

Иркутский государственный медицинский университет. Россия
Факультет Медицины Университета Жозефа Фурье (Гренобль 1). Франция

СИБИРСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ

Специальный выпуск №1
Инфекционные болезни

апрель-май

2001

том 26

Редакционная коллегия:

Главный редактор А.А. Майборода

Зам. гл. редактора проф. Т.П. Сизых

М. Бост

Г.М. Гайдаров

А. Гулье-Флере

Ж.-Л. Дебрю

Ю.В. Зобнин

Л.П. Игнатьева

Е.Г. Кирдей

Т.С. Крупская

В.И. Кулинский

И.В. Малов

С.Б. Пинский

В.В. Подкаменев

А.А. Усов

Отв. секретарь

Т.Н. Тихонова

Ежеквартальный научно-практический журнал

Основан в 1994 г.

Иркутск – Гренобль 2001

Université d'État de Médecine d'Irkoutsk, Russie
Université Joseph Fourier (Grenoble 1), Faculté de Médecine, France

REVUE MÉDICALE SIBÉRIENNE

Numéro spécial 1
Maladies Infectieuses

Avril-Mai

2001

volume 26

Comité de rédaction:

Rédacteur en chef Askold Maïboroda

Rédactrice adjointe Tamara Sisykh

Michel Bost

Gaidar Gaïdarov

Andrée Goullier-Fleuret

Jean-Luc Debru

Youri Zobnine

Larissa Ignatieva

Evgueny Kirdeï

Tamara Kroupskaïa

Vladimir Koulinsky

Igor Malov

Semion Pinsky

Vladimir Podkamenev

Lev Oussov

Secrétaire Tatiana Tikhonova

La revue scientifique et pratique trimestrielle

Fondée en 1994

Irkoutsk – Grenoble 2001

Содержание Sommaire

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Говорин А.В.	(Чита)
Миллер Л.Г.	(Иркутск)
Прохоренков В.И.	(Красноярск)
Шойко С.В.	(Иркутск)

CONSEIL DE RÉDACTION

Govorine A.V.	(Tchita)
Miller L.G.	(Irkoutsk)
Prokhorenkov V.I.	(Krasnoïarsk)
Choïko S.V.	(Irkoutsk)

Содержание

Sommaire

<i>Грийо Р., Мондрон Ф., Бренье М.-П., Амбруаз-Тома П.</i> Aspergillus fumigatus: от сапрофитизма к вирулентности. Фенотипическое и генотипическое биоразнообразие	6
<i>Grillot R., Mondon Ph., Brenier M.-P., Ambroise-Thomas P.</i> Aspergillus fumigatus: du saprophytisme à la virulence. Biodiversité phénotypique et génotypique	9
<i>Бренье-Пиншар М.-П., Лебо Б., Грийо Р.</i> Обнаружение Candida в испражнениях: клиническое значение	12
<i>Brenier-Pinchart M.-P., Lebeau V., Grillot R.</i> Découverte de candida dans les selles: quelle signification?	14
<i>Губе С., Пелу Х., Фриккер-Идальго Х., Гулье-Флёре А., Амбруаз-Тома П.</i> Серодиагностика токсоплазмоза: сравнение набора Elisa Axsym® (Abbott) с набором Vidas® (bioMérieux) методом непрямой иммунофлюоресценции и Isaga	16
<i>Goubet S., Pelloux H., Fricker-Hidalgo H., Goullier-Fleuret A., Ambroise-Thomas P.</i> Sérodiagnostic de la toxoplasmose: comparaison de la trousse Elisa Axsym (Abbott) avec la trousse Vidas® (bioMérieux), l'immunofluorescence indirecte et l'Isaga	20
<i>Пинель С., Режасс С., Пико С., Бренье-Пиншар М.-П., Грийо Р., Амбруаз-Тома П.</i> Blastocystis hominis: анализ результатов более чем 3 500 копрологических исследований с точки зрения эпидемиологии и клиники	23
<i>Pinel C., Réjasse C., Picot S., Brenier-Pinchart M.-P., Grillot R., Ambroise-Thomas P.</i> Blastocystis hominis: réflexions épidémiologiques et cliniques à propos de plus de 3 500 examens coprologiques	26
<i>Павез П., Брион Ж.П., Лёбо Б., Грийо Р., Амбруаз-Тома П.</i> Эпидемиология дрожжевых сепсисов в университетской клинике	30
<i>Pavese P., Brion J.P., Lebeau V., Grillot R., Ambroise-Thomas P.</i> Épidémiologie des septicémies à levures dans un hôpital universitaire, incidence thérapeutique	33
<i>Бренье-Пиншар М.-П., Пинель К., Грийо Р., Амбруаз-Тома П.</i> Диагностика малярии в неэндемичных регионах: ценность, ограничения и дополнение современных методов	37
<i>Brenier-Pinchart M.-P., Pinel C., Grillot R., Ambroise-Thomas P.</i> – Le diagnostic du Paludisme dans les régions non endémiques. Valeur, limites et complémentarité des méthodes actuelles	42
<i>Шурыгина И.А., Малов И.В., Марамович А.С., Климов В.Т., Чеснокова М.В.</i> Влияние плазмиды с молекулярной массой 82 MD на клинические и морфологические проявления псевдотуберкулеза	47
<i>Ленок Г.В., Савилов Е.Д., Филиппов Е.С.</i> Клинические проявления острых вирусных гепатитов у рабочих предприятий нефтехимической промышленности	52
<i>Киклевич В.Т., Ильина С.В., Савилов Е.Д.</i> Клинико-эпидемиологические особенности вирусных инфекций у детей на территориях с высоким уровнем техногенного загрязнения окружающей среды	53
<i>Попкова С.М., Циндик Т.Ю., Кичигина Е.Л., Лежук С.И., Немченко У.Д.</i> Иммуно-эпидемиологические особенности и этиологическая структура кишечного дисбактериоза у детей раннего возраста в городе с развитой промышленностью	59
<i>Ильина С.В., Киклевич В.Т., Савилов Е.Д.</i> Иммунный ответ при острых респираторных вирусных инфекциях у детей, протекающих на фоне техногенного загрязнения окружающей среды	63
<i>Савилов Е.Д.</i> Обоснование оптимального времени воздействия для управления инфекционной заболеваемостью	67

ASPERGILLUS FUMIGATUS: ОТ САПРОФИТИЗМА К ВИРУЛЕНТНОСТИ. ФЕНОТИПИЧЕСКОЕ И ГЕНОТИПИЧЕСКОЕ БИОРАЗНООБРАЗИЕ

Р. Грийо, Ф. Мондрон, М.-П. Бренье, П. Амбруаз-Тома.

(Франция, Гренобль. Госпитально-университетский центр, генеральный директор – проф. Жан-Пьер Бастар; Отдел медицинской молекулярной паразитологии и микологии)

Резюме. За последние двадцать лет свойства аспергиллёзной инфекции значительно изменились в плане её опасности и частоты встречаемости. *Aspergillus fumigatus* стал одним из наиболее опасных инфекционных агентов, в частности при возникновении на фоне тяжелых иммунодепрессий. Чтобы попытаться понять процесс возникновения этого оппортунистического гриба, на основе изученной литературы и собственного опыта авторы представляют синтез изменений, появившихся у трех "актеров" этой болезни: хозяина, на "территории" которого размещается инфекция, окружающей среды – естественной среды распространения этой убиквитарной плесени и, наконец, самого микромицета, биоразнообразии которого начинает пугать. Исследования генетического полиморфизма *Aspergillus fumigatus* могли бы вызвать значительный интерес в области эпидемиологии и профилактики аспергиллюзов.

В течение века с момента первых описаний аспергиллёза человека (Bennet, 1844; Virchow, 1856), болезнь оставалась большой редкостью и чаще всего обнаруживалась лишь при вскрытии. Болезнь проявлялась в форме аспергиллёмы, своего рода "грибкового комка" или мицетомы, развиваясь в легочной остаточной каверне [1]. Описание рода *Aspergillus* является еще более ранним (1972). Его появлению мы обязаны Pier Antonio Micheli, директору Ботанического Сада Флоренции, который выбрал это название из-за очевидного сходства, существующего между конидионогенным органом гриба (аспергиллярная головка) и кропилом, литургическим инструментом, которым, возможно, пользовался автор [1]. Таким образом, уже по меньшей мере два столетия *Aspergillus* известен как обыкновенный сапрофит, обитающий в окружающей среде.

Только во второй половине XX века появляется осознание того, что плесневые грибы, и в особенности *Aspergillus fumigatus*, способны провоцировать у человека возникновение острой инфекции. *Aspergillus fumigatus* способен выступать в роли оппортунистической инфекции. Именно из-за этого свойства обыкновенный микромицет *Aspergillus fumigatus* считается в госпитальных условиях одним из наиболее опасных инфекционных агентов.

Как и все оппортунистические инфекции, возникшие из экзогенных источников, аспергиллёз является результатом дисбаланса между тремя составляющими: хозяином, на "территории" которого размещается инфекция, окружающей средой – естественной средой распространения *Aspergillus fumigatus* и, наконец, самим причинным агентом. Чтобы попытаться понять источник возникновения и паразитического "успеха" этого мик-

ромицета, мы попытаемся определить новые явления, которые способствовали прогрессу, приведшему *Aspergillus fumigatus* от сапрофитизма к патогенности и радикально изменили эпидемиологию аспергиллёзов.

Хозяин и аспергиллез

Aspergillus fumigatus – в высшей степени изменчивый микроорганизм – отличается от других патогенных или потенциально патогенных грибковых агентов очень разнообразными клиническими симптомами болезней, которые он провоцирует. Однако, обычно выделяют четыре основных формы:

- аспергиллома или "аспергиллёзный трюфель", результат ранее существовавшей безинвазивной колонизации легочной полости,
- аллергический бронхо-легочный аспергиллез (АВРА), вызванный повторным вдыханием аспергиллёзных спор, при котором доминируют явления немедленной или замедленной гиперчувствительности,
- хронический некротизирующий аспергиллёз – форма, при которой в образовании полости повинен непосредственно грибок,
- и, наконец, инвазивный легочный аспергиллёз, при котором *Aspergillus* поражает легочную паренхиму и может проникнуть в другие органы. Эта болезнь всегда возникает при наличии глубокой иммунодепрессии и она представляет угрозу для жизни.

В течение двадцати последних лет в различной степени изменились частота появления всех этих форм и/или факторы риска, обуславливающие это появление. Аспергиллома, классическая и наиболее давно известная форма этого микоза, остаётся, несмотря на некоторые утверждения,

очень актуальной болезнью. Исторически сложилось так, что образование каверн при туберкулезе в большинстве случаев были причиной присоединения аспергиллёз (>80% случаев). Но, согласно нашему опыту, опирающемуся на исследование 30 недавних случаев лёгочной и плевральной аспергиллёмы, кажется, что сейчас роль бациллярной инфекции значительно снижена в пользу других заболеваний, сопровождающихся образованием каверн (~50%): саркоидоз, некротизирующий рак, бронхоэктаз, эмфизема (данные не опубликованы).

По-видимому, значительно увеличивается частота заболеваемости аллергическим бронхо-легочным аспергиллёзом (АВРА), но это может быть частично обусловлено разработкой более точных методов диагностики. Данное явление объясняется тем, что аллергический бронхо-легочный аспергиллёз, возникая классически у бывших атопиков, осложняет теперь протекание муковисцидоза в 10% случаев [2,3].

Но, на данный момент, первое место занимает инвазивный аспергиллёз (АИ): в течение десяти последних лет в Европе и других развитых странах частота встречаемости АИ значительно возросла. Вопреки строгим профилактическим мерам, из-за того, что главными факторами риска являются длительная нейтропения и длительная интенсивная кортикостероидная терапия, АИ стал первопричиной смертности среди онкогематологических больных [4]. Больные с пересаженными органами тоже относятся к группе риска; так, при легочных и кардио-легочных трансплантациях частота заболеваемости АИ достигает 18%. Несмотря на адаптированную терапию, процент летальности остается очень высоким и превышает 80%. Наконец, несмотря на то, что ВИЧ-инфекция, не признана фактором риска, провоцирующим возникновение АИ, обнаружение аспергиллёза становится все более и более частым у таких больных, возможно, потому, что увеличение продолжительности жизни у таких больных подвергает их риску развития инфекций, которыми они раньше не болели [6].

Таким образом, этот системный микоз становится серьезной проблемой общественного здоровья населения с иммунодепрессией, численность которого постоянно увеличивается. Неоспоримо также, что свойства аспергиллёзной болезни сильно изменились, прогрессируя от хронической и четко ограниченной инфекции до смертельной инвазивной болезни.

Aspergillus fumigatus и окружающая среда

Второй фактор, по поводу которого необходимо поразмышлять, чтобы попытаться объяснить развитие этого микоза, касается окружающей среды – естественной среды распространения грибка. Стала ли окружающая среда более благоприятной для развития аспергиллёза, увеличивая, таким образом, возможности контакта “хозяин-микробиоты”?

В качестве экологических ниш *Aspergillus fumigatus* использует преимущественно разлагающееся растительное вещество (компост) и органическую пыль [7]. Таким образом, человек постоянно вдыхает споры этого убиквитарного грибка, концентрация которого в воздухе варьирует обычно между 100 и 200 спорами/м³ воздуха.

У обычных субъектов грибковые споры быстро устраняются в верхних дыхательных путях благодаря механизму очищения слизистых, дополненному действием секреторных IgA. Конидии, которым удается преодолеть этот первый барьер, и которые добираются до легочных альвеол благодаря своему маленькому размеру (2-3 μm), разрушаются при совместном действии механизмов клеточной и гуморальной защиты (опсонины и фагоцитирующие клетки: альвеолярные макрофаги и нейтрофильные лейкоциты) [9]. Так как факторами очень высокого риска являются миелосупрессия и аномалии фагоцитарной функции, то любое отклонение от нормы на одном из уровней этих линий защиты может привести к появлению микоза.

Aspergillus несомненно находит различные потенциальные резервуары в госпитальной среде: об этом свидетельствуют спорадические микроэпидемии нозокомиальных аспергиллёзов, которые возникают в помещениях, где размещаются иммунодепрессированные или ослабленные больные. В период с 1972 по 1993 гг. Nolard [8] сообщает о 15 зарегистрированных эпидемиях, 13 из которых были вызваны видом *Aspergillus fumigatus*. Таким образом, совершенно очевидно присутствие экзогенных источников заражения в больничных учреждениях. Идеальными для внедрения *Aspergillus fumigatus* в атмосферу являются термальные и гидрологические условия, создающиеся при проведении ремонтно-строительных работ внутри или неподалеку от здания больницы или при био-заражении воздухопроводов [10]. Кроме этого, причиной заражения пациентов с нейтропенией может стать заражение изоляционных материалов, комнатных растений или засушенных цветов, а также продовольственных продуктов (специи, чай, зерновые) [8-11].

Особая термотолерантность этого сапрофита и его слабые требования в азотсодержащей основе частично объясняют отличительные способности *Aspergillus fumigatus* к адаптации в этих своеобразных и а priori неожиданных биотопах...

Aspergillus fumigatus и патогенные свойства

Как и в случае других инфекционных болезней, глубокие изменения свойств аспергиллёзной инфекции могли бы быть объяснены тем, что микроорганизм приобретает особые патогенные качества. Однако, эту гипотезу проверить невозможно, так как мы не располагаем ретроспективными сравнительными данными. Кроме того, все работы, производимые до сегодняшнего момента для того, чтобы охарактеризовать фактор патогенности (энзим или токсин) *Aspergillus fumigatus*,

роль которого была бы решающей в выражении патогенных свойств, не увенчались успехом [12].

Зато все больше и больше превалирует концепция о том, что в окружающей среде существует очень большое разнообразие биотипов *Aspergillus fumigatus*, и что все они не обладают одинаковой способностью развиваться в организме человека.

Эта гипотеза основывается на первичных результатах, полученных несколькими группами ученых, работающих в Европе, которые применили к *Aspergillus fumigatus* различные методы молекулярного типирования (рестрикция полиморфных длинных фрагментов, рандомизированная амплификация полиморфной ДНК, в умеренно повторяемые последовательности [13-18]. В действительности, в предыдущих работах, основанных на фенотипических характеристиках (культуральные свойства, морфология конидиогенных структур, протеиновые и антигенные свойства) выявилось отсутствие способности к размножению, так как генетические изменения фенотипа полностью зависимы от условий окружающей среды, у которой культура была выделена.

На сегодняшний момент результаты данного генотипического исследования доказали, что в окружающей среде существует значительное биоразнообразие *Aspergillus fumigatus*. Механизмы их возникновения неизвестны. Их происхождение может быть обусловлено географическими и/или климатическими факторами. Одна из целей европейской сети, которую мы создали (European Group for Research on Genotype and Biotype of *A. fumigatus*: EBGA), заключается в том, чтобы исследовать этот вопрос.

Аспергиллы и биоразнообразие с другой стороны, клинические штаммы, выделенные у пациентов, страдающих инвазивным аспергиллёзом или бронхиальной аспергиллёзной колонизацией представляют также достаточно значительный генетический полиморфизм; связи же между генотипическими данными и типом аспергиллёзной болезни обнаружено не было. Наконец, мы допускаем, что больной "размещает" лишь один биотип, и даже два, как мы это только что доказали [20]. Таким образом, очевидно, что хозяин производит своего рода селективное давление на некоторые биотипы – отбор, который мог бы быть результатом взаимодействия хозяина (иммунитарный ответ) и микромицета (исключительная способность расти в тканевой среде). Эта гипотеза основывается на неполных результатах исследования и нуждается в подтверждении.

Эти исследования, осуществленные на молекулярном уровне, позволяют предвидеть, что последствия и перспективы в эпидемиологическом, патогеническом и профилактическом плане будут очень значительными.

В настоящий момент мы располагаем эпидемиологическими методами, еще, конечно, нуждающимися в совершенствовании, но которые яв-

ляются очень ценными и уже позволяют в контексте нозокомиальной аспергиллёзной инфекции точно выяснить источник заражения. Этот метод состоит в том, что сопоставляются генетические свойства штамма пациента и свойства изолята, выделенного из его ближайшего окружения. В большинстве случаев заражение является интрагоспитальным, оно может также произойти дома у самого пациента, так как в домашних условиях существует множество факторов, благоприятствующих появлению *A.fumigatus*. Также возможно, что источником инфекции становится сам пациент: 15% больных инвазивным аспергиллёзом, перенесших пересадку костного мозга, были носителями неизвестного аспергиллёзного очага, главным образом синусовой аспергиллёмы [4].

В плане патогенности мы выявили методом RAPD возможную связь между способностью некоторых штаммов *A.fumigatus* инвазировать ткани и генетическим полиморфизмом [18]. Наличие или отсутствие фрагмента в 0,95 Kb, который был клонирован и изучена его последовательность, в 80% случаев оказывается связанным с развитием инвазивной или не инвазивной аспергиллёзной инфекции. Исследование легочного инвазивного аспергиллёза, проведенное на мышах, подтверждает гипотезу о том, что некоторые изоляты более патогенны, чем другие, и о том, что уровень патогенности связан с данным молекулярным маркером.

Терапевтические аспекты аспергиллёзов умышленно не были затронуты в данной работе, потому что этот пункт выходит за рамки, которые мы сами себе установили. Лечение, очень сложное при аспергиллёзе, основывается только на двух препаратах: внутривенном введении амфотерицина В (amphotericin В) и итраконазоле (itraconazole). Несмотря на постоянную антиаспергиллёзную активность этих противогрибковых препаратов *in vitro*, неудачи в лечении встречаются часто. В большинстве своём они связаны с поздней диагностикой аспергиллёза и с тяжестью скрытой болезни. Литература, освещающая явления потенциальной резистентности *A.fumigatus*, очень немногочисленна. Однако не исключено, что резистентность действительно появляется, особенно у двух групп пациентов: 1) у лиц с нейтропенией, неоднократно получающих эмпирическое лечение амфотерицином В; 2) среди получающих в течение очень долгого срока лечение итраконазолом. Обнаружение штаммов такого типа и выявление возможной связи с генетическим полиморфизмом могли бы иметь огромное значение для предупреждения и лечения аспергиллёзов.

Заключение

Изменения, которым подверглись аспергиллёзы, подтверждают некоторые из гипотез, сформулированные 60 лет назад Шарлем Николлем ("Destion des Maladies Infectueuses") [21], который уже тогда постиг "значение времени, окружаю-

щей среды, состояния организма относительно его сопротивляемости к инфекции для естественности" и "постоянную адаптацию микробов к окружающей среде". В этой области *A. fumigatus* обла-

дает замечательными свойствами: как пример изменчивости и непостоянства он внушает уважение, а как агент человеческих болезней он требует нашего внимания.

© GRILLOT R., MONDON Ph., BRENIER M.-P., AMBROISE-THOMAS P. –

ASPERGILLUS FUMIGATUS: DU SAPROPHYTISME À LA VIRULENCE. BIODIVERSITÉ PHÉNOTYPIQUE ET GÉNOTYPIQUE

R. Grillot(*), Ph. Mondon(**), M.-P. Brenier(**), P. Ambroise-Thomas(*)

(* – Département de Parasitologie-Mycologie Médicale et Moléculaire, CNRS EP 78, UFR de Pharmacie, ** – Département de Parasitologie-Mycologie Médicale et Moléculaire, CNRS EP 78, Faculté de Médecine, Université Joseph Fourier Grenoble I, Domaine la Merci, F 38706 La Tronche Cedex, Présentation devant l'Académie Nationale de Pharmacie, le 7 juin 1995. Manuscrit remis à l'issue de la présentation. Tirés à part: Renée GRILLOT, à l'adresse ci-dessus)

Résumé. Au cours de ces vingt dernières années, le profil des infections aspergillaires s'est profondément modifié, en fréquence et gravité. *Aspergillus fumigatus* est devenu un des agents infectieux les plus redoutés, notamment au cours des immuno-dépresseions sévères. Pour tenter de comprendre l'émergence de ce champignon opportuniste, les auteurs présentent d'après la littérature et leur propre expérience, une synthèse des modifications apparues chez les trois "acteurs" de la maladie: l'hôte dont le "terrain" fait le lit de l'infection, l'environnement, habitat naturel de cette moisissure ubiquitaire, enfin le micromycète lui-même, dont on commence à appréhender la biodiversité. Ces recherches sur le polymorphisme génétique d'*Aspergillus fumigatus* pourraient avoir un intérêt majeur dans l'épidémiologie et la prophylaxie des aspergilloses.

