

# Оценка роли условно-патогенной флоры в развитии острых диарейных заболеваний

Э.С.Лаврёнова, А.Т.Подколзин, Т.А.Коновалова, И.А.Бочков

Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

**Цель.** Оценка достоверности связи обнаружения условно-патогенной микрофлоры с наличием острой диарейной симптоматики.

**Пациенты и методы.** Проведено изучение распространенности представителей условно-патогенной микрофлоры у госпитализированных детей с острыми диареями ( $n = 2770$ ) и детей без острой диарейной симптоматики ( $n = 55\ 502$ ) с применением методов бактериологических исследований, принятых при оценке состояния микрофлоры кишечника.

**Результаты.** Установлено достоверно более частое обнаружение у детей без острой диарейной симптоматики в сравнении с детьми с острой диареей таких микроорганизмов, как *Staphylococcus aureus* (35,76 и 3,10%), *Candida spp.* (17,47 и 0,11%), *Klebsiella pneumoniae* (9,36 и 0,72%), *Enterobacter spp.* (7,40 и 0,04%), *Proteus mirabilis* (1,75 и 0,25%), *Citrobacter freundii* (1,19 и 0,04%), а также достоверно более высокая частота выявления безусловных патогенов в группе детей с острыми диареями (для *Salmonella spp.* – 7,46 и 0,05% и для *Shigella spp.* – 2,63 и 0,01% соответственно). Проанализирована частота одновременного выявления у пациентов с острыми диареями условно-патогенных микроорганизмов и безусловных патогенов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) (*Rotavirus A*, *Norovirus*, *Astrovirus*, *Adenovirus F*, *Campylobacter spp.* (термофильная группа), комплекс *Shigella + EIEC*, *Salmonella spp.*).

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о необходимости осторожной клинической интерпретации случаев выявления условно-патогенных микроорганизмов у пациентов с ОКИ и позволяют проводить более точную эпидемиологическую оценку фактов выявления представителей данной флоры от пострадавших в очагах групповой заболеваемости.  
**Ключевые слова:** вспышки, острые диареи, условно-патогенная микрофлора

## An evaluation of the role of conditionally pathogenic microflora in the development of acute diarrheal diseases

E.S.Lavryonova, A.T.Podkolzin, T.A.Konovalova, I.A.Bochkov

Central Research Institute of Epidemiology,  
Federal Supervision Service for Consumer Rights Protection and People's Welfare, Moscow

**The objective.** An evaluation of the significance of a relation between detection of conditionally pathogenic microflora and the presence of acute diarrheal symptoms.

**Patients and methods.** The incidence of the representatives of conditionally pathogenic microflora in hospitalized children with acute diarrheas ( $n = 2770$ ) and children without acute diarrheal symptoms ( $n = 55\ 502$ ) was studied using methods of bacteriological testing accepted for evaluation of the state of gut microflora.

**Results.** A significantly more frequent detection of such microorganisms as *Staphylococcus aureus* (35.76 and 3.10%), *Candida spp.* (17.47 and 0.11%), *Klebsiella pneumoniae* (9.36 and 0.72%), *Enterobacter spp.* (7.40 and 0.04%), *Proteus mirabilis* (1.75 and 0.25%), *Citrobacter freundii* (1.19 and 0.04%) in children without acute diarrheal symptoms as compared to children with acute diarrhea has been found, and also a significantly higher incidence of detecting unconditional pathogens in the group of children with acute diarrheas (for *Salmonella spp.* – 7.46 and 0.05% and for *Shigella spp.* – 2.63 and 0.01%, respectively) has been established. The frequency of simultaneous detection of conditionally pathogenic microorganisms and unconditional pathogens in patients with acute diarrheas by the method of polymerase chain reaction (PCR) (*Rotavirus A*, *Norovirus*, *Astrovirus*, *Adenovirus F*, *Campylobacter spp.* (thermophilic group), complex of *Shigella + EIEC*, *Salmonella spp.*) was analyzed.

