

Е.Г. Старикова<sup>1</sup>, Н.И. Шубина<sup>2</sup>, О.В. Воронкова<sup>1</sup>, Ю.В. Ковширина<sup>1</sup>, Н.Д. Яровой<sup>1</sup><sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Российская Федерация<sup>2</sup> Медико-санитарная часть № 2, Томск, Российская Федерация

# Распространенность и клинико-лабораторные особенности криптоспоридиоза у детей в возрасте до 5 лет: одномоментное исследование госпитальных случаев острой кишечной инфекции

## Контактная информация:

Старикова Елена Григорьевна, доктор медицинских наук, ассистент кафедры биологии и генетики СибГМУ

Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, тел.: +7 (3811) 90-11-01, доб. 16-93, e-mail: elena.g.starikova@yandex.ru

Статья поступила: 01.04.2018 г., принята к печати: 26.08.2018 г.

Простейшие рода *Cryptosporidium* являются ведущим этиологическим фактором диареи и причиной смерти детей в возрасте до 5 лет. Роль криптоспоридий в развитии и течении острых кишечных инфекций (ОКИ) у детей в России остается неизученной. **Цель исследования** — изучить распространенность и клинико-лабораторные особенности ОКИ, ассоциированной с криптоспоридиями, у детей в возрасте до 5 лет. **Методы.** В одномоментное исследование (период проведения — март-июнь 2017 г.) включали детей, госпитализированных с признаками ОКИ (повышение температуры, жидкий водянистый стул, слабость, снижение аппетита и/или рвота) службой скорой медицинской помощи. При поступлении в стационар у всех пациентов осуществляли взятие образцов кала. Ооцисты криптоспоридий определяли микроскопированием мазков фекалий, окрашенных по Цилю-Нильсену, после предварительного концентрирования модифицированным эфир-формалиновым методом. Наличие кишечных патогенов определяли бактериологическим методом и с помощью полимеразной цепной реакции. **Результаты.** В исследование были включены 107 детей с ОКИ (девочки — 51%). Криптоспоридии были обнаружены у 28 (26%) пациентов, в 93% случаев — совместно с бактериальными и/или вирусными патогенами. Этиологическая структура ОКИ, ассоциированной с криптоспоридиями, и ОКИ у криптоспоридиоз-отрицательных детей ( $n = 79$ ) не различалась. При поступлении в стационар у детей с ОКИ, ассоциированной с криптоспоридиями, отмечен более высокий уровень лейкоцитов крови —  $13,0 \times 10^9/\text{л}$  (9,2; 16,0) против  $8,3 \times 10^9/\text{л}$  (6,1; 11,2) у детей без криптоспоридиоза ( $p < 0,001$ ). Установлено также, что в лечении детей с ОКИ, ассоциированной с криптоспоридиями, чаще применяли антибиотики — у 21 (75%) против 39 (49%) в группе сравнения ( $p = 0,026$ ). **Заключение.** Криптоспоридии выявляются у каждого четвертого ребенка с ОКИ в возрасте до 5 лет. Пациентов с криптоспоридиями отличает более высокий уровень лейкоцитов крови при поступлении и более частое назначение антибиотиков, чем в группе криптоспоридиозотрицательных пациентов.

**Ключевые слова:** дети, острая кишечная инфекция, острый гастроэнтерит, этиология, криптоспоридиоз, ротавирусная инфекция, распространенность.

**(Для цитирования:** Старикова Е.Г., Шубина Н.И., Воронкова О.В., Ковширина Ю.В., Яровой Н.Д. Распространенность и клинико-лабораторные особенности криптоспоридиоза у детей в возрасте до 5 лет: одномоментное исследование госпитальных случаев острой кишечной инфекции. *Вопросы современной педиатрии*. 2018; 17 (4): 316–321. doi: 10.15690/vsp.v17i4.1925)

## ОБОСНОВАНИЕ

Острые кишечные инфекции (ОКИ) остаются одной из частых причин смерти детей в возрасте до 5 лет [1]. По данным эпидемиологических исследований, наблюдается тенденция к снижению смертности от ОКИ, но уровень заболеваемости остается стабильным [2]. Этиология ОКИ весьма разнообразна. Так, в развивающихся странах у детей в возрасте до 5 лет наряду с вирусными агентами значительную долю в структуре возбудителей острых диарей занимают бактерии и паразиты [3]. В экономически развитых странах в этиологической структуре ОКИ лидируют энтеровирусы [4].