Introduction

Au cours du siècle qui suivit les descriptions initiales de l'aspergillose humaine (Bennett, 1844; Virchow, 1856), la maladie resta une rareté, généralement découverte *post-mortem*. L'infection se manifestait alors sous forme d'un aspergillome, sorte de "boule fongique" ou mycétome, se développant dans une caverne pulmonaire résiduelle [1]. La description du genre *Aspergillus* est encore plus ancienne (1729). Nous la devons à Pier Antonio Micheli, Directeur du Jardin des Plantes à Florence, qui choisit cette appellation d'après l'évidente ressemblance existant entre l'organe conidiogène du champignon (la tête aspergillaire) et le goupillon, instrument liturgique probablement familier à l'auteur [1]. C'est donc depuis plus de deux siècles au moins qu'*Aspergillus* est connu comme banal saprophyte de notre environnement.

La prise de conscience que ces moisissures, et tout spécialement l'espèce *Aspergillus fumigatus*, étaient capables de provoquer chez l'homme une infection fulminante ne date que de la seconde moitié du vingtième siècle. Cette évolution est la conséquence du remarquable pouvoir opportuniste qui caractérise *A. fumigatus*, propriété qui a valu à ce banal micromycète, le privilège de devenir, en milieu hospitalier, un des agents infectieux les plus redoutés.

Comme dans toutes les infections opportunistes dont la source est exogène, la maladie aspergillaire est le résultat d'un déséquilibre survenant entre les trois composantes: l'hôte, c'est-à-dire le "terrain" qui

fait le lit de l'infection, l'environnement, habitat naturel d'*A. fumigatus* et enfin l'agent causal lui-même. Pour tenter de comprendre l'émergence et la "réussite" surprenante de ce micromycète, nous essaierons de dégager les phénomènes récents qui, dans ces trois domaines, ont contribué à amener progressivement *A. fumigatus* du saprophytisme à la pathogénicité et à modifier radicalement l'épidémiologie des aspergilloses.

L'hôte et la maladie aspergillaire

A. fumigatus, micro-organisme éminemment changeant et versatile, se distingue des autres agents fongiques pathogènes ou potentiellement pathogènes par les aspects cliniques très variés des maladies qu'il provoque. Cependant, quatre formes principales sont classiquement individualisées: – l'aspergillome ou "truffe aspergillaire", résultat de la colonisation sans invasion d'une cavité pulmonaire préexistante, – l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA) déclenchée par l'exposition répétée à l'inhalation des spores aspergillaires et dans laquelle dominent les phénomènes d'hypersensibilité immédiate et semiretardée, – l'aspergillose chronique nécrosante, forme dans laquelle la lésion cavitaire est directement imputable au champignon, – enfin, l'aspergillose pulmonaire invasive (API) où *V. Aspergillus* envahit le parenchyme pulmonaire, et qui est susceptible de disséminer dans d'autres organes. Cette maladie survient toujours dans un état d'immunodépresseion profonde et elle menace le pronostic vital.

Au cours de ces vingt dernières années, toutes ont vu se modifier, à des degrés divers, leur incidence et/ou les facteurs de risque conditionnant leur survie. L'aspergillome, forme la plus classique et la plus anciennement connue de cette mycose, reste toujours, contrairement à certaines affirmations, une maladie très actuelle. Historiquement, les séquelles cavitaires de tuberculose étaient très majoritairement à l'origine de la greffe aspergillaire (>80% des cas). Mais d'après notre expérience portant sur 30 cas récents d'aspergillomes pulmonaires et pleuraux, le rôle de l'infection bacillaire semble diminuer très significativement (-50%) au profit d'autres maladies cavitaires: sarcoïdose, cancer nécrosé, dilatation des bronches, emphysème (non publié).

L'incidence de l'ABPA semble augmenter sensiblement, mais ce fait pourrait découler en partie de critères diagnostiques mieux définis et des progrès de la séro-immunologie. Le phénomène nouveau tient au fait que l'ABPA, survenant classiquement chez les anciens atopiques, complique maintenant l'évolution de la mucoviscidose dans 10% des cas [2-3].

Mais c'est l'aspergillose invasive (AI) qui occupe maintenant le devant de la scène: en Europe et dans les pays industrialisés, la fréquence de l'AI a dramatiquement augmenté au cours de ces dix dernières années. En dépit de sévères mesures préventives, l'AI est devenue la première cause de mortalité en onc-hématologie, la neutropénie prolongée et la corticothérapie intense et de longue durée étant les deux facteurs de risques majeurs [4]. Les malades ayant reçu une transplantation d'organe sont aussi des malades à "haut risque", l'incidence de l'AI atteignant 18% en transplantations cardio-pulmonaire et pulmonaire [5]. En dépit d'une thérapeutique adaptée, la létalité reste très élevée, excédant 80%. Enfin, plus récemment et bien que l'infection due au virus de l'immunodéficience humaine ne soit pas reconnue comme facteur de risque pour l'AI, la découverte d'une aspergillose devient de moins en moins exceptionnelle chez ces malades, peut être parce que l'augmentation de leur survie les expose à des infections auxquelles ils échappaient auparavant [6].

Ainsi, cette mycose systémique est en train de devenir un très sérieux problème de santé publique pour la population de malades immunodéprimés, en constante augmentation. Il est aussi incontestable que le profil de la maladie aspergillaire s'est profondément modifié, passant progressivement du statut d'infection chronique et bien délimitée, à celui d'une maladie invasive et gravissime.

***Aspergillus fumigatus* et environnement**

Le second facteur à propos duquel il faut s'interroger pour tenter d'expliquer l'évolution de cette mycose concerne l'environnement, habitat naturel du champignon. L'environnement est-il devenu plus favorable au développement aspergillaire, multipliant ainsi les occasions de contact hôte-micromycète?

A. fumigatus possède, pour niches écologiques préférentielles, la matière végétale en décomposition

(compost) et la poussière **organique** [7]. L'homme est donc constamment exposé à l'**inhalation** de spores de ce champignon ubiquitaire, dont la concentration aérienne se situe habituellement entre 100 à 200 spores/m³ d'air [8].

Chez le sujet normal, les spores fongiques sont rapidement éliminées dans le tractus respiratoire supérieur, grâce au mécanisme d'épuration mucociliaire, complété par l'action des IgA sécrétoires. Les conidies qui échappent à cette première barrière et qui parviennent aux alvéoles pulmonaires grâce à leur très petite taille (2-3 j.m) sont détruites par l'action conjuguée des mécanismes de défenses cellulaires et humorales (opsonines et cellules phagocytaires: macrophages alvéolaires et polynucléaires neutrophiles) [9]. Toute anomalie à un niveau quelconque de ces lignes de défense peut conduire à l'installation de la mycose, les facteurs de très haut risque étant les myélosuppressions et les anomalies de la fonction phagocytaire.

En milieu hospitalier, *Aspergillus* trouve indiscutablement divers réservoirs potentiels: en témoignent les microépidémies sporadiques d'aspergilloses nosocomiales qui surviennent dans les unités où sont hospitalisés des patients immunodéprimés ou débilites. De 1972 à 1993, Nolard [8] rapporte 15 épidémies publiées, dont 13 étaient imputables à l'espèce *A. fumigatus*. Les sources exogènes de contamination sont donc évidentes dans les établissements hospitaliers. Les plus habituelles sont les travaux de démolition ou de rénovation effectués à proximité ou à l'intérieur même des bâtiments et la biocontamination des systèmes de traitement d'air où *Aspergillus* trouve des conditions thermiques et hygrométriques idéales pour s'y implanter [10]. Plus rarement, la contamination de matériaux d'isolation, les plantes en pots ou les fleurs séchées ou encore des substances alimentaires (condiments, thé, céréales), ont été incriminés dans la contamination de patients neutropéniques [8-11].

La thermotolérance particulière de ce saprophyte et ses faibles exigences en substrat azoté fournissent en partie une explication aux remarquables capacités d'adaptation d'*A. Fumigatus* dans ces biotopes particuliers, et *a priori*, inattendus...

***Aspergillus fumigatus* et pouvoir pathogène**

Pour expliquer les modifications profondes du profil de l'infection aspergillaire, comme dans d'autres maladies infectieuses, l'acquisition par le micro-organisme d'un pouvoir pathogène particulier pourrait être évoquée. Cette hypothèse est évidemment invérifiable car nous ne disposons pas d'éléments rétrospectifs de comparaison. De plus, tous les travaux conduits jusqu'à présent dans le but de caractériser chez *A. fumigatus* un facteur (enzyme ou toxine) dont le rôle serait prépondérant dans l'expression de son pouvoir pathogène, sont restés sans succès [12].

En revanche, le concept que coexistent dans l'environnement, une très large variété de biotypes d'

A. fumigatus et que tous ne posséderaient pas la même aptitude à se développer dans l'organisme humain, prévaut de plus en plus.

Cette hypothèse s'appuie sur les résultats initiaux de quelques équipes, qui, en Europe, ont appliqué à *A. fumigatus* différentes méthodes de typage moléculaire: profils de restriction de l'ADN cellulaire total (restriction fragment length polymorphism: RFLP), amplification aléatoire de l'ADN (random amplification of polymorphic DNA: RAPD), séquences modérément répétées de l'ADN non-ribosomal (moderately repetitive sequences: MRS) [13-18]. En effet, les travaux antérieurs basés sur des caractères phénotypiques (aspects culturels, morphologie des structures conidiogènes, profils protéiques et antigéniques) se sont révélés manquer de reproductibilité, car les variations du phénotype sont totalement dépendantes des conditions environnementales dans lesquelles la culture a été effectuée pour une souche donnée [19].

Actuellement, d'après le résultat de ces études génotypiques, il semble prouvé qu'existe dans l'environnement une importante biodiversité d' *A. fumigatus*. Les mécanismes en sont inconnus. Ils pourraient être d'origine géographique et/ou climatiques: un réseau européen que nous avons constitué (European Group for Research on Genotype and Biotype of *A. fumigatus*: EBG) a, entre autres pour objectif, d'en préciser la réalité.

Aspergillus et biodiversité

Par ailleurs, les souches cliniques isolées de patients atteints d'aspergillose invasive ou de colonisation bronchique aspergillaire présentent également un assez grand polymorphisme génétique et il n'a pas été trouvé de corrélation entre les profils génotypiques et le type de maladies aspergillaires. Enfin, on admet généralement qu'un malade n'héberge qu'un seul biotype, voire deux comme nous venons de le prouver [20]. Il est donc vraisemblable que l'hôte opère une sorte de pression sélective sur certains biotypes, sélection qui pourrait résulter de l'action combinée de l'hôte (phénomènes immunitaires) et du micromycète (aptitude particulière à croître en milieu tissulaire). Cette hypothèse repose bien sûr sur des résultats encore partiels qui demandent à être confirmés.

Les conséquences et les perspectives que ces investigations conduites à l'échelle moléculaire laissent entrevoir au plan épidémiologique, pathogénique et prophylactique, sont d'une importance capitale.

Dans l'immédiat, nous disposons des outils épidémiologiques, certes encore perfectibles, mais qui, d'ores et déjà, permettent, dans un contexte d'infection aspergillaire nosocomiale, de préciser formellement l'origine de la contamination. Ceci consiste à corréler les profils génomiques de la souche du patient avec ceux des isolats provenant de son environ-

nement proche. En effet, si dans la majorité des cas le point de départ de la contamination est intra-hospitalier, il peut aussi se situer dans le logement même du patient, les sources domiciliaires d'*Aspergillus* étant évidemment nombreuses. Mais il est aussi possible que le malade lui-même soit la source de l'infection: 15% des AI survenant chez des patients ayant reçu une greffe de moelle osseuse seraient porteurs d'un foyer aspergillaire méconnu, aspergillome sinusien surtout [4].

D'un point de vue pathogénique, nous avons mis en évidence par RAPD une relation possible entre la capacité de certaines souches d'*A. fumigatus* à envahir les tissus et le polymorphisme génétique [18]. La présence ou l'absence d'un fragment de 0,95 Kb qui a été cloné et séquencé, se trouve corrélée dans 80% des cas avec la nature de l'infection aspergillaire, invasive et non invasive. Une étude conduite sur un modèle murin animal d'API semble confirmer l'hypothèse que certains isolats sont plus pathogènes que d'autres et que ce niveau de pathogénicité est corrélé avec notre marqueur moléculaire.

Les aspects thérapeutiques des aspergilloses n'ont volontairement pas été développés dans cette synthèse, puisqu'ils sortaient du cadre que nous nous étions fixés. Particulièrement difficile dans l'aspergillose, le traitement repose sur deux médicaments seulement: l'amphotéricine B intra-veineuse et l'itraconazole. En dépit d'une activité anti-aspergillaire *in vitro* très régulière de ces deux antifongiques, les échecs thérapeutiques sont fréquents, et en grande partie liés au diagnostic tardif de l'aspergillose et à la gravité de la maladie sous-jacente. La littérature est particulièrement pauvre sur les phénomènes de résistance potentielle d' *A. fumigatus*. Il n'est cependant pas exclu que des résistances apparaissent, notamment dans deux populations de patients: 1) les malades neutropéniques qui reçoivent de façon répétée un traitement empirique à l'amphotéricine B; 2) les malades traités pendant de très longues périodes par l'itraconazole. La détection d'un tel type de souches et la mise en évidence d'une éventuelle corrélation avec le polymorphisme génétique, pourrait avoir une incidence capitale dans la prévention et le traitement des aspergilloses.

Conclusion

L'évolution qu'ont subie les aspergilloses vérifie à nouveau certaines des hypothèses formulées il y a 60 ans par Charles Nicolle sur le "Destin des Maladies Infectieuses" [21], qui déjà avait appréhendé "le rôle du temps, de l'environnement, du terrain dans leur histoire naturelle" et "l'adaptation permanente des germes à leur environnement". Dans ce domaine, *A. fumigatus* possède d'admirables qualités: comme exemple de versatilité et de variabilité, il impose notre respect, en tant qu'agent de maladies humaines, il exige notre attention.

Références

1. Mackenzie DWR. Aspergillus in man. In: Vanden Bossche H, Mackenzie DWR, Cauwenberg G, eds. Aspergillus and aspergillosis. New York: Plenum Press, 1988; 1-8.
2. Paty E, Kramkinel J, De Montalembert M et al. Arch Fr Pediatr 1991; 48: 681-9.
3. Grillot R, Pinel C, Bost M et al. Arch Fr Pediatr 1992; 49: 665.
4. Ribaud P, Esperou-Bourdeau H, Devergie A, Gluckman E. Pathol Biol 1994; 42: 652-5.
5. Guillemain R, Lavarde V, Amrein C, Chevalier P, Guivarc'h A, Glotz D. Pathol Biol 1994; 42: 661-9.
6. Khoo SH, Denning DW. Clin Inf Dis 1994; 19: 541-8.
7. Summerbell RC, Staib F, Dales R et al. J Med Vet Mycol 1992; 30 suppl: 279-85.
8. Nolard N. Pathol Biol 1994; 706-10.
9. Latge JP, Paris S, Sarfati J, Debeaupuis JP, Monod M. Exoantigens of *Aspergillus fumigatus*: serodiagnosis and virulence. In: Power KA, Renwick A, Peberdy JF, eds. The genus *Aspergillus*. From taxonomy and genetic to industrial application. New York: Plenum Press, 1994; 321-39.
10. Fricker H. Qualité microbiologique de l'air et systèmes de climatisation: étude de la flore bactérienne et fongique et influence des caractéristiques de l'installation. Thèse de Doctorat, Université J. Fourier Grenoble I, 1993.
11. Vermorel-Faure O, Lebeau B et al. Press Méd 1993; 22: 157-60.
12. Latge JR, Paris S, Sarfati J, Debeaupuis JP, Diaquin M, Girardin H. Pathol Biol 1994; 42: 632-9.
13. Denning DW, Shankland GS, Stevens DA. J Med Vet Mycol 1991; 29: 339-42.
14. Aufavre-Brown A, Cohen J, Holden DW. J Clin Microbiol 1992; 30: 1991-3.
15. Girardin H, Sarfati J, Traore F, Dupouy-Camet, Derouin F, Latgé JP. J Clin Microbiol 1994; 32: 684-90.
16. Tang CM, Cohen J, Rees AP, Holden DW. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994; 13: 318-21.
17. Loudon KW, Coke AP, Burnie JP, Lucas GS, Liu Yin JA. J Med Vet Mycol 1994; 32: 217-24. I
18. Mondon P, Thelu J, Lebeau B, Ambroise-Thomas P, Grillot R. J Med Microbiol 1995; 42: 209-303.
19. Symoens F, Viviani MA, Nolard N. Mycoses 1993; 36: 229-37.
20. Symoens F, Van Varenbergh B, Bastide JM et al. The European Research Group on Biotype and Genotype of *Aspergillus*. 21 Congress of the European Confederation of Medical Mycology. Brussels, April 27-29 1995; PO 1-12.
21. Nicolle C. Destin des Maladies Infectieuses. Association des Anciens Elèves de l'Institut Pasteur et France Lafayette eds., Paris, 1993.

© БРЕНЬЕ-ПИНШАР М.-П., ЛЕБО Б., ГРИЙО Р. –
УДК 616.992-07

ОБНАРУЖЕНИЕ CANDIDA В ИСПРАЖНЕНИЯХ: КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

М.-П. Бренье-Пиншар, Б. Лебо, Р. Грийо.

(Франция, Гренобль. Госпитально-университетский центр, генеральный директор – проф. Жан-Пьер Бастар; Отдел медицинской молекулярной паразитологии и микологии)

Резюме. Интестинальные кандидозы редко встречаются у иммунокомпетентных людей, часто речь идет о дисбалансе кишечной флоры, возникающий вследствие благоприятствующих факторов. У людей с угнетенной иммунной системой необходимо микологическое наблюдение пищеварительного тракта с подсчетом дрожжей.

Исследовательская цель: объяснить присутствие дрожжей в испражнениях.

Кандида часто обнаруживается в испражнениях в процессе копрологических исследований, проводимых при пищеварительных расстройствах (таких как например, диарея). Сложно приписывать им патогенную роль. На самом деле, дрожжи из рода кандиды являются комменсалами, привычными для пищеварительного тракта, они присутствуют у 25% здоровых людей [1]. Многоцентровое исследование, осуществленное на госпитализированных пациентах, недавно показало, что примерно на 30.000 исследований кала, дрожжи присутствуют в 1 из 2-х случаев [2]. Основной обнаруженный вид – это *Candida albicans* (50-60% случаев), остальная флора распределяется между другими видами *candida* (*C. (Torulopsis) glabrata*, *C. Tropicalis principalement*), *Saccharomyces* (по

происхождению пищевой или медикаментозной) и *Geotrichum* (волоконный грибок, чаще всего из пищевых) [1,2]. Это равновесие грибка-хозяина может быть нарушено различными благоприятствующими для этого факторами. Частое обнаружение дрожжей в кале, однако противопоставляется, тем не менее, редким интестинальным кандидозам, обнаруженным гистологическим путем. Проявляют стойкость множество неизвестных видов дрожжей, как свидетельствует небольшая библиография на эту тему; несмотря на все, необходимо знать требования микологического исследования кала и основ его интерпретации.

Интестинальные кандидозы: какова реальность?

Пищеварительные микозы объединяют различные расстройства: орофарингеальные, пищеводные и гастро-интестинальные [3]. На практике,

обнаружение значительного количества дрожжей в кале заставляет вспомнить о двух локализациях: кандиды в тонком кишечнике с энтеритом и ободочная кишка с толстокишечным кандидозом.

Candida у иммунокомпетентных пациентов

Интестинальный кандидоз с инвазивными гистологическими нарушениями встречается очень редко. Но неоспоримо, что некоторые ятрогенные либо, связанные с хозяином (предельный возраст, диабет, прием некоторых медикаментов) факторы очень часто напрямую связаны с пищеварительной симптоматикой, в частности с диарейной: разрастание дрожжей (что и очевидно в испражнениях) может повлечь за собой воспалительные или аллергические процессы, возникающие возможно, из-за этой легко раздражимой ободочной кишки (без тканевой инвазии) [4]. Терапия антибиотиками может быть причиной дисбаланса пищеварительной флоры и пролиферации дрожжей; кандидозный энтерит встречается предпочтительно у детей грудного возраста, принимающих антибиотики и это часто связано с оральным монилиазом (стоматомикозом). При отсутствии классически благоприятствующих факторов, рецидив этих эпизодов пролиферации дрожжей в испражнениях должен побудить поиск воспалительных заболеваний толстой кишки, и особенно опухолевых заболеваний. Необходимо иметь ввиду возможную иммуноослабленность вследствие ВИЧ инфекции.

Candida у пациентов с угнетенной иммунной системой

У пациентов с “высоким риском грибковых заболеваний” (нейтропения, длительная кортикотерапия), исследование дрожжей в кале, осуществляется не только с диагностической целью, но и для того чтобы выявить на ранних стадиях процесс колонизации *candida* в органах пищеварения и таким образом ограничить риск диссеминации. На самом деле, пищеварительный тракт является наиболее частым источником гематогенной диссеминации грибка [5]. Зато, при ВИЧ-инфицировании несмотря на то, что грибковая колонизация частая, риск диссеминации является исключительным.

Биологическая диагностика: какие требования?

Анализ кала должен производиться стерильным образом; мазок быстро доставляется в лабораторию для того, чтобы избежать размножения дрожжей при благоприятной температуре, что может повлиять на результаты анализа. Присутствие дрожжей в виде псевдоволокон при прямом анализе является показателем патогенности, но не формальным и случайным (многочисленные ложные положительные и ложные отрицательные). Два показателя необходимы чтобы объяснить микологический анализ кала: изолированная полуколичественная оценка дрожжей и диагноз их вида.

Полуколичественная оценка дрожжей (редких, достаточно многочисленных, многочисленных и очень многочисленных колоний)

Она позволяет легко дифференцировать сапрофитизм и аномальную пролиферацию. Однако, отсутствие стандартизации этого микологического анализа может объяснить меж- лабораторные вариации. Подсчет дрожжей в UFC (единицах, образующих колонию)/г испражнений в общем осуществлен только с целью наблюдения за пациентами иммунодепрессивными “с высоким риском грибковых заболеваний”.