**Conclusion.** The obtained data necessitate a careful clinical interpretation of the cases of detecting conditionally pathogenic microorganisms in patients with AEI and permit to make a more accurate epidemiological evaluation of the facts of detecting representatives of this flora in affected individuals in the group foci of disease.

**Key words:** outbreaks, acute diarrhea, conditionally pathogenic microflora

**П**ищевые токсикоинфекции и интоксикации бактериальной этиологии составляют значительную часть острых кишечных инфекций, вызванных установленными бактериальными возбудителями (Форма 2, раздел 16 Сведений об инфекционных и паразитарных заболеваниях). Наиболее

часто в качестве флоры, ассоциируемой с острой диарейной симптоматикой, выступают микроорганизмы, обнаруживаемые при проведении бактериологических исследований на кишечную группу микроорганизмов (преимущественно семейство *Enterobacteriaceae*).

При отрицательных результатах обследования пациентов на узкий спектр безусловных патогенов факт обнаружения представителей условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) часто переоценивается, и им отводится роль этиологических факторов заболевания. При этом количественная характеристика содержания этой флоры дается далеко не во всех случаях. Такой подход не соответствует принципам

### Для корреспонденции:

Лаврёнова Элония Станиславовна, научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и микробной экологии человека Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора

Адрес: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а  
Телефон: (495) 974-9646

Статья поступила 11.03.2012 г., принята к печати 14.09.2012 г.

доказательной медицины и фактически маскирует истинную этиологию заболевания.

Другой важной областью деятельности, в которой приходится сталкиваться с некорректной интерпретацией случаев выявления УПМ, является установление этиологии в очагах групповой заболеваемости острыми кишечными инфекциями (ОКИ). Иногда факт обнаружения УПМ даже у небольшой доли заболевших служит основанием для утверждения о ее роли в формировании данного очага. Между тем хорошо известно, что представители группы УПМ выступают в качестве представителей транзитной симбиотической микрофлоры кишечника у здоровых людей. Для оценки обоснованности подобных подходов было проведено исследование, целью которого явилась статистическая оценка достоверности связи обнаружения различных УПМ с наличием острой диарейной симптоматики.

### Пациенты и методы

В исследование были включены дети, госпитализированные в детские отделения стационаров г. Москвы с симптоматикой ОКИ, и дети, у которых проводилось исследование микробиоценоза кишечника в лаборатории клинической микробиологии и микробной экологии человека Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора в период с 2005 по 2010 гг. Критериями включения детей в 1-ю группу являлись: госпитализация в инфекционный стационар с подозрением на ОКИ, наличие острой диареи, возраст до 14 лет, отсутствие неинфекционных заболеваний с синдромальной диспепсической симптоматикой. Критериями включения детей во 2-ю группу являлись: возраст до 14 лет, отсутствие острой диарейной симптоматики. Клинический материал поступал в основном от пациентов с жалобами на боли в животе, отказ от пищи, метеоризм, неустойчивый стул. У небольшой части детей отмечались признаки аллергопатологии и в том числе – атопических дерматитов.

Бактериологическая диагностика у пациентов, госпитализированных в отделения ОКИ, проводилась в бактериологической лаборатории стационара (ДИБ №5 г. Москвы). При проведении бактериологической диагностики использовался прямой посев материала на среды Эндо, кровяной агар, желточно-солевой агар, среду Сабуро. Для выявления *Salmonella spp.* применялось предварительное селективное обогащение на магниевой среде или селенитовом бульоне в соответствии с действовавшей на момент проведения исследований нормативно-методической документацией. Для характеристики микробиоценоза кишечника использовали набор плотных питательных селективных и селективных питательных сред (среда Эндо, кровяной агар, желточно-солевой агар, среда Сабуро, МРС агар, среда для бифидобактерий, среда Плоскирева, энтерококковый агар). Для выделения клостридий применяли этаноловый шок [1]. Для сокращения объема питательных сред использовали капельную методику [2]. Родовая и видовая идентификация осуществлялась с применением традиционных биохимических тестов и коммерческих наборов для биохимической идентификации микроорганизмов («Erba Lachema» (Чешская республика), «Bio Merieux» (Франция), «Becton Dickinson» (США)).

