике НЭК представило бы практический интерес.

В последнее время обсуждается внедрение в практику определение биологических маркеров воспаления, одним из которых является фекальный кальпротектин [10,11].

Таким образом, применение неинвазивных экспресс-тестов у маловесных детей в комплексе с традиционными методами исследования значительно бы улучшило диагностику НЭК с своевременной коррекцией терапии.

Цель: Оценить значимость экспресс-тестов в ранней диагностике некротического энтероколита у недоношенных детей.

Материал и методы. Для решения поставленной задачи было проведено проспективное когортное исследование, одобренное Локальной Этической комиссией Казахского национального медицинского университета имени С.Д. Асфендиярова от 29 октября 2015 года (протокол № 8). На условиях добровольного информированного согласия матерей в исследование включены 115 недоношенных детей, маловесных к сроку гестации, с массой тела при рождении от 500 до 1500 гр., сроком гестации от 24 до 35 недель. Набор клинического материала проводился в Центре перинатологии и детской кардиохирургии (ЦП и ДКХ) г. Алматы.

Оценка значимости неинвазивных экспресс-тестов в диагностике НЭК проводилась 95 недоношенным детям, маловесным к сроку гестации (основная группа).

Контрольную группу составили 20 недоношенных детей аналогичного возраста, находившихся в ОРИТн ЦП и ДКХ. Этим детям не проводились исследования маркеров воспаления в кишечнике, но стабилизация их состояния и выхаживание осуществлялись согласно клиническому протоколу № 16 от 29.11.2016г. МЗ РК «Некротический энтероколит у новорожденного».

Критерии включения: недоношенные дети с задержкой внутриутробного развития (ЗВУР), несоответствующие к сроку гестации с массой тела при рождении 500-1500 гр, сроком гестации 24-35 недели.

Критерии исключения: в исследование не включены дети с массой и ростом, соответствующие гестационному возрасту, родившиеся при доношенном сроке беременности.

Для диагностики НЭК применяли неинвазивный экспресс-метод - определение в кале фекального кальпротектина (ФК) и гемоглобин-гаптоглобинового комплекса (HbHp). Для определения ФК и HbHp использовали экспресс тесты «Кальдетект 50/200» и «Гемо/ГаптОккульт» (Preventis GmbH, Германия).

Результаты научного исследования подвергнуты статистической обработке с помощью пакета программы IBM SPSS Statistics 23 на персональном компьютере Pentium IV в операционной системе Microsoft Excel 2013.

Результаты и их обсуждение. В наших исследованиях, у 95 недоношенных новорожденных (основная группа) на 5 сутки жизни было проведено неинвазивное обследование в кале маркеров фекального кальпротектина (маркер воспаления в кишечнике) и гемоглобин-гаптоглобин комплекса (маркер язвенного процесса в кишечнике) с целью исключения некротического энтероколита.

На основании результатов исследования экспрес-тестов, пациенты были разделены на 3 группы (табл.1)

Таблица 1 – Распределение пациентов основной группы в зависимости от показателей уровня маркеров воспаления в кишечнике ФК.

Группы детей	Абс.	M±m%	Экспресс-тесты ФК и НбНр
1 группа -дети с клиническими проявлениями НЭК	18	19,0±4,0%	Резко положительный тест (Т2 200 мг и выше) положительный тест НбНр
2 группа – дети без клинических проявлений НЭК	37	38,9±5,0%	Положительный тест ФК (Т1 50 мг и выше)
3 группа - дети без клинических проявлений НЭК	40	42,1±5,1%	Отрицательный тест ФК и НбНр

Неинвазивный тест на маркер воспаления в кишечнике ФК оказался резко положительным у 19% больных, положительным у 38,9% и отрицательным у 42,1% обследованных детей. Маркер язвенного процесса НбНр в кишечнике был в большинстве случаев отрицательным, лишь в 19% - положительным. Положительные результаты НбНр совпали с резко положительными результатами ФК.

Таким образом, из 95 обследованных пациентов на 5 сутки жизни, у 55 (57,9%) были выявлены тесты с положительными и резко положительными результатами ФК и НбНр.

У всех 55 детей с положительными и резко положительными маркерами НЭК, мы определяли в крови концентрацию ПКТ, ПС, СРБ на 5 день жизни (табл.2).