Диагноз вида дрожжей

Он позволяет оценить патогенный риск, который варьируется в зависимости от вида. По мере убывания патогенности, можно назвать: *C. albicans* и *C. tropicalis*, *C. (Torulopsis) glabrata*, *C. parapsilosis*, *Geotrichum*. Некоторым видам присуща резистентность к некоторым противогрибковым, таким как, например, *C. krusei* к флюконазолу (*Triflucan*); в настоящее время наблюдается повышение процента резистентности *C. (Torulopsis) glabrata* к Низоралу (*Nizoral*) и Трифлюкану (*Triflucan*) [6]. Наконец, некоторые виды дрожжей входят в состав медикаментов, такие, как *Saccharomyces boulardii* в Ультра Дрожжах (*Ultra-Levure*).

На практике: какая тактика?

У иммунокомпетентных лиц

Открытие дрожжей в испражнениях должно рассматриваться как патологическое состояние (интестинальные кандидозы или легко раздражимая ободочная кишка), только если они изолированы в большом количестве, что на практике соответствует показателю равному 10^6 /г кала и выше. Вследствие этого, перед любым противогрибковым лечением, необходимо убедиться, что эта аномальная пролиферация не является простым отражением дисбаланса флоры: благодаря другой, бактериальной либо вирусной инфекции (которую нужно лечить в первую очередь); или вторичной из-за внешней антибиотикотерапии. Напротив, изоляция некоторых колоний дрожжей всегда соответствует банальному сапрофитизму. В этих двух крайних случаях, присутствие дрожжей часто отражает только локальный дисбаланс, что свидетельствует о вирусной или бактериальной инфекции, или о функциональной или воспалительной колопатии. Противогрибковое лечение, первоначально всегда местное, [амфотерицин В в капсулах: Фунгизон (*Fungizone*); миконазол (*miconazole*) в таблетках: Дактарин (*Daktarin*)...], предписывают только после выявления причины дисбаланса.

У лиц с угнетенной иммунной системой

У пациентов с “высоким риском грибковых заболеваний” необходимо проводить систематическое исследование бактериальных колонизаций органов пищеварения (микологический анализ ка-

ла и подсчет изолированных дрожжей). Чем больше количество дрожжей, тем выше риск диссеминации (феномен персорпции). По этому поводу необходимо подчеркнуть:

- появление *Candida tropicalis* в особой вирулентности во время злокачественных гемопатий;
- отбор некоторых видов (*Candida (Torulopsis) Glabrata, Candida krusei*) в процессе профилактики флюконазолом и кетоконазолом; их обнаружение в этих обстоятельствах должно с первого раза заставить изменить классы антигрибковых препаратов.

У пациентов сероположительных для ВИЧ, исследования *Candida* в испражнениях не представляют особого интереса: дрожжевой энтерит является редким при этом иммунодепрессивном типе, очень часто такие пациенты являются грибковыми носителями. Этот факт контрастирует с очень высокой частотой орофарингеальных и пищеводных кандидозов у больных СПИДом.

На практике

- Дрожжи являются сапрофитами слизистой оболочки, что затрудняет интерпретацию их присутствия в испражнениях.
- Истинные интестинальные кандидозы встречаются редко; изоляция многочисленных колоний

Candida в испражнениях относится чаще всего к пищеварительному дисбалансу, возникающему под воздействием способствующих факторов.

- У иммунокомпетентных пациентов, предельный возраст, антибиотекотерапия и диабет являются основными способствующими этому дисбалансу факторами.
- У иммуноугнетенных пациентов с “высоким риском грибковых заболеваний”, микологический анализ кала позволяет наблюдать за пищеварительной колонизацией.
- У этих пациентов риск диссеминации является значительным, если превышает 10^5 дрожжей на грамм испражнений

Заключение

Принимая во внимание сапрофитизм дрожжей, объяснение их присутствия в испражнениях остается затруднительным. Выделение большого количества дрожжей в испражнениях не является синонимом интестинального кандидоза. У пациентов с высоким риском грибковых заболеваний это объяснение должно производиться в соответствии с пищеварительной колонизацией и с риском диссеминации.

© BRENIER-PINCHART M.-P., LEBEAU B., GRILLOT R. –

DÉCOUVERTE DE CANDIDA DANS LES SELLES: QUELLE SIGNIFICATION?

Marie-Pierre Brenier-Pinchart, Bemadette Lebeau, Renée Grillot.

(Service de parasitologie-mycologie, Centre hospitalier universitaire de Grenoble. BP217. 38043 Grenoble cedex, France)

Résumé. Les candidoses intestinales sont rares chez le sujet immunocompétent et il s'agit plus souvent d'un déséquilibre de la flore intestinale dû à un(des) facteur(s) favorisant(s). Chez l'immuno-déprimé, la surveillance mycologique du tube digestif avec numération des levures s'impose.

Objectif pédagogique:

Interpréter la présence de levures dans les selles

La découverte de *Candida* dans les selles au cours d'un examen coprologique réalisé pour des troubles digestifs (diarrhée par exemple) est fréquente. Leur attribuer un rôle pathogène est difficile. En effet, les levures du genre *Candida* sont des commensaux habituels du tube digestif; un portage existe chez 25% des sujets sains [1]. Une étude multicentrique réalisée chez des patients hospitalisés a récemment montré que, sur près de 30 000 examens de selles, les levures sont présentes 1 fois sur 2 [2]. La principale espèce retrouvée est *Candida albicans* (50% à 60% des cas), le reste de la flore se répartissant entre les autres *Candida* [*C. (Torulopsis) glabrata, C. tropicalis* principalement], Saccharomycetes (d'origine alimentaire ou médicamenteuse) et

Geotrichum (champignon filamenteux le plus souvent d'origine alimentaire) [1,2].

Cet équilibre hôte-champignon peut être rompu par divers facteurs favorisant. La découverte très fréquente de levures dans les selles s'oppose toutefois à la rareté des candidoses intestinales histologiquement prouvées. De nombreuses inconnues persistent, comme en témoigne la pauvreté bibliographique sur ce sujet; il est malgré tout indispensable de connaître les exigences de l'examen mycologique des selles et les bases de son interprétation.

Candidoses intestinales: quelle réalité?

Les mycoses digestives regroupent des atteintes très différentes: oropharyngées, œsophagiennes et gastro-intestinales [3]. En pratique, la découverte d'une quantité importante de levures dans les selles fait évo-

quer deux localisations: l'intestin grêle avec l'entérite à *Candida* et le côlon avec la candidose colique.

Chez les patients immunocompétents

La candidose intestinale avec des lésions histologiques invasives est très rare. Mais il est incontestable que certains facteurs iatrogéniques ou liés à l'hôte (âges extrêmes, diabète, certains médicaments...) sont très fréquemment et directement associés à une symptomatologie digestive en particulier diarrhéique: la prolifération de levures (que l'on met alors en évidence dans les selles) peut entraîner des phénomènes inflammatoires et (ou) allergiques à l'origine probable de ce "côlon irritable" (sans envahissement tissulaire) [4]. Une antibiothérapie peut être à l'origine d'un déséquilibre de la flore digestive et d'une prolifération de levures; l'entérite candidosique survient préférentiellement chez le nourrisson sous antibiotiques et est souvent associée à un muguet buccal. En l'absence de facteurs favorisants classiques, la récurrence de ces épisodes de prolifération de levures dans les selles doit faire rechercher des lésions inflammatoires coliques et surtout néoplasiques. Une possible immunodépression due à une infection par le VIH doit être suspectée.

Chez les patients immunodéprimés

Chez ces patients à "haut risque fongique" (neutropénies, corticothérapies au long cours), la recherche de levures dans les selles n'est pas uniquement réalisée dans un but diagnostique, mais surtout pour dépister précocement une colonisation digestive et ainsi limiter le risque de dissémination. Le tube digestif est en effet le point de départ le plus fréquent d'une dissémination hémotogène du champignon [5]. Par contre, au cours de l'infection par le VIH, bien que la colonisation fongique soit fréquente, le risque de dissémination est exceptionnel.

Le diagnostic biologique: quelles exigences?

Le recueil des selles doit être réalisé de façon stérile; le prélèvement est rapidement acheminé au laboratoire afin d'éviter la multiplication des levures à température ambiante, ce qui fausserait l'interprétation. La présence de levures sous forme de pseudofilaments à l'examen direct est un critère de pathogénicité mais non formel et aléatoire (nombreux faux positifs et faux négatifs). Deux renseignements sont par contre indispensables pour interpréter l'examen mycologique des selles: l'appréciation semiquantitative des levures à l'isolement et le diagnostic d'espèce.

L'appréciation semiquantitative des levures (rares, assez nombreuses, nombreuses et très nombreuses colonies).

Elle permet facilement de différencier saprophytisme et prolifération anormale. Cependant, l'absence de standardisation de cet examen mycologique peut expliquer des variations inter-laboratoires. La numération des levures en UFC (Unité Formant Colonie)/g de selles n'est généralement réalisée (et justifiée) que pour la surveillance chez des patients immuno-déprimés "à haut risque fongique".

Le diagnostic d'espèce

Il permet d'apprécier le risque pathogène, différent d'une espèce à l'autre. Par ordre décroissant de pathogénicité, on peut citer: *C. albicans* et *C. tropicalis*, *C. (Torulopsis) glabrata*, *C. parapsilosis*, *Geotrichum*. Certaines espèces ont une résistance intrinsèque à certains antifongiques, comme *C. Crusei* au fluconazole (Triflucan); on observe actuellement une augmentation du pourcentage de résistance de *C. (Torulopsis) glabrata* aux azolés (Nizoral et Triflucan) [6]. Enfin, certaines levures sont contenues dans des médicaments, comme *Saccharomyces boulardii* dans l'Ultra-Levure.

En pratique: quelles attitudes?

Chez le sujet immunocompétent

La découverte de levures dans les selles ne doit faire envisager un état pathologique (candidoses intestinales ou "côlon irritable") que si elles sont isolées en très grand nombre, ce qui correspond en pratique à un chiffre supérieur ou égal à 10^6 /g de selles. Par conséquent, avant tout traitement antifongique, il faut s'assurer que cette prolifération anormale n'est pas simplement le reflet d'un déséquilibre de la flore: dû à une autre infection, bactérienne (à traiter en première intention) ou virale; ou secondaire à une antibiothérapie antérieure. A l'opposé, l'isolement de quelques colonies de levures correspond toujours à un banal saprophytisme. Entre ces deux cas extrêmes, la présence de levures ne fait bien souvent que refléter un déséquilibre local, témoin d'une infection virale, bactérienne, ou d'une colopathie fonctionnelle ou inflammatoire. Le traitement antifongique, toujours topique en première intention (amphotéricine B en capsules: Fungizone; miconazole en comprimés: Daktarin...) n'est prescrit qu'après avoir expliqué l'origine du déséquilibre.

Chez le sujet immunodéprimé

Chez les patients à "haut risque fongique", la recherche systématique d'une colonisation digestive (examen mycologique des selles et numération des levures à l'isolement) est indispensable. Plus la quantité de levures est importante, plus le risque de dissémination est élevé (phénomène de persorption). Sur un tel terrain, il faut souligner:

- l'émergence de *Candida tropicalis*, à la virulence particulière au cours des hémopathies malignes;
- la sélection de certaines espèces (*Candida (Torulopsis) glabrata*, *Candida krusei*) lors de la prophylaxie par le fluconazole et le kétoconazole; leur découverte dans ces circonstances doit faire d'emblée changer de classes d'antifongiques.

Chez les patients séropositifs pour le VIH, la recherche de *Candida* dans les selles ne présente pas d'intérêt particulier: l'entérite à levures est rare dans ce type d'immunodépression et le portage fongique très fréquent chez ces patients. Ce fait contraste avec la très grande fréquence des candidoses oropharyngées et œsophagiennes chez les sidéens.

Conclusion

En raison du saprophytisme des levures, l'interprétation de la présence de levures dans les selles

reste délicate. Isoler une grande quantité de levures dans les selles n'est pas synonyme de candidose intestinale. Chez le patient à haut risque fongique, cette interprétation doit se faire en terme de colonisation digestive et donc de risque de dissémination.

En pratique

- Les levures sont des saprophytes de muqueuses, ce qui rend l'interprétation de leur présence dans les selles difficile.
- Les candidoses intestinales vraies sont rares; l'isolement de nombreuses colonies de *Candida* dans les

selles correspond plus souvent à un déséquilibre de la flore digestive en rapport avec des facteurs favorisants.

- Chez le patient immunocompétent, les âges extrêmes, l'antibio-thérapie et le diabète sont les principaux facteurs favorisant ce déséquilibre.
- Chez l'immunodéprimé à "haut risque fongique", l'examen mycologique des selles permet la surveillance d'une colonisation digestive.
- Chez ces patients, le risque de dissémination est important au-delà de 10^5 levures par gramme de selles.

Références

1. Grillot R, Lebeau B, Ambroise-Thomas P. Comment interpréter la présence de levures dans un prélèvement biologique. *Lettre de l'infectiologue* 1991; 6: 161-5.
2. GEMO. Situation épidémiologique ponctuelle des isolements mycologiques en France en 1993. Congrès de la Société française de mycologie médicale. Grenoble 14-15 mai 1994.
3. Grillot R. Mycoses oropharyngées, œsophagiennes et gastro-intestinales. In: *Mycoses humaines: démarche diagnostique*. Paris: collection Option Bio. Elsevier ed. 1996: 93-115.
4. Odds FC. *Candida allergy*. In: *Candida and candidosis. A review and bibliography*. London: Baillière Tindall eds. 1988: 231-4.
5. Dupont B. Clinical manifestations and management of candidosis in the compromised patient. In: *Fungal infection in the compromised patient*. Chichester: Warnock DW, Richardson MD, eds. 1991: 55-71.
6. Koenig H. Levures. In: *Guide de mycologie médicale*. Paris: Ellipses, 1995: 32-83.

© ГУБЕ С., ПЕЛУ Х., ФРИКЕР-ИДАЛЬГО Х., ГУЛЬЕ-ФЛЁРЕ А., АМБРУАЗ-ТОМА П. – УДК 616.993.192.1-078

СЕРОДИАГНОСТИКА ТОКСОПЛАЗМОЗА: СРАВНЕНИЕ НАБОРА ELISA AXSYM® (Abbott) С НАБОРОМ VIDAS® (bioMérieux); МЕТОДОМ НЕПРЯМОЙ ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ И Isaga

С. Губе, Х. Пелу, Х. Фрикер-Идальго, А. Гулье-Флёре, П. Амбруаз-Тома.

(Франция, Гренобль. Госпитально-университетский центр, генеральный директор – проф. Жан-Пьер Бастар; Отдел медицинской молекулярной паразитологии и микологии)

Серодиагностика токсоплазмоза является очень важной в двух случаях: у беременных женщин и у пациентов с серопозитивной реакцией на ВИЧ. Что касается беременных женщин, то серодиагностика проводится либо в начале беременности для определения серологического статуса женщины, чтобы исключить периконцептуальную сероконверсию, либо ежемесячно, чтобы диагностировать сероконверсию у беременной женщины с серонегативной реакцией [1]. Опасность сероконверсии во время беременности заключается в том, что может произойти тяжелое заражение плода [2], которое возможно предупредить, соблюдая правила гигиены и диету, а также осуществляя серологическое обследование, которое во Франции является обязательным. Принимая во внимание опасности развивающегося впоследствии токсоплазмозного хориоретинита, наблюдение за здоровыми детьми, родившимися у матерей с сероконверсией, проявившейся во время бере-

менности, также является очень важным. Во втором случае (пациенты с положительной реакцией на ВИЧ) речь идет об опасности реактивации токсоплазмоза, которая влечет за собой церебральный, легочный или диссеминированный токсоплазмоз [3].

Для серологической диагностики используется множество различных методов. Для многих авторов исходной основой остается *Dye-test* [4], но наиболее часто применяемыми являются методы ИФА. Оба эти метода выражают уровень IgG в международных единицах по отношению к сыворотке, являющейся эталоном Всемирной Организации Здоровья [5]. Лаборатория Abbott разработала набор ИФА для серодиагностики токсоплазмоза на мультипараметрическом автомате AxSYM®. Целью настоящего исследования является сравнение этого набора и набора ИФА Vidas® (bioMérieux), непрямои иммунофлюоресценции и Isaga.

Материалы и методы

Образцы сывороток

Исследование состояло из двух фаз; во время каждой исследовались два типа образцов сывороток. В первую фазу исследовались “несортированные” сыворотки, взятые у пациентов, которые постоянно лечились в паразитологической лаборатории Университетского Госпитального Центра Гренобля. В период с января по март 1998 года было исследовано 240 образцов сывороток. Во вторую фазу исследовались образцы сывороток, взятых из нашей серотеки, от беременных с сероконверсией. Таким образом, был изучен 41 образец сывороток, представляющих 10 больных.

Использованные технологии

Для всех сывороток, включенных в исследование, были использованы следующие технологии: ИФА на IgG и IgM с набором Vidas® (bioMérieux) и набором Axsym® (Abbott) [6], (исследование) на IgG и IgM и Isaga (bioMérieux) для некоторых сывороток, у которых IgM были положительны или предельны при использовании одной из методик.

- **Axsym Toxo® G и Toxo M.** Этот набор применяется на мультипараметрическом автомате и для обнаружения IgG и IgM использует микрометод. Микрочастицы покрываются антигеном *Toxoplasma gondii* и инкубируются вместе с тестируемой сывороткой. Аликвотная часть комплекса антиген-антитело анти-*T. Gondii* переносится затем на стеклянную матрицу, которая фиксирует эти комплексы, пока промывание не удалит излишние компоненты. Затем добавляются к человеческим иммуноглобулинам анти-IgG и IgM, соединенные со щелочной фосфатазой и ее энзиматическим субстратом (метил-умбеллиферил-фосфат). Флюоресценция, вызываемая дефосфорилиацией субстрата, измеряется и преобразовывается по калибровочным кривым в соответствии со стандартами Всемирной Организации Здоровья в международных единицы на миллиметр для IgG [5] и в индексы для IgM (соотношение флюоресценции протестированной сыворотки к флюоресценции эталонных сывороток). Пороговая положительная величина, которая на данный момент является одной из самых низких [6] и близких к Day-test, составляет 3 UI/ml для IgG, сомнительная зона – 2-3; для IgM соответственно – 0,6 и 0,5-0,599.

- **Vidas.** Этот набор действует на базе иммуноферментного метода [7]. Тестируемая сыворотка помещается в первую из десяти лунок, другие лунки содержат раствор для промывания, мышиные моноклональные антитела к человеческим IgG или IgM, соединенные со щелочной фосфатазой и метил-умбеллиферил-фосфатом. Единицы выражения результатов те же самые, а пороговые положительные величины составляют 10 UI/ml для IgG с зоной сомнительности 8-10 и индексом 0,65 для IgM с зоной сомнительности 0,55-0,65.

- **Непрямая иммунофлюоресценция (IFI).** Перед добавлением антител к человеческим IgG или IgM, отмеченных флюоресцеином, антигены (тахизоит штамма RH *T. gondii*, культивированный на мышах) инкубируют с тестируемой сывороткой. Пороговые положительные величины составляют 8 UI/ml для IgG (раствор 1/20) и при растворе 1/40 для IgM [8].

- **Isaga®.** В лунки с антителами к человеческим IgM помещаются: тестируемая сыворотка, а затем токсоплазмы, фиксированные формалином [9]. В случае отрицательного результата реакции, токсоплазмы выпадают в осадок на дно отсека, что дает очень яркую окраску. В случае положительного результата, наоборот, на отсеке образуется однородная пленка, цвет которой будет тем светлее, а кольцо тем шире, чем интенсивнее будет реакция. Эта реакция оценивается в диапазоне 0-12, пороговая положительная величина – 9.

Результаты

“Несортированные” сыворотки

Серологические результаты “несортированных” сывороток представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Серологические результаты исследований несортированных сывороток

Разряд	Подразряд	Количество
Несовпадающие		9 (3,8%)
Совпадающие	Отрицательные	131 (54,6%)
	IgG ⁺	87 (36,2%)
	IgM ⁺	1 (0,4%)
	IgG ⁺ и IgM ⁺	12(5%)

Результаты обследования на IgG, полученные с помощью Axsym®, Vidas® и IFI представлены в таблице 2.

Таблица 2.

Результаты исследования на IgG в Axsym® и IFI, Axsym® и Vidas®

	Axsym ⁺	Axsym ⁻
IFI ⁺	102	3
IFI ⁻	1	134
Vidas ⁺	102	1
Vidas ⁻	1	136

Мы получили незначительное соотношение несовпадающих результатов (табл.3): 9 (3,8%) случаев на 240 протестированных сывороток из которых 4 IgG, 4 IgM и один случай двойного несовпадения IgG и IgM. В трех случаях (№№4, 6 и 9) ИФА Axsym® дает положительные результаты IgM, в то время как другие методы дают отрицательные или пороговые результаты. В случае №7 результат Isaga® – положительный, а IgM в ИФА Axsym® и Vidas® – отрицательный. Случай №8

Таблица 3.

Несовпадающие результаты "несортированных" сывороток

Сыворотки	IgG			IgM			
	Axsym [®] (UI/ml)	Vidas [®] (UI/ml)	IFI (UI/ml)	Axsym [®] индекс	Vidas [®] индекс	IFI титр	Isaga [®] индекс
1	3,2	3	0	0,06	0,10	0	0
2	1,9	5	8	14,10	2,82	1/20	12
3	2,6	4	8 (граница)	0,31	1,67	0	6
4	22,2	74	8	0,70	0,58	0	0
5	2,7	11	8	0,16	0,11	0	/
6	0	0	0	0,66	0,09	0	6
7	2,0	2	0	0,41	0,46	0	9
8	69,3	206	80	1,24	0,90	0	0
9	69,6	145	160	1,09	0,27	0	0
Пороговая положительная величина	3	10	8	0,6	0,65	1/20	9
"Зона сомнительности"	2-3	8-10		0,5-0,6	0,55-0,65		

показывает положительные результаты IgM для обоих наборов ИФА, результат же Isaga[®] является отрицательным. В случае №5 IgG находятся в зоне сомнительности в Axsym[®], а в ИФА Vidas[®] и в IFI результаты IgG являются положительными. В случае №1 результаты IgG положительны в ИФА Axsym[®], в то время как при других методах они отрицательны. Случай №2 показывает IgG положительные в IFI, а в Axsym[®] и Vidas[®] результаты ИФА отрицательны. Случай №3 демонстрирует двойное несоответствие на IgG и IgM: IFI IgG положительные, но очень пороговые, в то время как оба набора ИФА дают отрицательный результат; ИФА Vidas[®] IgM – положительны, в то время как

при других методах результат отрицательный или пороговый.

