

# ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУСНЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ У ДЕТЕЙ

**Р.К. Бабик**

*Челябинская государственная медицинская академия, г. Челябинск*

В этиологической структуре острых кишечных инфекций 1378 детей, госпитализированных в детскую клиническую больницу №8 г. Челябинска в 2005–2009 гг., определен основной вклад вирусов. Сравнительная оценка информативности методов диагностики кишечных инфекций показала эффективность ПЦР кала. Изучены особенности течения моно- и сочетанных форм рота-, норо-, адено-, астровирусных кишечных инфекций. Отмечен дисбаланс про- и противовоспалительных цитокинов в возрастном аспекте, при тяжелых и сочетанных формах вирусных инфекций.

*Ключевые слова: рота-, норо-, адено-, астровирусы, кишечная инфекция, ПЦР-диагностика, цитокины, дети.*

Высокий уровень заболеваемости острыми кишечными инфекциями (ОКИ) детей определяет актуальность проблемы их этиологической диагностики [1, 2, 4]. Однако в практическом здравоохранении спектр исследований зачастую ограничен выявлением бактериальной, условно-патогенной флоры и ротавирусов, что не позволяет эффективно решать вопросы определения других возбудителей, соответственно, и выбора этиотропной терапии ОКИ. Вклад других возбудителей ОКИ в 65–71 % случаев ежегодно остается в большинстве регионов неустановленным [2]. Значимость вирусных кишечных инфекций недооценивается повсеместно (Kittigul L. et al., 2009 и др.), несмотря на то, что были открыты основные, известные на сегодняшний день, возбудители ОКИ – норо-, рота- астро- сапо- и аденовирусы гр. F (Karikian A.Z. et al., 1972; Bishop R.F. et al., 1973; Madeley C.R., Cosgrove B.P., 1975; Chiba S. et al., 1979; Johansson M.E. et al., 1980). В Российской Федерации роль различных вирусов в этиологической структуре ОКИ у детей остается невыясненной [1, 2]. Внедрение высокочувствительных и специфичных молекулярных методов диагностики определили эффективность выявления вирусов – основной причины sporadической и эпидемической заболеваемости ОКИ у детей [4]. Сведения о течении sporadической норо-, сапо-, аденовирусной инфекций можно встретить лишь в единичных работах [Rockx B. et al., 2002], описание АВИ в доступной литературе отсутствует. Согласно данным отдельных авторов, определенное влияние на течение заболевания мог оказывать генотип возбудителя, однако имеющиеся об этом сведения в литературных источниках неоднозначны (Cascio A. et al., 2001; Cunliffe N.A. et al., 2002; Griffin D.D. et

al., 2002; Friesema I. et al., 2007). В РФ данные о молекулярно-генетической характеристике норо-, рота- и астровирусов у детей практически отсутствуют.

Для оценки клинических и эпидемиологических аспектов инфекционных заболеваний важным является изучение вопросов формирования иммунного ответа, которые при вирусных кишечных инфекциях у детей во многом остаются неисследованными или противоречивыми, что в значительной степени связано с невыясненной их этиологией. В частности, многие аспекты врожденного и адаптивного иммунитета у детей, больных вирусными ОКИ, раскрыты неполно.

Целью настоящего исследования стало выявление вклада вирусов в структуру заболеваемости ОКИ, оптимизация диагностики и определение клинико-иммунологических особенностей вирусных кишечных инфекций у детей.

**Пациенты и методы исследования.** Проведено клинико-лабораторное обследование 1378 детей с острыми кишечными инфекциями. Все дети находились на лечении в инфекционном корпусе детской клинической больницы № 8 г. Челябинска, в период с 2004 по 2009 гг. На обследование и терапию больных детей было получено информированное согласие их родителей. Лабораторная верификация ОКИ выполнялась методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) образцов фекалий на базе Центра молекулярной диагностики инфекционных заболеваний ФГУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора (г. Москва) с применением комплекта реагентов «Ампли-Сенс®». Иммунологическое обследование пациентов проводилось в НИИ иммунологии Челябинской государственной медицинской академии.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием пакетов прикладных программ «SPSS 13.0», «Biostatistica 4.03» и приложения Excel из пакета MS Office XP. Результаты сравнений считали статистически значимыми при  $p < 0,05$  [3].

