

УДК: 616-022.7: 579.861.2Staphylococcus-055.26]:616.5-002-053.3

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЕ И ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БАКТЕРИОЛАКТИИ В СИСТЕМЕ КОРМЯЩАЯ МАТЬ И РЕБЕНОК С АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ

А.В. Алешукина, Е.В. Голошва, Т.И. Твердохлебова, И.С. Алешукина
ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия

По материалам обследования 527 семейных очагов стафилококковых инфекций, в том числе 463 пар кормящая мать+ребенок с атопическим дерматитом, изучена микрофлора грудного молока матери и фекалий детей. Показано, что S.aureus и S.epidermidis занимают доминирующее место среди условно-патогенных микроорганизмов, выделяющихся в системе кормящая мать+ребенок с атопическим дерматитом. В образцах фекалий детей стафилококки выделены в 86,4% случаев, в том числе S.aureus – в 45% проб. При обнаружении S.aureus в фекалиях детей только от 2-х до 13,7% проб молока были стерильными. Установлено сходство штаммов стафилококка, выделенных из молока матери и фекалий ребёнка, путем масс-спектрометрии и при анализе профилей антибиотикочувствительности. Наиболее вероятно, что мать является источником стафилококков для своего ребёнка, что, в свою очередь, может провоцировать атопический дерматит у малыша.

Ключевые слова: матери, дети, бактериолактация, флора фекалий, стафилококки, атопический дерматит

BACTERIOLOGICAL AND EPIDEMIOLOGICAL ASPECTS OF BACTERIOLACTIA IN A BREASTFEEDING MOTHER AND A CHILD SUFFERING FROM ATOPIC DERMATITIS SYSTEM

A.V. Aleshukina, E.V. Goloshva, T.I. Tverdokhlebova, I.S. Aleshukina
FBIS "Rostov scientific research institute of microbiology and parasitology" of the Federal service for surveillance on consumers rights protection and human wellbeing (Rospotrebnadzor), Rostov-on-Don, Russia

The research included identification of microflora of mothers' breast milk and children feces. A total number of 527 family foci of staphylococci infection including 463 pairs of breastfeeding mother + child suffering from atopic dermatitis were analyzed. The study showed that S. aureus and S. epidermidis were predominant among the opportunistic microorganisms isolated from breastfeeding mother + child suffering from atopic dermatitis system. The most frequent bacteria isolated from children fecal samples were staphylococci (86.4%) including S. aureus (45%). Breast milk samples were sterile only in 2.0 - 13.7% if S. aureus was detected in children feces. Similarities in Staphylococci strains isolated from mothers' breast milk and children feces were identified using mass spectrometry-based assay and drug-resistance profile analysis. It is most likely that mother was the source of staphylococci. The infection in turn can trigger atopic dermatitis in children.

Key words: mothers, children, bacteriolactia, fecal flora, staphylococci, atopic dermatitis

Введение

Естественное вскармливание имеет несомненное преимущество перед искусственным, когда речь идет о нормальном молоке здоровой женщины и переносимости его ребенком [8,10]. Однако, в последнее время все чаще возникает вопрос о сохранении или отмене кормления грудью, связана эта проблема с так называемым «инфицированным молоком» - бактериолактацией [1]. Патология раннего возраста у детей, вскармливавшихся «инфицированным молоком», характеризуется высокой частотой воспалительных заболеваний, среди которых функциональные нарушения работы желудочно-кишечного тракта занимают ведущее место [9].

В настоящее время отмечен рост стафилококковых инфекций. Род Staphylococcus включает более 20 видов, различающихся по диагностическим свойствам и по значению в патологии человека. Наиболее часто из рода Staphylococcus при стафилококковых инфекциях обнаруживают S.aureus, в арсенале которых более 35 факторов патогенности - потенциальных инициаторов аллергического

процесса у матери и ребенка [6,4]. Поэтому среди микробных агентов золотистые стафилококки являются основными триггерными факторами атопии у детей [3].