Сероконверсии

Из 41 образца изученных нами сывороток от 10-ти беременных с сероконверсией мы обнаружили 12 несоответствующих сывороток на IgG и 2 на IgM (табл.4).

Результаты ИФА Axsym[®] на IgG у пациентов №№ 1-5 являются более ранними, чем результаты в ИФА Vidas[®], которые остаются отрицательными больше двух месяцев после предполагаемой даты сероконверсии в случае №3. В случае №6 IgM ни разу не были положительными в двух наборах

Таблица 4.

Несовпадающие сыворотки среди случаев с сероконверсией

Пациент	Сыворотка	Время /СК	IgG			IgM			
			Axsym [®] (UI/ml)	Vidas [®] (UI/ml)	IFI (UI/ml)	Axsym [®] Index	Vidas [®] Index	IFI titre	Isaga [®] Index
1	В	2	9,6	1	8	5,02	3,65	1/160	12
	С	4	30,6	4	8	6,05	3,44	1/160	12
2	В	2	28,6	7	8	3,68	2,99	1/160	12
	А	3	3,7	0	0	2,00	3,62	0	12
3	В	4	4,4	0	0	1,95	3,46	1/40	12
	С	5	6,9	1	8	1,89	2,52	1/40	12
	Д	10	7,1	3	8	1,01	1,67	0	12
	С	1	3,6	0	8	0,90	0,88	1/20	12
4	Д	3	15,4	7	8	1,18	1,08	1/20	12
	Д	2	13,1	2	8	5,51	5,79	1/80	12
5	С	5	11,6	2	8	5,30	4,60	1/40	12
	Д	8	19,9	8	8	2,76	3,47	1/40	12
	В	6	19,1	11	8	0,58	0,55	0	9
6	С	8	46,3	26	160	0,52	0,52	0	9
	пороговая положительная величина		3	10	8	0,6	0,65	1/20	9
"зона сомнительности"			2-3	8-10		0,5-0,6	0,55-0,65	1/20	9

Примечание: СК: сероконверсия

ИФА, между тем как Isaga[®] была положительной с самого начала. В четырех других случаях не было замечено значительной разницы между результатами двух наборов, для которых динамика появления антител была идентичной.

Обсуждение

Опираясь на данное исследование, мы можем отметить множество аспектов набора ИФА Axsym[®], важных для серодиагностики токсоплазмоза. Что касается IgG 240 “несортированных” сывороток, то соотношение результатов данного набора с результатами набора Vidas[®] составляет 99,15%, а с результатами IFI – 98,33%. Серологические результаты IgM Axsym[®] или Vidas[®] соотносятся с результатами Isaga[®] на 75%. Тем не менее, с одной стороны, необходимо уточнить, что Isaga[®] была осуществлена только для незначительного числа сывороток (21 из 240 “несортированных” сывороток), а, с другой стороны, следует напомнить, что международного *золотого стандарта* для IgM не существует. Эти данные сравнимы с данными похожих исследований, оценивающих другие наборы ИФА [8,10,11]. Кроме того, проведение теста χ^2 в парных сериях позволяет говорить о том, что не существует статистически значимой разницы между результатами серологических исследований “несортированных” сывороток, полученных при использовании набора Axsym[®] и результатами, полученными при использовании набора Vidas[®], оценка которого уже была проведена в другом исследовании [7].

Случаи несоответствия “несортированных” сывороток различны (табл.3): при применении Axsym[®] №№ 4,6,8,9 соответствуют остаточным IgM, так как наблюдается повышенное процентное содержание IgG. При использовании Vidas[®], IgM в случаях №№4 и 8 также положительны (№8) и предельны (№4). Несоответствия случая №6 являются неспецифичными, так как дальнейшие серологические исследования, проводимые у этого же самого пациента, не показали ни титров IgM, ни появления IgG. Wilson et al. наблюдали сходные результаты, в том числе для набора Vidas[®], для которого мы получили положительные показатели на IgM (№№3 и 8), в то время как эти авторы ссылаются на метод ИФА персональный (Elisa IgM, Paolo Alto Medical Foundation), а не на Isaga[®]. Случаи №№2 и 7 соответствуют началу сероконверсии во время беременности, которую мы смогли диагностировать по динамике антител и серологическим результатам других сывороток, IFI IgG в случае №2 является более ранними и бо-

лее точными. ИФА Axsym[®] на IgG была в несоответствии в двух случаях: в случае №5, где она была в зоне сомнительности, в то время как IgG были положительные (Vidas[®] и IFI) в сыворотках, которые у нас были до этого, и в случае №1, в котором ребенок родился от матери, у которой во время беременности наблюдалась сероконверсия, серологические показатели IgG которой не прекращали понижаться в предыдущих сыворотках. Результаты определения IgG продолжают еще оставаться положительными в Axsym[®], так как, нужно об этом напомнить, этот набор имеет очень низкую пороговую величину. В случае №3 мы не располагали другими сыворотками, так как пациент находился в коме, поэтому полученные результаты сложно интерпретировать. Мы сделали вывод, что отрицательная серология в соответствии с результатами IFI на IgG была на пороговом уровне, а другие методы давали отрицательные результаты на IgG (Axsym[®] в зоне сомнительности), с неспецифическими IgM (Vidas[®]), учитывая отрицательность Isaga[®], которая является нашим эталонным методом. Нужно отметить, что мы не наблюдали при использовании Axsym[®] положительных показателей IgG у пациентов с сероположительной реакцией на ВИЧ. И это является усовершенствованием по отношению к IMX второго поколения [8].

При помощи набора Axsym[®] IgG у пяти из десяти беременных с сероконверсией были выявлены ранее, чем при помощи набора Vidas[®], что позволяет думать, что антигены, используемые в наборе Axsym[®] доступны иммунному ответу организма после первичной инфекции *T. gondii*. №6 (табл.4) является наименее часто встречаемым примером сероконверсии, подтвержденным присутствием предыдущих отрицательных сывороток, без стойко положительных IgM в ИФА.

Заключение

Набор ИФА Axsym Toxo[®] IgG и IgM дает хорошие результаты, стойко коррелирующие, особенно для IgG, с результатами ИФА Vidas[®] и IFI, которые соответствуют ожидаемым достижениям для серодиагностики токсоплазмоза. Кроме того, раннее выявление IgG, которого мы достигли по отношению к другим сравниваемым методам, в некоторых случаях сероконверсии до беременности может быть интересным для установления даты сероконверсии и быстрой постановки на учет беременной женщины.

SÉRODIAGNOSTIC DE LA TOXOPLASMOSE: COMPARAISON DE LA TROUSSE ELISA AXSYM (Abbott) AVEC LA TROUSSE VIDAS® (bioMérieux), L'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE ET L'Isaga

S. Goubet, H. Pelloux, H. Fricker-Hidalgo, A. Goullier-Fleuret, P. Ambroise-Thomas.

(Département de parasitologie-mycologie, CHU, BP 217, 38043 Grenoble. France)

Le sérodiagnostic de la toxoplasmose est important dans deux cas de figure essentiels: chez les femmes enceintes et chez les patients séropositifs pour le VIH. Dans le premier cas, il s'agit soit de déterminer le statut sérologique d'une femme en début de grossesse afin d'éliminer une séroconversion périconceptionnelle, soit de poser le diagnostic de séroconversion pendant la grossesse chez une femme enceinte séronégative suivie de façon mensuelle [1]. Le risque d'une séroconversion pendant la grossesse est celui d'une atteinte fœtale grave [2] qui peut être prévenue par des mesures hygiéno-diététiques et le dépistage sérologique obligatoire en France. La surveillance d'un enfant asymptomatique né d'une mère ayant présenté une séroconversion pendant la grossesse est également importante eu égard aux risques de chori-rétinite toxoplasmique ultérieure. Dans le deuxième cas (VIH-positif), le risque est celui d'une réactivation toxoplasmique entraînant une toxoplasmose cérébrale, pulmonaire ou disséminée [3].

Plusieurs techniques sont utilisées pour ce diagnostic sérologique, la référence restant le Dye-test [4] pour beaucoup d'auteurs, mais les plus utilisées sont les techniques Elisa. Ces deux techniques ont en commun l'expression des résultats des IgG en unités internationales par référence à un sérum étalon de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) [5]. Les Laboratoires Abbott ont développé une trousse Elisa de sérodiagnostic pour la toxoplasmose sur un automate multiparamétrique: l'Axsym®. Le but de cette étude était de comparer les performances de cette technique avec celles de l'Elisa Vidas® (bioMérieux), de l'immunofluorescence indirecte (IFI) et de l'Isaga.

Matériels et méthodes

Échantillons de sérums

L'étude a comporté deux phases distinctes concernant chacune deux types d'échantillons de sérums. La première phase a concerné des sérums "tout-venant" prélevés parmi ceux qui sont traités par le laboratoire de parasitologie du CHU de Grenoble en routine quotidienne. Deux cent quarante sérums ont été étudiés entre les mois de janvier et de mars 1998. La deuxième phase a concerné des sérums issus de notre sérothèque correspondant à des dossiers de séroconversions durant la grossesse. Quarante et un sérums, représentant dix dossiers, ont ainsi été étudiés.

Techniques utilisées

Sur tous les sérums inclus dans l'étude ont été réalisées les techniques suivantes: Elisa IgG et IgM avec la trousse Vidas® (bioMérieux) et la trousse Axsym® (Abbott) [6], immunofluorescence en IgG et IgM et Isaga (bioMérieux) pour certains sérums dont les IgM étaient positives ou limites avec une des autres techniques utilisées.

- **Axsym Toxo® G et Toxo M.** Cette trousse s'utilise sur un automate multiparamétrique et emploie pour la détection des IgG et IgM une technique microparticulaire. Les microparticules sont recouvertes d'antigène de *Toxoplasma gondii* et sont incubées avec le sérum à tester. Un aliquot des complexes antigènes-anticorps anti-*T. gondii* est transféré ensuite sur une matrice en fibre de verre qui fixe ces complexes avant qu'un lavage ne vienne éliminer les composants en excès. Des immunoglobulines anti-IgG ou IgM humaines, conjuguées avec une phosphatase alcaline et son substrat enzymatique (méthyl-umbelliféryl-phosphate), sont ensuite ajoutées. La fluorescence émise par la déphosphorylation du substrat est mesurée et convertie *via* les courbes de calibration obtenues avec les standards OMS, en unités internationales par millilitre pour les IgG [5], et en index pour les IgM (ratio fluorescence du sérum testé sur celle des calibrateurs du fabricant). Le seuil de positivité, qui est l'un des plus bas actuellement [6] et des plus proches du Dye-test, est à 3 UI/ml pour les IgG avec une zone équivoque entre 2 et 3 et à 0,6 index pour les IgM avec une zone équivoque entre 0,5 et 0,599.

- **Vidas®.** Cette trousse utilise une technique immunoenzymatique [7]. Le sérum à tester est déposé dans le premier puits d'un réceptacle en contenant dix; les autres puits contiennent des solutions de lavage, des anticorps monoclonaux de souris anti-IgG ou IgM humaines conjugués à la phosphatase alcaline, et la méthyl-umbelliféryl-phosphate. Les unités d'expression des résultats sont les mêmes et les seuils de positivité sont à 10 UI/ml pour les IgG avec une zone équivoque entre 8 et 10 et à 0,65 index pour les IgM avec une zone équivoque entre 0,55 et 0,65.

- **Immunofluorescence indirecte (IFI).** Les antigènes (tachyzoïtes de la souche RH de *T. gondii* entretenus sur souris) sont mis en présence du sérum à tester avant ajout d'anticorps anti-IgG ou

IgM humaines marqués par la fluorescéine. Les seuils de positivité sont à 8 UI/ml pour les IgG (dilution 1/20°) et à la dilution 1/40° pour les IgM [8].

- **Isaga®.** Dans des puits recouverts d'anticorps-anti-IgM humaines sont déposés; le sérum à tester puis des toxoplasmes colorés par la formaline [9]. En cas de négativité de la réaction, il y a sédimentation des toxoplasmes au fond du puits, ce qui forme un petit point très coloré. A l'inverse, en cas de positivité, il se forme un voile uniforme sur le puits dont la couleur sera de plus en plus claire et l'anneau de plus en plus large en fonction de l'intensité de la réaction. Cette réaction est cotée en indice de 0 à 12, le seuil de positivité étant à 9.

Tableau 1.

Répartition des résultats sérologiques parmi les sérums "tout-venant"

Catégories	Sous-catégories	Nombre
Discordants		9 (3,8%)
Concordants	Négatifs	131 (54,6%)
	IgG ⁺	87(36,2%)
	IgM ⁺	1 (0,4%)
	IgG ⁺ et IgM ⁺	12(5%)

Résultats

Sérums "tout-venant"

La dispersion des résultats des sérologies concernant les sérums "tout-venant" est rapportée dans le tableau 1. Les résultats en IgG obtenus avec les techniques Axsym®, Vidas® et IFI sont rapportés dans le tableau 2.

Tableau 2.

Contingence des résultats Axsym® et IFI, et Axsym® et Vidas® en IgG

	Axsym ⁺	Axsym ⁻
IFI ⁺	102	3
IFI ⁻	1	134
Vidas ⁺	102	1
Vidas ⁻	1	136

Nous avons obtenu une proportion faible de résultats discordants (tableau 3): 9 cas pour 240 sérums testés (3,8%) dont 4 en IgG, 4 en IgM et un seul doublement discordant en IgG et IgM. Dans trois cas (n° 4, 6 et 9) l'Elisa Axsym® donne des résultats positifs en IgM alors que toutes les autres techniques sont négatives ou limites. Pour le cas n° 7, l'Isaga® est positive mais les IgM sont négatives en Elisa Axsym® et Vidas®. Le cas n° 8 montre des IgM positives pour les deux troussees Elisa alors que l'Isaga® est négative. Le cas n° 5 est dans la zone équivoque sur l'Axsym® pour les IgG qui sont positives en Elisa Vidas® et en IFI et l'Elisa Axsym® du cas n°1 est positive en IgG alors qu'elles sont négatives par les autres techniques. Le cas n° 2 montre une IFI IgG positive avec des résultats Elisa négatifs sur l'Axsym® et le Vidas®. Le cas n° 3 fait apparaître une double discordance sur les IgG et les IgM: l'IFI IgG y est positive mais très limite alors que les deux troussees Elisa rendent un résultat négatif, l'Elisa Vidas® IgM est positive alors que les autres techniques sont négatives ou limites.

Séroconversions

Sur les 41 sérums des dix dossiers de séroconversion pendant la grossesse que nous avons étudiés, nous avons observé 12 sérums discordants sur les IgG et 2 sur les IgM (tableau 4). En effet, les résultats de l'Elisa Axsym® en IgG pour les patientes n° 1 à 5 sont plus précoces que ceux de l'Elisa Vidas® qui demeurent négatifs jusqu'à plus de deux mois après la date estimée de séroconversion dans le dossier n° 3. Dans le dossier n° 6, les IgM n'ont jamais été positives avec les deux coffrets Elisa, cependant que l'Isaga® était positive à son seuil. Dans les quatre autres dossiers, il n'a pas été noté de différences significatives entre les résultats des deux troussees pour lesquelles les cinétiques d'apparition des anticorps étaient identiques.

Discussion

Au terme de cette étude, nous pouvons donc souligner plusieurs points importants concernant la trousse Elisa Axsym® de sérodiagnostic pour la toxoplasmose. La corrélation des résultats observés avec cette

Tableau 3.

Résultats discordants parmi les sérums "tout-venant"

Sérums	IgG			IgM			
	Axsym® (UI/ml)	Vidas® (UI/ml)	IFI (UI/ml)	Axsym® index	Vidas® index	IFI titre	Isaga® index
1	3,2	3	0	0,06	0,10	0	0
2	1,9	5	8	14,10	2,82	1/20	12
3	2,6	4	8 (limite)	0,31	1,67	0	6
4	22,2	74	8	0,70	0,58	0	0
5	2,7	11	8	0,16	0,11	0	/
6	0	0	0	0,66	0,09	0	6
7	2,0	2	0	0,41	0,46	0	9
8	69,3	206	80	1,24	0,90	0	0
9	69,6	145	160	1,09	0,27	0	0
seuil de positivité	3	10	8	0,6	0,65	1/20	9
"zone équivoque"	2-3	8-10		0,5-0,6	0,55-0,65		

trousse est de 99,15% avec ceux de la trousse Vidas® et de 98,33% avec ceux de l'IFI en ce qui concerne les IgG des 240 sérums "tout-venant". Les résultats sérologiques en IgM Axsym® ou Vidas® sont corrélés à 75% avec ceux de l'Isaga. Cependant, il faut préciser d'une part que l'Isaga n'a été réalisée que pour un nombre faible de sérums (21 sur les 240 parmi les sérums "tout-venant"), et d'autre part rappeler l'absence de *gold standard* international pour les IgM. Ces données sont comparables à celles d'études similaires évaluant d'autres troupes Elisa [8, 10,11]. En outre, la réalisation d'un test de χ^2 en séries appariées permet de dire qu'il n'existe pas de différence statistiquement significative entre les résultats sérologiques des sérums "tout-venant" obtenus avec la trousse Axsym® et ceux obtenus avec la trousse Vidas® déjà évaluée dans une autre étude [7].

Les discordances parmi les sérums "tout-venant" sont différentes selon les cas (tableau 3): les n°s 4, 6, 8 et 9 correspondent à des IgM résiduelles avec l'Axsym® puisque les IgG sont à des taux élevés. Les cas 4 et 8 sont aussi positifs (n° 8) et équivoque (n° 4) en IgM Vidas®. Celles du cas n° 6 sont non spécifiques car des sérologies ultérieures pratiquées chez ce même patient n'ont pas montré d'ascension des titres d'IgM, ni l'apparition d'IgG. Wilson *et al.* [11] observent des résultats comparables, y compris pour la trousse Vidas® pour laquelle nous avons obtenu des faux positifs en IgM (cas n°s 3 et 8), alors que ces auteurs prennent pour référence une technique Elisa personnelle (Elisa IgM, Palo Alto Medical Foundation) et non l'Isaga®. Les cas n°s 2 et 7 correspondent à un début de séroconversion pendant la grossesse que nous avons pu diagnostiquer sur la cinétique des anticorps et les résultats sérologiques d'autres sérums, l'IFI IgG étant dans le cas n° 2 plus précoce et plus sensible. L'Elisa Axsym® IgG a été discordante par deux fois: dans le cas n° 5 où elle est en zone équivoque alors que les IgG étaient positives (Vidas® et IFI) sur des sérums antérieurs en notre possession, et dans le cas n° 1 qui est celui d'un enfant

né d'une mère ayant présenté une séroconversion pendant la grossesse et dont les taux sérologiques n'ont cessé de décroître en IgG sur des sérums antérieurs. Les IgG demeurent encore positives sur l'Axsym® car, il faut le rappeler, cette trousse possède un seuil très bas [6]. Le cas n° 3, un patient en coma dépassé pour lequel nous ne disposons évidemment pas d'autres sérums, faisait apparaître une sérologie d'interprétation difficile. Nous avons conclu à une sérologie négative dans la mesure où l'IFI IgG était à la limite de la positivité et les autres techniques en IgG étaient négatives (Axsym® en zone équivoque), avec IgM non spécifiques (Vidas®) étant donné la négativité de l'Isaga® qui est notre technique de référence. Il faut signaler que nous n'avons pas observé avec l'Axsym® de faux positifs en IgG chez les sujets séropositifs pour le VIH ce qui semble être une amélioration par rapport à l'IMX de seconde génération [8]. Les IgG de 5 des 10 dossiers de séroconversion pendant la grossesse ont été détectées plus tôt par la trousse Axsym® que par la trousse Vidas®, ce qui laisse à penser que les antigènes utilisés dans la trousse Axsym® sont accessibles plus précocement à la réponse immunitaire de l'organisme après une primo-infection par *T. gondii*. Le dossier 6 (tableau 4) est un exemple peu fréquent d'une séroconversion, affirmée par la présence de sérums antérieurs négatifs, sans IgM fortement positives en Elisa.

Conclusion

La trousse Elisa Axsym Toxo® IgG et IgM donne donc de bons résultats, fortement corrélés, en particuliers pour les IgG, avec ceux de l'Elisa Vidas® et de l'IFI et qui correspondent aux performances attendues pour le sérodiagnostic de la toxoplasmose. En outre, la précocité d'apparition des IgG que nous avons obtenue par rapport aux autres méthodes de comparaison dans certains dossiers de séroconversions pergravidiques peut-être intéressante pour la datation et la prise en charge rapide de la femme enceinte.

Tableau 4.