Одним из этиологических факторов инфекционной диареи являются криптоспоридии — одноклеточные

паразиты рода *Cryptosporidium*, типа *Apicomplexa* (споровики). У детей младшего возраста и пациентов со сниженной иммунологической резистентностью криптоспоридии могут вызывать тяжелую патологию с поражением висцеральных органов и летальным исходом [5]. В эпидемиологических исследованиях, проведенных в Азии и Африке (обследовано 22 тыс. новорожденных и детей раннего возраста), было показано, что криптоспоридии являются одними из четырех патогенов, вызывающих наиболее тяжелые случаи диареи у детей до 5 лет [6]. Кроме того, криптоспоридии являются вторым наиболее значимым этиофактором диареи и смертности детей после ротавируса в той же возрастной группе [7]. В международном исследовании GEMS (Global Enterics Multi-

Center Study), проведенном в странах с низким уровнем жизни, было установлено, что у детей первых двух лет жизни наиболее частой причиной умеренной и тяжелой диареи была ротавирусная инфекция, причиной смерти от диареи — криптоспоридии и термостойкая токсинпродуцирующая энтеротоксигенная *Escherichia coli* [7].

Криптоспоридии распространены повсеместно, и являются частой причиной вспышек ОКИ. По некоторым выборочным данным, антитела к антигенам криптоспоридий имеются у 88% населения [8]. У детей с ОКИ криптоспоридии были обнаружены в 29% случаев [9]. Несмотря на данные о высокой патогенности указанных паразитов для детей младшего возраста, в настоящее время в Томске и Томской области не проводится исследований по идентификации криптоспоридий. Поскольку наиболее тяжелые последствия ОКИ, включая смертельный исход, показаны для детей в возрасте до 5 лет, именно эта возрастная группа представляет наибольший интерес с точки зрения изучения этиологической и патогенетической роли криптоспоридий.

**Целью нашего исследования** было изучить распространенность и клинико-лабораторные особенности ОКИ, ассоциированной с криптоспоридиями, у детей в возрасте до 5 лет.

## МЕТОДЫ

### Дизайн исследования

Проведено проспективное одномоментное исследование.

### Критерии соответствия

#### Критерии включения:

- дети в возрасте до 5 лет включительно, госпитализированные в стационар в порядке оказания скорой медицинской помощи с признаками ОКИ;

- получение письменного информированного согласия на участие ребенка в исследовании от его родителя (законного представителя).

#### Критерии невключения:

- наличие злокачественных и доброкачественных новообразований, аутоиммунных болезней.

#### Диагностические критерии

ОКИ устанавливали у детей, предъявлявших (со слов их родителей) при поступлении жалобы на жидкий водянистый стул от 3 до 10 раз/сут, повышение температуры до 38–39°C, слабость, снижение аппетита и/или рвоту.

#### Условия проведения

В исследовании включали больных, госпитализированных в инфекционное отделение ОГБУЗ «Медико-санитарная часть № 2» (Томск). Исследование кала (выявление ооцист криптоспоридий) проводили на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «СибГМУ» Минздрава России (Томск). Бактериологическое исследование кала и общеклинический анализ крови выполнены на базе клинико-диагностической лаборатории ОГБУЗ «Медико-санитарная часть № 2». Исследования кала методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с целью установления этиологической структуры ОКИ проводили в ООО «Открытая лаборатория» (Томск).

#### Продолжительность исследования

Пациенты, соответствующие критериям включения, были обследованы однократно — при поступлении в стационар. Исследование проводилось в период с марта по июнь 2017 г.

Elena G. Starikova<sup>1</sup>, Natalia I. Schubina<sup>2</sup>, Olga V. Voronkova<sup>1</sup>, Yulia V. Kovshirina<sup>1</sup>, Nikolai D. Yarovoy<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

<sup>2</sup> Health Care Unit No. 2, Tomsk, Russian Federation

## Prevalence and Clinical Laboratory Features of Cryptosporidiosis in Children under 5 Years of Age: A Cross-Sectional Study of Hospital Cases of Acute Intestinal Infection