Наиболее восприимчивы к стафилококковым инфекциям новорожденные и дети первых месяцев жизни. По данным отечественных авторов, основными источниками инфицирования детей *S.aureus* в родильных домах и детских стационарах являются медицинские работники - бактерионосители возбудителя на слизистых верхних дыхательных путей и коже. Матери как источники инфекции были установлены в 5-14% [6] и 54% случаев [9].

В последнее время авторы многих публикаций оценивают роль *S.aureus* при атопических дерматитах детей, практически постоянно обнаруживая данные микроорганизмы в поверхностных смывах с кожи в местах высыпаний, шелушений и мокнущих [12,13]. При этом работ по выделению из кишечника от детей с атопическим дерматитом стафилококков с повышенным патогенным потенциалом *S.aureus* и *S.epidermidis* (гем+) практически не обнаружено.

Поэтому изучение взаимосвязи развития латентной стафилококковой кишечной инфекции у ребенка, протекающей с проявлениями атопического дерматита на фоне вскармливания грудным молоком, является актуальным.

Цель работы: рассмотреть бактериологические и эпидемиологические аспекты бактериолактации в системе кормящая мать и ребенок с атопическим дерматитом.

Материалы и методы

За период 2012-2015 гг. было обследовано 527 семейных очагов стафилококковой инфекции, среди которых 463 пары кормящая мать + ребенок с атопическим дерматитом. Основным критерием отбора группы детей был возраст (от 1 мес. до 1,5 лет), а также наличие у детей атопического дерматита. Тяжесть проявлений атопического дерматита у детей характеризовалась в диапазоне 18-24 балла по шкале SCORAD. Группой сравнения были пары мать+ребенок с атопическим дерматитом с наличием как в фекалиях ребенка, так и с молоке матери *S.aureus* и *S.epidermidis* (гем+), но с условно стерильными пробами молока матери. Кроме того, в группу сравнения вошли дети с атопическим дерматитом, находящиеся на искусственном вскармливании (250 человек).

Посев грудного молока на стерильность проводили в соответствии с руководством [5]. В случае наличия в 1 мл молока 250 колониеобразующих единиц (КОЕ/мл) бактерий проба учитывалась, как немассивно обсемененная и диагностически незначимая. При обнаружении более 250 КОЕ/мл обсеменение считалось массивным и значимым. Обнаружение *S.aureus* в любом количестве считалось диагностически значимым.

Бактериологический анализ состава микрофлоры кишечника у детей осуществляли по схеме посева на дисбактериоз с использованием дифференциально-диагностических сред и критериев оценки изменений в соответствии с нормативными документами [7]. У обследуемого контингента в фекалиях учитывали высев коагулазоотрицательных стафилококков в количестве более 10^4 КОЕ/г. Для *S.aureus* любое количество считали диагностически значимым. *S.aureus*, *S.epidermidis* (гем+) и другие микроорганизмы дифференцировали и определяли чувствительность к антибиотикам с помощью баканализатора Vitek-2 (bioMerieux SA, France). Для идентификации видов бактерий методом MALDI-TOF MS использовали настольный масс-спектрометр Microflex с базой данных MALDI Biotyper (Bruker Daltonics Germany).

У выделенных стафилококков учитывали наличие плазмокоагулазы, лецитовителлазы и гемолизующей способности по отношению к эритроцитам крови человека.

Статистический анализ результатов выполняли на основе методов вариационной статистики с определением медианы и интерквартильного размаха в программах Microsoft Office Excel 2007 и Statistica 6.0. Достоверными считали показатели при $p \leq 0,05$.

Для решения поставленной задачи было проведено исследование, одобренное этическим комитетом ФБУН Ростовского научно-исследовательского института микробиологии и паразитологии.

Результаты и обсуждение

В предыдущих работах нами была определена косвенная роль родовспомогательных учреждений в поддержании на высоком уровне циркуляции стафилококков среди детей г. Ростова-на-Дону [2].