Sérums discordants parmi les cas de séroconversions

Patiente	Sérum	Temps/SC (semaines)	IgG			IgM			
			Axsym* (UI/ml)	Vidas* (UI/ml)	IFI (UI/ml)	Axsym* index	Vidas* index	IFI titre	Isaga* index
1	b	2	9,6	1	8	5,02	3,65	1/160	12
	c	4	30,6	4	8	6,05	3,44	1/160	12
2	b	2	28,6	7	8	3,68	2,99	1/160	12
3	a	3	3,7	0	0	2,00	3,62	0	12
	b	4	4,4	0	0	1,95	3,46	1/40	12
	c	5	6,9	1	8	1,89	2,52	1/40	12
	d	10	7,1	3	8	1,01	1,67	0	12
4	c	1	3,6	0	8	0,90	0,88	1/20	12
	d	3	15,4	7	8	1,18	1,08	1/20	12
5	b	2	13,1	2	8	5,51	5,79	1/80	12
	c	5	11,6	2	8	5,30	4,60	1/40	12
	d	8	19,9	8	8	2,76	3,47	1/40	12
6	b	6	19,1	11	8	0,58	0,55	0	9
	c	8	46,3	26	160	0,52	0,52	0	9
seuil de positivité			3	10	8	0,6	0,65	1/20	9
"zone équivoque"			2-3	8-10		0,5-0,6	0,55-0,65		

Рéférences

1. Wong SY, Remington JS. Toxoplasmosis in pregnancy. Clin Infect Dis 1994; 18: 853-62.
2. Couvreur J, Thuillez P, Daffos F, et al. Fœtopathie toxoplasmique. Arch FrPédiatr 1991; 48: 397-403.
3. Luft BJ, Remington JS. Toxoplasmic encephalitis in Aids. Clin Infect Dis 1992; 15: 211-22.
4. Desmonts G. Sur la technique de l'épreuve de lyse des toxoplasmes. Arch BiolMéd 1955; 3: 193-8.
5. Petithory JC, Ambroise-Thomas P, De Loye J, et al. Le sérodiagnostic de la toxoplasmose: étude d'une gamme étalon, par les différents tests actuels et avec expression des résultats en unités internationales. Bull OMS 1996; 74: 291-8.
6. Cimon B, Morin O, Bessières MH, et al. Interprétation des taux faibles d'anticorps antitoxoplasmiques avec les tests IMx Toxo IgG version 2.0 et Axsym Toxo IgG. Rev Fr Lab 1998; 299: 49-51.
7. Pelloux H, Ciapa P, Goullier-Fleuret A, Ambroise-Thomas P. Évaluation du système Vidas pour le diagnostic sérologique de la toxoplasmose. Ann Biol Clin 1993; 51: 875-8.
8. De Champs C, Pelloux H, Cambon M, Fricker-Hidalgo H, Goullier-Fleuret A, Ambroise-Thomas P. Evaluation of the second generation IMx Toxo IgG antibody assay for detection of antibodies to Toxoplasma gondii in human sera. J Clin Lab Anal 1997; 11: 214-9.
9. Desmonts G, Naot Y, Remington JS. Immunoglobulin M-immunosorbent agglutination assay diagnosis of infectious diseases: diagnosis of acute congenital and acquired Toxoplasma infections. J Clin Microbiol 1981; 14: 486-91.
10. Derouin F, Garin YJ, Buffard C, Berthelot F, Petithory JC. Multicenter study of Toxoplasma serology using various commercial Elisa reagents. Bull World Health Organ 1994; 72: 249-56.
11. Wilson M, Remington JS, Clavet C, Varney G, Press C, Ware D. Evaluation of six commercial kits for detection of human immunoglobulin M antibodies to Toxoplasma gondii. J Clin Microbiol 1997; 35: 3112-5.

© ПИНЕЛЬ С., РЕЖАСС С., ПИКО С., БРЕНЬЕ-ПИНШАР М.-П., ГРИЙО Р., АМБРУАЗ-ТОМА П. – УДК 616.933.1

BLASTOCYSTIS HOMINIS: АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ БОЛЕЕ ЧЕМ 3 500 КОПРОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ С ТОЧКИ ЗРЕНИЯ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И КЛИНИКИ

С. Пинель, С. Режасс, С. Пико, М.-П. Бренье-Пиншар, Р. Грийо, П. Амбруз-Тома.

(Больница Альбер-Мишалон, отделение паразитологии-микологии. Франция)

Blastocystis hominis – это широко распространенное простейшее, паразит или комменсал слепой кишки человека. Он был также выделен из проб фекалий различных млекопитающих, экскрементов домашних птиц и из пищеварительного тракта некоторых змей [1]. Однако относится ли он к антропоозоозам не определено [1]. *Blastocystis hominis* рассматривался долгое время как дрожжеподобный гриб и был отнесен к простейшим лишь в 1967 году [1]. Его морфобиологические и молекулярные характеристики придают ему особенные свойства, что оправдывает образование целого класса лишь для одного этого вида. Он является объектом постоянных научных дискуссий, касающихся, главным образом, его таксономической позиции среди простейших организмов, его патогенности и его, возможно, оппортунистического характера. Как для биологов, так и для клиницистов интересны методы, предпочитаемые для выявления *Blastocystis hominis* при заборе анализа кала.

В данной статье мы представляем результаты, полученные в течение 4-х лет в отделении паразитологии-микологии, отражающие частоту, клинические проявления и оппортунистический характер *Blastocystis hominis*, который очень часто оставляют без внимания в городских паразитологических лабораториях. Мы предлагаем, в зависимости от результатов, наиболее подходящий алго-

ритм при положительных результатах исследований.

Техническое оснащение и методы

Для обнаружения паразитов в течение 4 лет (1992-1996 г.г.) было взято 3 542 фекальных пробы у 2 581 больного. Обнаружение *Blastocystis hominis* проводилось микроскопическим исследованием проб. Были исследованы только вакуолярные и гранулезные формы паразитов (рис.1)*, те, которые чаще всего являются предметом паразитологической диагностики. Они, в самом деле, очень легко идентифицируются при прямом исследовании при увеличении в 400 раз по их характерной структуре и по крайней гетерогенности их размеров в одной и той же пробе (от 2 до 60 мкм), но тем не менее нет никакого риска перепутать их с другими кишечными простейшими. Более редкие формы (цисты и амёбовидные формы) требуют сложной диагностики, и их выявление является исключительным в госпитальной практике. Мы не использовали методы концентрации, в частности бифазные методы, которые искажают и растворяют вакуолярную форму. Данная форма, характеризуется присутствием центральной вакуоли, отталкивающей от цитоплазматической мембраны объемистые включения (ядра, органоиды,

* Рис.1. на стр.27.

Таблица 1.

Возрастные группы больных, зараженных паразитами, и частота заболеваемости среди исследованного населения

Возраст	НП*	<5 лет	5-15	15-25	25-35	35-45	45-55	55-65	65-75	75-85	>85	Итого
Общее кол-во населения	26	157	320	971	1 107						2 581	
Количество зараженных больных	2	1	3	4	17	17	10	9	7	4	3	77
Зараженные больные соответственно возрастным категориям, %	2,5	1,3	3,9	5,2	22	22	13	17,7	9,1	5,2	3,9	
Совокупность, %		1,3	9,1	44	48,9							
Частота паразитозов среди обследованного населения		0,6	2,2	3,5	3,0							

Примечание: НП: не определены.

подобные митохондриям, плотные гранулы...) (рис.1). Вакуолярная или гранулезная форма являются хрупкими, и при прямом исследовании в качестве растворителя нужно использовать стерильный физиологический раствор, так как осмотическое действие водопроводной воды провоцирует растворение. Фиксация и окрашивание фекальных проб мертиололом, люголем и формолом (МИФ-Экспресс, Лабо Экспресс Сервис, Вири-Шатийон) также прекрасно позволяют идентифицировать эту форму, не перепутав ее ни с чем другим и сохранив паразитарные формы, если исследование должно быть отсрочено. В нашем исследовании мы осуществили полуколичественную оценку присутствия *Blastocystis hominis*: очень редкие (менее 5 на пластинку 20×20 мм), редкие (менее 20 на пластинку), малочисленные (от 1 до 5 на 5 полей зрения при увеличении 250), многочисленные (от 1 до 10 на поле зрения) и очень многочисленные (более 10 на поле зрения).

Статистический анализ был осуществлен посредством сравнительного процентного исследования.

Результаты

Зависимость частоты заболеваемости от возраста и пола больных

B. hominis был выявлен в 81 фекальной пробе (2,3% от общего количества проб) у 77 больных, что составляет 3% от общего числа обследованного населения. Среди зараженных больных в общем числе обследованного населения *B. hominis* чаще всего встречается в возрастной группе 25-45 лет (частота заболеваемости: 3,5%), частота выявления снижается в возрасте 5-25 лет (2,18%), и

она очень низкая среди маленьких детей (0,63%) (табл.1). Анализ зависимости частоты заболеваемости от половой принадлежности показывает, что этот показатель выше среди женщин, но очень незначительно ($p > 0,05$).

Зависимость частоты заболеваемости от наличия иммунодепрессии

Среди обследованного населения мы выделили 4 подгруппы: персонал, работающий на кухнях, ВИЧ-инфицированные и больные СПИДом, больные со злокачественными гемопатиями и путешественники, возвращающиеся из поездок по тропическим и субтропическим зонам.

Несмотря на то, что у лиц, больных СПИДом или ВИЧ-инфицированных с желудочно-кишечными нарушениями производится периодический забор анализов, частота выявления *B. hominis* в этой группе низкая и незначительно отличается от показателей всего обследованного населения. Она немного выше у больных, со злокачественными гемопатиями, которые тоже регулярно сдают анализы. Однако, частота встречаемости *B. hominis* в двух группах пациентов с иммунодепрессией ниже, чем показатели, наблюдаемые у здоровых, являющихся работниками кухонь, для которых паразитологический анализ кала является обязательным при прохождении регулярного медицинского осмотра. Тем не менее, сравнение процентного соотношения данных показателей выявляет значительную частоту обнаружения *B. hominis* у путешественников, возвращающихся из поездок по тропическим и субтропическим зонам ($p < 0,01$) (табл.2).

Таблица 2.

Частота встречаемости паразитозов среди двух групп больных, страдающих иммунодепрессией, и сравнение с частотой встречаемости у людей, проходящих систематический медицинский осмотр: здорового персонала, работающего на кухнях, и путешественников, осуществляющих тропические и субтропические поездки

Пациент	Частота встречаемости паразитов в исследуемых группах			
	Персонал, работающий на кухнях	ВИЧ-инфицированные	Злокачественные гемопатии	Путешественники
Общее число	86	173	103	304
<i>Blastocystis</i>	5	1	4	20
<i>Blastocystis</i> + другие паразиты	4	2	3	18
%	10,5	1,7	6,8	12,5

Клинические симптомы

Если не принимать во внимание ВИЧ-инфицированных и больных со злокачественными гемопатиями, то четверо из 30 обследованных, имеющих в копрологических пробах только *B. hominis*, страдали транзиторными диареями, сопровождаемыми болями в животе (во всех случаях у больных было обнаружено большое, и даже очень большое количество паразитов). Пробы на грибы и бактерии были у них отрицательными. Исследований на энтеропатогенные вирусы не проводилось. Копрологические анализы, проводимые по причине наличия аллергических проявлений (гиперэозинофилия крови, зуд, крапивница ...) часто приводили к выявлению паразита при отсутствии каких-либо других клинических проявлений (табл.3).

Таблица 3.

Эпидемиологические и клинические данные по наличию *Blastocystis hominis*

Сведения	Частота встречаемости	
	Число	%
Обследование после поездок	38	49,4
Невыясненные обстоятельства	3	3,9
Контроль после лечения пищеварительных паразитозов (асимптоматических)	2	2,6
Контроль персонала здорового	9	11,7
Экзема, крапивница	11	14,3
ВИЧ	3	3,9
Гематология	7	9,0
Абдоминальные боли и диарея	4	5,2
Общее количество	77	100

Сочетание с другими кишечными паразитами

Наиболее часто встречается сочетание с *Dientamoeba fragilis* (23%) и *Endolimax nanus* (21%). В общем, сочетание *B. hominis* с другими амёбами, жгутиковыми или другими кишечными паразитами обнаружено более чем в половине случаев (62%). Этот показатель также высок у путешественников, возвращающихся из зарубежных поездок (18/38).

Последствия лечения метронидазолом

Из 30 больных, у которых *B. hominis* являлся единственным обнаруженным в анализе кала паразитом, четверо страдали от болей в животе и диареи. Эти четверо больных получали лечение метронидазолом, паразитологический контроль был осуществлен у трех из них. Все три результата были негативными.

Обсуждение

Присоединение *B. hominis* к классу простейших является отныне неоспоримым. Биомолекулярные анализы позволили определить различные кариотипы, констатировать большое биоразнообразие штаммов, высказать предположение о возможности существования различных видов и под-

видов [3]. Однако, на данный момент у человека известен лишь один вид *B. hominis*.

В пробах кала в основном присутствуют, вакуолярные и мультивакуолярные формы, цистозные формы маленького размера (около 5 μm) присутствуют в основном в культурах или в сохраненных образцах. Цисты позволили бы возбудителю иметь большую сопротивляемость при обезвоживании или осмотическом воздействии, они очень редко встречаются в госпитальной практике выявления паразитов; так же обстоит дело с культурами, полученными исключительно в исследовательских целях и очень редко имеющими диагностическую целесообразность. Этот анаэробный паразит, полученный в лаборатории не размножится при низкой температуре и имеет низкую выживаемость. Однако, опасность фекального заражения является неоспоримой; в частности, сочетание с другими амёбами или простейшими является признаком фекального заражения человека и подчеркивает устойчивость простейшего во внешней среде.

Показатель частоты заболеваемости среди всего обследованного населения является незначительным. В районе Гренобля опасность фекального заражения почти равна нулю, и качество питьевой воды отличное, что объясняет низкий показатель частоты встречаемости *B. hominis* среди местного населения. Более высокий показатель частоты обнаружения *B. hominis* связан с поездками в тропические или субтропические страны, где значителен риск фекального заражения. Частота заболеваемости резко отличается в различных странах [1,3]. Для одного и того же отбора проб, применение методов концентрации или обработки повышает точность обнаружения возбудителя. В этом исследовании, возможно, несколько уменьшен показатель частоты заболеваемости, но, учитывая, что применяется сходная диагностика сравнение показателей между группами совершенно обосновано. В соответствии со сравнениями частоты обнаружения *B. hominis* согласно клиническому контексту, мы можем утверждать, что *B. hominis* – это не оппортунистический паразит. Даже если рассматривать небольшой процент населения, то можно констатировать, что чаще всего *B. hominis* встречается у людей в возрасте от 25 до 45 лет и очень редко у детей младше 5 лет. Частота встречаемости *B. hominis* не возрастает у больных с иммунодепрессией, будь то в случае СПИДа или злокачественных гемопатий. Этот факт был уже отмечен Жюно [5], и он не подтверждает результаты или предположения других авторов [6].

Этот паразит, обнаруженный в отдельности, редко является причиной кишечных расстройств и болей в животе (4/30, что составляет около 13%); в нашем исследовании значительное количество паразитов, обнаруженных при копрологическом исследовании, не является исключительной привилегией больных с клиническими симптомами. Колиты или воспалительные синдромы часто со-

четались с присутствием *B. hominis*, были опубликованы сообщения о случаях более серьезной инфекции с геморрагическими проявлениями, лихорадкой или нетипичной локализацией возбудителя [7,8]. Клинические расстройства соотносились, чаще всего, с интенсивностью паразитоза, где, в большинстве своем, присутствовали разыскиваемые формы. Однако, в опубликованных работах, в случаях, когда паразитологическое исследование проводилось по поводу клинических расстройств не были исключены все кишечные инфекционные агенты, а также другие факторы (пищевые, ятрогенные, психопатические), нарушающие работу кишечника. Эти пробелы часто порождают споры, касающиеся реальной патогенности паразита. Главной трудностью остается узнать, связаны ли клинические расстройства с патогенным действием паразита или они являются результатом других причин, которые провоцируют повреждение среды, благоприятствующей развитию паразита. Большое количество случаев выявления *B. hominis* является случайным, особенно среди персонала, работающего на кухнях, который систематически проходит медицинский осмотр, не связанный клиническими расстройствами (9 случаев). В данной контрольной группе, самая большая частота заболеваемости, вероятнее всего, связана с происхождением данной категории больных (рабочие эмигранты: работа малоквалифицированная с высоким процентом сменяемости кадров). Велико распространение *B. hominis* по причине фекального загрязнения [10]. Этому паразита очень часто причисляют к факторам, способствующим появлению диареи у путешественников. Достаточно часто встречаются случаи обнаружения *B. hominis* при гиперэозинофилии или аллергических явлениях (экзема, крапивница). Было отмечено соче-

тание присутствия паразита и проявлений интолерантности [2]. В клинических формах интолерантности этот паразит также может быть лишь признаком, а не причиной проявлений интолерантности. Нельзя отрицать существование штаммов с более значительным потенциалом вирулентности, включая возможность более резко выраженной индивидуальной восприимчивости некоторых больных.

Из-за отсутствия эффективной и малотоксичной химиотерапии, метронидазол является наиболее применяемым в лечении препаратом, даже если его оценка оказывается разочаровывающей. В нашей работе отрицательные результаты после лечения (прошло незначительное количество больных) могут быть связаны с самопроизвольным выздоровлением или могут быть результатом лечения.

Заключение

B. hominis не является оппортунистическим простейшим. В очень редких случаях *B. hominis* может быть причиной незначительных пищеварительных расстройств и аллергических проявлений. Не исключена индивидуальная восприимчивость, связанная с более сильным патогенным потенциалом штаммов или видов.

Принимая во внимание отсутствие опасности и не оппортунистический характер этого паразита, лечение не назначается даже для лиц с глубокой иммунодепрессией. Только лишь стойкость клинических расстройств, связанная с выявлением паразита, при отсутствии других микроорганизмов или кишечных паразитов является основанием для их лечения. Метронидазол (Flagyl®) остается классическим методом лечения, после чего необходимо провести контрольные исследования.

© PINEL C., RÉJASSE C., PICOT S., BRENIER-PINCHART M.-P., GRILLOT R., AMBROISE-THOMAS P. –

BLASTOCYSTIS HOMINIS: RÉFLEXIONS ÉPIDÉMIOLOGIQUES ET CLINIQUES À PROPOS DE PLUS DE 3 500 EXAMENS COPROLOGIQUES

C. Pinel, C. Réjasse, S. Picot, M.-P. Brenier-Pinchart, R. Grillot, P. Ambroise-Thomas.

(Service de parasitologie-mycologie, Hôpital Albert-Michallon, BP 217, 38043 Grenoble Cedex 9. France)

Blastocystis hominis est un protozoaire discret et original, cosmopolite, parasite ou commensal de la région caecale de l'homme. Il a été aussi isolé à partir d'échantillons fécaux de nombreux mammifères ainsi que dans les déjections de volailles et dans le tube digestif de certains serpents [1]. L'éventualité d'une anthroponose n'est cependant pas certaine [1]. Considéré longtemps comme un champignon lévuriforme, son appartenance aux protozoaires n'a été établie qu'en 1967 [2]. Ses caractéristiques morphologiques biologiques et moléculaires lui confèrent cependant des propriétés particulières justifiant la

création d'un ordre pour cette seule espèce. Il est toujours l'objet de controverses concernant essentiellement sa position taxonomique au sein des protistes, sa pathogénicité et son caractère éventuellement opportuniste. L'attitude à adopter aussi bien pour le biologiste que pour le clinicien lors de son dépistage dans les prélèvements de selles mérite d'être définie.

Nous exposons dans cet article les résultats obtenus pendant 4 ans dans le service de parasitologie-mycologie concernant la fréquence, les manifestations cliniques et le caractère opportuniste de *B. hominis*, très souvent négligé dans les examens parasi-

tologiques des laboratoires de ville. Nous définirons en fonction de ces résultats la conduite la plus appropriée lors des examens positifs.

Matériel et méthodes

Trois mille cinq cent quarante-deux échantillons de selles de 2 581 patients ont été examinés au cours d'une période de 4 ans (janvier 1992 à 1996) pour recherche de parasites. La détection de *Blastocystis hominis* a été faite par examen microscopique des échantillons. Seules les formes vacuolaire et granuleuse du parasite (figure 1) ont été recherchées, celles-ci étant le plus souvent à l'origine du diagnostic parasitologique. Elles sont, en effet, très facilement identifiées à l'examen direct au grossissement 400 par leur structure très caractéristique et par l'extrême hétérogénéité de leur dimension dans un même prélèvement (2 à 60 µm), ce qui n'entraîne aucun risque de confusion avec d'autres protozoaires intestinaux. Les formes plus rares (kystes et formes amiboïdes) sont de diagnostic délicat, leur détection reste exceptionnelle en pratique hospitalière. Nous n'avons pas procédé à des méthodes de concentration, en particulier les méthodes biphasiques, qui altèrent et lysent la forme vacuolaire. Cette forme est caractérisée par la présence d'une vacuole centrale repoussant contre la membrane cytoplasmique les inclusions volumineuses (noyaux, organites semblables aux mitochondries, granulations denses...) (figure 1). Sans paroi, la forme vacuolaire ou granuleuse est fragile, l'analyse à l'examen direct doit être faite en utilisant du sérum physiologique stérile comme diluant, l'eau du robinet provoquant la lyse par choc osmotique.

Une fixation et une coloration des échantillons de selles par le merthiolate, le lugol et le formol (MIF-Express, Labo Express Service, Viry-Châtillon) permettent aussi de parfaitement identifier cette forme sans aucun risque de confusion tout en préservant les formes parasitaires si l'examen doit être différé. Dans le cas de notre étude, nous avons effectué une estimation semi-quantitative de la présence de *B. hominis*: très rares (moins de 5 par lamelle 20×20 mm), rares (moins de 20 par lamelle), peu nombreux (1 à 5 sur 5 champs au grossissement 250), nombreux (1 à 10 par champ) et très nombreux (plus de 10 par champ).

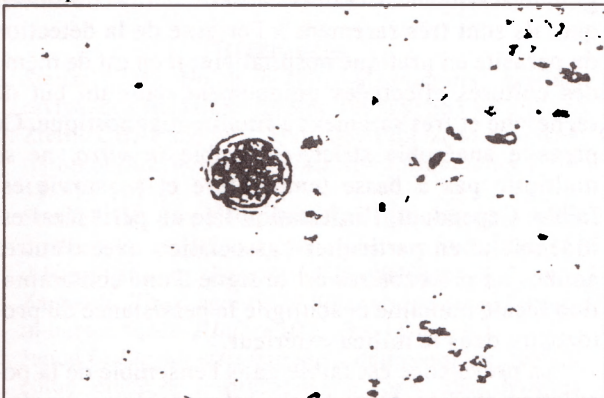


Figure 1. *Blastocystis hominis* : forme vacuolaire colorée au MIF (G×400). La couronne de cytoplasme est nettement visible déformée par de volumineuses inclusions.

L'analyse statistique a été réalisée par un test de comparaison de pourcentages.

