

## ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ СЛИЗИСТОЙ ТОЛСТОЙ КИШКИ ПРИ ОСТРОЙ КИШЕЧНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ

А.С. Кветная, Л.И. Железова

Научно-исследовательский институт детских инфекций ФМБА России,  
Санкт-Петербург

**Estimation of nonspecific resistance condition of a mucous thick gut in acute enteric infection in children**

A.S. Kvetnaya, L.I. Zhelezova

Research Institute of Children Infections of FMBA of Russia, Saint-Petersburg

**Резюме.** На основе комплексной оценки показателей, характеризующих характер микроструктуры слизистой толстой кишки, уровень местного неспецифического иммуноглобулина класса А в копрофильtrate и функциональную активность полиморфноядерных лейкоцитов, дана оценка состояния неспецифической резистентности слизистой толстой кишки в развитии затяжного течения инфекционного процесса и глубоких форм дисбактериоза кишечника при острых кишечных инфекциях у детей.

**Ключевые слова:** дети, острые кишечные инфекции, дисбактериоз кишечника, неспецифическая резистентность слизистой толстой кишки.

### Введение

Острые кишечные инфекции (ОКИ) продолжают оставаться актуальной проблемой здравоохранения ввиду чрезвычайно широкой распространённости, высоких уровней заболеваемости, тенденции к увеличению удельного веса тяжелых форм болезни и формирования глубоких микрoэкологических нарушений слизистой толстой кишки (дисбактериоза кишечника II–III степени) среди детского населения, характеризующихся высокой колонизационной активностью грамотрицательной условно патогенной микрофлоры (УПМ) на слизистой. Длительная персистенция грамотрицательной условно патогенной микрофлоры на слизистой оболочке толстой кишки связана с их способностью к инактивации естественной резистентности организма. С одной стороны, наблюдается снижение уровня местного неспецифического секреторного иммуноглобулина класса А, с другой — снижению антиинфекционной (колонизационной) резистентности слизистой толстой кишки при ОКИ у детей способствует поступление специфического липополисахарида (ЛПС) возбудителя в кровоток. Дозы ЛПС, превышающие функциональные возможности природных

**Abstract.** The previous complex estimation of the indicators characterising a microstructure of mucous colon, local nonspecific secretory class A immunoglobulin level in koprofiltrate, and functional activity of polymorphonuclear leucocytes taken into account, a nonspecific resistance condition of mucous colon in the development of protracted infectious course and dramatically restructure forms of intestinal dysbacteriosis have been estimated in children with acute enteric infections.

**Key words:** children, acute enteric infections, intestinal dysbacteriosis, nonspecific resistance in mucous colon.

защитных (антиэндотоксиновых) систем организма, вызывают активацию мононуклеарных клеток с последующим истощением их функциональной активности, пролонгируя и утяжеляя, таким образом, течение инфекционного процесса [1, 2, 5].

**Цель исследования** — оценить состояние неспецифической резистентности слизистой толстой кишки при ОКИ у детей на основе комплексной оценки показателей, характеризующих микроструктуру слизистой толстой кишки, уровень местного неспецифического секреторного иммуноглобулина класса А в копрофильtrate и функциональную активность полиморфноядерных лейкоцитов в сыворотке крови для прогноза характера течения инфекционного процесса.

### Материалы и методы

Проведено комплексное клинико-лабораторное обследование 643 детей в возрасте от 2 мес. до 14 лет с диагнозом ОКИ различной этиологии. Материалом для исследования служили биологические пробы пациентов (пробы испражнений, копрофильtrатов и сывороток крови), штаммы возбудителей и УПМ, выделенных из испражне-