Таблица 2. Средний уровень маркеров инфекционного процесса у пациентов первой и второй группы

Маркеры	1 группа n-18	2 группа n-37	P
ПКТ, нг/мл	38,5 ±11,5	5,3±3,7	<0,001
25%-75% квартиль, нг/мл	4,9 – 88,2	2,9– 8,7	
ПС, пг/мл	610,2±114,9	218,1±67,8	<0,02
25%-75% квартиль, пг/мл	215,8-918,3	37,1-389,2	
СРБ мг/л	144,1 ±60,3	11,8 ±5,3	< 0,05
25%-75% квартиль, мг/л	18 - 292	4,2 - 36	
Примечание - p<0,05, p<0,02 и p<0,001 – достоверность различий между показателями сравниваемых групп			

Среди общих и абдоминальных симптомов НЭК, у 55,5% детей с резко положительными маркерами отмечались срыгивания, 66,6%- метеоризм, 44,4%- патологическая потеря массы тела. 5 (27,7%) пациентов в связи с ухудшением состояния были переведены на инвазивную ИВЛ. Геморрагические осложнения имели место у 38,8% детей. Инотропная поддержка в связи с артериальной гипотензией проводилась каждому третьему ребенку (33,3%). В гемограмме отмечались анемия (44,4%), лейкопения (22,2%), лейкоцитоз (33,3%), тромбоцитопения (22,2%). Гипергликемия выявлялась у 5 детей первой группы. Гиперлактатемия фиксировалась у большинства (66,6%) детей. Рентгенологические

данные за НЭК I и II А стадии подтвердились у всех детей с резко положительными маркерами.

При выявлении взаимосвязей инвазивных и неинвазивных тестов инфекционного процесса, отмечена прямая сильная корреляционная связь показателей средних уровней прокальцитонина и пресепсина у детей с резко положительным тестом ФК ($r_{xy} = 0,74$ при уровне вероятности $p-95\%$), а также между средними уровнями прокальцитонина и С-реактивного белка при резко положительном тесте Т2 200 мг и выше ($r_{xy} = 0,8$ при уровне вероятности $p-98\%$). Таким образом, выявлена сильная зависимость ПКТ как маркера бактериальной инфекции с СРБ и пресепсином как маркеров системного воспаления у детей с резко положительным тестом на ФК.

Сравнительная оценка диагностической чувствительности, специфичности, прогностического значения положительного и отрицательного результатов ФК и НбНр представлена в таблице 3.

Таблица 3. Сравнительная оценка ДЧ, ДС, ПЗ+ ПЗ- результатов инвазивных и неинвазивных маркеров у детей с НЭК

Тесты	ДЧ (Se)	ДС (Sp)	ПЗ+ (PPV)	ПЗ- (NPV)
ФК 200 мг и выше	36,9%	98%	100%	94,8%
НбНр	36,8%	100%	100%	99%
СРБ, мг/л	26,3%	77,6%	22,7%	77,7%
ПКТ, нг/мл	98,4%	92,1%	68,4%	92,1%
ПС, пг/м	57,9%	89,5%	58,1%	88,3%

В таблице показано, что ФК с уровнем 200 мг и выше, а также НбНр являются высокоспецифичными маркерами НЭК с высокой прогностической значимостью, но обладают меньшей чувствительностью. Их можно применять как неинвазивные маркеры НЭК. По нашим данным, из инвазивных маркеров системного инфекционного процесса, диагностическое значение для НЭК имеет прокальцитонин.

Вторая группа детей (с положительным тестом ФК) находилась под нашим пристальным наблюдением. Через 48 часов в этой группе было проведено повторное исследование экспресс-тестов. У 22 (59,4%) детей тест ФК оказался резко положительным. Для подтверждения инфекционного процесса был определен в крови прокальцитонин, учитывая его диагностическую значимость для НЭК (табл. 4).

Таблица 4. Средний уровень ПКТ в динамике у пациентов второй группы

Маркеры	Исходный уровень (на 5 сутки) n-37	На 7 сутки жизни (через 48 часов) n-37	P
ПКТ, нг/мл	5,3±3,7	58,5 ±1,0	<0,001
25%-75% квартиль, нг/мл	1,9 – 5,74,9 – 88,2	3,6 – 108,1	

Примечание - $p < 0,001$ – достоверность различий между показателями сравниваемых групп

В третьей группе с отрицательным тестом ФК, мы провели на 10 день жизни повторное исследование экспресс-тестов и ПКТ, в результате которого у 6 из них был выявлен резко положительный тест на ФК. При этом средний уровень прокальцитонина был значительно повышен (62,3 нг/мл). На основании общих и абдоминальных симптомов, мы диагностировали I A (подозрение на НЭК) стадию.