Résultats

Prévalence et répartition selon l'âge et le sexe

B. hominis a été détecté dans 81 échantillons de selles (2,3% de l'ensemble des échantillons) de 77 patients, soit une prévalence de 3% pour l'ensemble de la population étudiée. Chez les malades parasités, la détection la plus fréquente dans l'ensemble de la population étudiée se situe entre 25 et 45 ans (prévalence: 3,50%), elle est plus faible entre 5 et 25 ans (2,18%), très faible dans la population de très jeunes enfants (0,63%) (tableau 1). L'analyse de la répartition selon le sexe souligne une fréquence un peu plus importante mais non significative chez les sujets de sexe féminin ($p>0,05$).

Prévalence et immunodépression

Nous avons sélectionné, dans la population étudiée, quatre sous-groupes constitués par le personnel des cuisines, les malades infectés par le VIH ou au stade sida, les malades atteints d'hémopathies malignes et les personnes revenant de séjours en zone tropicale et intertropicale.

Malgré la répétition des analyses pour les malades atteints de sida ou infectés par le VIH avec troubles gastro-intestinaux, la fréquence de détection est faible et non significativement différente de celle de l'ensemble de la population étudiée. Elle est un peu plus importante chez les malades présentant des hémopathies malignes pour lesquels les analyses sont aussi très régulièrement effectuées. Cependant, la fréquence dans les deux groupes de patients immunodéprimés est inférieure à celle observée chez des personnes saines asymptomatiques du groupe du personnel de cuisine pour lequel une analyse parasitologique des selles est incluse dans le bilan systématique. Cependant, les comparaisons de pourcentage de prévalence indiquent une fréquence significative chez les sujets au retour de voyage ($p<0,01$) (tableau 2).

Troubles cliniques associés

En excluant les patients infectés par le VIH et les malades atteints d'hémopathies malignes, quatre patients parmi les 30 ayant uniquement *B. hominis* dans les échantillons coprologiques présentaient des troubles du transit (diarrhées), accompagnés de douleurs (dans tous les cas, ces patients présentaient de nombreux, voire très nombreux parasites). La flore fongique et bactérienne était normale, mais toutes les recherches de virus entéropathogènes n'ont pas été effectuées. Les analyses coprologiques motivées par des manifestations allergiques (hyperéosinophilie sanguine, prurit, urticaire...) ont souvent conduit à la détection du parasite en l'absence de toute autre manifestation clinique (tableau 3).

Association avec d'autres parasites intestinaux

L'association avec *Dientamoeba fragilis* est la plus fréquente (23%) ainsi que celle avec *Endolimax nanus* (21%). Au total, l'association avec d'autres amibes, flagellés ou autres parasites intestinaux est

Tableau 1.

Répartition des classes d'âge des personnes parasitées et prévalence dans l'ensemble de la population étudiée

Âge	NP*	<5ans	5-15	15-25	25-35	35-45	45-55	55-65	65-75	75-85	>85	Total
Population totale	26	157	320		971		1 107					2 581
Nombre de personnes parasitées	2	1	3	4	17	17	10	9	7	4	3	77
Personnes parasitées selon les classes d'âge (%)	2,5	1,3	3,9	5,2	22	22	13	17,7	9,1	5,2	3,9	
Cumul (%)		1,3	9,1		44		48,9					
Prévalence de la parasitose dans la population étudiée		0,6	2,2		3,5		3,0					

*NP: non précisé.

Tableau 2.

Prévalence de la parasitose chez deux groupes de patients immunodéprimés et comparaison avec la prévalence lors du bilan systématique pour le personnel asymptomatique des cuisines et pour les sujets revenant de voyages tropicaux ou intertropicaux

Patient	Personnel des cuisines	Infections à VIH	Hémopathies malignes	Retour de voyages
Nombre total	86	173	103	304
Blastocystis seul	5	1	4	20
Blastocystis + autres parasites	4	2	3	18
%	10,5	1,7	6,8	12,5

Tableau 3.

Renseignements épidémiologiques et cliniques associés à la présence de *Blastocystis hominis*

Renseignements	Nombre	%
Bilan d'un séjour à l'étranger	38	49,4
Contexte non précisé	3	3,9
Contrôle après traitement d'une parasitose digestive (asymptomatique)	2	2,6
Contrôle du personnel (asymptomatique)	9	11,7
Eczéma, urticaire	11	14,3
VIH	3	3,9
Hématologie	7	9,0
Douleurs abdominales et diarrhées	4	5,2
Nombre total	77	100

retrouvée dans plus de la moitié des détections (62%). Elle est aussi importante chez les personnes revenant d'un séjour à l'étranger (18/38).

Conséquences des traitements par le métronidazole

Parmi les 30 patients pour lesquels *B. hominis* a été le seul parasite détecté dans les selles, 4 présentaient des douleurs et des selles diarrhéiques. Ces 4 patients ont été traités par le métronidazole, le contrôle parasitologique n'a été effectué que pour trois d'entre eux. Les trois contrôles ont été négatifs.

Discussion

Le rattachement de *B. hominis* aux protozoaires [2] est désormais incontesté. Les analyses effectuées en biologie moléculaire ont permis de définir divers caryotypes, de constater une grande biodiversité des souches et d'émettre la possibilité de l'existence d'espèces ou de sous-espèces différentes [3]. Cependant, actuellement une seule espèce, *B. hominis*, est reconnue chez l'homme.

Ce sont surtout les formes vacuolaires et multivacuolaires qui sont présentes dans les selles, les formes kystiques de petite taille (environ 5 µm) le seraient surtout dans les cultures ou dans les échantillons conservés. Les kystes permettraient une plus grande résistance à la dessiccation et au choc osmotique, ils sont très rarement à l'origine de la détection du parasite en pratique hospitalière; il en est de même des cultures effectuées uniquement dans un but de recherche et très rarement à finalité diagnostique. Ce parasite anaérobie strict, cultivable *in vitro*, ne se multiplie pas à basse température et sa survie est faible. Cependant, l'infestation liée au péril fécal est indéniable; en particulier l'association avec d'autres amibes ou protozoaires est le signe d'une contamination fécale humaine et souligne la persistance du protozoaire dans le milieu extérieur.

La prévalence est faible dans l'ensemble de la population étudiée. Dans la région grenobloise, le péril fécal est quasi nul et la qualité de l'eau de boisson est excellente, ce qui explique la faible fréquence chez les autochtones. La fréquence plus élevée est liée à

un séjour en pays tropicaux ou subtropicaux où les risques de contamination liés au péril fécal sont plus importants. La prévalence est effectivement extrêmement variable selon les pays [1,3] et, pour un même échantillonnage, les méthodes de concentration ou de culture augmentent la sensibilité de détection [4]. La prévalence dans cette étude est probablement sous-estimée mais, cependant, les comparaisons entre les différents groupes sont tout à fait justifiées, le diagnostic étant homogène.

En fonction des comparaisons de fréquence selon le contexte clinique, nous pouvons affirmer que *B. hominis* n'est pas un parasite opportuniste. Il est plus fréquemment présent chez le sujet entre 25 et 45 ans, très rarement présent chez le jeune enfant avant 5 ans et cela, même si nous considérons le faible pourcentage de cette population. Sa fréquence n'est pas corrélée à une immunodéficience, que ce soit dans un contexte de sida ou d'hémopathies malignes. Ce fait a déjà été souligné par Junod [5] et ne corrobore pas les résultats ou suggestions d'autres auteurs [6].

Ce parasite, retrouvé isolément, est rarement responsable de troubles cliniques et de douleurs (4/30, soit environ 13%); le nombre important de parasites à l'examen coprologique n'est cependant pas l'apanage des sujets symptomatiques dans notre étude. La présence de colite ou de syndrome inflammatoire a été soulignée en association avec *B. hominis*, des cas d'infections plus sévères avec signes hémorragiques, fièvre ou localisation atypique ont aussi été publiés [7,8]. Les troubles cliniques seraient corrélés le plus souvent avec l'intensité de la parasitose où les formes recherchées sont généralement toujours présentes [9]. Cependant, il n'est pas certain que, dans les études publiées, tous les agents infectieux intestinaux ainsi que d'autres facteurs perturbant le fonctionnement intestinal aient été exclus (facteurs alimentaires, iatrogènes, psychologiques...) lorsque des troubles cliniques motivaient la recherche parasitologique. Ces lacunes engendrent souvent des controverses concernant la pathogénicité réelle du parasite. La difficulté majeure reste de savoir si les troubles cliniques sont liés à l'action pathogène du parasite ou s'ils résultent d'autres causes qui génèrent des perturbations du milieu favorables au développement du

parasite. De nombreuses identifications sont fortuites, en particulier chez le personnel des cuisines pour lequel le contrôle est systématique et n'a jamais été motivé par des troubles cliniques (9 cas). Dans le cas de ce groupe témoin, la plus forte prévalence est très probablement liée à l'origine de cette catégorie de sujets (travailleurs émigrés, emploi peu qualifié avec fort taux de renouvellement). La transmission liée au péril fécal est importante [10], ce parasite est souvent associé aux agents responsables de la diarrhée des voyageurs. La détection de *B. hominis* au cours d'hyperéosinophilie ou de phénomènes d'allergie (eczéma, urticaire) est fréquente. L'association du parasite et des manifestations d'intolérance a été signalée [2]. Dans les formes cliniques d'intolérance, ce parasite peut aussi n'être que le témoin et non la cause des manifestations d'intolérance. L'existence de souches à potentialité plus importante de virulence ne peut être éludée, y compris la possibilité d'une sensibilité individuelle plus prononcée de certains patients.

Le métronidazole reste toujours le traitement de première intention faute de chimiothérapies plus efficaces et peu toxiques même si son évaluation se révèle décevante [2,8]. Dans notre étude, les recherches post-thérapeutiques négatives (faible nombre de patients suivis) peuvent être liées aux phases spontanément résolutes ou être consécutives au traitement.

Conclusion

B. hominis, n'est pas un protozoaire à caractère opportuniste. Il peut, dans de très rares cas, être responsable de troubles digestifs mineurs et de manifestations allergiques. La sensibilité individuelle associée à la possibilité de souches ou d'espèces à plus forte potentialité pathogène n'est cependant pas à exclure [11].

L'absence de gravité et le caractère non opportuniste de cette parasitose ne conduisent pas à une indication de traitement, y compris chez l'individu profondément immunodéprimé. Seule la persistance de troubles cliniques associée à la détection du parasite en l'absence d'autres micro-organismes ou parasites intestinaux justifie le traitement: le métronidazole (Flagyl®) reste la thérapie classiquement utilisée suivie par un contrôle post-thérapeutique.

Références

1. Stenzel DJ, Boreham PF. *Blastocystis hominis* revisited. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9: 563-84.
2. Zierdt CH, Rude WS, Bull BS. Protozoan characteristics of *Blastocystis hominis*. *Am J Clin Pathol* 1967; 48: 495-501.
3. Stenzel DJ, Lec MG, Boreham PF. Morphological differences in *Blastocystis* cysts. an indication of different species. *Parasitol Res* 1997; 83: 452-7.
4. Zaman V. The diagnosis of *Blastocystis hominis* cysts in human feces. *J Infect* 1996; 33: 15-6.
5. Junod C. *Blastocystis hominis*: commensal habituel du côlon, étude de la prévalence à Paris, dans diverses populations. *Presse Med* 1995; 24: 1684-8.
6. Garavelli PL, Scarglione L, Libanore M, Rolston K. *Blastocystis*: a new disease in patients with leukaemia. *Haematologica* 1991; 76: 80.
7. Carrascosa M, Martinez J, Perez-Castrillon JL. Hemorrhagic protosigmoiditis and *Blastocystis hominis* infection. *Ann Internal Med* 1996; 124: 278-9.
8. Lee MG, Rawlins SC, Didier M, Deceulaer K. Infective arthritis due to *Blastocystis hominis*. *Ann Rheum Dis* 1990; 49: 192-3.
9. Sheeman DJ, Rancher BG, McKittrick J. Association of *Blastocystis hominis* with signs and symptoms of human disease. *J Clin Microbiol* 1986; 24: 548-50.
10. Jelinek T, Peyerl G, Loscher T, Von Sonnenburg F, Nothdurft HD. The role of *Blastocystis hominis* as a possible intestinal pathogen in travellers. *J Infect* 1997; 35: 63-6.
11. Lanuza MD, Carbajal JA, Villar J, Mir A, Borrás R. Soluble-protein and antigenic heterogeneity in axenic *Blastocystis hominis* isolates: pathogenic implications. *Parasitol Res* 1999; 85: 93-7.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ДРОЖЖЕВЫХ СЕПСИСОВ В УНИВЕРСИТЕТСКОЙ КЛИНИКЕ

П. Павез, Ж.П. Брион, Б. Лебо, Р. Грийо, П. Амбруаз-Тома.

(Франция, Гренобль. Госпитально-университетский центр, генеральный директор – проф. Жан-Пьер Бастар; Отдел медицинской молекулярной паразитологии и микологии)

Краткое содержание

С января 1997 г. по май 1998 г. в нашем учреждении было выявлено 22 дрожжевых сепсиса. Мы изучили клиническую картину у пациентов и чувствительность изолированных дрожжей к противогрибковым препаратам (метод Фунжи-тест и Е-тест). Были обнаружены: 11 *Candida albicans* (CA), 10 *Candida non albicans* (CNA) (3 *C. glabrata*, 2 *C. parapsilosis*, 4 *C. tropicalis*, 1 *C. krusei*) и 1 *Saccharomyces cerevisiae*. Средний возраст пациентов – 56,4 года. Среди пациентов – 13 мужчин и 9 женщин. Все больные поделены на 4 группы: онкогематологическая группа из 8-и (36,4%) больных, группа из 8-и (36,4%) пациентов, перенёвших операцию на брюшной полости, группа из 3-х (13,6%) детей, находившихся в отделении для новорожденных и группа из 3-х (13,6%) пациентов, пребывавших в отделении интенсивной терапии. В 10 случаях дрожжевой сепсис ассоциировался с бактериемией. В 4-х случаях речь шла о многосложных бактериемиях. У трёх (13,6%) пациентов заболевание закончилось летальным исходом: два с *Candida non albicans* и один с *Candida albicans*. Ни какой устойчивости к амфотерицину Б и кетоконазолу не было установлено. Все CA и 3 CNA (30%) оставались восприимчивыми к 4 проверенным противогрибковым препаратам (амфотерицину Б, кетоконазолу, флюконазолу, итраконазолу). 3 *C. glabrata* и *C. krusei* были устойчивыми или занимали промежуточное положение по отношению к флюконазолу. С момента распространения использования флюконазола в профилактических целях и в лечении многих грибковых инфекций отмечено появление новых штаммов CNA, таких как *C. glabrata* или *C. krusei* и штаммов *C. albicans*, не чувствительных к флюконазолу. В нашей университетской клинике *C. albicans* преобладают, и только CNA остаются устойчивыми к азольным, ставя под сомнение выбор эмпирического лечения тяжёлых грибковых инфекций.

Несмотря на значительные достижения в области терапии, дрожжевые сепсисы остаются сложной проблемой, особенно это касается пациентов, страдающих иммунодепрессией или больных, которым необходимо длительное пребывание в реанимации. Дрожжевые сепсисы можно было бы поместить на четвертое место среди внутрибольничных инфекций, а *Candida spp.* со-

ставила бы 10% от изолированных патогенов в крови [3]. Начиная с 70-х годов флюконазол – азольное средство, обладающее широким спектром действия и менее токсичное по сравнению с амфотерицином Б – широко применялся в профилактических целях и в лечении грибковых инфекций. Такой подход, вероятно, изменил эпидемиологию и восприимчивость к противогрибковым препаратам.

Мы обследовали 22 больного с дрожжевым сепсисом, выявленном в нашем учреждении. Наша цель состояла в том, чтобы установить терапевтическую частоту появления новых дрожжевых штаммов.

Материалы и методы

С января 1997 г. года по май 1998 г. в нашем учреждении в лаборатории паразитологии были зарегистрированы 22 случая дрожжевых сепсисов. Для каждого отдельного случая мы провели изучение медицинской картотеки и составили систему из следующих параметров: возраст, пол, отделение госпитализации, основная патология, факторы подавления иммунитета, наличие катетера или имплантата, путь проникновения, пребывание в реанимации, антибиотическое и противогрибковое лечение, ход болезни.

Кандидемия определялась по наличию хотя бы одной позитивной гемокультуры с *Candida species* или *Torulopsis glabrata*. Выделения кандиды считались непатологическими, если все ниже перечисленные признаки не были обнаружены: хотя бы одна позитивная гемокультура из 2-х по крайней мере проведенных гемокультур; не наблюдался случай выздоровления пациента без противогрибкового лечения. К пациентам, страдающим иммунодепрессией, относились те больные, у которых был найден один из следующих признаков: гематологическая болезнь, нейтропения (уровень содержания полинуклеарных нейтрофилов ниже 1000G/Л), трансплантация, СПИД, цитотоксическое лечение или длительная кортикостероидная терапия до появления сепсиса. Пациенты считались выздоровевшими, если все микологические пробы были отрицательные в течение 3 недель, и если это совпадало с клиническим выздоровлением.

Гемокультуры были инкубированы в системе VAC – TEC 9240. Штаммы были идентифицированы посредством разведения в среде Сабуро – ле-

вомицетин – гентамицин, латекс *Candida albicans*, ряд 1D 32 С. Каждый штамм был тестирован на чувствительность к амфотерицину Б, кетоконазолу, флюконазолу, итраконазолу. Минимальные концентрации ингибиторов (МКИ) были определены через Е-тест и Фунжитест (Санofiпастер).

Результаты

В период с января 1997г. по май 1998г. в нашем учреждении были выявлены 22 дрожжевых сепсиса. Обнаружены: 11 *Candida albicans* (СА – 50%), 10 *Candida non albicans* (СНА – 45,5%) и 1 *Saccharomyces cerevisiae* (4,5%). Группа СНА включала: 3 *Candida (C) glabrata*, 2С. *parapsilosis*, 4С. *tropicalis*, 1С. *krusei*. Средний возраст пациентов – 56,4 года (от одного месяца до 97 лет). Среди них – 13 пациентов мужчин и 9 женщин, в том числе новорожденные обоих полов – 1 и 4 мес. (табл.1).

Пациенты с кандидемией были поделены на 4: группы онкогематологической патологии из 8-и (36,4%) пациентов: 3 острых лейкоза, 2 лимфомы и 3 солидные опухоли; группа из 8-и (36,4%) пациентов, перенёвших операцию на брюшной полости; группа из 3-х (13,6%) детей, пребывавших в отделении интенсивной терапии; группа из 3-х (13,6%) взрослых, находившихся в реанимации больше 10 дней. 17 пациентов страдали иммуносупрессией: 5 – с нейтропенией, 4 – с солидной опухолью, 1 – с кахексией на почве голодания, 2 недоношенных ребенка, 3 пациента преклонного возраста (старше 85 лет), 1 – со СПИДом, 1 – с сахарным диабетом. У 9 пациентов наблюдался кандидоз пищеварительного тракта. Способ проникновения был выявлен у 16 пациентов: 5 раз констатировали повторное применение катетеров, 9 раз – инфекцию пищеварительного тракта, 5 раз – мочевую инфекцию. 21 пациент являлся носителем имплантата.

В 10 случаях дрожжевой сепсис ассоциировался с бактериемией. В трех случаях речь шла о многосложных бактериемиях на фоне гематологического или онкологического заболевания. В 3 (13,6%) случаях заболевание закончилось летальным исходом: у двух – был сепсис СНА, а у одного – СА.

Никакой сопротивляемости к амфотерицину Б или кетоконазолу не было обнаружено. Все СА и 3 (30%) СНА оставались чувствительными к 4 проверенным антигрибковым препаратам. 7 штаммов были нечувствительными или занимали промежуточное положение по отношению к флюконазолу. Это касалось только СНА. 3С. *glabrata* были устойчивы к итраконазолу, 2 были устойчивы или занимали промежуточное положение по отношению к флюконазолу. С. *krusei* была невосприимчива к флюконазолу. Единственная С. *tropicalis* имела промежуточную чувствительность к итраконазолу (диаграмма 1)*.

* Диаграмма 1. Реакция 22 изолированных дрожжей на противогрибковое лечение (см стр.34).

Обсуждение

Дрожжевые сепсисы по-прежнему опасны, уровень смертности при этих заболеваниях варьирует от 52 до 79% [1,8,10]. Они развиваются, как правило, на неблагоприятном фоне (больные с нейтропенией, диабетом, страдающие иммунодепрессией или находившиеся на лечении в реанимации...) [1].

Candida albicans выделена от пациентов с различной патологией: ВИЧ-инфекция, новорожденные, больные, перенёвшие сложную хирургическую операцию или с нейтропенией [6,7,8,10]. Наше исследование включает 50% сепсисов СА и 50% СНА.

Многие авторы связали появление новых дрожжевых штаммов, а именно *Candida krusei* (СК) и *Candida glabrata* (С), с течением хронических инфекций (таких как орофарингеальные кандидозы), а также с течением кандидемий [3,9].

Объяснение новому распределению нашлось бы в распространении использования флюконазола. Флюконазол принадлежит к семейству азольных и обладает очень хорошей эффективностью и в противоположность амфотерицину Б превосходит устойчивостью [14]. Это привело к его широкому использованию в высоких дозах при лечении некоторых оппортунистических инфекций, при ВИЧ-инфекции, а также при профилактическом лечении орофарингеальных кандидозов у пациентов, страдающих иммунодепрессией (больные СПИДом, или, страдающие каким-либо онкогематологическим заболеванием или, подвергшиеся пересадке органов) [3,5].

В настоящее время общепризнано, что такая терапевтическая практика привела к сокращению в значительной мере количества серьезных инфекций СА и *Candida tropicalis* (как правило, чувствительных к азольным) и к увеличению количества изолированных СО и СК [9]. Истинная патогенная роль последних штаммов остается тем не менее спорной. В нашем исследовании мы выделили больше С. *tropicalis*, чем ССГ или СК. Это объясняется, вероятно, тем, что мы выделили только те штаммы, которые клиницисты считают патогенными. Штаммы СНА были в большинстве своем изолированы у пациентов, страдающих иммунодепрессией.

Появление невосприимчивых к антибиотикам бактерий после продолжительного лечения – это хорошо известное и неизбежное явление. Давление, которое оказывают широко используемые противогрибковые препараты, позволило бы, по мнению некоторых авторов, видоизменить сопротивляемость штаммов СА [8,16]. Первые СА, представляющие СМІ, увеличенные в азольных, были описаны в 70-х годах [4]. Наблюдалась перекрестная чувствительность между различными азольными препаратами, такими как миконазол, эконазол, котримоксазол. Такая чувствительность в лаборатории была соотнесена с чувствительностью в клинике лишь намного позже [13]. В

Таблица 1.