ний больных ОКИ. Лабораторные исследования проводились в динамике заболевания на 1–3-й и 7–10-й дни болезни. Выделение с последующей идентификацией возбудителей и УПМ проводилось общепринятыми методами микробиологической диагностики. Подтверждение этиологической роли УПМ в развитии ОКИ основывалось на результатах реакции агглютинации (РА) с аутоштаммом, уровень местного неспецифического иммунитета в толстой кишке оценивали по количеству иммуноглобулина (Ig) класса А в копрофильtrate на основе реакции непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ) с использованием люминесцирующих моноспецифических диагностических антител против IgА человека (НИИЭМ им. Гамалеи АМН РФ) [4]. Функциональная активность полиморфноядерных лейкоцитов (ПЯЛ) изучена в мазках крови с гепарином и эндотоксином, окрашенных акридиновым оранжевым красителем и просмотренных в люминесцентном микроскопе – в красной области спектра (640 нм, РНК) и зеленой части спектра (530 нм, ДНК). По соотношению РНК/ДНК рассчитывали индекс «резерва» функциональной активности ПЯЛ. Данный метод разработан в НИИ детских инфекций и получил статус патента [6]. Изучение характера микроструктуры просвета толстой кишки проводилось в соответствии с методами, используемыми в НИИ детских инфекций [3, 4].

### Результаты и обсуждение

Проведено комплексное клинико-лабораторное обследование 643 детей в возрасте от 2 мес. до 14 лет, находившихся на лечении в клинике кишечных инфекций НИИ детских инфекций (Санкт-Петербург) по поводу острой кишечной инфекции различной этиологии. У 168 детей диагностирован шигеллез Флекснер 2а, у 115 – шигеллез Зонне, у 101 – эшерихиоз, у 103 – сальмонеллез тифимуриум и у 156 детей – иерсиниоз.

У всех детей, независимо от этиологии ОКИ, в острый период заболевания (первые три дня развития инфекционного процесса) регистрировались микробиологические нарушения слизистой толстой кишки, но с различной степенью выраженности.

У 36,0% (32 чел.) больных с эшерихиозами, обусловленными энтеропатогенными эшерихиями (ЭПЭ) (018, 020, 055, 075, 0111), и у 49,4% (44 чел.) пациентов с эшерихиозами, вызванными энтеротоксигенными эшерихиями (ЭТЭ) (04, 06, 09), в первые три дня заболевания развивался дисбактериоз кишечника I–II степени. Выделение штаммов возбудителя в монокультуре колебалось от 41,3% до 48,8% соответственно. На фоне снижения (КОЕ 4–5 lg\г) показателей колонизационной активности *E. coli* (89,4%) и сохранения уровней

*B. bifidum* и *Lactobacillus spp* в пределах нормы (КОЕ 9lg\г) доминирующим микроорганизмом, формирующим ассоциацию с патогенными эшерихиями, оказался *S. aureus* с колонизационной активностью, не превышающей 1–3 lg\г. Заболевание при эшерихиозах, обусловленных ЭПЭ и ЭТЭ, в большинстве случаев протекало в средне-тяжелой форме. В 79,5% (71 реб.) случаев длительность симптомов интоксикации составила  $5,1 \pm 0,5$  дней, гипертермии –  $3,02 \pm 0,78$  дней. Рвоты (от 2-кратной и более), жидкий стул с примесью слизи и зелени в 87,5% (78 детей) случаев продолжались в течение  $4,12 \pm 1,64$  дней. Нормализация стула наступала у 63,1% (56 детей) пациентов в течение  $5,56 \pm 2,34$  дней.

Таким образом, при I–II типе взаимодействия возбудителя с эпителиальной клеткой [7] формируются неинвазивные формы заболевания, опосредованные прикреплением, колонизацией и поверхностным размножением микробов на энтероцитах, практически без их повреждения. Следовательно, полученные результаты свидетельствуют о том, что в структуре биоценоза при неинвазивных эшерихиозах имеет место нарушение только азробного звена.