Для проведения исследований на расширенный спектр безусловных патогенов у пациентов с острой диареей применялась ПЦР-тест-система «Амплисенс ОКИ-скрин» («Амплисенс», РФ, № ФСР 2008/02265 от 17 ноября 2011 г. – выявление РНК *Rotavirus A*, *Norovirus GII*, *Astrovirus*, *Adenovirus F*, *Salmonella spp.*, комплекс *Shigella spp.* + EIEC, термофильные *Campylobacter spp.*) в соответствии с рекомендациями разработчика.

Для оценки достоверности различий в частоте выявления УПМ в группах обследованных применялись методы описательной статистики с расчетом индекса значимости с применением критерия  $\chi^2$  в программе SPSS Statistics 17.0.

### Результаты исследования и их обсуждение

Частота выявления УПМ, а также микроорганизмов рода *Salmonella spp.* и *Shigella spp.* в исследованных группах представлена в табл. 1.

Частота выявления безусловных патогенов в образцах фекалий пациентов с острой диарейной симптоматикой представлена в табл. 2.

Безусловно, группа пациентов, обследуемых для выявления нарушений микробиоценоза кишечника, не представляет выборку клинически здоровых лиц. Однако целью исследования являлась не оценка роли УПМ во всем комплексе патологии ЖКТ, а определение значения обнаружения ее представителей при развитии острых диарейных заболеваний, служащих поводом для госпитализации.

Достоверно более высокая частота обнаружения у пациентов без острой диарейной симптоматики наиболее часто детектируемых представителей УПМ, которые рассматриваются как представители транзитной нормальной симбиотической флоры толстой кишки, однозначно свидетельствует о неправомерности интерпретации таких диагностических находок при установлении этиологии ОКИ [3]. При этом наибольшее количество случаев ошибочно поставленных диагнозов пищевой токсикоинфекции связано с обнаружением трех наиболее часто выявляемых микроорганизмов – *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* и *Enterobacter spp.* Находки *Candida spp.*, к счастью, интерпретируются значительно осторожнее. Приведенные дан-

Таблица 1. Частота выявления различных микроорганизмов в обследованных группах детей

Микроорганизм	Пациенты с острой диареей, % (n = 2776)	Пациенты с кишечными дисфункциями, % (n = 55 502)	Достоверность различий p
<i>Salmonella spp.</i>	7,46	0,05	<0,001
<i>Shigella spp.</i>	2,63	0,01	<0,001
<i>Morganella morganii</i>	0,14	0,00	<0,001
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,76	0,02	<0,001
<i>Proteus morganii</i>	0,18	0,01	<0,001
<i>Proteus vulgaris</i>	0,18	0,49	0,022
<i>Proteus mirabilis</i>	0,25	1,75	<0,001
<i>Citrobacter freundii</i>	0,04	1,19	<0,001
<i>Enterobacter spp.</i>	0,04	7,40	<0,001
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,72	9,36	<0,001
<i>Candida spp.</i>	0,11	17,47	<0,001
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,10	35,76	<0,001

Таблица 2. Частота выявления безусловных патогенов в образцах с условно-патогенной флорой в группе лиц с острой диарейной симптоматикой