**Результаты собственных исследований.** Комплексная оценка особенностей вирусных кишечных инфекций у детей представлена исследованием клинико-иммунологических показателей при различных нозологических формах. С 2005 года работа осуществлялась в рамках проекта МНТЦ ВТЕР 58/ИСТС 2935 «Эпидемиология вирусных кишечных инфекций в России: разработка новых подходов для выявления и характеристики возбудителей» как трехлетнее проспективное исследование этиологии sporadических ОКИ у 1378 детей.

На этапе исследования sporadических кишечных инфекций у детей молекулярно-генетическими методами (ПЦР) определена этиологическая роль наиболее распространенных вирусных патогенов. В этиологической структуре ОКИ преобладали ротавирусы, на втором месте оказались норовирусы, на третьем – микст вирусно-вирусные и вирусно-бактериальные возбудители. Проведенная работа позволила методом ПЦР уточнить этиологию заболеваний, которые при стандартных лабораторных исследованиях были отнесены к кишечным инфекциям невыясненной этиологии (КИНЭ). При обследовании больных «стандартными» методами, такими как бактериологическое исследование и ИФА, для выявления, соответственно, патогенных микроорганизмов и поверхностного антигена ротавируса гр. А в фекалиях, этиология установлена у 424 из 1378 больных.

Результаты скрининга этиологии ОКИ, информативность при использовании молекулярно-

генетического метода (ПЦР) и стандартного алгоритма обследования представлены в табл. 1.

Проведенные исследования методом ПЦР позволили дополнительно уточнить этиологию ОКИ, более чем у 1/2 больных КИНЭ (60,63 %). При обследовании больных стандартными методами, такими как бактериологическое исследование и ИФА для выявления поверхностного антигена ротавируса гр. А в фекалиях, патогенные микроорганизмы были выделены у 31 больного; ротавирусы у 397 детей, преимущественно в виде моноинфекций. Включение в диагностический алгоритм ИФА для выявления антигена ротавируса гр. А позволило расшифровать этиологию 28,8 % ОКИ. Бактериологический метод оказался не столь успешным в выявлении патогенной флоры ОКИ. Наряду с микроорганизмами родов *Salmonella*, *Shigella* в ходе бактериологических исследований выявлялись также условно-патогенные микроорганизмы (УПФ). Однако, низкая частота их обнаружения (*E. Coli* – 1,40 %, *S. aureus* – 0,98 %, *Klebsiella* – 0,73 %, *Proteus* – 0,49 %, *Citrobacter* – 0,24 %, *Enterobacter* – 0,24 %) и соблюдение критериев диагностики ОКИ-УПФ не позволили включить эти случаи в исследование.

Кроме того, при исследовании образцов фекалий, в которых была выявлена УПФ, методом ПЦР получены вирусные или бактериальные патогены (ротавирусы, норовирусы, астровирусы, кампилобактерии, сальмонеллы). Полученные результаты свидетельствовали о необходимости осторожной оценки роли УПФ в развитии ОКИ.

В то же время скрининг вирусных и бактериальных агентов кишечных инфекций молекулярно-генетическими методами позволил обнаружить их у 1004 из 1378 (72,86 %) детей. У большинства обследованных пациентов регистрировали моноинфекции; однако, нередко, выявляли ассоциации

Таблица 1  
Частота выявления возбудителей ОКИ в образцах фекалий пациентов молекулярно-генетическими и стандартными методами

Возбудители	ПЦР		Стандартные методы	
	Абс.	%	Абс.	%
Ротавирусы гр. А	365	26,49	397	28,8
Норовирусы G2	276	20,03	–	–
Норовирусы G1	15	1,09	–	–
Астровирусы	20	1,45	–	–
Аденовирусы группы F	43	3,12	–	–
<i>Shigella spp.</i> + <i>EIEC</i>	13	0,94	6	0,45
<i>Salmonella spp.</i>	46	3,34	25	1,81
<i>Campylobacter spp.</i> (термофильная группа)	50	3,63	0	–
Саповирусы	8	0,58	–	–
Ротавирусы гр. С	4	0,29	–	–
Микст 2 и более возбудителей	168	12,19	–	–
Неуточненная этиология	370	26,85	950	68,94
Итого	1378	100	1378	100

двух и более возбудителей в структуре расшифрованных ОКИ (17 %).

