

ЭТАПНЫЙ АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОСТРЫХ ДИАРЕЙ ДЛЯ ВЕРИФИКАЦИИ ДИАГНОЗА У ВЗРОСЛЫХ ПАЦИЕНТОВ

Е.А. Кожухова¹, Н.В. Андреева², В.Д. Иващенко¹

¹Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

²СПб ФГБУЗ Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. У 264 взрослых больных, госпитализированных с острой диареей в форме средней тяжести, проведено сопоставление клинической симптоматики с результатами выявления энтеропатогенов различными методами диагностики. В период эпидемиологического неблагополучия по дизентерии (2002–2004 гг.) для детекции энтеропатогенов у 91 пациента использовали: культуральный метод (клинический материал — фекалии) и метод выявления специфических сывороточных антител (для детекции *Shigella* spp. и *Salmonella* spp.); метод ИФА (для детекции ротавирусного антигена в фекалиях). В период эпидемиологического благополучия по дизентерии (2009–2011 гг.) исследование клинического материала 173 больных, у которых в симптоматике ОКИ был документирован синдром колита (по результатам копроцитоскопического и/или ректороманоскопического исследования), проводили выше названными методами и дополнительно методом ПЦР (клинический материал — фекалии) набором «Амплисенс® ОКИ скрин-FL» (Интерлабсервис, Россия). Выявили, что у пациентов, у которых в период эпидемиологического неблагополучия по дизентерии обнаруживали только ротавирусный антиген (РВА), и тех, у кого наряду с РВА выявляли *Shigella* spp. культуральным методом, отсутствовали существенные отличия клинически значимых количественных и частотных показателей (в том числе частота наличия синдрома колита). Это позволило предположить возможную гиподиагностику микст-ОКИ при невыявленном использованными методами бактериальном возбудителе. Дополнительное использование ПЦР-метода позволило выявить *Campylobacter* spp. и диагностировать протекавший по типу острой диареи кампилобактериоз, расцененный как основное заболевание и преимущественно в виде моноинфекции — у каждого пятого больного (20,8%), а как сопутствующее при микст-ОКИ — у 4% больных. При наличии в симптоматике синдрома колита использование ПЦР-метода позволило выявить *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. у каждого третьего больного, а *Shigella* spp. и ассоциации энтеропатогенов — у каждого 5-го пациента. Прицельный анализ выявленных энтеропатогенов у обследованных в период эпидемиологического благополучия по дизентерии 15 больных с положительным результатом на ротавирус показал, что у 6 из них (40% пациентов) имела место детекция ассоциации ротавируса с маркерами других, в подавляющем большинстве бактериальных (у 5 из 6 человек), патогенов. Таким образом, у взрослых больных острой диареей с синдромом колита целесообразно комплексное (с включением ПЦР-метода) обследование для расширения возможности детектировать не только вирусные, но и бактериальные способные вызывать колит, энтеропатогены.

Ключевые слова: острая диарея, ассоциация энтеропатогенов, культуральный метод, иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция.

Адрес для переписки:

Кожухова Елена Алексеевна
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6/8,
ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова.
Тел./факс: 8 (812) 338-70-58, 234-47-98;
8 (905) 221-05-98 (моб.).
E-mail: elko35@gmail.com

Contacts:

Elena A. Kozhukhova
197022, Russian Federation, St. Petersburg, L'va Tolstogo str., 6/8,
Pavlov First St. Petersburg State Medical University.
Phone/fax: +7 (812) 338-70-58, 234-47-98;
+7 (905) 221-05-98 (mobile).
E-mail: elko35@gmail.com

Библиографическое описание:

Кожухова Е.А., Андреева Н.В., Иващенко В.Д. Этапный анализ результатов выявления возбудителей острых диарей для верификации диагноза у взрослых пациентов // Инфекция и иммунитет. 2016. Т. 6, № 4. С. 379–383. doi: 10.15789/2220-7619-2016-4-379-383

Citation:

Kozhukhova E.A., Andreeva N.V., Ivaschenko V.D. Open ended results of acute diarrhea agent detection to verify diagnosis in adult cases // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2016, vol. 6, no. 4, pp. 379–383. doi: 10.15789/2220-7619-2016-4-379-383