Микроорганизм	Безусловные патогены, абс.						Итого
	Rotavirus gr A	Norovirus	Astrovirus	Adenovirus gr F	Shigella spp. + EIEC	Salmonella spp.	
<i>Staphylococcus aureus</i> (n = 86)	27	20	3	4	2	2	61
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n = 21)	5	5	0	0	2	1	14
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (n = 20)	6	5	1	3	0	0	16
<i>Proteus mirabilis</i> (n = 7)	2	1	0	0	0	1	5
<i>Proteus morganii</i> (n = 5)	2	1	0	0	0	0	3
<i>Proteus vulgaris</i> (n = 5)	1	2	1	0	0	1	5
<i>Morganella morganii</i> (n = 4)	2	1	1	0	0	0	4
<i>Candida</i> spp. (n = 3)	1	2	1	2	0	0	6
<i>Citrobacter</i> spp. (n = 1)	1	0	0	0	0	0	1
<i>Enterobacter</i> spp. (n = 1)	0	0	0	0	0	0	0
Итого:	47	37	7	9	4	5	6

ные свидетельствуют, что под диагнозами пищевых токсикоинфекций «установленной» этиологии, вызванных якобы *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* и *Enterobacter* spp. чаще всего скрываются наиболее распространенные в данной возрастной группе ротавирусная и норовирусная инфекции.

Не так однозначно можно интерпретировать факты выявления *Pseudomonas aeruginosa*. Для данного микроорганизма характерно достоверно более частое выявление в фекалиях пациентов с острыми диареями, но частота одновременного с ним обнаружения в образцах безусловных патогенов очень высока (66,6%).

При работе в очагах групповой заболеваемости суждение о связи групповых случаев заболевания с конкретным представителем УПМ должно базироваться на принципах доказательной медицины и включать оценку достоверности между частотой выявления патогена среди пострадавших в очаге и лиц, не имеющих острой диарейной симптоматики (табл. 1).

Так, к примеру, при наличии 20 пострадавших в очаге эпидемиологическое значение (достоверное отличие от распространенности в группе сравнения,  $p < 0,05$ ) будет иметь выявление *St. aureus* не менее чем у 12 из них, *K. pneumoniae* и *Enterobacter* spp. — не менее чем у 5 из них.

### Заключение

Установление диагноза пищевой токсикоинфекции у детей со спорадическими случаями острой диарейной симптоматики только на основании выявления в фекалиях таких микроорганизмов, как *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* и *Enterobacter* spp., неправомерно.

При обследовании детей в очагах групповой заболеваемости эпидемиологическую значимость обнаружения данных патогенов как представителей симбиотической флоры

необходимо оценивать с учетом достоверности различий в частоте их выявления с лицами без ОКИ.

### Литература

- Beriello S.P., Honor P. Simplified procedure for the routine isolation of *Clostridium difficile* from feces. J Clin Pathol 1981;34:1124-7
- Бочков ИА, Трофимова ОД, Дарбеева ОС, и др. Упрощенная методика подсчета микроорганизмов при изучении аутофлоры человека. Лабораторное дело 1989;6:43-7.
- Бочков ИА, Юрко ЛП, Юдичкая НМ, и др. Характеристика микрофлоры кишечника в различных возрастных группах населения Москвы. Инфекционные болезни. 2007;5(4):75-8.

### References

- Beriello S.P., Honor P. Simplified procedure for the routine isolation of *Clostridium difficile* from feces. J Clin Pathol 1981;34:1124-7
- Bochkov IA, Trofimova OD, Darbeyeva OS, et al. Laboratornoye delo 1989;6:43-7. Russian.
- Bochkov IA, Yurko LP, Yuditskaya NM, et al. Infektsionnyye bolezni. 2007;5(4):75-8. Russian.

### Информация о соавторах:

Подколзин Александр Тихонович, кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией молекулярной диагностики и эпидемиологии кишечных инфекций Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора  
Адрес: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а  
Телефон: (495) 974-9646

Коновалова Татьяна Александровна, научный сотрудник лабораторий молекулярной диагностики и эпидемиологии кишечных инфекций Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора  
Адрес: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а  
Телефон: (495) 974-9646

Бочков Игорь Алексеевич, доктор медицинских наук, заведующий лабораторией клинической микробиологии и микробной экологии человека Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора  
Адрес: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а  
Телефон: (495) 974-9646