УДК: 579.26 :616.98:578.835.1Enterovirus-053.2(470.61-25)

БАКТЕРИАЛЬНОЕ ОБСЕМЕНЕНИЕ КАК ФАКТОР ОТЯГОЩЕНИЯ ЭНТЕРОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (ПО МАТЕРИАЛАМ ВСПЫШКИ В ДЕТСКОМ КОМБИНАТЕ «ТЕРЕМОК» ГОРОДА РОСТОВ-НА-ДОНУ)

А.В. Алешукина[1], Е.В. Голошва[1], К.Г. Маркова[1], И.С. Алешукина[1], Т.И. Твердохлебова[1], Е.В. Ковалев[2]

[1]ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия;
[2]Управление Роспотребнадзра по Ростовской области, г. Ростов-на-Дону, Россия

Наблюдением охвачено 35 человек из очага групповой заболеваемости энтеровирусной инфекцией, в том числе 15 детей, получавших стационарное лечение в ЦГБ им. Н.А. Семашко г. Ростова-на-Дону, 15 детей, наблюдавшихся в детской поликлинике № 5, и 5 контактных из числа работников детского комбината «Теремок». Исследовано 53 пробы, взятые из рото- и носоглотки и доставленные в лабораторию в течение 2-3 часов от момента забора материалов. Выделение и идентификацию микроорганизмов осуществляли с использованием дифференциально-диагностических сред и создания условий роста с добавлением CO_2. Были использованы реакция латекс-агглютинации (Pastorex meningitides BIO-RAD) и масс-спектрометрические исследования на базе оборудования Bruker Daltonik MALDI Biotyper. Определена антибиотикочувствительность диско-диффузионным методом. S.pneumoniae был выявлен у большинства (80%) больных детей с энтеровирусной инфекцией, находящихся в стационаре. У детей, наблюдавшихся амбулаторно, отмечен меньший процент (47,6%) обнаружения S.pneumoniae. Выявление сходства S. pneumoniae по профилю антибиотикограмм и совпадение масс-спектрометрических профилей являются доказательством происхождения всех тестируемых культур из единого источника.

***Ключевые слова: э**нтеровирусы, ассоциации бактерий, менингит, Streptococcus pneumoniae*

BACTERIAL CONTAMINATION AS A FACTOR OF ENTEROVIRUS INFECTION DETERIORATION (ACCORDING TO THE MATERIALS OF OUTBREAK THAT OCCURRED IN A DAY CARE CENTER “TEREMOK” IN ROSTOV-ON-DON CITY)

A.V. Aleshukina[1], E.V. Goloshva[1], K.G. Markova[1], I.S. Aleshukina[1], T.I. Tverdokhlebova[1], E.V. Kovalev[2]

[1]FBIS “Rostov scientific research institute of microbiology and parasitology” of the Federal service for surveillance on consumers rights protection and human wellbeing (Rospotrebnadzor), Rostov-on-Don, Russia;
[2] Rostov-on-Don regional office of the Federal service for surveillance on consumers rights protection and human wellbeing (Rospotrebnadzor), Rostov-on-Don, Russia

A total number of 35 people from the enterovirus infection outbreak were under surveillance including 15 children hospitalized in the Central municipal hospital named after N.A. Semashko of the Rostov-on-Don city and 15 children treated in the outpatient clinic № 5 as well as 5 exposed people – employees of the day-care center “Teremok”. The laboratory analyzed 53 biological samples collected from oral pharynx and nasal pharynx. The material was collected and delivered in the laboratory within 2-3 hours after the sample collection. Detection and identification of the microorganisms was conducted by means of differential-diagnostic medium and incubation with carbon dioxide. The reaction of latex-agglutination (Pastorex meningitides BIO-RAD) and mass-spectrometry analysis using Bruker Daltonik MALDI Biotyper were performed. Susceptibility to antibiotic drugs was identified with the aid of disc-diffusion method. S. pneumoniae was identified in majority (80%) of hospitalized children diagnosed with enterovirus infection. Those children that were treated in an outpatient clinic S.

pneumoniae was diagnosed in lesser extent (47,6%). Similarities of isolated S. pneumoniae strains according to the antibiogram profile and mass-spectrometry profile matches evidence for a single source of origin.