OPEN ENDED RESULTS OF ACUTE DIARRHEA AGENT DETECTION TO VERIFY DIAGNOSIS IN ADULT CASES

Kozhukhova E.A.^a, Andreeva N.V.^b, Ivaschenko V.D.^a

^a Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

^b Hospital named after S.P. Botkin for Infectious Diseases in Adults, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. In 264 adult acute diarrhea cases with moderate course it was analyzed both symptoms and agents detected by different methods: in 91 cases (examined in the period of shigellosis high incidence level) — by culture and serologic (specific antibodies detection) methods to detect *Shigella* spp. and *Salmonella* spp. plus ELISA method to detect rotavirus antigen in feces; in 173 cases (examined in the period of shigellosis low incidence level) — by above mentioned methods plus PCR based method. Data obtained in the period of shigellosis high incidence level have shown that there has been no significant difference in clinical scores (including colitis frequency) between cases positive only for rotavirus antigen and those positive both for rotavirus antigen and *Shigella* spp. culture. That let suspect that acute diarrhea had been likely to be caused by association of rotavirus with any bacterial agent undetected by the methods used. PCR-based diagnostic method additionally used (in the period of shigellosis low incidence level) resulted in detection of *Campylobacter* spp. accounted for campylobacteriosis as mono infection in 20,8% cases and as mixed infection (in association with other enteropathogens) — in 4% cases. In cases with colitis the additional usage of PCR-based diagnostic method resulted in *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. detection in every third case, *Shigella* spp. and agent association detection — in every fifth case. The target analysis of enteropathogens detected in 15 cases positive for rotavirus (examined in the period of shigellosis low incidence level) has shown that in 6 of them there has been detected association of rotavirus with other agents predominantly bacterial ones (in 5 of 6 cases). So, the PCR method might be quite useful to broaden the spectrum of detected enteropathogens in adult acute diarrhea cases especially in those with colitis syndrome available.

Key words: acute diarrhea, enteropathogen association, culture method, ELISA method, PCR-based method.

Введение

Острые кишечные инфекции (ОКИ) остаются серьезной проблемой здравоохранения: они повсеместно распространены, достаточно высококонтагиозны, полиэтиологичны и трудно контролируемы [2]. На фоне развивающихся возможностей лабораторной верификации диагноза все еще весомой остается доля нерасшифрованных ОКИ, имеют место колебания заболеваемости острыми диареями (ОД) различной этиологии, непрогнозируемая смена ведущих сероваров возбудителей, иногда с увеличением частоты тяжелых форм заболевания. Широкое в последнее время использование молекулярно-биологических диагностических методов для детекции возбудителей ОД [4, 6] привело к заметному увеличению частоты регистрации ОКИ вирусной этиологии. Это обстоятельство требует пристального внимания, особенно в случаях, когда в клинической симптоматике у больных документируют проявления, не свойственные вирусным диареям, патогенетически протекающим по типу гастроэнтерита [7, 8]. В этой связи особую значимость приобретает необходимость корректной интерпретации результатов выявления энтеропатогенов, влияющей на тактику ведения больных и на представление о текущей эпидситуации [1, 9].

Цель исследования — сопоставить симптоматику острой диареи у взрослых больных с результатами выявления энтеропатогенов различными используемыми для верификации диагноза методами.

Материалы и методы

С учетом клинической симптоматики анализировали результаты детекции энтеропатогенов у 264 взрослых больных формой средней тяжести ОКИ. В период эпидемиологического неблагополучия по дизентерии (2002–2004 гг.) при использовании культурального метода (с применением сред Плоскирева, Левина, Мюллера, Кауфмана) и метода определения специфических антител в сыворотке крови (с комплексным дизентерийным и сальмонеллезным антигенами), а также иммуноферментного метода (для детекции ротавирусного антигена (РВА) в фекалиях больного), сравнивали клинически значимые показатели отобранных методом случайной выборки 59 больных, у которых удалось обнаружить только РВА, и 32 пациентов, у которых наряду с РВА выявляли рост шигелл (у 71,9% больных — *S. flexneri*, у 21,9% — *S. sonnei*, у 3,1% — ассоциацию *S. flexneri* и *S. sonnei*, у 3,1% — *S. boydii*). В период эпидемиологического благополучия по дизентерии (2009–2011 гг.) анализ результатов выявления энтеропатогенов проводили у 173 больных острой диареей, у которых диагностировали синдром колита. Для детекции возбудителей ОКИ в клиническом материале больных этой группы дополнительно к вышеперечисленным методам использовали метод ПЦР-диагностики набором «Амплиценс® ОКИ скрин-FL» (Интерлабсервис, Россия).

Анализ проводили непараметрическими методами (пакет программ SPSS, 12 версия; пакет

программ SAS) с использованием таблиц сопряженности (для частотных характеристик) и точного критерия Фишера, а также критерия Манна–Уитни для оценки значимости различий медианных значений количественных переменных.

