

Е.И. Лиханская, Л.В. Пожалостина, Л.В. Феклисова, Н.М. Бочкарева

ВЫЯВЛЕНИЕ КРИПТОСПОРИДИЙ И ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМИ КИШЕЧНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора (Москва)
Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского (Москва)

В работе представлены результаты обследования 106 детей, больных острыми кишечными инфекциями на наличие криптоспоридий и состояния микрофлоры кишечника. Ооцисты криптоспоридий были обнаружены у 31 (29,2 %) обследованного ребенка, в основном в возрасте до 3-х лет. При этом выявлен дисбактериоз II–III степени у 92,5 % больных. После проведенного комплексного лечения с включением в терапию пробиотиков, содержащих лактобактерии, значительно уменьшилось выделение криптоспоридий – 6 (5,7 %), и улучшилось состояние микрофлоры кишечника – дисбактериоз II–III степени составил 36,8 %. Полученные результаты показали эффективность при лечении детей, больных ОКИ, пробиотиков, содержащих лактобактерии, для нормализации микрофлоры кишечника и эрадикации криптоспоридий.

Ключевые слова: криптоспоридии, микрофлора, кишечные инфекции

DETECTION OF CRYPTOSPORIDIUM AND CHARACTERIZATION OF THE INTESTINAL MICROFLORA IN CHILDREN WITH ACUTE INTESTINAL INFECTIONS

E.I. Likhanskaya, L.V. Pozhalostina, L.V. Feklisova, N.M. Bochkareva

Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after G.N. Gabrichevsky, Moscow
Moscow Regional Research Clinical Institute named after M.F. Vladimirovsky, Moscow

This paper presents results, which were obtained during investigation of 106 children with acute intestinal infections in order to determine the presence of cryptosporidia and to evaluate their intestinal microbial status. The cryptosporidia's oocysts were found in 31 of children (29,2 %) that were mainly under the 3 age old. At the same time the authors found the dysbacteriosis of the second and third degrees in 92,5 % of patients. Six patients (5,7 %) became cryptosporidium negative and improved their intestinal microbial status. The obtained results showed that lactobacterias containing probiotics are effective in treatment of children with acute intestinal infections for normalizing of intestinal biocenosis and to eradicate cryptosporidia.

Key words: cryptosporidia, microflora, intestinal infections

В последние десятилетия отмечается значительное изменение этиологической структуры острых кишечных заболеваний (ОКИ) в сторону возрастания роли условно-патогенных и мало изученных возбудителей, среди которых важное место занимает криптоспоридиоз [2, 6, 9].

Возрастание роли условно-патогенных возбудителей в возникновении ОКИ привлекло внимание исследователей к анализу состояния микробиocenоза кишечника, как одного из факторов антиинфекционной защиты макроорганизма [1, 7]. Возникло терапевтическое направление с использованием пробиотиков для коррекции микрофлоры кишечника при лечении больных ОКИ [5, 8].

Целью работы является выявление криптоспоридий и оценка состояния микробиocenоза кишечника у детей с острыми кишечными инфекциями различной бактериальной и вирусной этиологии, поступивших в специализированный стационар и получавших терапию пробиотиками.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находились 106 детей. Большую часть обследованных составляли дети до 3 лет (59,4 %). По нозологическим формам больные с ОКИ

неустановленной этиологии составляли 53 (50 %) человека, сальмонеллезом – 17 (16,0 %), острой дизентерией – 9 (8,5 %), ротавирусной инфекцией – 25 (23,6 %), т.е. преобладали больные с ОКИ неустановленной этиологии и ротавирусной инфекцией (73,6 %). По тяжести течения преобладали больные средней тяжести заболевания 84 (79,2 %).

Все дети были обследованы на ооцисты криптоспоридий и выявление дисбиотических нарушений микрофлоры кишечника. Исследования проводились 2-кратно в динамике заболевания при поступлении в стационар и после проведения лечения.

Ооцисты криптоспоридий выявляли путем модифицированной окраски мазков нативных фекалий карбол-фуксином по Цилю – Нельсену с последующим изучением препаратов с помощью иммерсионной микроскопии.