Характеристика 22 дрожжевых сепсисов

№	Пол	Возраст	Диагностика	Дрожжи	Материал	Бактериemia	Иммунодепрессия	Другой участок	Заражение ПТ	Лечение	Ход болезни
1	М	52	SDRA	СА	ГВП	Strepto b	Нет	БАП	Нет	Флюко	Выздоровление
2	Ж	52	Панкреатит	СА	ГВП дренаж	Нет	Нет	Испражнения	Да	Флюко	Выздоровление
3	Ж	75	Рак желудка	СА	ГВП	E. coli	Рак	Выделенная моча Мазок из трахеи	Нет	Флюко	ЛИ
4	М	33	Сеноз пищевода	CG	Еюностомия	Enterobacter и Klebsiella	СПИД	Нет	Нет	АБ	Выздоровление
5	Ж	53	Параплегия струп	СА	ГВП Сендрон	E. coli	Нет	Выделенная моча, струп	Нет	Флюко	Выздоровление
6	Ж	71	МОЛ	СА	ГВП	Нет	ПНН < 1000	Испражнения Кожа	Да	АБ	Выздоровление
7	Ж	1 мес.	Энтероколит	CP	ГВП	Strepto b	Недоношенный ребенок	Мазок из трахеи, испражнения	Да	Анкотил АБ	Выздоровление
8	М	2	Невробластома	CP	ГВП	Нет	Рак	Испражнения Мазок из трахеи	Да	Анкотил	Выздоровление
9	М	4 мес.	Атрезия пищевода	СА	ГВП	S. aureus	Недоношенный ребенок	Моча Испражнения ГВП	Да	АБ	Выздоровление
10	М	85	Политравматизм	SC	ГВП	Нет	> 85 лет	Нет	Нет	АБ	Выздоровление
11	Ж	90	Абсцесс почки	CG	Двойная еюностомия	Нет	>85 лет	Выделенная моча	Нет	АБ	Выздоровление
12	М	68	ЗОНХ	CT	Port a cath	Нет	ПНН <1000	Нет	Нет	АБ	Выздоровление
13	М	84	Рак ободочной кишки	СА	Нет	Нет	Рак	Выделенная моча	Нет	Флюко	Выздоровление
14	М	62	Острый лейкоз	CT	Port a cath	E. coli	ПНН <1000	Нет	Нет	АБ	ЛИ
15	М	85	Мочевая инфекция	СК	ГВП	Нет	Диабет	Нет	Нет	АБ	Выздоровление
16	М	57	Рак поджелудочной железы	CG	ГВП	coli K. pneumo	Рак	Испражнения ГВП	Да	АБ	ЛИ
17	Ж	76	МОЛ	CT	ГВП	coli B- fragilis	ПНН <1000	Испражнения	Да	АБ	Выздоровление
18	М	5	Энтерит	СА	ГВП	Нет	Истощение на почве голодания	ГВП	Нет	АБ	Выздоровление
19	Ж	97	Хирургический колит	CT	ГВП	Нет	> 85 лет	ГВП	Нет	Флюко	Выздоровление
20	Ж	61	Перитонит	СА	ГВП	Нет	Нет	ГВП Испражнения	Да	Анкотил АБ	Выздоровление
21	М	71	ЗОНХ	СА	ГВП	Нет	ПНН < 1000	Нет	Нет	АБ	Выздоровление
22	М	61	Перитонит	СА	ГВП	E. coli	Нет	Испражнения ГВП Моча	Да	Флюко	Выздоровление

Примечание: МОЛ – миелоидный острый лейкоз; ЗОНХ – злокачественная опухоль не Ходжкина; СА – *Candida albicans*; CG – *Candida glabrata*; CP – *Candida parapsilosis*; SC – *Saccharomyces cerevisiae*; CT – *Candida tropicalis*; СК – *Candida krisei*; ГВП – глубокий венозный путь; БАП – бронхоальвеолярное промывание; ПНН – полинуклеарные нейтрофилы; ПТ – пищеварительный тракт; Флюко – флюконазол; АБ – амфотерицин Б; ЛИ – летальный исход.

1983 году Варнок и другие описали одну из первых терапевтических неудач в использовании флюконазола [15]. С распространением использо-

вания азольных, особенно в профилактическом лечении, это явление, должно быть, приобрело бы значительный размах. Безусловно, многие случаи

заражения СА, устойчивой в лаборатории и в клинике, были соотнесены, но их количество несравнимо с тем, что ожидалось. В нашем исследовании никакая СА не является устойчивой, за исключением CNA, стойких к флюконазолу, все штаммы остаются чувствительными к амфотерицину Б. Вопрос о патогенной роли данных устойчивых штаммов является также дискуссионным [6]. К тому же никакое исследование формально не смогло бы установить причинную взаимосвязь между применением азольного лечения и появлением устойчивых дрожжей.

Многие авторы доказали, что флюконазол и амфотерицин Б имеют равносильную эффективность при лечении кандидемии [2,9,11]. Однако никакое исследование не обладает достаточной убедительностью, чтобы подтвердить это на пациентах, страдающих нейтропенией (ретроспективные серии или со слишком малым количеством случаев ...).

Что касается катетеров и введенных внутрь материалов, Rex et al. [12] подчеркнули, что речь идет о важном факторе риска кандидемии, и что их ранняя замена может сократить продолжитель-

ность заболевания кандидемией от 5,5 до 4,2 дней. Другие же авторы [10] не признают целесообразность преждевременной смены. По их мнению, у пациентов, страдающих нейтропенией и иммунодепрессией, путь проникновения проходит чаще всего через заражение органов пищеварения, чем через катетеры и имплантаты. В нашем исследовании 21 пациент являлся носителем имплантата, и только в 5 случаях мы обнаружили заражение.

Поэтому для лечения дрожжевых сепсисов мы предлагаем следующее терапевтическое предписание:

- Использование амфотерицина Б в первую очередь при лечении пациентов, страдающих нейтропенией, лиц, подвергшихся пересадке органов или ИВЧ-инфицированных, зачастую пораженных CNA;
- Применение флюконазола при любой кандидемии, которая встречается у больных, не страдающих иммунодепрессией;
- Что касается преждевременной замены катетера, необходимы более масштабные перспективные исследования.

© PAVESE P., BRION J.P., LEBEAU B., GRILLOT R., AMBROISE-THOMAS P. –

ÉPIDÉMIOLOGIE DES SEPTICÉMIES À LEVURES DANS UN HÔPITAL UNIVERSITAIRE, INCIDENCE THÉRAPEUTIQUE

P. Pavese, J.P. Brion, B. Lebeau, R. Grillot, P. Ambroise-Thomas.

(Service de parasitologie-mycologie, Hôpital Albert-Michallon, BP 217, 38043 Grenoble Cedex 9. France)

Résumé

Vingt-deux septicémies à levures sont survenues dans notre établissement de janvier 1997 à mai 1998. Nous avons étudié l'évolution clinique des patients et la sensibilité des levures isolées aux antifongiques (méthode Fungitest et E-Test). On retrouvait 11 *Candida albicans* (CA), 10 *Candida non albicans* (CNA) (3 *C. glabrata*, 2 *C. parapsilosis*, 4 *C. Tropicalia*, 1 *C. krusei*) et 1 *Saccharomyces cerevisiae*. L'âge moyen des patients était de 56.4 ans. Treize patients étaient de sexe masculin et 9 de sexe féminin. On distinguait 4 grands groupes de pathologie. Un groupe onco-hématologique de 8 patients (36,4%), un groupe de 8 patients ayant subi une chirurgie abdominale (36,4%), un groupe de 3 enfants (13,6%) ayant séjourné en néonatalogie et un groupe de 3 patients (13,6%) ayant séjourné en unité de soins intensifs. Ces septicémies étaient associées à des bactériémies à 10 reprises, 4 fois il s'agissait de bactériémies multiples. Trois patients (13,6%) décédaient des suites de la septicémie à levures, il s'agissait de CNA pour 2 cas et d'un CA pour un cas. On ne constatait aucune résistance à l'amphotéricine B ni au kétoconazole. Tous les CA et 3 CNA (30%) restaient sensibles aux 4 antifongiques testés (amphotéricine B, kétoconazole, fluconazole, itraconazole). Les 3 *C. glabrata* et le *C. krusei* étaient résistants ou intermédiaires au fluconazole. Depuis la

généralisation de l'utilisation du fluconazole en traitement prophylactique et curatif de nombreuses infections fongiques, l'épidémiologie est marquée par l'émergence de nouvelles souches de CNA comme *C. glabrata* ou *C. krusei* et de souches de *C. albicans* présentant des résistances au fluconazole. Dans notre CHU, Les *C. albicans* restent prépondérants et seules les CNA sont résistants aux azolés faisant discuter le choix du traitement empirique des infections fongiques graves.

En dépit d'avancées thérapeutiques importantes, les septicémies à levures demeurent un problème préoccupant, surtout pour les patients immunodéprimés ou nécessitant de longs séjours de réanimation. Elles se situeraient au quatrième rang des infections nosocomiales et *Candida spp* représenterait 10% des pathogènes isolés dans le sang [3]. Depuis les années 1970, le fluconazole, un azolé possédant un excellent spectre d'activité, et moins toxique que l'amphotéricine B, a été largement utilisé dans le traitement curatif et prophylactique des infections fongiques. Ce comportement a probablement modifié l'épidémiologie et la susceptibilité aux antifongiques des levures.

Nous avons étudié une série de 22 septicémies à levures survenues dans notre établissement afin d'évaluer l'incidence thérapeutique de l'émergence de nouvelles souches de levures.

Patients et méthodes

De janvier 1997 à mai 1998, 22 cas de septicémies à levures ont été identifiés au laboratoire de parasitologie de notre établissement. Pour chaque souche isolée, nous avons réalisé l'étude du dossier médical et recueilli l'ensemble des paramètres suivants: âge, sexe, service d'hospitalisation, pathologie principale, facteurs d'immunodépression, présence de cathéters ou de matériel profond, porte d'entrée, séjour en réanimation, traitement antibiotique et antifongique, évolution.

Les candidémies étaient définies par la présence d'au moins une hémoculture positive avec *Candida species* ou *Torulopsis glabrata*. Les isollements de *Candida* étaient considérés comme non pathologiques si tous les critères suivants n'étaient pas observés: au moins une hémoculture positive sur au moins deux hémocultures réalisées, pas de guérison du patient sans traitement antifongique. Les patients étaient considérés comme immunodéprimés si un des critères suivants était retrouvé: maladie hématologique, neutropénie (polynucléaires neutrophiles inférieurs à 1000 G/l), greffe, SIDA, traitement cytotoxique ou corticothérapie au long cours avant la survenue de la septicémie. Les patients étaient considérés comme guéris si tous les prélèvements mycologiques étaient négatifs à 3 semaines d'évolution et si cela concordait avec une impression clinique de guérison.

Les hémocultures étaient incubées dans un système BACTEC 9240. Les souches étaient identifiées par culture sur milieu Sabouraud-chloramphénicol-gentamycine, latex *Candida albicans*, galerie ID 32C.

Les 4 antifongiques suivants étaient testés pour chaque souche: amphotéricine B, kétoconazole, fluconazole, itraconazole. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) étaient déterminées par E-test et Fungitest (Sanofi pasteur).

Résultats

Vingt-deux septicémies à levures survenaient dans notre établissement de janvier 1997 à mai 1998.

On retrouvait 11 *Candida albicans* (CA-50%), 10 *Candida non albicans* (CNA-45,5%) et un *Saccharomyces cerevisiae* (4,5%). Le groupe des CNA comprenait 3 *Candida (C) glabrata*, 2 *C. parapsilosis*, 4 *C. tropicalis* et 1 *C. krusei*. L'âge moyen des patients était de 56,4 ans (de 1 mois à 97 ans). Treize patients étaient de sexe masculin et 9 de sexe féminin soit un sex-ratio de 1,4 (tableau 1).

Les patients ayant présenté une candidémie entraient dans 4 grands groupes de pathologie. Un groupe de pathologie onco-hématologique de 8 patients (36,4%) était composé de 3 leucémies aiguës, 2 lymphomes, et 3 tumeurs solides. Un groupe de 8 patients (36,4%) ayant subi une chirurgie abdominale, un groupe de 3 enfants (13,6%) ayant séjourné en unité de soins intensifs et un dernier groupe de 3 adultes (13,6%) ayant séjourné en réanimation médicale pour une durée supérieure à 10 jours constituaient le reste de l'effectif. Dix-sept patients

étaient immunodéprimés: il s'agissait de 5 neutropénies, 4 tumeurs solides, 1 dénutrition, 2 prématurités, 3 grand âge (plus de 85 ans), 1 SIDA, 1 diabète. Neuf patients présentaient une localisation digestive de leur candidose. La porte d'entrée était mise en évidence pour 16 patients; 5 fois on constatait une surinfection de cathéter, 9 fois une infection digestive et 5 fois une infection urinaire. Vingt et un patients portaient du matériel profond.

Les septicémies étaient associées à des bactériémies à 10 reprises, 3 fois il s'agissait de bactériémies multiples au cours d'une maladie hématologique ou oncologique. Trois patients (13,6%) décédaient des suites de la candidémie, il s'agissait pour 2 patients de septicémie à CNA et pour 1 à CA.

Il n'existait aucune résistance à l'amphotéricine B, ou au kétoconazole. Tous les CA et 3 CNA (30%) restaient sensibles aux 4 antifongiques testés. Sept souches étaient résistantes ou intermédiaires au fluconazole. Cela concernait uniquement des CNA. Les 3 *C. glabrata* étaient résistants à l'itraconazole, 2 étaient résistant ou intermédiaire au fluconazole. Le *C. krusei* était résistant au fluconazole. Un seul *C. tropicalis* avait une sensibilité intermédiaire à l'itraconazole (fig.1).

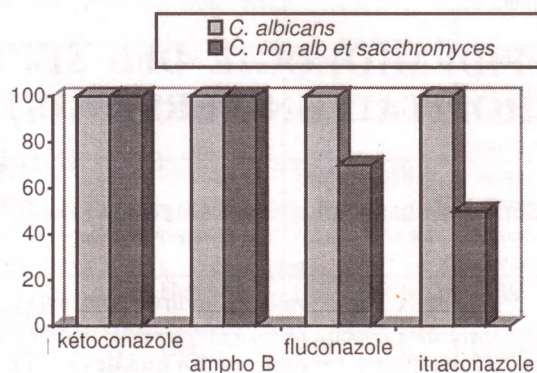


Figure 1. Profil de sensibilité aux antifongiques des 22 levures isolées.

Discussion

Les septicémies à levures restent graves, leur taux de mortalité varie de 52 à 79% selon les études [1,8, 10]. Elles surviennent sur des terrains généralement fragiles (patients neutropéniques, diabétiques, immunodéprimés, ou ayant séjourné en réanimation...) [1].

Candida albicans reste le germe le plus fréquemment isolé quelque soit le terrain étudié: patients atteints de SIDA, nouveau-nés, patients ayant subi une chirurgie lourde ou présentant une neutropénie [6,7,8,10]. Notre série comporte 50% de septicémies à CA et 50% de CNA.

Plusieurs auteurs ont rapporté l'émergence de nouvelles souches de levures et notamment de *Candida krusei* (CK) et *Candida glabrata* (CG), au cours d'infections chroniques comme les candidoses oropharyngées, mais aussi au cours de candidémies [3, 9].

Tableau 1.

Caractéristiques des 22 septicémies à levures

	Sexe	Age	Diagnostic	Levure	Matériel	Bactériémie	Immuno-dépression	Autre site	Contamination TD	Traitement	Évolution
1	M	52	SDRA	CA	VVP	Strepto b	Non	LBA	Non	Fluco	Guéri
2	F	52	Pancréatite	CA	VVP drain	Non	Non	Selles	Oui	Fluco	Guéri
3	F	75	Cancer estomac	CA	VVP	E. coli	Cancer	Urines CBT	Non	Fluco	DCD
4	M	33	Sénose œsophage	CG	Jéjuno - stomie	Entérobacter et Klebsiella	SIDA	Non	Non	AB	Guéri
5	F	53	Paraplégie, escarre	CA	VVP cendron	E. coli	Non	Urines Escarre	Non	Fluco	Guéri
6	F	71	LAM	CA	VVP	Non	PNN<1000	Selles Peau	Oui	AB	Guéri
7	F	1 mois	Entérocolite	CP	VVP	Strepto b	Prématuré	CBT Selles	Oui	Ancotil AB	Guéri
8	M	2 mois	Neuro-blastome	CP	VVP	Non	Cancer	Selles CBT	Oui	Ancotil	Guéri
9	M	4 mois	Atrésie œsophage	CA	VVP	S. aureus	Prématuré	Urine Selles VVP	Oui	AB	Guéri
10	M	85	Polytraumatisme	SC	VVP	Non	>85 ans	Non	Non	AB	Guéri
11	F	90	Abcès rein	CG	Double J	Non	>85ans	Urines	Non	AB	Guéri
12	M	68	LMNH	CT	port a cath	Non	PNN<1000	Non	Non	AB	Guéri
13	M	84	Cancer côlon	CA	Non	Non	Cancer	Urines	Non	Fluco	Guéri
14	M	62	Leucémie aiguë	CT	port a cath	E. coli	PNN<1000	Non	Non	AB	DCD
15	M	85	Infection urinaire	CK	VVP	Non	Diabète	Non	Non	AB	Guéri
16	M	57	Cancer pancreas	CG	VVP	E. coli K. pneumo	Cancer	Selles VVP	Oui	AB	DCD
17	F	76	LAM	CT	VVP	E. coli B. fragilis	PNN<1000	Selles	Oui	AB	Guéri
18	M	5	Entérite	CA	VVP	Non	Dénutrition	VVP	Non	AB	Guéri
19	F	97	Colite chirurgie	CT	VVP	Non	>85ans	VVP	Non	Fluco	Guéri
20	F	61	Péritonite	CA	VVP	Non	Non	VVP Selles	Oui	Ancotil AB	Guéri
21	M	71	LMNH	CA	VVP	Non	PNN<1000	Non	Non	AB	Guéri
22	M	61	Péritonite	CA	VVP	E. coli	Non	Selles VVP urine	Oui	Fluco	Guéri

LAM: leucémie aiguë myéloïde; LMNH: lymphome malin non hodjkinien; CA: *Candida albicans*; CG: *Candida glabrata*; CP: *Candida parapsilosis*; SC: *Saccharomyces cerevisiae*; CT: *Candida tropicalis*; CK: *Candida krusei*; VVP: voie veineuse profonde; LBA: lavage bronchoalvéolaire; PNN: polynucléaires neutrophiles; CBT: prélèvement trachéal; TD: tube digestif; Fluco: fluconazole; AB: amphotéricine B; DCD: décédé.

Cette nouvelle répartition s'expliquerait par la généralisation de l'utilisation du fluconazole. Il s'agit d'une molécule appartenant à la famille des azolés, ayant une très bonne efficacité et, contrairement à l'amphotéricine B, une excellente toxicité [14]. Cela a conduit à sa large utilisation à forte dose, en traitement curatif de certaines infections opportunistes du SIDA, mais aussi en traitement préventif des candidoses oropharyngées de l'immunodéprimé (SIDA, patients porteurs d'une maladie onco-hématologique ou ayant été greffé) [3,5].

Il est maintenant reconnu que ces pratiques thérapeutiques ont largement contribué à la diminution du nombre des infections sévères à CA et *Candida tropicalis*, espèces habituellement sensibles aux azolés, et ont favorisé l'augmentation du nombre de CG et CK isolés [9]. Le véritable rôle pathogène de ces dernières souches reste néanmoins controversé. Dans notre série, nous avons isolé plus de *C. tropicalis* que de CG ou CK, cela s'explique probablement par le fait que nous n'avons retenu que les souches considérées comme pathogènes par les cliniciens. Les

CNA étaient plus souvent isolés chez des patients immuno-déprimés.

L'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques après traitements prolongés est un phénomène bien connu et inévitable. La pression occasionnée par les traitements antifongiques utilisés largement aurait, selon certains auteurs, permis la modification du profil de résistance des souches de CA [8,16]. Les premiers CA présentant des CMI augmentées aux azolés ont été décrits dans les années 70 [4]. Les résistances étaient croisées entre les différents agents azolés suivants: miconazole, éconazole, cotrimoxazole. Cette résistance *in vitro*, ne fut corrélée à des résistances *in vivo*; que plus tardivement [13] et Warnock *et al.* décrivent l'un des premiers échecs thérapeutiques du fluconazole en 1983 [15]. Avec la généralisation de l'utilisation des azolés, notamment en traitement prophylactique, ce phénomène aurait dû prendre une ampleur très importante. Certes plusieurs cas de CA résistants *in vitro* et *in vivo* ont été rapportés mais leur nombre est sans commune mesure avec ce qui était attendu. Dans notre série, aucun CA n'est

résistant, seuls les CNA présentent des résistances au fluconazole, toutes les souches restent sensibles à l'amphotéricine B. Le rôle pathogène de ces souches résistantes est lui aussi controversé [6]. De plus aucune étude n'a pu établir de façon formelle la relation de cause à effet entre l'utilisation d'un traitement azolé et l'apparition de levures résistantes.

Plusieurs auteurs ont démontré que le fluconazole et l'amphotéricine B avaient une efficacité équivalente dans le traitement des candidémies [2,9,11]. Aucune étude n'avait cependant la puissance nécessaire pour affirmer cela chez les patients neutropéniques (séries rétrospectives ou avec un trop petit nombre de cas...).

En ce qui concerne les cathéters et matériaux profonds. Rex et al. [12] ont démontré qu'il s'agissait d'un facteur de risque important des candidémies et que leur changement précoce pouvait raccourcir la durée de la candidémie de 5,5 à 4,2 jours. D'autres

auteurs [10] ne reconnaissent pas l'intérêt de ce changement précoce pour toutes les populations. Pour eux, chez les patients neutropéniques et immunodéprimés, la porte d'entrée est plus souvent une infection digestive que la colonisation de matériel profond. Dans notre étude 21 patients portaient un matériel profond, nous n'avons pu prouver une contamination que pour 5 cas.