**Background.** *Cryptosporidium* protozoa are the leading causative agent of diarrhea and cause of death in children under 5 years of age. The role of cryptosporidia in the development and course of acute intestinal infections (AII) in children in Russia remains unstudied. **Objective.** Our aim was to study the prevalence and clinical laboratory features of cryptosporidium-associated AII in children under 5 years of age. **Methods.** A cross-sectional study (conducted in March–June 2017) included children admitted to hospital with symptoms of AII (fever, loose watery stools, weakness, decreased appetite and/or vomiting) by the ambulance service. On admission, stool samples were collected from all patients. *Cryptosporidium* oocysts were determined by microscopic examination of faecal smears stained according to Tsil-Nielsen after preliminary concentration by a modified formalin-ether technique. The presence of intestinal pathogens was determined by a bacteriological technique and using a polymerase chain reaction. **Results.** The study included 107 children with AII (girls — 51%). Cryptosporidia were detected in 28 (26%) patients, in 93% of cases — together with bacterial and/or viral pathogens. The etiological structure of cryptosporidium-associated AII and AII in cryptosporidiosis negative children ( $n = 79$ ) did not differ. On admission, children with cryptosporidium-associated AII had a higher blood leukocyte count —  $13.0 \times 10^9/L$  (9.2; 16.0) versus  $8.3 \times 10^9/L$  (6.1; 11.2) in children without cryptosporidiosis ( $p < 0.001$ ). It has been also found that antibiotics were more often used in the treatment of children with cryptosporidium-associated AII — in 21 (75%) versus 39 (49%) in the comparison group ( $p = 0.026$ ). **Conclusion.** Cryptosporidia are detected in every fourth child with AII under 5 years of age. Patients with cryptosporidia are distinguished by a higher level of blood leukocytes upon admission and a more frequent prescription of antibiotics than in the group of cryptosporidiosis negative patients.

**Key words:** children, acute intestinal infection, acute gastroenteritis, aetiology, cryptosporidiosis, rotavirus infection, prevalence.

(For citation: Starikova Elena G., Schubina Natalia I., Voronkova Olga V., Kovshirina Yulia V., Yarovoy Nikolai D. Prevalence and Clinical Laboratory Features of Cryptosporidiosis in Children under 5 Years of Age: A Cross-Sectional Study of Hospital Cases of Acute Intestinal Infection. *Voprosy sovremennoi pediatrii — Current Pediatrics*. 2018; 17 (4): 316–321. doi: 10.15690/vsp.v17i4.1925)

### Исходы исследования

*Основной исход исследования:* доля детей с ОКИ, ассоциированной с криптоспоридиями.

*Дополнительные исходы исследования:* факторы (клинические и лабораторные показатели), ассоциированные с развитием ОКИ, вызванной криптоспоридиями.

### Методы оценки исходов исследования

Концентрирование ооцист криптоспоридий в образцах кала пациентов проводили с применением эфир-формалинового метода, модифицированного использованием одноразового устройства Mini Parasep (Diasys LTD, США) для центрифугирования со специализированным фильтром. Препараты готовили следующим образом: на обезжиренное предметное стекло наносили осадок, полученный после концентрирования кала в устройстве Mini Parasep, высушивали на воздухе. Далее мазки окрашивали по Цилю-Нильсену (Эколаб, Россия). Окрашенные препараты микроскопировали с иммерсионной системой на микроскопе Primo Star (Carl Zeiss, Германия). Ооцисты криптоспоридий, окрашенные по Цилю-Нильсену, имели вид округлых красных образований диаметром 3–5 мкм [10].

Наличие в фекалиях бактериальных патогенов определяли путем посевов кала на питательные среды (Левина, Плоскирева, Эндо, висмут-сульфит агар) с дальнейшим пересевом колоний на среду Клиглера (производитель сред — ФГБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», пос. Оболensk, Россия). Также для определения патогенных бактерий и вирусов применяли метод ПЦР. РНК/ДНК выделяли из кала с помощью набора «РИБО-преп» (Амплиценс, Россия). ПЦР проводили на амплификаторе ДТ-96 (НПО ДНК-Технология, Россия) с использованием набора «ОКИ-скрин» (Амплиценс, Россия). Набор содержит диагностические для определения ДНК сальмонелл, шигелл, кампилобактерий, ротавируса, норовируса, аденовируса, астровируса. ПЦР-диагностику проводили всем пациентам, включенным в исследование.

### Этическая экспертиза

Проведение исследования одобрено Этическим комитетом ФГБОУ ВО «СибГМУ» Минздрава России (протокол № 5123 от 27.12.2017 г.).

### Статистический анализ

#### Принципы расчета размера выборки

Размер выборки предварительно не рассчитывался.