Результаты и обсуждение

Частотные характеристики основных показателей (социальный статус, пол, наличие сопутствующей патологии, симптоматика, реакция лейкоцитов периферической крови) пациентов, у которых в период эпидемиологического неблагополучия по дизентерии обнаруживали только РВА, и тех, у кого наряду с РВА выявляли рост шигелл, не имели значимых отличий. В том числе отсутствовала существенная разница и в частоте диагностики синдрома колита (табл. 1).

При сопоставлении количественных характеристик (длительность лихорадки, патологического стула, день болезни при поступлении, показатели клинического анализа периферической крови, уровень креатинина, тест ЛИИ) разницу получили только в относительном содержании палочкоядерных лейкоцитов [Me (25%,75%): 13,0 (10,0; 16,0)% и 17,0 (12,0; 24,0)%, $p < 0,05$] и эозинофилов [Me (25%,75%): 1,0 (0,0; 2,0)% и 0,0 (0,0; 1,0)%, $p < 0,05$] у больных с позитивной реакцией на РВА и у больных с выявленными и РВА, и шигеллой соответственно. Таким образом, отсутствие в сравниваемых группах заболевших существенных отличий практически по всем клинически значимым показателям позволило предположить у больных, у которых по результатам стандартного комплексного обследования удалось обнаружить только РВА в фекалиях, вероятность микст вирусно-бактериальной инфекции при не выявленном использованными методами бактериальном возбудителе. В соответствии с основными принципами микстинфектологии состояние латенции и персистенции, свойственное облигатным внутриклеточным паразитам (к которым относится большинство энтеропатогенов), — это путь к возникновению ассоциированных состояний с образованием так называемого двойного патогена, который может изменять, в том числе в сторону утяжеления, форму и структуру инфекционного процесса [3]. Вероятно у больных ОД, у которых обнаруживают только РВА в фекалиях методом ИФА, не дающим 100%-ной возможности диагностировать текущую ротавирусную инфекцию, при выявлении синдрома колита следует максимально расширять режим обследования на маркеры возбудителей ОКИ, патогенетически способных его вызывать.

ТАБЛИЦА 1. ЧАСТОТА СИНДРОМА КОЛИТА В ГРУППАХ БОЛЬНЫХ, СРАВНИВАЕМЫХ ПО РЕЗУЛЬТАТУ ДЕТЕКЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОКИ (2002–2004 гг.)

Группы больных по результату детекции возбудителей ОКИ	Показатели	Наличие колита		Всего
		Есть	Нет	
РВА(+) в ИФА + рост <i>Shigella</i> spp.	N	30	1	31*
	%	96,8	3,2	100,0
РВА(+) в ИФА	N	52	7	59
	%	88,1	11,9	100,0
Всего	N	82	8	90
	%	91,1	8,9	100,0
p = 0,2				

Примечание. * У одного пациента этой группы отсутствовали результаты копрограммы и ректороманоскопии.

Дополнительное использование ПЦР метода в период эпидемиологического благополучия по дизентерии позволило выявить у больных с диагностированным синдромом колита достаточно широкий спектр энтеропатогенов (табл. 2).

В этой группе пациентов именно метод ПЦР-диагностики позволил выявить *Campylobacter* spp. и диагностировать протекавший по типу ОД кампилобактериоз, который расценили как основное заболевание и преимущественно в виде моноинфекции у каждого пятого больного (20,8%), а как сопутствующее при микст-ОКИ — у 4% больных.

ТАБЛИЦА 2. СПЕКТР ВЫЯВЛЕННЫХ ЭНТЕРОПАТОГЕНОВ У БОЛЬНЫХ С ДИАГНОСТИРОВАННЫМ СИНДРОМОМ КОЛИТА ПРИ ДОПОЛНИТЕЛЬНОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПЦР-МЕТОДА ДИАГНОСТИКИ (2009–2011 гг.)

Энтеропатоген	N	%
Шигелла	19	11,0
Кампилобактер	36	20,8
Сальмонелла	31	17,9
Эшерихия	8	4,6
Ротавирус	9	5,2
Астровирус	2	1,2
Норовирус	30	17,3
Бактериальная ассоциация	24	13,9
Бактериально-вирусная ассоциация	9	5,2
Вирусная ассоциация	1	0,6
Не выявлено	4	2,3
Всего больных	173	100

ТАБЛИЦА 3. СПЕКТР ВЫЯВЛЕННЫХ ВИРУСНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОКИ У БОЛЬНЫХ С ДИАГНОСТИРОВАННЫМ СИНДРОМОМ КОЛИТА (2009–2011 гг.)