Key words: *enterovirus, bacterial associations, meningitis, Streptococcus pneumoniae*

В последнее время Streptococcus pneumoniae является одним их доминирующих возбудителей инфекционных заболеваний с тяжелыми проявлениями в виде пневмоний, менингитов, сепсиса, сопровождающихся высоким процентом летальных исходов [4,5].

Основным возбудителем вспышки менингита в детском дошкольном учреждении в г. Ростове-на-Дону официально признаны энтеровирусы 71 типа и вирусы ЭСНО-11, которые были определены в биологическом материале от больных и контактных людей. Энтеровирусная инфекция была подтверждена и клинически [6].

Однако известно, что обнаружение энтеровирусов или их РНК в образцах фекалий и материале из рото-, носоглотки у пациентов со спорадической заболеваемостью не может служить основанием для лабораторного подтверждения этиологии серозных менингитов, заболеваний верхних дыхательных путей, диарейных инфекций и лихорадочных заболеваний неясной этиологии вследствие высокой частоты носительства энтеровирусов в популяции [3,8]. Наличие при вспышке менингита моновозбудителя энтеровирусной инфекции вызывало сомнение, особенно в связи со стремительностью распространения инфекционного процесса и тяжестью его течения. Такие признаки характерны для инфекционных процессов, обусловленных вирусно-бактериальными ассоциациями [1,2,9]. Анализ частоты встречаемости и тяжести клинических проявлений при ротавирусной инфекции в ассоциациях с бактериями указал на необходимость более детального исследования бактерий-ассоциантов и при энтеровирусной инфекции.

Для решения поставленной задачи было проведено исследование, одобренное этическим комитетом ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора.

Родители подписали информированное согласие об участии в проведении исследований материалов от их детей.

Целью работы явилось изучение ассоциации бактерий, выделенных при вспышке энтеровирусной инфекции в детском комбинате «Теремок».

Материалы и методы

Исследованы пробы от 35 человек: 15 детей из детского инфекционного отделения №6 ЦГБ им. Н.А..Семашко; 15 детей, находящихся под наблюдением в детской поликлинике № 4, и 5 взрослых контактных (работники детского комбината). Всего было исследовано 53 пробы – материалы из зева и носа от больных и контактных лиц, доставленные в лабораторию в течение 2-3 часов от момента забора материалов.

Выделение и идентификацию микроорганизмов осуществляли в соответствии с общепринятыми рекомендациями [7] с использованием дифференциально-диагностических сред и создания оптимальных условий роста с добавлением CO_2. В качестве дополнительных методов исследования были использованы: реакция латекс-агглютинации (Pastorex meningitides BIO-RAD) с латексными антительными диагностикумами к ведущим возбудителям менингитов и масс-спектрометрические исследования на базе оборудования Bruker Daltonik MALDI Biotyper. Была определена антибиотикограмма с использованием диско-диффузионного метода [7].

Статистический анализ результатов выполняли на основе методов вариационной статистики с определением медианы и интерквартильного размаха в программах Microsoft Office Excel 2007 и Statistica 6.0. Достоверными считали показатели при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Исследование проб от детей, находящихся в детском инфекционном отделении, показало, что основным потенциальным возбудителем был S.pneumoniae, который был обнаружен в 80% посевов. Данные были подтверждены как бактериологически по характерным культуральным и тинкториальным признакам, так и при помощи масс-спектрометрии и реакции латекс агглютинации. В 20% случаев были обнаружены в моноварианте S. salivarius, S. perosis, Neisseria flavescens. В двухкомпонентной ассоциации бактерий S.pneumonia был зафиксирован с N. flavescens.

Изучение проб от контактных взрослых, находящихся в инфекционном отделении №4, показало, что S. pneumoniae был обнаружен в 20% из них. Представители Haemophilis sp. у взрослого контингента не встречались. Были обнаружены Staphylococcus sp. (в том числе, патогенный S. aureus) и условно-патогенные Neisseria sp. и Rotia mucinogenes.