Всего обследовано 463 ребенка, в том числе в 2012 г. - 92, в 2013 г. – 100, в 2014 г. - 147 и в 2015 г. – 124. Стафилококки с повышенным патогенным потенциалом обнаружены соответственно в 67,3%, 88,0%, 90,0% и 95% случаев.

Анализ нарушений кишечной микробиоты детей за изучаемый период выявил стабильную доминирующую роль *Staphylococcus* spp., которые изолировались как в моновариантах, так и в ассоциациях чаще всего с представителями семейства Enterobacteriaceae. Так в 2014г. *S.aureus* выделялся из 83% проб, *S.epidermidis* (гем+) из 19%. В 2015г. *S.aureus* были обнаружены в 85%, *S.epidermidis* (гем+) – в 30% случаев.

Следует подчеркнуть факт значительного выделения этих стафилококков в указанные годы из ассоциаций, особенно с энтеробактериями (24,0% и 25%). Наиболее частыми ассоциантами стафилококков были представители родов *Klebsiella* и *Proteus* (по 12%).

При проведении анализа личных данных матерей и детей, а также их ближайших родственников, удалось установить внутрисемейную распространенность *S.aureus* и *S.epidermidis* (гем+).

Среди обследованных «семейных очагов» наиболее часто встречались пары: кормящая мать+ребенок (87,8±9,3%). Вторыми и третьими по распространенности были варианты: грудной ребенок+старшие дети (4,7±0,5%) и дети из двойни (2,8±0,3%). Другие варианты контактов среди родственников, выделяющих *S.aureus* или *S.epidermidis* (гем+), были незначительными и по совокупности не превышали 4,7±0,5%.

Обсеменение стафилококками при контакте матери и ребенка может осуществляться в следующих случаях: в родовых путях (при воспалительных заболеваниях половой системы); воздушно-капельным путем (при воспалительных заболеваниях ЛОР-органов матери); с кожных покровов (при гнойно-воспалительных заболеваниях кожи матери); при кормлении грудью (при мастите с наличием возбудителя в наружных молочных ходах, без соблюдения правил вскармливания) [5].

Анализ историй развития детей показал, что в г. Ростове-на-Дону среди детей с атопическим дерматитом и с обнаружением в кале *S.aureus* или *S.epidermidis* (гем+) достоверно преобладали дети, находящиеся на естественном вскармливании. В группе детей, у которых стафилококки не были выявлены, соотношение между группами грудного и искусственного вскармливания достоверно не отличалось. В связи с этим было проведено исследование грудного молока на стерильность. Среди проб молока были стерильными только 8,4±1,3%. Кормящие матери по возрасту были рандомизированы на 2 группы: мамы до 28 лет и мамы в возрасте старше 29 лет. Анализ данных показал, что пробы стерильного молока достоверно чаще встречались у матерей до 28 лет (69±2,1% всех стерильных проб). Среди положительных проб чаще всего были изолированы *S. aureus*, составляющие к 2015 году 85±1,6% от всех изолированных из грудного молока стафилококков.

Проведенный анализ выделения исследуемых стафилококков в парах «мать + ребенок» показал, что за анализируемый период наиболее часто встречались варианты: *S.epidermidis* (гем+) в молоке матери/*S.aureus* в фекалиях у ребенка и *S.aureus* в молоке матери *S.epidermidis* (гем+) в фекалиях ребенка (таб. 1).

Обращает на себя внимание рост в 2014 и 2015 годах ассоциаций стафилококков как у матерей, так и их детей. Помимо стафилококков в грудном молоке часто выявлялись в порядке убывания частоты выявления: *Candida* sp. (2-16%), *Klebsiella* sp. (9-12%), *Escherichia* sp. (1-7%), *Pseudomonas* sp. (1-6%). Позитивным в анализе было то, что, в целом, количество стерильных проб молока за анализируемый период повысилось. При общем снижении положительных на стафилококки проб молока доминирующим остается *S.aureus* (15%→31%→45%→85% по годам наблюдения соответственно). За анализируемый период условно-стерильные пробы грудного молока были зафиксированы от 2-х до 13,7 %. При этом в фекалиях детей этих женщин были обнаружены *S.aureus*.