В отличие от неинвазивных форм ОКИ, обусловленных ЭПЭ (018, 020, 055, 075, 0111) и ЭТЭ (04, 06, 09), при дизентерии Флекснер 2а и эшерихиозе, вызванном энтероинвазивной эшерихией (ЭИЭ) 0124 (третий тип взаимодействия возбудителя с колоноцитом) [7], в толстой кишке имеет место развитие дисбиоза II–III степени. Как известно, при третьем типе взаимодействия возбудителя с эпителиоцитом наблюдается активное проникновение возбудителя в цитоплазму эпителиоцитов с последующим внутриклеточным размножением и проявлением выраженных цитопатических изменений (разбухание, деструкция микроворсинок и, как следствие, образование эрозий на фоне резко выраженного воспаления). Естественно, при такой степени повреждения слизистой толстой кишки в результате «поломки» рецепторного аппарата колоноцитов создаются определенные благоприятные условия для активной ее колонизации патогенными и УПМ и исчезновения анаэробного звена нормофлоры. В острый период развития инфекционного процесса при инвазивных ОКИ микроструктура просвета толстой кишки у пациентов характеризовалась высокой частотой выделения возбудителя в монокультуре: при дизентерии Флекснер 2а – в  $86,2 \pm 2,7\%$  случаев, при эшерихиозе, вызванном ЭИЭ 0124, – в  $75,0 \pm 2,5\%$ ,  $p < 0,05$ . При этом в  $88,6 \pm 1,7\%$  случаев наблюдалось резкое снижение (до 3 lg\г КОЕ) общего количества полноценной кишечной палочки, в  $92,3 \pm 1,8\%$  – угнетение уровня до 5–7 lg\г КОЕ *B. bifidum* и *Lactobacillus spp*. Из представителей УПМ (с

КОЕ 1–3 lg\г) достоверно чаще при дизентерии Флекснер 2а и Зонне выделялась *K. pneumoniae*, при эшерихиозе, обусловленном ЭИЭ 0124, – *S. aureus*. Инвазивные ОКИ отличались тяжестью течения, выраженной интоксикацией и колитным синдромом. В 47,7% (80 детей) случаев отмечались бледность кожных покровов, головная боль, вялость, слабость, снижение аппетита. Длительность лихорадочного периода (до 39°C) в среднем составляла более 5 дней. У 95,8% (82 чел.) больных регистрировались рвоты, жидкий стул с примесью слизи и крови. Болезненность сигмовидной кишки определялась у 117 (69,8%) пациентов ( $p < 0,05$ ).

При сальмонеллезе тифимуриум и иерсиниозе (IV тип взаимодействия возбудителя с кишечным эпителием) [7] практически у всех больных (98–95,1%; 148–94,9% соответственно) в первые три дня заболевания регистрировался дисбактериоз кишечника I степени. Микроструктура просвета толстой кишки характеризовалась снижением до 4–5 lg\г КОЕ общего количества полноценной кишечной палочки, появлением в 11,3% случаев лактозонегативных и неферментирующих *E. coli* и определенных представителей группы УПМ (при сальмонеллезе тифимуриум – *S. aureus*, при иерсиниозной инфекции – *P. vulgaris*) с КОЕ 1–3 lg\г, при сохранении уровня анаэробной микрофлоры *B. bifidum* и *Lactobacillus spp* (КОЕ 9 lg\г). Больше чем у половины больных сальмонеллезом тифимуриум (75,6% – 78 детей) клиническая картина сопровождалась повышением температуры до 38–39°C в течение 3–5 дней, отмечались тошнота и рвоты до 3 раз в сутки (63,9%, 66 детей). Жидкий стул, пенный, с примесью мутной слизи (до 6 раз в сутки) выявлялся у 72,4% (75 детей). У 25% детей с сальмонеллезом клиническое выздоровление опережало сроки восстановления микробиоценоза слизистой толстой кишки, бактериовыделение у трети больных продолжалось более 1 мес. При иерсиниозной инфекции также доминировал колитный синдром. У 45,4% (85 детей) больных регистрировались боли в животе (4,13±2,01 дней), у 67,9% (106 детей) пациентов жидкий стул с резким неприятным запахом (до 2–3 раз в сутки) в течение 3,6±0,5 дней,  $p < 0,05$ . Выявленные незначительные микробиологические нарушения в острый период заболевания сальмонеллезом и иерсиниозом связаны с патогенезом и свойствами возбудителей. Как известно, при четвертом типе взаимодействия в острый период развития инфекционного процесса возбудитель не колонизирует эпителиоцит слизистой, а проникает через эпителий, частично размножаясь в макрофагах собственной пластинки, вызывая выраженное воспаление со склонностью к генерализации [7]. Следовательно, при сальмонеллезе и иерсиниозе в острый период заболевания (первые три дня развития инфекци-