У детей, находящихся на домашнем наблюдении, S. pneumoniae был обнаружен в 46,7 % случаев. В 6,7 % (по одному случаю) были выявлены H. influenzae и H. parainfluenzae. Условно-патогенные Neisseria sp. были выявлены в 7 случаях (46,7 %). Двухкомпонентные ассоциации бактерий были обнаружены в 8 случаях (53,3%). При этом, S. pneumoniae в ассоциации с N. flavescens вы-

явлен в 2-х случаях. Staphylococcus sp. в ассоциации с N.flavescens был обнаружен в 3 случаях. Остальные ассоциации были представлены симбиотическими бактериями.

Таким образом, было показано, что основным доминирующим фактором у детей с выраженной клинической картиной (находящихся в стационаре) был S. pneumoniae. У детей, контактных по менингиту, S.pneumoniae выделялся реже. И еще реже S.pneumoniae встречался у контактных взрослых. Вторыми по частоте встречаемости у детей, находившихся под наблюдением в стационаре и поликлинике, были представители Neisseria sp. Распределение по приоритетным возбудителям представлено на рисунке 1.

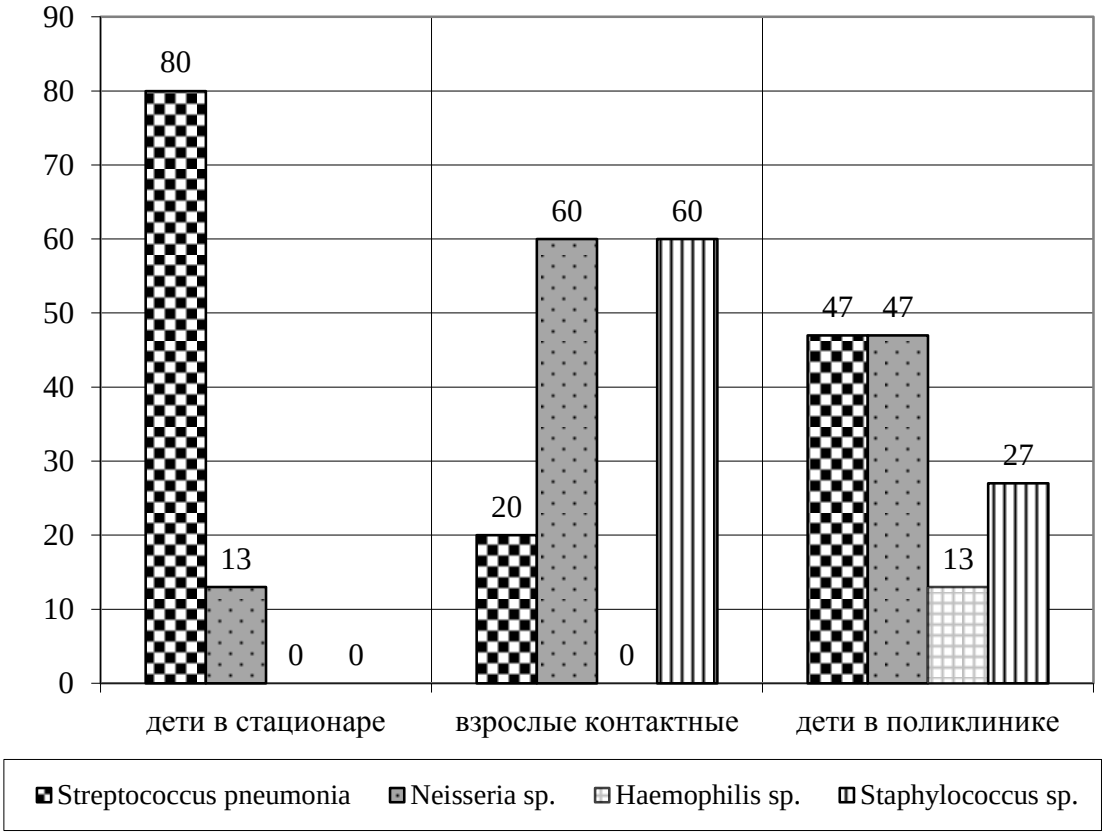

Рис. 1. **Распределение доминирующих потенциальных возбудителей менингитов в группах обследованных людей**

Изучение профиля антибиотикочувствительности S. pneumoniae выявило, что препаратами выбора, в убывающей последовательности, могут быть использованы ципрофлоксацин, имипенем и цефаперазон. Штаммы были устойчивы к 7 наименованиям препаратов из 10 тестированных.