Исследование микрофлоры кишечника проводили согласно методическим рекомендациям «Применение бактериальных биологических препаратов в практике лечения больных кишечными инфекциями. Диагностика и лечение дисбактериоза кишечника» (М., 1986 г.) и оценивали по отраслевому стандарту ОСТ 91500.11.0004 – 2003, утвержденному приказом Минздрава России № 231 от 9 июня 2003 г.

Все больные обследовались 2-кратно в начале заболевания и после лечения. Лечение детей, наблюдавшихся в клинике, проводили в соответствии с общепринятыми принципами лечения больных с острыми диареями. Помимо базовой терапии применяли препараты флорин-форте и аципол. Препарат флорин-форте содержит *Bifidobacterium bifidum* (сорбированные на активированном угле) не менее 5×10^7 КОЕ/г, *Lactobacillus plantarum* 8P-A3, сорбированные на активированном угле — не менее 5×10^7 КОЕ/г и лактозу — до средней массы 0,85 г. Препарат аципол состоит из живых ацидофильных лактобацилл 1×10^7 КОЕ/г и полисахарида кефирного грибка 0,4 мкг. Учитывая данные экспериментальных исследований, свидетельствующие об антагонистической активности лактобактерий в отношении криптоспоридий можно предположить, что применение препаратов, содержащих лактобактерии, может привести к уменьшению выявления ооцист криптоспоридий при обследовании больных после лечения [3, 4].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Из 106 наблюдаемых детей, больных ОКИ, при первичном обследовании ооцисты криптоспоридий обнаружены у 31 (29,2 %) ребенка, при повторном — у 6 (5,7 %) детей, т.е. после лечения при повторном обследовании больных выявляе-

ние ооцист криптоспоридий резко уменьшилось (табл. 1).

При этом ооцисты криптоспоридий были обнаружены у больных с ОКИ неустановленной этиологии у 16 (30,2 %) при первичном обследовании и у 4 (7,5 %) при повторном; при сальмонеллезе у 5 (29,4 %) из 17, причем только при первичном обследовании; при острой дизентерии у 2 (22,2 %) из 9, только при первичном обследовании; при ротавирусной инфекции у 8 (32,0 %) при первичном обследовании и 2 (8,0 %) при повторном. Таким образом, наиболее часто ооцисты криптоспоридий обнаружены у детей, больных ротавирусной инфекцией и ОКИ неустановленной этиологии, причем при повторном обследовании после проведенного лечения полной эрадикации возбудителя не наблюдали.

Анализ возрастного состава детей, выделяющих ооцисты криптоспоридий, показал, что наиболее частое обнаружение ооцист криптоспоридий при первичном обследовании происходило у детей до 3-х лет — 20 (31,7 %) случаев. При повторном обследовании у детей до 3 лет ооцисты криптоспоридий обнаружены в 5 (7,9 %) случаях. У детей от 3 до 7 лет были обнаружены ооцисты криптоспоридий при первичном обследовании в 9 (26,4 %) случаях и при повторном в 1 (2,9 %) случае. В возрастной группе старше 7 лет ооцисты криптоспоридий обнаружены в 2-х (22,2 %) случаях только при первичном обследовании (табл. 2).

Таблица 1

Частота обнаружения криптоспоридий у детей, больных ОКИ

Нозология		Число больных	Обнаружение криптоспоридий		
			Всего	Первичное	Повторное
ОКИ неустановленной этиологии		53 (50,0 %)	20 (37,7 %)	16 (30,2 %)	4 (7,5 %)
Сальмонеллез		17 (16,0 %)	5 (29,4 %)	5 (29,4 %)	—
Острая дизентерия		9 (8,5 %)	2 (22,2 %)	2 (22,2 %)	—
Ротавирусная инфекция		25 (23,6 %)	10 (40,0 %)	8 (32,0 %)	2 (8,0 %)
Прочие заболевания		2 (1,9 %)	—	—	—
Итого	абс.	106	37	31	6
	%	100	34,9	29,2	5,7

Таблица 2

Обнаружение криптоспоридий у детей в различных возрастных группах

Возраст		Количество детей	Обнаружение криптоспоридий	
			первичное	повторное
От 0 до 3 лет,		63	20 (31,7 %)	5 (7,9 %)
в том числе	от 0 до 1 года	32 (50,8 %)	11 (34,4 %)	4 (15,6 %)
	от 1 года до 2 лет	18 (28,6 %)	7 (38,9 %)	1 (5,6 %)
	от 2 до 3 лет	13 (20,6 %)	2 (15,3 %)	—
3–7 лет		34	9 (26,4, %)	1 (2,9 %)
Старше 7 лет		9	2 (22,2 %)	—
Итого		106	31 (29,2 %)	6 (5,7 %)

Таким образом, по представленным данным видно, что криптоспоридии чаще наблюдали у детей до 3 лет как при первичном, так и при повторном обследовании.