### Методы статистического анализа данных

Анализ полученных данных выполнен при помощи пакета статистических программ SPSS v. 23.0 (IBM SPSS Statistics, США). Описание количественных показателей проведено с указанием медианы (25-й; 75-й процентиля). Сравнение количественных показателей двух независимых выборок проводилось с использованием U-критерия Манна–Уитни, сравнение качественных показателей — с использованием критерия  $\chi^2$  Пирсона или точного критерия Фишера (при числе ожидаемых наблюдений в одной из ячеек таблицы  $2 \times 2$  менее 5).

### РЕЗУЛЬТАТЫ

#### Участники исследования

За период проведения исследования в инфекционное отделение были госпитализированы 570 человек, из них 399 были в возрасте  $\leq 5$  лет. Отказались от участия в исследовании родители 102 детей, у 190 поступивших

больных не было жидкого стула. Таким образом, в исследование приняли участие 107 детей (девочки — 51%), медиана возраста — 12 (12; 24) мес. Все дети были госпитализированы с жалобами на повышение температуры до 38–39°C, боль в животе, слабость и снижение аппетита, 106 (99%) пациентов — на жидкий водянистый стул от 3 до 10 раз/сут, 89 (83%) — на рвоту. Число дефекаций на момент поступления в стационар составило 3 (2; 6) раза/сут.

### Основной исход исследования

Ооцисты криптоспоридий были обнаружены в кале 28/107 (26%) детей с ОКИ. Криптоспоридии с патогенами только вирусной природы отмечены в 7/28 (25%) случаях, только с бактериями — также в 7/28 (25%). Ассоциированная вирусно-бактериальная этиология ОКИ зарегистрирована у 12/28 (43%) пациентов. Наиболее часто криптоспоридии обнаруживали вместе с ротавирусом и сальмонеллами (табл. 1). В группе криптоспоридиознегативных пациентов ( $n = 79$ ) в 6 (8%) случаях не удалось уточнить этиологию заболевания ни бактериологическим, ни ПЦР-исследованием фекалий. Среди выявленных патогенов причиной ОКИ чаще всего были вирусы — у 29/79 (37%) детей (в сравнении с группой больных с криптоспоридиями  $p = 0,549$ ), бактерии — у 14/79 (18%) ( $p = 0,707$ ), ассоциированная вирусно-бактериальная этиология заболевания выявлена в 30/79 (38%) случаях ( $p = 0,765$ ). Анализ частоты обнаружения отдельных инфекционных агентов показал, что ряд патогенов и комбинаций патогенов встречались только у криптоспоридиозопозитивных больных, либо только у пациентов без криптоспоридий (см. табл. 1). Однако сделать на этом основании вывод, что для криптоспоридий характерны симбиотические отношения с определенными этиологическими агентами ОКИ, не представляется возможным ввиду малой выборки.

### Факторы риска развития ОКИ, ассоциированной с криптоспоридиями

Группа больных с ОКИ, у которых были обнаружены криптоспоридии в кале, была сопоставима с больными без криптоспоридий по возрасту, физическому состоянию при поступлении (температура тела), лабораторным показателям крови (скорость оседания эритроцитов), особенностям течения ОКИ (табл. 2). Общеклинический анализ крови при поступлении в стационар выявил более высокий уровень лейкоцитов у криптоспоридиозопозитивных пациентов (в среднем в 1,4 раза) по сравнению с таковым у больных без криптоспоридиоза. У 19/28 (68%) криптоспоридиозопозитивных пациентов уровень лейкоцитов превышал  $11 \times 10^9$ /л. Кроме того, было установлено, что при ОКИ, ассоциированной с криптоспоридиями, чаще назначали антибактериальные препараты (см. табл. 2).

### ОБСУЖДЕНИЕ

#### Резюме основного результата исследования

Криптоспоридии являются причиной ОКИ (в большинстве случаев в сочетании с другими патогенами) у каждого четвертого ребенка в возрасте до 5 лет, госпитализированного в стационар. Развитие ОКИ, ассоциированной с криптоспоридиями, сопровождается более высоким уровнем лейкоцитов в крови при поступлении, чем у больных с ОКИ другой этиологии, а также более высокой частотой назначения антибактериальных препаратов.