Таблица 1.

Пары мать + ребенок с выделением стафилококков с повышенным патогенным потенциалом

Анализируемые группы: грудное молоко матери и её ребенок (фекалии)	Выявляемость вариантов за анализируемый период, M±m, %			
	2012 год	2013 год	2014 год	2015 год
Молоко с <i>S.aureus</i> и ребенок с гемолизующими <i>S.epidermidis</i>	50,7±2,3%	62,5±2,2%	46,4±2,3%	22,7±1,9%
Молоко с гемолизующими <i>S.epidermidis</i> и ребенок без выделения стафилококков	8,6±1,3%	6,5±1,1%	0	4,5±0,9%
В молоке матери и в фекалиях ребенка обнаружены гемолизующие <i>S.epidermidis</i>	12,1±1,5%	11,5±1,5%	10,7±1,5%	0
В молоке и в фекалиях ребенка обнаружен <i>S.aureus</i>	16,2±1,7%	17,5±1,8%	25±2%	31,8±2,2%
Молоко условно стерильное и у ребенка выделен <i>S.aureus</i>	12,4±1,5%	2±0,6%	0	13,7±1,6%
Молоко с <i>S.aureus</i> и гемолизующими <i>S.epidermidis</i> и ребенок с <i>S.aureus</i>	0	0	17,9±1,5%	0
Молоко с <i>S.aureus</i> и гемолизующие <i>S.epidermidis</i> и ребенок <i>S.aureus</i> и гемолизующие <i>S.epidermidis</i>	0	0	0	27,3±2,1%

Масс-спектрометрический анализ стафилококков, выделенных от детей и их матерей, показал аналогичность профилей с 80% и более совпадением паттернов. Отмечены незначительные различия показателей масс-спектрометра в пределах 2.000-2.299 между *S.aureus* и гемолизирующими *S.epidermidis* молока (19% образцов). «Неуверенность» MS-идентификации в отношении двух ведущих стафилококков может быть связана с индуцированной бактерицидными факторами грудного молока мутацией патогенов, что требует дальнейшего уточнения.

Схожесть выделенных стафилококков при парных исследованиях была обнаружена при изучении спектра антибиотикочувствительности изолятов бактерий (рис.1а, 1б, 1в).