Среди детей в возрастной группе до 3-х лет обнаружение ооцист криптоспоридий распределилось следующим образом: при первичном обследовании у детей от 0 до 1 года — 11 (34,4 %) случаев, от 1 года до 2 лет — 7 (38,9 %) случаев и от 2 до 3 лет — 2 (15,3 %). При повторном обследовании ооцисты криптоспоридий обнаружены у детей 0 — 1 года в 4 (15,6 %) случаях, от 1 до 2 лет — 1 (5,6 %) и от 2-х до 3-х лет не обнаружены (табл. 2).

Таким образом, ооцисты криптоспоридий чаще обнаруживали у детей первого и второго года жизни, как при первичном (73,3 %) так, и при повторном (21,2 %) обследовании.

С целью анализа состояния микробиоценоза кишечника у детей, больных ОКИ, было проведено исследование микрофлоры кишечника в динамике заболевания до и после проведенного комплексного лечения с применением пробиотиков. Определяли степени нарушения микробиоценоза кишечника, выявленные у наблюдаемых детей больных ОКИ (табл. 3).

Изучение бактериальной микрофлоры кишечника показало, что дисбактериоз I — III степени был выявлен у 106 больных (100 %), причем при первичном обследовании I степень дисбактериоза определена у 8 (7,5 %) детей, II степень — у 41 (38,7 %) ребенка, III степень — 57 (53,8 %) детей. При повторном обследовании I степень дисбактериоза определена у 67 (63,2 %) человек, II степень — у 29 (27,4 %) человек, III степень — у 10 (9,4 %) человек.

Таким образом, после проведенного лечения повторное обследование выявило значительное уменьшение глубоких дисбиотических нарушений кишечника III степени с 52,8 % до 9,5 % соответственно, и резкое возрастание минимальных изменений микрофлоры, определяемых как I степень дисбактериоза с 7,5 % до 63,2 % соответственно.

При различных нозологических формах при первичном обследовании преобладал дисбиоз кишечника III степени. После лечения повторное обследование показало значительное улучшение состояния микрофлоры кишечника, что выразилось в снижении количества детей с дисбактериозом III степени и увеличении изменений микрофлоры I степени. Тем не менее, при ОКИ неустановленной этиологии и ротавирусной инфекции III степень изменения кишечной микрофлоры осталась достаточно высокой 15,1 и 8 % соответственно. Так как ооцисты криптоспоридий чаще всего выделялись у больных детей именно с этими нозологическими формами заболевания можно предположить, что более медленная нормализация микрофлоры кишечника связана с этим фактором.

С целью характеристики микробиоценоза кишечника у детей, выделяющих криптоспоридии, были проанализированы данные состояния микрофлоры у 31 ребенка. При первичном обследовании у детей, выделяющих ооцисты криптоспоридии, обнаружены II степень (41,9 %) и III степень (58,1 %) дисбиотических изменений микрофлоры кишечника. После лечения при повторном обследовании обнаружены I степень (67,1 %), II степень (16,1 %), III степень (16,1 %) дисбиотических изменений микрофлоры кишечника.

Таким образом, наблюдали значительное улучшение состояния микрофлоры кишечника после лечения. Тем не менее, процент выявления дисбактериоза III степени (16,1 %) достаточно высок. Во всех случаях 2-кратного выделения детьми ооцист криптоспоридий микробиологические показатели кишечника соответствовали III степени дисбактериоза (при первичном и повторном обследовании). В одном случае ооцисты криптоспоридий обнаружили только при повторном обследовании, причем дисбиотические показатели были III степени, в то время как при первичном обследовании этого ребенка изменения флоры были II степени, т.е. состояние микрофлоры кишечника ухудшилось. Таким образом, у детей, повторно выделяющих