Таким образом, из 95 обследованных детей основной группы, у 46 пациентов был диагностирован НЭК (у 18 детей первой группы – I и II A стадии; у 22 пациентов второй группы - I A и B стадия, у 6 детей третьей группы - I A стадия НЭК).

После проведенного лечения на 10 сутки, отмечалось клиническое улучшение в виде купирования симптомов НЭК. Количество детей с отрицательным тестом достоверно увеличивается (93,3% против 73,7%; $p < 0,01$), и, наоборот, с положительным тестом уменьшается (6,7% против 26,7%; $p < 0,005$). Полученные данные еще раз подтверждают обратимость изменений в кишечнике и эффективность своевременной этиопатогенетической терапии НЭК у детей.

У 2-х детей первой группы, родившихся с экстремально низкой массой тела, несоответствующей к сроку гестации, перенесших тяжелую асфиксию в родах с развитием раннего сепсиса, отмечался летальный исход.

Диагностика НЭК у недоношенных детей, с помощью неинвазивных маркеров наряду с традиционными методами исследования способствовала снижению летальности в 3 раза по сравнению с группой контроля.

Выводы: 1. Таким образом, экспресс - методы неинвазивной диагностики (ФК, НбНр-комплекс) можно использовать, как маркеры раннего развития патологического процесса в кишечнике и рекомендуется внедрить их в качестве скрининга НЭК в неонатальном периоде у всех недоношенных детей, родившихся с экстремально низкой и очень низкой массой тела, пребывающих в отделении интенсивной терапии и отделении патологии новорожденных. 2. Диагностика НЭК в обратимую стадию заболевания позволит провести своевременную коррекцию в лечении, что способствует сокращению продолжительности госпитализации в ОРИТ, снижению риска развития осложнений.

Литература

- 1 Cua, C. L., Haque, U., Miao, Y., Backes, C. H. Necrotizing Enterocolitis Incidence, Characteristics, and Outcomes in Neonatal Down Syndrome Patients. American Journal of Perinatology. 2017; 34 (13):1368-1374.
- 2 Böhler, T., Bruder, I., Ruef, P., Arand, J., Teufel, M., Mohrmann, M., Hentschel, R. Necrotizing enterocolitis and focal intestinal perforation in neonatal intensive care units in the state of Baden-Württemberg, Germany. Pediatric reports. 2014; 6 (1): 5194-5198.
- 3 Linsell, L., Malouf, R., Morris, J., Kurinczuk, J. J., Marlow, N. Prognostic factors for cerebral palsy and motor impairment in children born very preterm or very low birthweight: a systematic review. Developmental Medicine & Child Neurology. 2016; 58 (6):554-569.
- 4 Johnson, Samantha, and Neil Marlow. Early and long-term outcome of infants born extremely preterm. Archives of disease in childhood (2017); 102(1): 97-102.

- 5 Müller M.J., Paul T., Seeliger S. Necrotizing enterocolitis in premature infants and newborns. *Journal of neonatal-perinatal medicine*. 2016; 9 (3): 233-242.
- 6 Henderson, G., Craig, S., Brocklehurst, P., McGuire, W. Enteral feeding regimens and necrotising enterocolitis in preterm infants: a multicentre case-control study. *Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition*. 2009; 94(2): 120-123.
- 7 Кучеров, Ю. И., Жиркова, Ю. В., Шишкина, Т. Н., Михалев, И. А., Арса, А. В., Чеботаева, Л. И. Диагностика и лечение некротического энтероколита у недоношенных. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2016; 59 (6):18-24.
- 8 Samuels, N., van de Graaf, R. A., de Jonge, R. C., Reiss, I. K., Vermeulen, M. J. Risk factors for necrotizing enterocolitis in neonates: a systematic review of prognostic studies. *BMC pediatrics*. 2017; 17 (1):105-107.
- 9 Frost, B. L., Modi, B. P., Jaksic, T., Caplan, M. S. New medical and surgical insights into neonatal necrotizing enterocolitis: a review. *JAMA pediatrics*. 2017; 171(1): 83-88.
- 10 Степанов Ю.М., Псарева И.В. Роль биомаркеров в диагностике хронических воспалительных заболеваний кишечника. *Гастроэнтерология*. 2017; 51 (1): 56-63.