**Таблица 1.** Этиологическая структура острых кишечных инфекций  
**Table 1.** The etiological structure of acute intestinal infections

Патогены	Криптоспоридиоз(+) n = 28, абс. (%)	Криптоспоридиоз(-) n = 79, абс. (%)	p
Бактерии не обнаружены	9 (32)	35 (44)	0,254
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 (0)	7 (9)	0,186
<i>Staphylococcus aureus</i>	4 (14)	4 (5)	0,330
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1 (4)	3 (4)	0,495
<i>Salmonella spp.</i>	3 (11)	2 (3)	0,366
Сальмонеллез	5 (18)	8 (10)	0,343
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0 (0)	3 (4)	1,000
<i>Escherichia coli</i>	0 (0)	2 (3)	1,000
<i>Citrobacter braakii</i>	1 (4)	1 (1)	0,320
<i>Campylobacter spp.</i> + <i>Staphylococcus aureus</i> + <i>Klebsiella oxytoca</i>	0 (0)	1 (1)	1,000
<i>Staphylococcus aureus</i> + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 (4)	0 (0)	1,000
<i>Staphylococcus aureus</i> + <i>Enterobacter spp.</i>	1 (4)	1 (1)	0,320
<i>Staphylococcus aureus</i> + <i>Salmonella spp.</i>	0 (0)	2 (3)	1,000
<i>Salmonella spp.</i> + <i>Enterobacter aerogenes</i>	1 (4)	0 (0)	1,000
<i>Staphylococcus aureus</i> + <i>Enterobacter aerogenes</i> + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 (0)	1 (1)	1,000
<i>Proteus mirabilis</i>	0 (0)	1 (1)	1,000
<i>Campylobacter spp.</i> + <i>Salmonella spp.</i>	0 (0)	3 (4)	1,000
<i>Salmonella spp.</i> + <i>Salmonella typhimurium</i>	0 (0)	1 (1)	1,000
<i>Staphylococcus aureus</i> + <i>Klebsiella oxytoca</i>	0 (0)	2 (3)	1,000
<i>Serratia odorifera</i>	0 (0)	1 (1)	1,000
<i>Campylobacter spp.</i> + <i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 (4)	0 (0)	1,000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> + <i>Serratia marcescens</i>	1 (4)	0 (0)	1,000
Вирусы не обнаружены	9 (32)	14 (18)	0,213
Ротавирус	16 (57)	59 (75)	0,085
Ротавирус + норовирус	1 (34)	3 (4)	1,000
Норовирус	2 (7)	1 (1)	0,367
Ротавирус + астровирус	0	1 (1)	1,000
Астровирус	0	1 (1)	1,000

**Обсуждение основного результата исследования**

Результаты ряда исследований свидетельствуют о том, что зараженность детей криптоспоридиозом составляет 15–25% [10–12]. Исследование, проведенное Е. Лиханской и соавт. на территории России (Москва) в 2012 г., показало, что криптоспоридиоз диагностируется у 29% детей с острыми кишечными инфекциями [9]. Полученные нами данные о зараженности криптоспоридиями детей до 5 лет с ОКИ в Томской области демонстрируют схожие результаты. При этом следует подчеркнуть, что Томская область не является эндемичным районом по криптоспоридиозу.

В исследование были включены дети возрастной группы до 5 лет, наиболее подверженной заражению криптоспоридиозом [5]. Наибольшая распространенность инфекции среди детей этой возрастной группы связана с недостаточной личной гигиеной и особенностями иммунной системы детей этого возраста [13]. Показано, что ключевым фактором лимитирования инфекции при криптоспоридиозе является количество CD4+ лимфоцитов [4]. При этом для детей младшего возраста характерно доминирование Th2-иммунного ответа, что опре-

деляет предрасположенность этой возрастной группы к криптоспоридиозу [14].

Этиологический агент ОКИ вирусной или бактериальной природы не был установлен менее чем у 10% пациентов. Именно в этих случаях мы ожидали обнаружить криптоспоридии как основной этиологический фактор ОКИ. Однако моноинфицирование криптоспоридиями при отсутствии в фекалиях патогенных вирусов и бактерий было обнаружено только у 2 пациентов, в остальных случаях (у 26 больных) отмечено сочетание криптоспоридий с вирусами и бактериями, чаще всего с ротавирусами. Поскольку наличие криптоспоридий могло негативно повлиять на тяжесть и течение заболевания, дальнейшее исследование было направлено на выявление клинико-лабораторных различий между случаями ОКИ с присутствием криптоспоридий и без них. В частности, было обнаружено, что при криптоспоридиозе наблюдается более выраженная лейкоцитарная реакция по сравнению с пациентами без криптоспоридий. Причиной такой реакции могло быть повышение на фоне инфицирования криптоспоридиями уровня интерферона  $\gamma$  и фактора некроза