Таблица 3

Характеристика микробиоценоза кишечника у детей больных ОКИ

Нозология	Число больных	Выявление дисбиотических нарушений					
		первичное обследование			повторное обследование		
		I ст.	II ст.	III ст.	I ст.	II ст.	III ст.
ОКИ неустановленной этиологии	53	8 (15,1 %)	20 (37,7 %)	25 (47,2 %)	28 (52,8 %)	17 (32,1 %)	8 (15,1 %)
Сальмонеллез	17	—	7 (41,2 %)	10 (58,8 %)	12 (70,6 %)	5 (29,4 %)	—
Острая дизентерия	9	—	2 (22,2 %)	7 (77,8 %)	6 (66,7 %)	3 (33,3 %)	—
Ротавирусная инфекция	25	—	10 (40,0 %)	15 (60,0 %)	20 (80,0 %)	3 (12,0 %)	2 (8,0 %)
Прочие заболевания	2	—	2 (100 %)	—	1 (50,0 %)	1 (50,0 %)	—
Итого	абс	106	8	41	57	67	29
	%	100	7,5	38,7	53,8	63,2	27,4

ооцисты криптоспоридии, во всех случаях был дисбактериоз III степени. Повторно ооцисты криптоспоридий были выявлены в 6 случаях, причем у детей с ОКИ неустановленной этиологии и ротавирусной инфекцией (7,5 и 8,0 % соответственно). И именно в этих группах обследованных детей сохранилась III степень дисбиотических нарушений кишечника.

Дисбиотические изменения микрофлоры кишечника у детей, выделяющих криптоспоридии, характеризовались снижением содержания *E. coli* по сравнению с нормой в 100 % случаев при первичном обследовании и в 35,4 % — при повторном, и появлением кишечной палочки со сниженной ферментативной активностью при первичном обследовании у 12 (38,7 %) детей, при повторном обследовании — у 3-х (9,7 %). Гемолизические *E. coli* были выявлены при первичном обследовании у 11 (35,5 %) детей и при повторном — у 4-х (12,9 %).

При первичном обследовании детей, выделяющих ооцисты криптоспоридий, обнаруживали условно-патогенные энтеробактерии $\geq 10^5$ у 16 (51,7 %) детей, причем чаще выделяли микробы рода *Klebsiella* — 8 (25,8 %), на втором месте по частоте обнаруживали *Citrobacter* — у 5 (16,1 %) случаев, другие микроорганизмы были выделены у 3-х (9,8 %) детей. При повторном обследовании условно-патогенные энтеробактерии $\geq 10^5$ обнаружены у 5 (16,2 %) детей, причем микробы рода *Klebsiella* — у 3-х (9,7 %), а *Citrobacter* — у 2-х (6,5 %).

У детей при первичном обследовании были обнаружены стафилококки в фекалиях у 13 (41,9 %), причем золотистый стафилококк — у 9 (29,0 %) детей и сапрофитный — у 4-х (12,9 %) из них, в 3-х (9,8 %) случаях — гемолизирующий. При повторном обследовании у 1 (3,2 %) ребенка золотистый стафилококк и сапрофитный — у 1 (3,2 %) ребенка. Гемолизирующие стафилококки были обнаружены только при первичном обследовании — у 3-х (9,8 %) детей.

Микробы рода Кандида в концентрации 10^6 КОЕ/г фекалий при первичном обследовании были у 5 (16,1 %) обследованных, при повторном обследовании — у 1 (6,4 %) ребенка.

Снижение количества бифидофлоры $\leq 10^7$ у детей, выделяющих ооцисты криптоспоридий, составило при первичном обследовании 23 (74,2 %) случая, при повторном обследовании — 7 (22,5 %). Снижение лактобактерий $\leq 10^5$ при первичном обследовании составило 29 (93,5 %) случаев, при повторном обследовании — 5 (16,1 %).

Из 31 ребенка, обследованного на наличие ооцист криптоспоридий при повторном обследовании у 6 (19,4 %) человек выделяли ооцисты криптоспоридий. Микробиоценоз кишечника этих детей соответствовал II степени (6,5 %) и III степени (12,9 %).

На основании проведенного клинико-лабораторного анализа только у 3 из 31 (9,7 %) наблюдавшегося ребенка, выделяющего криптоспоридии,

можно было обосновать диагноз криптоспориозной инфекции. Клиническая картина при этом соответствовала среднетяжелому течению заболеваний. В других случаях обнаружение криптоспоридий расценивали как субклиническую форму болезни на фоне другой патологии со стороны желудочно-кишечного тракта с явлениями выраженного дисбактериоза кишечника.