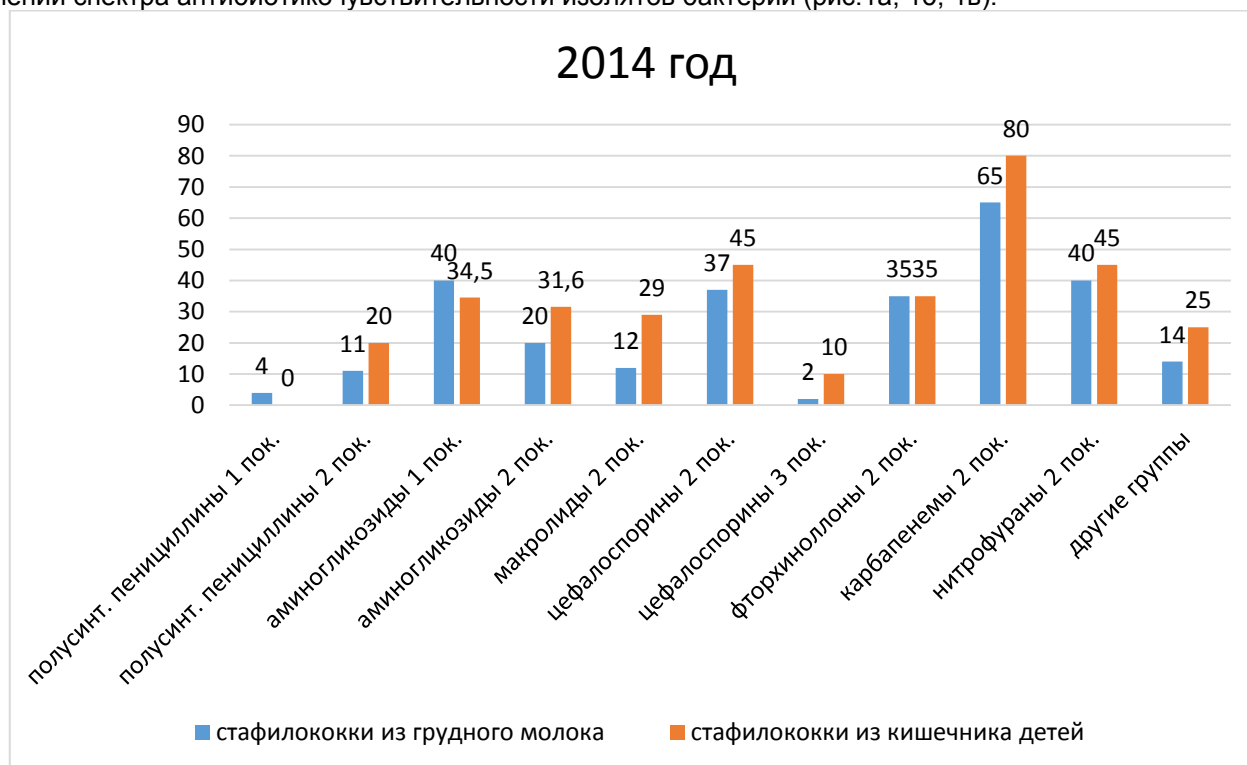


Рис.1а.