Масс-спектрометрические профили и профили антибиотикограмм тестированных S. pneumoniae показали достоверную гомологичность штаммов, что свидетельствует о едином происхождении всех культур.

Заключение

Обобщая полученные результаты, можно отметить, что одним из этиологических факторов вспышки менингита в детском саду г. Ростова-на-Дону являлся S. pneumoniae, усугубивший течение энтеровирусной инфекции. Заключение основано на следующих фактах: S.pneumoniae был выявлен у большинства больных детей, находящихся в стационаре, т.е. тяжесть состояния инфекционного процесса не позволяла данным детям на момент обследования находиться под поликлиническим наблюдением; в то же время у детей с легким течением заболевания на амбулаторном режиме отмечен более низкий процент выявления S.pneumoniae. Выявление гомологии S. pneumoniae по двум критериям (сходный профиль антибиотикограмм и совпадение масс-спектрометрического профиля) является доказательством происхождения всех тестируемых культур из единого источника.

Литература

1. Алешукина А.В. Отношения микроб-хозяин в биотопах толстой кишки при дисбактериозах. – Дисс. д-ра мед. наук. – Москва, 2012. – 289с.

2. Алешукина А.В., Колпаков С.Л., Колпакова Е.П. Ассоциации бактерий и микроскопических грибов с ротавирусами при дисбиозах кишечника у людей // Научное обеспечение противоэпидемической защиты населения: Матер. конф. – Нижний Новгород, 2009. – С.203-205.

3. Демина А.В., Терновой В.А., Шульгина Н.И., Нетёсов С.В. Энтеровирусы. Часть 3. Лабораторная диагностика, лечение, иммунопрофилактика и профилактические мероприятия в очаге (обзорная статья) // Сибирский научный медицинский журнал. – 2011. – Т. 31, Выпуск 3. – С. 115-122.

4. Караулов А.В., Алешкин В.А., Воропаева Е.А., и др. Показатели колонизационной резистентности слизистых ротоглотки как объективные критерии мукозального иммунитета при бронхитах у детей // Иммунология. – 2012 . – Т. 33, Выпуск 5. – С.255-259.

5. Энтеровирусная инфекция в Южных субъектах Российской Федерации (эпидемиология, диагностика, клиника, профилактика): Монография / Под ред. Г.Г. Онищенко. – Ростов-на-Дону: Южный федеральный университет, 2016. – 344 с.

6. Сидоренко С.В. Пневмококковая инфекция снова в центре внимания // Вопросы современной педиатрии. – 2009. – Т.8, Выпуск 3. – С 23-28.

7. Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций / Под ред. А.С. Лабинской, Н.Н. Костюковой, С.М. Ивановой. – Москва: БИНОМ, 2010. – С.156-174.

8. LiR.,LinL., MoZ., et al. An inactiv atedenterovirus 71 vaccinein in healthy children// The New England journal of medicine. – Feb. 2014. – V. 370. – P.829-837.

9. Yueh-Liang Tsou, Yi-Wen Lin, Hsiao-Yun Shao, Shu-Ling Yu et al. Recombinant Adeno-Vaccine Expressing Enterovirus 71-Like Particles against Hand, Foot, and Mouth Disease // PLOS Neglected Tropical Diseases DOI. ORG:10.1371. Journal pntd. 0003692. – April 9.2015. – P.122-212.

Сведения об авторах:

Ответственный автор: *Алешукина Анна Валентиновна – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией вирусологии, микробиологии и молекулярно-биологических методов исследования ФБУН «Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора, тел.: (863) 234-29-33, e-mail: aaleshukina@mail.ru*