Во всех случаях включения препаратов флорин-форте и аципол флорин-форте и аципол в схему лечения был получен положительный эффект. Происходило улучшение состояния микрофлоры кишечника, уменьшение выделения ооцист криптоспоридий и благоприятное клиническое течение заболевания у обследованных больных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенные комплексные исследования позволили выявить наличие ооцист криптоспоридий у 29,2 % детей, поступивших в стационар с ОКИ, причем наиболее часто выделяли возбудителя больные с ОКИ неустановленной этиологии и ротавирусной инфекцией. При этом установлено, что наиболее подвержены инвазии дети первых 2-х лет жизни. Однако клинически обосновать диагноз можно было только у 3-х больных из 31, выделяющего возбудителя. В других случаях обнаружение криптоспоридий расценивали как субклиническую форму болезни на фоне другой патологии со стороны желудочно-кишечного тракта.

Анализ состояния микробиоценоза кишечника у детей, больных ОКИ показал наличие глубоких изменений микрофлоры, определяемых как дисбактериоз II и III степени. Отмечены наиболее глубокие изменения состояния микрофлоры у детей, экскретирующих ооцисты криптоспоридий.

Проведенное комплексное лечение детей, больных ОКИ, с включением в терапию пробиотиков, содержащих лактобактерии, привело к значительному уменьшению дисбиотических проявлений со стороны кишечной микрофлоры и снижению выделения криптоспоридий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дехнич А.В. Клинические и микробиологические аспекты криптоспориоза // Клиническая микробиол. и антимикроб. химиотерапия. — 2000. — Т. 2, № 3. — С. 54–57.
2. Криптоспориоз: эпидемиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение / О.С. Партин [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2001. — № 5.
3. Ткаченко Е.И. Суворов А.Н., Дисбактериоз кишечника. Руководство по диагностике и лечению. — СПб., 2007. — 237 с.
4. Феклисова Л.В. Оптимизация результатов лечения детей, больных ОКИ, при использовании отечественных биологических микробных препаратов // Вестник РАМН. — 2005. — № 12. — С. 17–24.

5. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология: некоторые итоги и перспективы исследований // Вестник РАМН. — 2005. — № 12. — С. 13—17.
6. Lopes-Veles R., Tarazona R., Gracia Camacho A. // Eur. J. Clin. Infect. Dis. Microbiol. — 1995. — Vol. 14. — P. 667—681.
7. Patel S., Pedraza-Diaz S., McLauchlin J. The identification of *Cryptosporidium* species and *Cryptosporidium parvum* directly from whole faeces by analysis of a multiplex PCR of the 18S rRNA gene and by PCR/RELP of the *Cryptosporidium* outer wall protein (COWP) gene // Int. J. Parasitol. — 1999. — Vol. 29. — P. 1241—1247.
8. Saavedra J.M., Use of Probiotics in Pediatrics; Rationale Mechanisms of Action and Practical Aspects // Nutr. Clin. Pract. — 2007. — Vol. 22 (3). — P. 351—365.
9. Wolf Bryan Warren, Garleb Keith Allen Lactobacillus reuteri to inhibit cryptosporidiosis in mammals: Пат. 6103227 США МКИ № 081880240; заявл.23.06.97. Опубл. 15.08.00 НКИ 424/93.45.

Сведения об авторах

Лиханская Елена Ивановна – научный сотрудник лаборатории микробиологии и профилактики кишечных инфекций Московского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского (125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 10; тел. 8(495) 452-18-10)

Пожалостина Любовь Владимировна – кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией микробиологии и профилактики кишечных инфекций Московского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского (125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 10; тел. 8(495) 452-18-10)

Феклисова Людмила Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отделения детских инфекций Московского областного научно-исследовательского клинического института им. М.Ф. Владимирского (110129, Москва, ул. Щепкина, 61/2; тел. 8(499) 268-22-26)

Бочкарева Наталья Михайловна – младший научный сотрудник отделения детских инфекций Московского областного научно-исследовательского клинического института им. М.Ф. Владимирского (110129, Москва, ул. Щепкина, 61/2; тел. 8(499) 268-22-26)