Выявленный возбудитель ОКИ	N	%
<i>Бактериально-вирусная ассоциация</i>		
<i>S. flexneri</i> ² + ротавирус	2	18,2
<i>S. Enteritidis</i> ⁴ + ротавирус (ПЦР)	1	9,1
<i>S. Typhimurium</i> ⁴ + норовирус	1	9,1
<i>S. flexneri</i> ¹ + ротавирус (ПЦР)	1	9,1
<i>Shigella</i> spp. ³ + астровирус	1	9,1
<i>Campylobacter</i> spp. ³ + астровирус	1	9,1
<i>S. flexneri</i> ⁴ + <i>Campylobacter</i> spp. ³ + ротавирус ИФА	1	9,1
<i>Campylobacter</i> spp. ³ + норовирус	3	27,3
Всего	11	100,0
<i>Только вирусный возбудитель ОКИ</i>		
ротавирус	9	20,9
ротавирус + норовирус	1	2,3
астровирус	3	7,0
норовирус	30	69,8
Всего	43	100,0

Примечание. Методы выявления: ¹ культуральный; ² выявление специфических АТ в сыворотке крови; ³ ПЦР; ⁴ культуральный и ПЦР.

Из вирусных патогенов наряду с ротавирусом наиболее часто имела место детекция норовируса: как основное заболевание острую норовирусную моноинфекцию диагностировали у 17,3% больных, как сопутствующую при микст-ОКИ — у 8,1% пациентов. Ассоциации различных энтеропатогенов в клиническом материале больных этой группы выявляли практически у каждого пятого пациента (19,7%). Иллюстрацией трудностей, с которыми сталкиваются врачи при трактовке результатов расширенного лабораторного обследования, является разнообразие вариантов

формулирования окончательного диагноза. Часть вариантов формулирования, обусловленных симптоматикой и детекцией маркеров только вирусных патогенов (например, «Норовирусный энтероколит», «Астровирусный ГЭК», «Ротавирусная инфекция по типу ГЭК», «Ротавирусный ГЭК, сопутствующая норовирусная инфекция»), входит в определенное противоречие с представлениями об ОКИ вирусной этиологии [5]. Прицельный анализ случаев ОД с положительным результатом на вирусный энтеропатоген (54 человека), показал, что у каждого пятого больного этой группы (20,4%) имела место детекция ассоциации вирусно-бактериальных возбудителей ОКИ (табл. 3).

В группе 15 больных с положительным результатом на ротавирус у 6 из них имела место детекция ассоциации ротавируса с маркерами других, в подавляющем большинстве бактериальных (у 5 из 6 человек), энтеропатогенов.

Выводы

У взрослых больных острой диареей с колитическим синдромом, у которых при рутинном обследовании обнаруживают только маркеры вирусных энтеропатогенов, следует считать целесообразным дополнительный настойчивый поиск маркеров бактериальных возбудителей, патогенетически способных вызывать колит.

Комплексное (с включением ПЦР-метода) специфическое лабораторное обследование взрослых больных ОКИ позволяет расширить возможности детекции маркеров как вирусных, так и бактериальных энтеропатогенов, но требует патогенетически корректной (с учетом клинической симптоматики) интерпретации результатов для обоснованной тактики ведения пациентов.