онного процесса) низкая колонизационная активность сальмонелл и иерсиний связана с их кратковременным пребыванием в просвете кишки, что лежит в основе отсутствия микробиологических нарушений в ранние сроки развития инфекционного процесса. Дисфункция кишечника, видимо, связана с нарушением метаболической функции слизистой оболочки, вызванной цитотоксическим действием возбудителя. Проникновение возбудителя через эпителий, размножение в макрофагах объясняет механизм развития поздних (на 7–10-й день болезни) более глубоких (50,4% случаев) дисбактериозов II–III степени, обусловленных гранулоцитарным иммунодефицитом, выявляемых у больных сальмонеллезом и у большинства (95%) с иерсиниозом.

К 7–10-му дням болезни (с момента поступления пациентов в стационар) на фоне проведения целенаправленной интенсивной этиотропной терапии в 96,5% случаев наблюдается снижение антиинфекционной резистентности слизистой толстой кишки, о чем свидетельствует регистрация дисбактериоза кишечника II–III степени при всех ОКИ. Определенные УПМ (*S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*), колонизирующие слизистую толстой кишки в первые три дня развития ОКИ, по-прежнему характеризуются высокими колонизационными и персистентными характеристиками.

При сравнительном анализе синтеза местного неспецифического IgA в копрофильtrate было установлено, что в первые три дня заболевания ОКИ, протекающих в среднетяжелой и тяжелой формах, с дисбактериозом кишечника III степени достоверно чаще отмечался низкий уровень IgA ( $1,8 \pm 0,3$  lg) с тенденцией к дальнейшему снижению показателя до  $1,5 \pm 0,2$  lg,  $p < 0,05$ . Таким образом, тяжесть течения и высокая степень дисбактериоза кишечника обратно коррелировала с низким уровнем неспецифического секреторного Ig A ( $1,8 \pm 0,3$ lg) в копрофильtrate ( $r = -0,89$ ).

Оценка функционального состояния полиморфноядерных лейкоцитов показала, что при обследовании 25 детей с тяжелым течением ОКИ и с дисбактериозом кишечника III степени происходит значительное снижение лейкоцитов, способных связывать эндотоксин в мазках крови, обработанных эндотоксином, что расценивалось нами как утрата резервов связывания эндотоксина лейкоцитами. При расчете индекса, равном или больше 1 [6], имела место утрата резервов связывания эндотоксина ПЯЛ, что коррелировало ( $r = 0,78$ ) с тяжестью и длительностью течения инфекционного процесса и развитием дисбактериоза кишечника II–III степени.

При индексе меньше 1 (<1), клиническая картина отличалась умеренными признаками инток-

сикации, непродолжительной лихорадкой и невыраженным диарейным синдромом (жидкий стул до 5 раз в сутки). Тошноты и рвоты не регистрировались.

Длительное переживание (персистенция) грам-отрицательных микроорганизмов (возбудителей ОКИ и УПМ) на слизистой оболочке толстой кишки связано с поступлением в кровоток высоких доз ЛПС, что вызывает активацию мононуклеарных клеток с последующим истощением их функциональной активности. Таким образом, уже на начальном этапе развития инфекционного процесса при ОКИ тяжесть течения заболевания и развитие глубоких микробиологических нарушений слизистой толстой кишки в первую очередь зависят от состояния антиинфекционной резистентности организма.