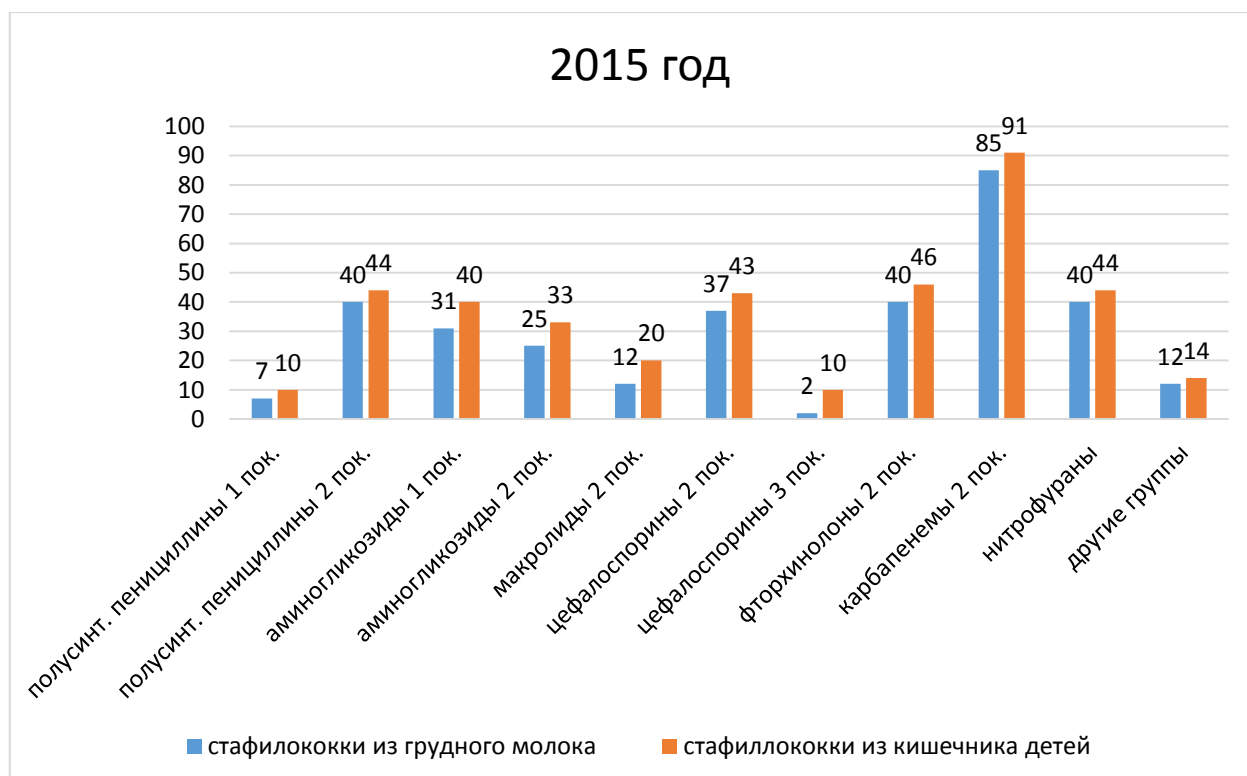


Рис.1б.

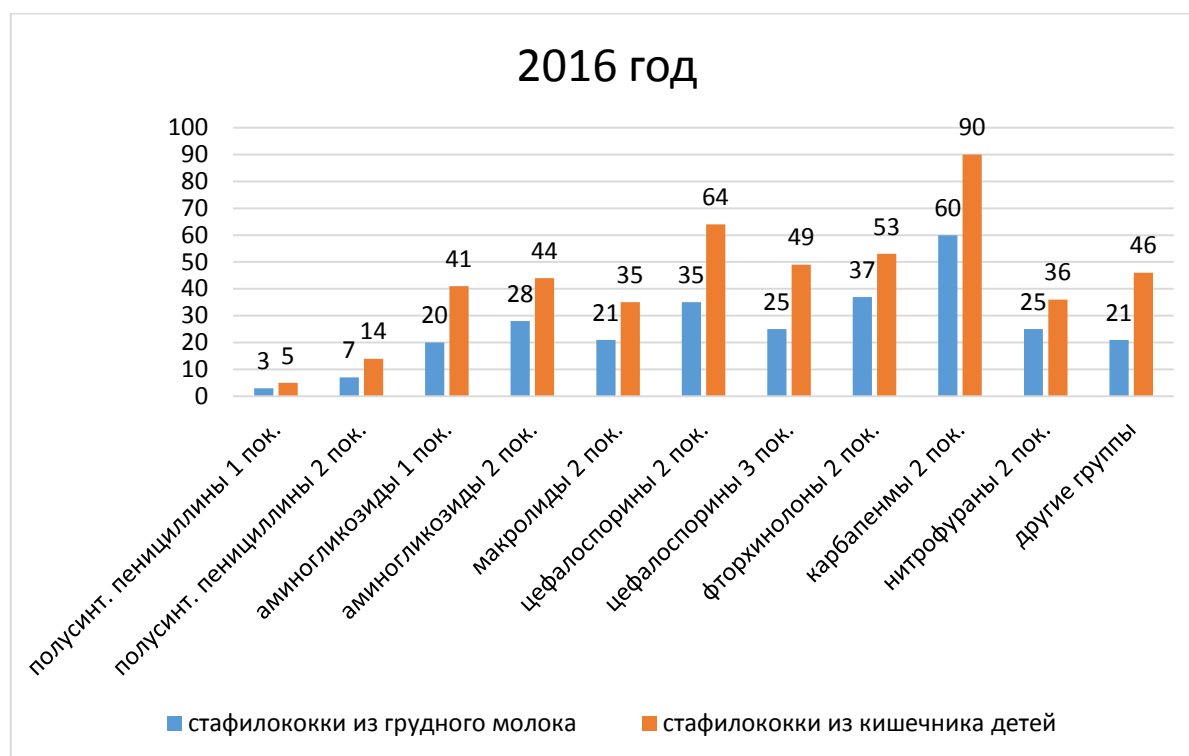


Рис.1в

Рис. 1а,1б, 1в. **Чувствительность к антибиотикам стафилококков с повышенным патогенным потенциалом, выделенных из кишечника детей с атопическим дерматитом и из грудного молока матерей (в процентах от общего количества положительных проб)**

Оценка профиля антибиотикочувствительности патогенных стафилококков показала общность по данному признаку штаммов, выделенных у матерей и их детей. Использование линейных фильтров наглядно представляет общие тенденции снижения чувствительности к группам антибиотиков, особенно в отношении более ранних поколений препаратов.