**Таблица 2.** Характеристика детей с ОКИ при поступлении в стационар: сравнение групп пациентов с установленным криптоспориозом и ОКИ другой этиологии

**Table 2.** Characteristics of children with AI upon admission: a comparison of groups of patients with diagnosed cryptosporidiosis and AI of other aetiology

Показатели	Криптоспоридии(+) n = 28	Криптоспоридии(-) n = 79	p
Возраст, мес	19 (12; 36)	12 (11; 24)	0,139
Пол (девочки), абс. (%)	15 (53,6)	40 (50,6)	0,829
Число дефекаций, абс.	3 (2; 6)	4 (2; 7)	0,748
Температура тела, °С	38,8 (38,1; 39,4)	38,6 (37,9; 39,1)	0,410
Лейкоциты, $\times 10^9$ /л	13,0 (9,2; 16,0)	8,3 (6,1; 11,2)	0,001
СОЭ, мм/ч	8 (5; 10)	8 (5; 15)	0,461
Волнообразное течение ОКИ*, абс. (%)	3 (11)	7 (9)	0,722
Повторная госпитализация**, абс. (%)	1 (4)	3 (4)	1,000
Инфузионная терапия, абс. (%)	13 (46)	47 (59)	0,271
Назначение кишечных антисептиков, абс. (%)	19 (68)	63 (80)	0,206
Назначение антибиотиков, абс. (%)	21 (75)	39 (49)	0,026
Назначение противовирусных препаратов	10 (36)	41 (52)	0,187

*Примечание.* \* — волнообразное течение ОКИ (повторное возникновение/усиление признаков ОКИ на фоне затухания острых проявлений инфекции в течение периода госпитализации — 14 сут); \*\* — повторная госпитализация (обращение в стационар в течение 2 мес после госпитализации по поводу ОКИ). ОКИ — острая кишечная инфекция, СОЭ — скорость оседания эритроцитов.  
*Note.* \* — undulant course of OI (repetitive occurrence/aggravation of OI symptoms against the background of disappearance of acute infection manifestations during hospitalization — 14 days); \*\* — readmission (admission to a hospital within 2 months after OI hospitalization). OI — acute intestinal infection, СОЭ — erythrocyte sedimentation rate.

опухли  $\alpha$  [15], которые, как известно, являются мощными провоспалительными медиаторами и активируют механизмы врожденного иммунитета. Можно предположить, что высокий лейкоцитоз при ОКИ у пациентов в возрасте до 5 лет следует считать сигналом для врача о необходимости обследования на наличие криптоспоридий.

В исследование были включены пациенты, основным симптомом ОКИ у которых являлся частый водянистый стул. Причиной жидкого стула при криптоспориозе является изменение структуры ворсинок при инфицировании криптоспоридиями, снижение всасывательной поверхности кишечника и связанная с этим мальабсорбция [16]. Учитывая, что помимо криптоспоридий были обнаружены другие этиологические факторы, приводящие к развитию диареи, проводилось этиотропное лечение согласно поставленному диагнозу. Специфического лечения криптоспориоза (назначение противопротозойных препаратов) не проводилось, что связано с отсутствием в настоящее время зарегистрированных лекарственных препаратов, эффективных в отношении данного паразита. Для улучшения состояния пациентов с ОКИ, ассоциированной с криптоспоридиями, чаще требовалось назначение нескольких лекарственных средств, в частности антибактериальных и противовирусных препаратов. Возможно, назначение противопротозойного препарата, активного в отношении криптоспоридий, снизило бы необходимость назначения антибиотиков таким больным. С другой стороны, даже при отсутствии этиотропной терапии у 84% детей с криптоспоридиями клиническая картина ОКИ не сопровождалась волнообразным течением инфекции. Не исключено, что элиминация паразита происходила спонтанно. Однако криптоспоридии могли явиться причиной 1/3 случаев волнообразного течения и повторной госпитализации пациентов. В основе повторяющихся эпизодов диареи при криптоспориозе может лежать механизм образования тонкостенных ооцист с одним слоем

мембраны, способных к эксцистированию в организме одного хозяина и приводящих к аутоинфекции [17].