Интегральная оценка показателей, характеризующих антиинфекционную резистентность слизистой толстой кишки, позволила расценить их как прогностические критерии антиинфекционной резистентности слизистой толстой кишки у детей при ОКИ. Низкий уровень иммуноглобулина класса А в копрофильtrate ( $\leq 1,8 \text{ Ig}$ ), функциональная активность ПЯЛ больше 1, развитие глубоких микробиологических нарушений просвета толстой кишки (дисбактериоз III степени) показатели низкой антиинфекционной резистентности слизистой толстой кишки и среднетяжелого, тяжелого

течения ОКИ. И наоборот, уровень иммуноглобулина класса А в копрофильtrate в пределах нормы ( $5 \text{ Ig}$ ), функциональная активность ПЯЛ меньше 1, развитие неглубоких микробиологических нарушений просвета толстой кишки (дисбактериоз I степень) – высокие показатели антиинфекционной резистентности слизистой толстой кишки, легкого течения ОКИ (рис.).

### Выводы

1. Состояние антиинфекционной резистентности слизистой толстой кишки у детей с ОКИ определяется степенью и характером микробиологических нарушений просвета толстой кишки, уровнем иммуноглобулина класса А в копрофильtrate и индексом функциональной активности ПЯЛ.

2. Глубокие микробиологические нарушения просвета толстой кишки (дисбактериоз III степени), низкий уровень иммуноглобулина класса А ( $< 1,8 \text{ Ig}$ ) в копрофильtrate, индекс функциональной активности ПЯЛ больше 1 – показатель низкой антиинфекционной резистентности слизистой толстой кишки и прогноза развития тяжелого и среднетяжелого течения ОКИ.

### Литература

1. Бондаренко, В.М. Дисбактериозы желудочно-кишечного тракта / В.М. Бондаренко [и др.] // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1999. – № 1. – С. 66 – 70.



Алгоритм оценки состояния неспецифической резистентности слизистой толстой кишки у детей с ОКИ

2. Воробьев, А.А. Дисбактериозы — актуальная проблема медицины / А.А. Воробьев [и др.] // Вестник РАМН. — 1997. — № 3. — С. 4–7.

3. Железова, Л.И. Клинико-лабораторные особенности микробиологических нарушений слизистой толстой кишки при острых кишечных инфекциях у детей: дис. ... канд. мед. наук / Л.И. Железова. — СПб: НИИДИ, 2006. — 154 с.

4. Кветная, А.С. Мониторинг изучения дисбактериоза у детей на основе новых технологий: учебное пособие для врачей / А.С. Кветная [и др.]. — СПб: НИИДИ, 2003. — 17 с.

5. Лобзин, Ю.В. Детские инфекции на современном этапе: проблемы и пути их решения / Ю.В. Лобзин, [и др.] // Журнал инфектологии. — 2009. — Т. 1, №1. — С. 23–29.

6. Пат. № 275634 Российская Федерация, МПК G01N33.52. Способ прогнозирования течения ОКИ у детей / А.С. Кветная, Л.И. Железова; опубл. 27.04.2006, БИ № С2.

7. Покровский, В.И. Патогенез кишечных инфекций, как проявление взаимодействия возбудителей с организмом хозяина / В.И. Покровский, Ю.В. Полоцкий, Н.Д. Ющук // Журн. микроб., эпидемиол. и иммунол. — 1989. — № 4. — С. 80–87.

8. Шахмарданов, М.З. Дисбактериоз кишечника и специфическая эндотоксинемия у больных шигеллезом Флекснер / М.З. Шахмарданов, В.М.Бондаренко, В.И. Лучшев // Журн. микроб., эпидемиол. и иммунол. — 1997. — № 2. — С. 64–66.

---

*Авторский коллектив:*

*Кветная Ася Степановна* — д.м.н., профессор руководитель отдела микробиологии человека Научно-исследовательского института детских инфекций ФМБА России, тел.: (812)234-36-73; e-mail: asya41@mail.ru;

*Железова Людмила Ильинична* — к.м.н. старший научный сотрудник отдела микробиологии человека Научно-исследовательского института детских инфекций ФМБА России, тел.: (812)234-36-73.