Заключение

S.aureus и *S.epidermidis* (rem+) занимают доминирующее место среди условно-патогенных микроорганизмов в системе «мать + ребенок с атопическим дерматитом». Наиболее вероятно, что мать является источником стафилококков для своего ребенка, что в свою очередь может стать причиной атопического дерматита у малыша. При обнаружении стафилококков с повышенным патогенным потенциалом остается открытым вопрос: «Как относится к причине заболевания ребенка: атопия или пиодермия?». Ответ приводит к выбору правильной тактики лечения.

Сходство культур, выделяемых в парах «мать + ребенок с атопическим дерматитом», может быть подтверждением источника заражения через инфицированное молоко матери.

Авторы статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования, о которой необходимо сообщить.

Литература

1. Алешукина А.В., Яговкин Э.А., Твердохлебова Т.И. Латентная стафилококковая инфекция, атопический дерматит и лактазная недостаточность у детей раннего возраста. Ростов-на-Дону: ООО «Издательство «ЮГ», 2014.- 80с.
2. Алешукина А.В., Голошва Е.В., Твердохлебова Т.И., Яговкин Э.А., Алешукина И.С. Выявляемость патогенных стафилококков в родовспомогательных учреждениях г. Ростове-на-Дону// Медицинский альманах. 2014. - 3 (13). – С.82.
3. Информационное письмо Атопический дерматит МЗ Московской области. Красногорск, 2008.
4. Лабинской А.С. ред., Костюковой Н.Н. ред., Ивановой С.М. ред. Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций М: БИНОМ,2010.- т.2.- С.156-174.
5. Методические рекомендации по бактериологическому контролю грудного молока МЗ СССР. М.,1984.- 32с.
6. Николаева И.В, Анохин В.А Стафилококковые инфекции в педиатрии // Практическая

медицина. – 2010. -2. – С.24-27.

7. Отраслевой стандарт «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» (ОСТ 91500.11.11.0004-2003) М., - 2003.- 173с.

8. Тренева М.С., Мунблит Д.Б., Пампура А.Н. Особенности цитокинового состава молозива и грудного молока у женщин с сенсибилизацией к небактериальным аллергенам // Рос. аллерг. журнал. – 2015. - №2.- С.52-8.

9. Фаттахова А.Р. Качественный состав грудного молока и особенности лактации у женщин с урогенитальной хламидийной, микоплазменной и герпетической инфекцией. Авторефер. дисс. канд.мед.наук. Казань., 2007.

10. Lawrence R.V., Pane C.A. Human Breast milk: current concepts of immunology and infections diseases. Curr.Probl.Pediatr.Adolesc. Health. Care. 2007; 7-36

11. Marek A. Zagierski M. Liberek A. et al. TGF-beta, IL-10 and IL-4 in colostrum of allergic and nonallergic mothers // Acta Biochim. Pol. 2009; - 56(3); - 411-4.

12. Pascolini C. Molecular and immunological characterization of Staphylococcus aureus in pediatric atopic dermatitis :implications for prophylaxis and clinical management // Clin. Dev. Immunol. 2011.-708-18

13. Pastuszka M, Microorganisms in the etiopathogenesis of Atopic Dermatitis // Prostep. Derm. Allergol. - 2012;.-29 (:3);- 215-21.

Сведения об авторах:

Отвественный автор: Алешукина Анна Валентиновна - доктор медицинских наук, заведующая лабораторией вирусологии, микробиологии и молекулярно-биологических методов исследования ФБУН «РостовНИИ микробиологии и паразитологии, Роспотребнадзора. адрес: 344000, Ростов-на-Дону, пер. Газетный 119. тел. 8(863) 2342933, E-mail: aaleshukina@mail.ru