При моноинфекциях частота выделения вирусов у детей была значительно выше, чем бактериальных возбудителей, соответственно – 63 % и 15 % ( $p = 0,0001$ , критерий  $\chi^2$ ). Наиболее частыми возбудителями кишечных инфекций у детей оказались ротавирусы (36 % ОКИ установленной этиологии) и норовирусы (29 %),  $p = 0,0001$ , критерий  $\chi^2$  соответственно других патогенов ОКИ. В группе расшифрованных кишечных инфекций третье место заняли кампилобактерии (5 %) и сальмонеллы (5 %), несколько реже встречались и аденовирусы (4 %). Частота выделения астровирусов была невысокой и составила 2 %, доля саповирусов – 1 %, шигелл – 1 %.

Таким образом, применение метода ПЦР позволило верифицировать вирусную этиологию ОКИ, выявив, дополнительно к ротавирусной инфекции: норовирусы, аденовирусы, астровирусы. Бактериальные моноинфекции установлены, преимущественно, методом ПЦР за счет выявления кампилобактерий, сальмонелл и шигелл. В то же время молекулярно-генетические методы позволяли обнаруживать и сочетанные ОКИ. При использовании метода ПЦР в 168 образцах фекалий было выявлено одновременно два и более патогенна. Частота обнаружения возбудителей ОКИ в ассоциациях представлена в табл. 2.

В 155 образцах фекалий детей было обнаружено два и в 13 – три и более возбудителя ОКИ. Вирусно-вирусные ассоциации были выявлены в 61,9 % образцов, в 30,36 % – вирусно-бактериальные. Ассоциации 3 и более возбудителей встречались нечасто – в 7,74 %. Число образцов фекалий, в которых возбудитель выявлялся в сочетании с другими патогенами, в сравнении со случаями его изолированного выделения, для ротавирусов гр. А составили 32,10 %, норовирусов – 44,56 %, аденовирусов – 48,86 %, астровирусов – 35,48 %, шигелл – 46,15 %, сальмонелл – 34,32 % и термофильных кампилобактерий – 39,02 %. Высокая частота регистрации микробных ассоциаций методом ПЦР в сравнении со стандартными методами была обусловлена скринингом вирусов и патогенных бактерий.

В результате многолетних исследований было установлено, что наиболее значимыми возбудителями кишечных инфекций у детей были ротавирусы гр. А распространенных трех генотипов и норовирусы второго генотипа. Сезонные подъемы заболеваемости рота-норовирусной инфекциями приходились на зимне-весеннее время, спорадические случаи отмечали в течение всего календарного года. В течение календарного года происходила смена доминирующих бактериальных и вирусных возбудителей ОКИ. С ноября по май наблюдался подъем заболеваемости РВИ, рост числа случаев астровирусной инфекции пришелся на октябрь–декабрь, норовирусы выделяли от больных круглогодично, с пиком заболеваемости в январе и феврале. Аденовирусы выделяли чаще в мае–июне и октябре. Для шигеллеза была характерна традиционная летне-осенняя сезонность, при кампилобактериозе отмечался двухволновой подъем заболеваемости: весной и в начале лета, а также в октябре–ноябре. Сальмонеллез регистрировался круглогодично с некоторым снижением заболеваемости в зимние месяцы. Ассоциации микроорганизмов выделяли круглогодично, с пиком: декабре–январе, марте. В связи с низкой частотой выделения ротавирусов гр. С, саповирусов судить о закономерности их сезонного распределения на изучаемой территории не представлялось возможным.

Вирусы вызывали кишечные инфекции у детей всех возрастов. Однако максимальная заболеваемость наблюдалась у детей второго и третьего года жизни. У пациентов раннего возраста вирусы были причиной ОКИ в 5–6,3 раза чаще, чем патогенные бактерии ( $p = 0,0001$ , критерий  $\chi^2$ ). Часто-

Таблица 2

Частота выявления ассоциаций двух и более возбудителей ОКИ

Возбудители	Число наблюдений, n = 168	
	Абс.	%
<b>Вирусно-вирусные ассоциации</b>		
Рота-норовирусы	62	36,9
Рота-аденовирусы	19	11,31
Норо-аденовирусы	16	9,52
Рота-астровирусы	1	0,60
Норо-астровирусы	6	3,57
<b>Вирусно-бактериальные ассоциации</b>		
Ротавирусы-шигеллы	3	1,79
Норовирусы-шигеллы	1	0,60
Ротавирусы-сальмонеллы	10	5,95
Норовирусы-сальмонеллы	10	5,95
Ротавирусы-кампилобактерии	12	7,14
Норовирусы-кампилобактерии	15	8,93
Ассоциации 3 и более возбудителей	13	7,74

та детекции вирусных патогенов снижалась у детей старших групп. Так, в возрастной группе 4–14 лет соотношение вирусов к бактериям составляло 1,65. Выявление ассоциаций микроорганизмов было максимально у больных первого года жизни, причем, у детей 4–6 мес., в сравнении с возрастными группами 13–36 мес. и 4–14 лет, разница была статистически значимой ( $p = 0,008$ ;  $p = 0,005$  соответственно, критерий  $\chi^2$ ).