#### Ограничения исследования

В настоящее исследование были включены пациенты, имеющие характерные для криптоспориоза симптомы — частый водянистый стул, повышение температуры, слабость, снижение аппетита и/или рвоту. При учете лиц с ОКИ без указанных симптомов могут быть получены другие данные о распространенности криптоспориоза.

Криптоспоридии были идентифицированы в качестве единственного этиологического агента ОКИ у 2 детей. В остальных случаях вместе с криптоспоридиями регистрировались патогены бактериальной и вирусной природы. В этой ситуации сложно установить, что является основной причиной ОКИ. Косвенный вывод о том, что криптоспоридии осложняют течение ОКИ, можно сделать на основании данных о более частом назначении антибактериальных препаратов для излечения пациентов, положительных по криптоспориозу.

При профузной диарее, вызванной криптоспоридиями, концентрация ооцист достигает  $10^9$ /мл [18]. В таких количествах идентификация простейших не представляет затруднений. Сложнее определить их наличие при невысокой концентрации [19]. Используемый нами метод концентрирования ооцист криптоспоридий имеет порог чувствительности равный  $10^3$ /мл [20]. При количестве криптоспоридий ниже этого порогового значения результаты проведенного позднее микроскопирования могли быть оценены нами как отрицательные. Возможно, полученные нами данные о количестве криптоспориозоположительных пациентов ниже, чем это могло бы оказаться при использовании других методов детекции микроорганизмов. Также необходимо отметить, что метод окраски по Цилю-Нильсену может давать ложноотрицательные результаты из-за недоокрашивания

ооцист, которые могут не воспринимать краситель либо терять окраску при обесцвечивании кислотой [21], что также ведет к недоучету числа больных криптоспориозом. Идентификация окрашенных ооцист криптоспориозом не представляет затруднений благодаря характерной морфологической структуре [22].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные в разных частях мира исследования показывают, что криптоспориоз является распространенной инфекцией раннего детского возраста. На территории Томской области рутинная диагностика данного паразитоза у больных с ОКИ не проводится. В нашем исследовании было показано, что ооцисты криптоспориоза выявляются у 26% детей, госпитализированных по поводу ОКИ. При высоких показателях лейкоцитоза у пациентов с частым водянистым стулом и повышением температуры тела необходимо проводить дополнительное исследование на наличие криптоспориоза. Полученные данные о широкой распространенности криптоспориоза у детей до 5 лет с признаками ОКИ делают актуальным поиск эффективных патогенетических методов лечения данного паразитоза.

## ВЫРАЖЕНИЕ ПРИЗНАТЕЛЬНОСТИ

Благодарим руководителя лаборатории паразитологических исследований Т. Н. Полторацкую за консуль-

тивную помощь при идентификации ооцист криптоспориоза.

## ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено на средства гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых (договор № 14W01.17.3455-МД).

## FINANCING SOURCE

The study has been carried out with the grant of the President of the Russian Federation for the state support of young Russian scientists (Contract No. 14W01.17.3455-MD).

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

## CONFLICT OF INTERESTS

Not declared.