Список литературы/References

1. Бахтояров Г.Н., Лободанов С.А., Марова А.А., Мескина Е.Р., Зверев В.В., Файзулоев Е.Б. Определение генетической структуры ротавирусов группы А // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2012. № 6 (67). С. 35–39. [Bahtoyarov G.N., Lobodanov S.A., Marova A.A., Meskina E.R., Zverev V.V., Phaizuloiev E.B. Determination of the genetic structure of group A rotaviruses circulating in the Moscow region, by PCR in real time. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2012, no. 6 (67), pp. 35–39. (In Russ.)]
2. Лобзин Ю.В., Огарков П.И., Сиволодский Е.П., Корольков В.Ф., Речкин В.И., Семешенко И.Е., Финогеев Ю.П., Захаренко С.М., Винакмен Ю.А. Дизентерия и другие острые кишечные диарейные инфекции. Указания по диагностике, лечению и профилактике в ВС РФ. М., 2000. 197 с. [Lobzin Yu.V., Ogarkov P.I., Sivolodskii E.P., Korol'kov V.F., Rechkin V.I., Semeshchenko I.E., Finogeev Yu.P., Zakharenko S.M., Vinakmen Yu.A. Dizenteriya i drugie ostrye kishhechnye diareinye infektsii. Ukazaniya po diagnostike, lecheniyu i profilaktike v VS RF [Dysentery and other acute diarrheal intestinal infections. Guidelines on diagnostics, treatment and prevention in military forces of RF]. *Moscow*, 2000, 197 p.]
3. Миллер Г.Г. Микстинфектология. Основные понятия, направления исследований, клиническое и общебиологическое значение (лекция) // Клиническая лабораторная диагностика. 2002. № 6. С. 25–32. [Miller G.G. Mixed infections. Basic determinations, research directions, clinical and biological burden (lecture). *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Clinical Laboratory Diagnostics*, 2002, no. 6, pp. 25–32. (In Russ.)]
4. Яковлев А.А., Погромская М.Н., Федуняк И.П., Мусатов В.Б., Кутузов В.Н., Горбова И.В., Кафтырева Л.А., Коржавев Ю.Н., Петрова Л.В. Этиологическая характеристика и практические уроки крупнй вспышки острой кишечной

- инфекции среди трудовых мигрантов // Журнал инфектологии, 2013, № 4. С. 55–60. [Yakovlev A.A., Pogromskaya M.N., Fedunyak I.P., Musatov V.B., Kutuzov V.N., Gorbova I.V., Kaftyreva L.A., Korzhaev Yu.N., Petrova L.V. Etiological characteristics and practical lessons of a major outbreak of acute intestinal infection among migrant workers. *Zhurnal infektologii = Journal of Infectology*, 2013, no. 4, pp. 55–60. (In Russ.)]
5. Ajami N.J., Koo H.L., Darkoh C., Atmar R.L., Jiang Z.D., DuPont H.L. Characterization of norovirus-associated travelers' diarrhea. *Clin. Infect. Dis.*, 2010, vol. 51, no. 2, pp. 123–130. doi: 10.1086/653530
 6. Dutta S., Chatterjee A., Dutta P., Rajendran K., Roy S., Pramanik K.C., Bhattacharya S.K. Sensitivity and performance characteristics of a direct PCR with stool samples in comparison to conventional techniques for diagnosis of Shigella and enteroinvasive Escherichia coli infection in children with acute diarrhoea in Calcutta, India. *J. Med. Microbiol.*, 2001, vol. 50, no. 8, pp. 667–674. doi: 10.1099/0022-1317-50-8-667
 7. Koo H.L., Ajami N., Atmar R.L., DuPont H.L. Noroviruses: the leading cause of gastroenteritis worldwide. *Discov. Med.*, 2010, vol. 10, no. 50, pp. 61–70.
 8. Thouillot F., Delhostal C., Edel C., Bettinger A., Pothier P., Ambert-Balay K., Meffre C., Alsibai S. Gastroenteritis outbreaks in elderly homes in the east of France during winter 2009/10: aetiology research for a series of 37 outbreaks. *Euro Surveill.*, 2012, vol. 17, iss. 9: pii=20103. URL: www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20103
 9. Trop Skaza A., Beskovnik L., Zohar Cretnik T. Outbreak of rotavirus gastroenteritis in a nursing home, Slovenia. *Euro Surveill.* 2011, vol. 16, iss. 14: pii=19837. URL: www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19837

Авторы:

Кожухова Е.А., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории хронических вирусных инфекций НИЦ при кафедре инфекционных болезней и эпидемиологии ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия;

Андреева Н.В., врач-инфекционист организационно-методического отдела инфекционной службы СПбФГБУЗ Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина, Санкт-Петербург, Россия;

Иващенко В.Д., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории хронических вирусных инфекций НИЦ при кафедре инфекционных болезней и эпидемиологии ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Kozhukhova E.A., PhD (Medicine), Senior Researcher, Chronic Viral Infection Laboratory of the Research Center (Branched from Infectious Diseases and Epidemiology Department), Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation;

Andreeva N.V., Physician, Organizational and Methodical Department Of Infectious Disease Service, Hospital named after S.P. Botkin for Infectious Diseases In Adults, St. Petersburg, Russian Federation;

Ivaschenko V.D., PhD (Medicine), Senior Researcher, Chronic Viral Infection Laboratory of the Research Center (Branched from Infectious Diseases and Epidemiology Department), Pavlov First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 14.04.2016
Принята к печати 28.04.2016

Received 14.04.2016
Accepted 28.04.2016