Таким образом, применение метода ПЦР для выявления возбудителей ОКИ у детей позволяло уточнять этиологию заболеваний с существенно более высокой частотой в сравнении с методами, используемыми в практическом здравоохранении, такими как трехкратное бактериологическое исследование испражнений и ИФА для детекции ротавирусного антигена в фекалиях. Более высокая эффективность метода ПЦР была обусловлена выявлением различных вирусных агентов в виде моно- и микст инфекций, в том числе, и в составе микробных ассоциаций, а также кампилобактерий, шигелл и сальмонелл.

В настоящем исследовании была показана роль различных генотипов ротавирусов, норовирусов, саповирусов, астровирусов, аденовирусов гр. F в возникновении спорадических заболеваний у детей, определена их значимость в возникновении моно- и микст кишечных инфекций. Определен существенный вклад вирусных патогенов в этиологию моно- и микст инфекций у детей, в сравнении с бактериальными возбудителями.

Выявлены некоторые возрастные отличия содержания в крови CD3 и CD8 Т-клеток, а также CD16. Не отмечено достоверного снижения числа CD4 Т-хелперов, в том числе, не зависело значение этого показателя и от возраста больных. Реакция со стороны ряда цитокинов имела особенности у пациентов разного возраста. У детей на первом году жизни отмечали более низкую продукцию ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$ . Уровни ФНО- $\alpha$  были наибольшими у детей в возрасте от 13–36 мес., а концентрации РАИЛ были выше у больных старше 3 лет. Возрастных особенностей синтеза ИФН- $\alpha$ , ИЛ-8 не обнаружили. Отмечены постепенное снижение продукции ИФН- $\gamma$  с возрастом и значительно более высокие концентрации ИЛ-4 у детей 13–36 мес. У детей первого года жизни коэффициент ИФН- $\gamma$ /ИЛ-4 был выше, чем у более старших пациентов, что указывало на клеточный тип развивающегося у них иммунного ответа.

Сравнивая уровни цитокинов при различных по степени тяжести течении вирусной ОКИ у детей в разные возрастные периоды, подтвердили выявленные различия ответа цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$  и ИЛ-4. В разные возрастные периоды детей вирусная ОКИ развивалась при отличающихся по интенсивности ответа системы цитокинов и различных сочетаниях провоспалительных и противовоспалительных цитокинов.

С возрастом нарастал ответ цитокинов врожденного иммунитета ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , и РАИЛ, в то время как продукция ИФН- $\gamma$  снижалась.

Таким образом, применение метода ПЦР для выявления возбудителей ОКИ у детей позволяло уточнять этиологию заболеваний с существенно более высокой частотой в сравнении с методами, используемыми в практическом здравоохранении; с изменением ответа системы цитокинов могут быть связаны отмеченные особенности клинического течения вирусных ОКИ у детей разных возрастных групп. Наиболее высокая частота регистрации кишечных инфекций и максимальное число выявлений ассоциаций микроорганизмов в младших возрастных группах были обусловлены особенностями иммунной защиты и на этом фоне высокой вероятностью инфицирования.

#### Литература

1. Валидация тест-системы «Амплиценс ОКИ-Скрин FL» на базе Центра профилактики и контроля заболеваний (Center for Disease Control and Prevention, CDC) Атланта, США / Е.Б. Фенске, А.Т. Подколзин, N. Gregoricus и др. // Молекулярная диагностика-2007: сб. тр. 6-й Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. – М., 2007. – Т. 3. – С. 303–307.
2. Изучение этиологии острых кишечных инфекций у детей, госпитализированных в инфекционные отделения стационаров Москвы / А.Т. Подколзин, А.А. Мухина, Г.А. Шутулин и др. // Инфекционные болезни. – 2004. – № 2 (4) – С. 85–91.
3. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ / О.Ю. Реброва. – М., 2006. – 312 с.
4. Rotavirus and severe childhood diarrhea / U.D. Parashar, C.J. Gibson, J.S. Bresse, R.I. Glass // Emerg. Infect. Dis. – 2006. – Vol. 12. – P. 304–306.

Поступила в редакцию 1 апреля 2010 г.