## ORCID

**Е. Г. Старикова** <http://orcid.org/0000-0002-8899-0795>

**Н. И. Шубина** <http://orcid.org/0000-0003-4736-3370>

**О. В. Воронкова** <http://orcid.org/0000-0001-9478-3429>

**Ю. В. Ковширина** <http://orcid.org/0000-0001-6818-9792>

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kelly P. Infectious diarrhea. *Medicine*. 2015;43(5):253–258. doi: 10.1016/j.mpmed.2015.02.005.
2. Liu L, Oza S, Hogan D, et al. Global, regional, and national causes of child mortality in 2000–13, with projections to inform post-2015 priorities: an updated systematic analysis. *Lancet*. 2015; 385(9966):430–440. doi: 10.1017/ice.2015.309.
3. Farthing M, Salam MA, Lindberg G, et al. Acute diarrhea in adults and children: a global perspective. *J Clin Gastroenterol*. 2013; 47(1):12–20. doi: 10.1097/MCG.0b013e31826df662.
4. Guarino A, Albano F, Ashkenazi S, et al. European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Paediatric Infectious Diseases evidence-based guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2008;46 Suppl 2:S81–122. doi: 10.1097/MPG.0b013e31816f7b16.
5. Thompson RC, Koh WH, Clode Pl. Cryptosporidium — what is it? *Food and Waterborne Parasitology*. 2016;4:54–61. doi: 10.1016/j.fawpar.2016.08.004.
6. GBD Diarrhoeal Diseases Collaborators. Estimates of global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of diarrhoeal diseases: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet Infect Dis*. 2017;17(9):909–948. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30276-1.
7. Kotloff K, Nataro J, Blackwelder W, et al. Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): a prospective, case-control study. *Lancet*. 2013;382(9888):209–222. doi: 10.1016/S0140-6736(13)60844-2.
8. Egorov A, Frost F, Muller T, et al. Serological evidence of Cryptosporidium infections in a Russian city and evaluation of risk factors for infections. *Ann Epidemiol*. 2004;14(2):129–136. doi: 10.1016/S1047-2797(03)00122-4.
9. Лиханская Е.И., Пожалостина Л.В., Феклисова Л.В. Выявление криптоспориоза и характеристика микрофлоры кишечника у детей с острыми кишечными инфекциями // *Acta Biomedica Scientifica*. — 2012. — № 5–1 — С. 63–67. [Likhanskaya EI, Pozhalostina LV, Feklisova LV, Bochkareva NM. Detection of Cryptosporidium and characterization of the intestinal microflora in children with acute intestinal infection. *Acta Biomedica Scientifica*. 2012;(5–1):63–67. (In Russ).]
10. Garcia LS, Bruckner DA, Brewer TC, Shimizu RY. Techniques for the recovery and identification of Cryptosporidium oocysts from stool specimens. *J Clin Microbiol*. 1983;18(1):185–190.

11. Lima AA, Samie A, Guerrant RL. *Cryptosporidiosis*. In: Guerrant RL, Walker DH, Weller PF. *Tropical infectious diseases: principles, pathogens and practice*. Saunders; 2011. pp. 640–663. doi: 10.1016/b978-0-7020-3935-5.00094-x.
12. Ajampur SS, Rajendran P, Ramani S, et al. Closing the diarrhoea diagnostic gap in Indian children by the application of molecular techniques. *J Med Microbiol*. 2008;57(Pt 11):1364–1368. doi: 10.1099/jmm.0.2008/003319-0.
13. Mor SM, Tzipori S. Cryptosporidiosis in children in Sub-Saharan Africa: a lingering challenge. *Clin Infect Dis*. 2008;47(7):915–921. doi: 10.1086/591539.
14. Kollmann TR, Kampmann B, Mazmann SK, et al. Protecting the newborn and young infant from infectious disease: lessons from immune ontogeny. *Immunity*. 2017;46(3):350–363. doi: 10.1016/j.immuni.2017.03.009.
15. Bedi B, Mead JR. Cryptosporidium parvum antigens induce mouse and human dendritic cells to generate Th1-enhancing cytokines. *Parasite Immunol*. 2012;34(10):473–485. doi: 10.1111/j.1365-3024.2012.01382.x.
16. Bouzid M, Hunter PR, Chalmers RM, Tyler KM. Cryptosporidium pathogenicity and virulence. *Clin Microbiol Rev*. 2013;26(1): 115–134. doi: 10.1128/CMR.00076-12.
17. Tzipori S, Ward H. Cryptosporidiosis: biology, pathogenesis and disease. *Microbes Infect*. 2002;4(10):1047–1058. doi: 10.1016/S1286-4579(02)01629-5.
18. Chappell CL, Okhuysen PC, Sterling CR, DuPont HL. Cryptosporidium parvum: intensity of infection and oocyst excretion patterns in healthy volunteers. *J Infect Dis*. 1996;173(1):232–236. doi: 10.1093/infdis/173.1.232.
19. Shirley DA, Moonah SN, Kotloff KL. Burden of disease from cryptosporidiosis. *Curr Opin Infect Dis*. 2012;25(5):555–563. doi: 10.1097/QCO.0b013e328357e569.
20. Weber R, Bryan RT, Bishop HS, et al. Threshold of detection of Cryptosporidium oocysts in human stool specimens: evidence for low sensitivity of current diagnostic methods. *J Clin Microbiol*. 1991;29(7):1323–1327.
21. Baxby D, Blundell N, Hart CA. The development and performance of a simple, sensitive method for the detection of Cryptosporidium oocysts in faeces. *J Hyg (Lond)*. 1984;93(2):317–323. doi: 10.1017/s0022172400064858.
22. Garcia LS, Arrowood M, Kokoskin E, et al. Laboratory diagnosis of parasites from the gastrointestinal tract. *Clin Microbiol Rev*. 2017; 31(1):e00025-17. doi: 10.1128/CMR.00025-17.