Nous proposons donc, pour les septicémies à levures, la conduite thérapeutique suivante:

- utilisation de l'amphotéricine B en première intention chez les patients neutropéniques, greffés ou SIDA souvent colonisés par des CNA,
- utilisation du fluconazole en première intention pour toute candidémie survenant chez les patients non immunodéprimés,
- en ce qui concerne le changement précoce de cathéter, de plus grandes études prospectives sont nécessaires.

Références

1. Anaissie E.J., Rex J.H., Uzun Ö., Vartivarian S. Predictors of adverse outcome in cancer patients with candidemia. *Am. J. Med.*, 1998. 104. 238-245.
2. Anaissie E.J., Vartivarian S.E., Abi-Said D., Uzun Ö., Pinczowski H., Kontoyiannis D.P., Khoury P., Papadakis K., Gardner A., Raad I.L., Gilbreth J., Bodey G.P. Fluconazole versus amphotericin B in the treatment of hematogenous candidiasis: a matched cohort study. *Am. J. Med.*, 1996. 101, 170-176.
3. Fan-Havard P., Capano D., Smith S.M., Mangia A., Eng R.H.K. Development of resistance in *Candida* isolates from patients receiving prolonged antifungal therapy. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1991. 35. 2302-2305.
4. Horsburgh C.R.Jr., Kirkpatrick C.H. Long-term therapy of chronic mucocutaneous candidiasis with ketoconazole: experience with twenty-one patients. *Am. J. Med.*, 1983. 74. 23-29.
5. Just-Nübling G., Gentschew G., Meissner K. Fluconazole prophylaxis of recurrent oral candidiasis in HIV-positive patients. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 1991. 10. 917-921.
6. Launay O., Lortholary O., Bouges-Michel C., Jarrousse B., Bentata M., Gullevin L. Candidemia: a nosocomial complication in adults with late-stage AIDS. *Clin. Infect. Dis.*, 1998. 26. 1134-1141.
7. Levy I., Rubin L.G., Tucci V., Sood S.K. Emergence of *Candida parapsilosis* as the predominant species causing candidemia in children. *Clin. Infect. Dis.*, 1998. 26. 1086-1088.
8. Nguyen M.H., Peacock J.E., Morris A.J., Nguyen M.L., Snyderman D.R., Wagener M.M., Rinaldi M.G., Yu V.L. The changing face of candidemia: emergence of *Candida non albicans* species and antifungal resistance. *Am. J. Med.*, 1996. 100. 617-623.
9. Nguyen M.H., Peacock J.E., Tanner D.C., Morris A.J., Nguyen M.L., Snyderman D.R., Wagener M.M., Yu V.L. Therapeutic approaches in patients with candidemia. Evaluation in a multicenter, prospective, observational study. *Arch. Intern. Med.*, 1995. 155. 2429-2435.
10. Nucci M., Silveira M.I., Spector N., Silveira F., Velasco E., Akiti T., Barreiros G., Derossi A., Colombo A.L., Pulcheri W. Risk factors for death among cancer patients with fungemia. *Clin. Infect. Dis.*, 1998. 27. 107-111.
11. Rex J.H., Bennett J.E., Sugar A.M. A randomized trial comparing fluconazole with amphotericin B for the treatment of candidemia in patients with neutropenia. *N. Engl. J. Med.*, 1994. 331. 1325-1330.
12. Rex J.H., Bennett J.E., Sugar A.M. Intravascular catheter exchange and duration of candidemia. *Clin. Infect. Dis.*, 1995. 21. 994-996.
13. Rogers T.E., Galgiani J.N. Activity of fluconazole (UK 49, 858) and ketoconazole against *Candida albicans* in vitro and in vivo. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1986. 30. 418-422.
14. Saag M.S., Dismukes W.E. Azole antifungal agents: emphasis on new triazoles. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1988. 32. 1-8.
15. Warnock D.W., Johnson E.M., Richardson M.D., Vickers C.F.H. Modified response to ketoconazole of *Candida albicans* from a treatment failure. *Lancet*. 1983. 1. 642-643.
16. White A. Goetz M.B. Azole-resistance *Candida albicans*: report of two cases of resistance to fluconazole and review. *Clin. Infect. Dis.*, 1994. 19. 687-692.

ДИАГНОСТИКА МАЛЯРИИ В НЕЭНДЕМИЧНЫХ РЕГИОНАХ: ЦЕННОСТЬ, ОГРАНИЧЕНИЯ И ДОПОЛНЕНИЕ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ

М.-П. Бренье-Пиншар, К. Пинель, Р. Грийо, П. Амбруаз-Тома.

(Франция, Гренобль. Госпитально-университетский центр, генеральный директор – проф. Жан-Пьер Бастар; Отдел медицинской молекулярной паразитологии и микологии)

Резюме. Биологическая диагностика малярии является жизненно важной проблемой неотложной медицины. Во Франции ежегодно наблюдают более 5000 случаев завозной малярии. Анализ тонких мазков крови фиксированных и окрашенных остается утвержденным методом диагностики малярии, хотя этот способ требует от исполнителя определенного опыта, которым обладают далеко не все из практикующих лаборантов. Существует желание заменить этот способ другими более простыми (тест QBC[®]) или не зависящими от персональной компетенции исполнителей методами (тест-полоски для обнаружения антигенов плазмодиев – ParaSight[®] и ICT Malaria Pf[®]), однако эти тесты продемонстрировали большое количество ошибочных результатов. Следовательно, эти различные методы должны рассматриваться как дополнительные и, если возможно, желательнее их использовать одновременно. Лучшим сочетанием представляется: тест QBC[®] – тонкий мазок – определение плазмодийных антигенов (ParaSight[®] или ICT Malaria Pf[®]).

Ключевые слова: Малярия. Диагностика. Тонкий мазок. Тест QBC[®]. Тест Para Sight[®]. Определение HRP II.

В течение длительного времени малярия не является больше эндемичной во французской метрополии и это заболевание только персистирует в некоторых заморских департаментах и территориях (Французская Гвиана, Мартиника и, может быть, Гваделупа) [1]. Тем не менее, во Франции ежегодно наблюдают более 5000 случаев импортированной (завозной) малярии у туристов или у иммигрантов, зараженных в заморских территориях [2]. Диагностика малярии в большинстве случаев является срочной и жизненно важной. Малярия, вызванная *Plasmodium falciparum*, может быть смертельной, в частности у субъектов, не предохранявшихся от укусов (каковыми является большинство туристов), или в случаях поздней диагностики и лечения заболевания.

В течение многих десятилетий, в частности после открытия *Plasmodium Laveran* (Laveran) в 1880 году, биологическая диагностика малярии основывается на микроскопическом исследовании тонкого мазка или толстой капли, предварительно окрашенных по методу May Grunwald Giemsa (MGG). Эта диагностика чисто морфологическая и она относительно легко выполнима у больных с высокой паразитемией и, напротив, она трудна в случаях низкой паразитемии, особенно если возбудитель представлен атипичными формами, что затрудняет точную идентификацию вида плазмодия (это более важно с прогностической, нежели с терапевтической точки зрения). Кроме того, чтобы утверждать, что результат микроскопического исследования отрицательный, необходимо провести изучение препарата в течение довольно длительного времени (30 мин. на исследование тонкого мазка, в соответствии с рекомендациями

ВОЗ). Речь идет о требовании, которое на практике нередко нарушается.

Эти трудности и эти противоречия, характерные для традиционных методов, особенно значимы, в частности для неспециализированных лаборантов, которых оказывается большинство во французской метрополии. Однако, в течение последних лет предложены новые методы диагностики малярии. Речь идет о технике концентрации образца с последующим его окрашиванием флуорохромом и флуоресцентной микроскопией (Quantitative Buffy Coat или тест QBC[®]), об обнаружении растворимых плазмодийных антигенов (насыщенный гистидином протеин II – Histidine Rich Proteine II или HRP II) или одного из плазмодийных ферментов (паразитарной лактат дегидрогеназы – Lactate Deshydrogenase Parasitaire или pLDH).

Основываясь на опыте многих лет [3-5] сравнительного изучения этих трех методов (тонкий мазок, тест QBC[®], определения HRP II ParaSight[®]-тестом), мы представляем их в данной работе с практической точки зрения. Зато, мы исключили из этого исследования существующие серологические методы, методы молекулярной биологии и изучение pLDH. Серологическая диагностика малярии, являясь одним из наиболее современных иммунофлуоресцентных методов исследований, применяемых для предупреждения посттрансфузионной малярии [6,7] или для эпидемиологических целей [8], не представляет интереса для клинической практики, вследствие того, что антиплазмодийные антитела длительно персистируют в организме. Методы молекулярной биологии могут быть ценны для посттерапевтического кон-

троля (дифференциальной диагностики рецидива заболевания и нового заражения) [9] или в будущем для предупреждения посттрансфузионной малярии [10], но их применение для диагностики малярии еще ограничено [11-13]. Наконец, мы не будем рассматривать полученные результаты по обнаружению изоформ pLDH. Этот тест уже применяется во многих странах для диагностики малярии, вызванной *Plasmodium falciparum* [14,15] и вскоре будет использован для определения других трех видов плазмодиев, паразитирующих в организме человека, но он еще официально не утвержден во Франции.

Обсуждаемые методы (табл.1)

Микроскопическое исследование тонких мазков или толстой капли, фиксированных и окрашенных по методу Giemsa (MGG)

Речь идет об утвержденной методике. Существуют различные точки зрения на наиболее предпочтительный момент исследования (перед приступом – в период апирексии или во время приступа – на высоте гипертермии). Несколько капель крови, получают после укола скарификатором дистальной фаланги пальца, мочки уха или пятки (у маленьких детей). Для тонкого мазка капли крови равномерно распределяют на тщательно обезжиренном и отмытом стекле, неоднократно подсушивают, фиксируют абсолютным метанолом и окрашивают раствором Giemsa (MGG). Время подготовки препарата составляет от 30 до 40 мин. Качество выполнения мазка и его окрашивания являются основными характеристиками, позволяющими получить достоверные результаты мик-

роскопии. В случае плохого выполнения мазка (неодноклеточного слоя) он оказывается “нечитаемым”. Плохо окрашенный мазок (слишком светлый, слишком темный, с потеками краски) может быть причиной ошибочных результатов. Микроскопическое исследование проводят с иммерсией, объектив 100 (увеличение $\times 700$ до $\times 1000$) изучением от 50 до 100 полей зрения, для чего требуется около 10 мин [16] (30 мин. для того, чтобы дать отрицательное заключение), микрофотографирование позволяет выявить паразитию при содержании плазмодиев около 150 *plasmodium*/ μ l [17]. Этот порог, естественно, зависит от числа исследуемых полей зрения и от персонального опыта лаборанта. Паразитию обычно выражают в процентах числа инвазированных эритроцитов на 50 или 100 клеток. Исследование тонкого мазка позволяет, и это главное, на основании имеющихся морфологических критериев, идентифицировать вид или виды плазмодия (плазмодиев), ответственных за возникновение заболевания.

Это исследование является наиболее широко используемым для диагностики малярии. Среди всех объявленных случаев малярии, по данным Национального центра регистрации завозных болезней – Centre National de Référence pour les Maladies d'Importation (CNRMI), в более 95% случаев заболевание было диагностировано методом тонкого мазка, изолированным (50%) или в сочетании с методом толстой капли (34,4%), или в комплексе с тестом QBC[®] (11,3%).

Метод толстой капли (толстого мазка), на сегодняшний день, остается рекомендованным ВОЗ. Он позволяет “концентрировать” плазмодиев в

Таблица 1.

Характеристика технических особенностей и возможностей используемых в практике методов диагностики малярии

	Толстая капля	Тонкий мазок	QBC [®] -малярия	Определение растворимых антигенов	
				ParaSight [®]	ICT- малярия Pf [®]
Время выполнения	2-2,5 часа	20-30 мин.			
Время прочтения	Длительно	Длительно	Быстро	Мгновенно	Мгновенно
Легкость прочтения	Трудно	Иногда трудно	Довольно легко	Очень легко	Очень легко
Видовая диагностика	Да	Да	Нет	Только <i>Plasmodium falciparum</i>	Только <i>Plasmodium falciparum</i>
Определение степени паразитемии	Да	Да	Нет	Нет	Нет
Необходимое оборудование	Предметное стекло, оптический микроскоп	Предметное стекло, оптический микроскоп	Флуоресцентный микроскоп и специальный объектив (иммерсия $\times 50$)	Нет	Нет
Утверждение A.F.S.S.A.P.S.	/	/	Да (Becton Dickinson)	Да (Becton Dickinson)	Да (Fumouze)
Себестоимость	невысокая	невысокая	Высокая: набор для 100 определений 3165,75 FTTC	Высокая: набор для 50 определений 2250,80 FTTC	Высокая: набор для 25 определений 1447,20 FTTC

исследуемом образце. “Чтение” препарата обычно более быстрое и чувствительность исследования более высокая (10-20 plasmodium/ μ l). Для выполнения исследования большую каплю крови помещают на стекло, затем дефибринируют спиральными движениями уголка другого стекла или конца пипетки. Кровь распределяется по поверхности площадью около 1,5 см², тщательно высушивается при комнатной температуре (для чего требуется около двух часов) или в микроволновой печи (2-3 мин.) [18]. Эритроциты лизируются дистиллированной водой или раствором сапонинов [19], а паразиты окрашиваются разведенным раствором Giemsa (рН 7,2) в течение 20-40 мин. Наряду с этой классической техникой, описаны различные варианты с предварительным концентрированием паразитов центрифугированием или ультрацентрифугированием [20]. В противовес более быстрому прочтению и более высокой чувствительности [21], метод толстой капли имеет главное затруднение в более сложном прочтении результата и идентификации вида плазмодиев, вследствие того, что эритроциты-хозяева исчезают (паразиты оцениваются числом Plasmodium на 200 лейкоцитов). Эти трудности требуют от лаборанта определенного опыта и длительной практики, что является исключительно редким для большинства французских лабораторий.

Тест QBC® (Quantitative Buffy Coat)

Описанный в 1983 году [22], этот метод основывается на применении флуорохрома (акридина оранжевого), который окрашивает нуклеиновые кислоты, особенно кровяных паразитов, как это было показано с 1965 года [23]. Для анализа используется кровь в объеме от 40 до 60 μ l, которая набирается в капиллярный цилиндр, предварительно импрегнированный оксалатом натрия, гепарином, ЭДТА и акридином оранжевым. В капилляр перед центрифугированием помещается полистереновый поплавок, занимающий до 90% внутреннего диаметра цилиндра. Центрифугирование проводят в центрифуге для микрогематокрита в течение 5 мин при 5000 g, оно позволяет дифференцированно разделять элементы крови, собирать инвазированные эритроциты близко к лейкоцитарному слою и распределять их монослоем вокруг поплавка (гаметоциты или шизонты Plasmodium ovale, или Plasmodium vivax могут быть обнаружены в лейкоцитарном слое, или в полосе, разделяющей плазму и кровяные пластинки). Капиллярный цилиндр помещается в специальный штатив флуоресцентного микроскопа (ультрафиолетовая эмиссия до 350 нм, увеличение \times 500 с иммерсией). Содержимое цилиндра изучается по всей длине в процессе трех последовательных оборотов. Ядро плазмодиев сильно флуоресцирует и окрашивается в зеленый цвет, тогда как цитоплазма бледно желтая, более или менее различимая. Подготовка исследования занимает 7-10 мин и для прочтения результата необходимо 5 мин. При проведении теста возможны ошибоч-

ные результаты, обусловленные недостаточным персональным опытом исполнителя и связанные с ошибками в различении между Plasmodium и непаразитарными элементами (скопления тромбоцитов, лейкоцитарные инфильтраты...). Порог чувствительности метода оценен неодинаково разными авторами: 2 Plasmodium/5 μ l [24], 4 Plasmodium/ μ l [25] или 130 Plasmodium/ μ l [26]. Являясь высоко чувствительным тест QBC®, не позволяет оценивать паразитемию и определять вид причинного плазмодия (исключая редкие случаи присутствия гаметоцитов Plasmodium falciparum, легко идентифицируемых по очень характерной форме). Невозможность определения вида плазмодия является основным ограничением метода, особенно значимым в прогностическом плане, в связи с тем, что только Plasmodium falciparum может вызывать тяжелые осложнения (церебральная малярия) со смертельным исходом, а также в терапевтическом плане, в связи с высоким риском развития резистентности к различным противомалярийным средствам.

Определение растворимых антигенов

С 1992 года Всемирной организацией здравоохранения определены приоритетными исследования по разработке простых и относительно недорогих методов быстрой диагностики и раннего лечения малярии для учреждений первичной медицинской помощи, расположенных в эндемичных районах [27]. Новые методы диагностики были созданы [28] и некоторые из них, в частности определяющие HRP II, специфичный для Plasmodium falciparum, уже имеют коммерческое распространение во Франции: ParaSight® (Becton Dickinson Microbiology Systems, Meylan, France) и ICT Malaria Pf® (ICT Diagnostics, Sydney, Australia, распространяемый лабораториями FUMOUZE, Levallois-Perret, France). Другой тест (Optimal®, Flow Inc., Portland, Oregon, USA), основанный на определении изоформ паразитарной LDH – и, следовательно, позволяющий специфично определить четыре вида плазмодиев, паразитирующих у человека [29-30], – коммерциализован в некоторых странах, но еще не утвержден во Франции.

Определение HRP II (ParaSight®, ICT Malaria Pf®)

Histidine Rich Protein II или HRP II – это плазмодийный гликопротеиновый антиген. Он выделяется на поверхность эритроцитов, инвазированных Plasmodium falciparum. HRP II секретируется в течение внутриэритроцитарного цикла с пиком концентрации в момент разрыва эритроцитов (шизонтов). Только бесполое формы Plasmodium falciparum выделяют этот гликопротеин [31]. Методы, позволяющие обнаруживать HRP II, основаны на принципе иммунохроматографии. Тест ParaSight® представляет собой нитроцеллюлозную полоску, на которой фиксированы моноклональные антитела класса IgG, направленные против синтетического пептида АНН – деривата HRP II. Эти тест-полоски могут храниться при комнатной

температуре. Тест прост в выполнении, проводится в течение 5-10 мин., для него используется цельная капиллярная или венозная кровь. Положительная реакция устанавливается по появлению полос преципитации более или менее интенсивно окрашенных в ярко-розовый цвет. Каждая тест-полоска имеет контрольную полосу с положительной реакцией. Тест ICT Malaria Pf[®] представляет собой пластину с тест-полоской импрегнированной моноклональными антителами класса IgM (может храниться при температуре до +4°C). Используется цельная кровь, выполнение теста еще более быстрое (3-5 мин.) и еще более простое, чем ParaSight[®].

Эти тесты стали предметом многочисленных публикаций, представляющих различные результаты исследований чувствительности и специфичности обсуждаемых методов, примененных у больных малярией (жителей эндемичных регионов и путешественников), одновременно с утвержденными методами диагностики (толстая капля, тонкий мазок и/или полимеразная цепная реакция – ПЦР) [32-38]. Эти данные касаются, прежде всего теста ParaSight[®], который получил коммерческое распространение во Франции раньше, чем ICT Malaria Pf[®]. Ретроспективный анализ результатов, опубликованный в 1996 ВОЗ [39], оценивает чувствительность ParaSight[®] как максимальную – до 96%, при наибольшем уровне паразитемии, определенной методами толстой капли или тонкого мазка, до 100 Plasmodium falciparum [Pf]µl. Чувствительность достигала 81,3% при уровне паразитемии между 10 и 100 Pf/µl и была ниже 74,6% при паразитемии меньше 10 Pf/µl. Это комплексное исследование определило общую чувствительность метода до 87% (с порогом определения при паразитемии от 40 до 60 Pf/µl). Отмечено, что тесты ParaSight[®] и ICT Malaria Pf[®] могут оставаться положительными в течение многих дней после проведенного антималярийного лечения, тогда когда паразиты уже элиминированы из крови и классические методы (толстая капля и тонкий мазок) дают отрицательные результаты. Определяемая тестом ParaSight[®] антигенемия может быть относительно длительной, в большинстве случаев до 3 дней после исчезновения паразитемии, но может обнаруживаться и до 28 дня [33]. Некоторые ложноположительные результаты теста ParaSight[®] возможны при наличии в крови ревматоидного фактора IgM анти-IgG [40], потому что иммуноглобулины фиксированные на тест полоске являются IgG. Риск получения ошибочных результатов отличался в зависимости от конкретных условий [37,40]. Он составлял, по нашим данным, от 3 до 5% и отсутствовал для теста ICT Malaria Pf[®], так как в нем использованы IgM [37]. Ложноположительные результаты наблюдались при воспалительном синдроме, флебитах или вирусных гепатитах. В то же время, эти тесты могут быть и ложноотрицательными [33, 35], даже при малярии вызванной Plasmodium falciparum. Это всегда были случаи, когда взятие

пробы производилось на стадии гаметоцита Plasmodium falciparum (HRP II секретируется только на бесполом стадиях развития паразита) или тогда, когда заболевание было вызвано другими видами плазмодиев (не Plasmodium falciparum), которые этими тестами не определяются.

Комментарий

Начиная с 1993 года, мы систематически осуществляем диагностику малярии, используя ассоциированно (совместно) два метода – тест QBC[®], как способ быстрого обнаружения возбудителя, а также тонкий мазок для подтверждения и определения вида плазмодия и степени паразитемии. В течение более трех лет мы дополняем эти два метода систематическим определением плазмодийного HRP II тестом ParaSight[®]. Следовательно, по прошествии нескольких лет, после проведения многих сотен исследований, мы приобрели сегоднешний опыт комплексной диагностики этого заболевания.

В целом, значимость различных методов диагностики малярии может быть оценена только по отношению к методу тонкого мазка, как официально утвержденному. Как и все другие, этот метод, разумеется, имеет свои пределы, свои ловушки, свои причины ошибок, из которых важнейшими являются те, которые связаны с недостаточным персональным опытом исполнителя, “читающего” препараты. Определенными ограничениями обладает, разумеется, и тест QBC[®], хотя понятно, что риск ошибок (ложноотрицательных результатов), даже в руках малоопытного исполнителя, значительно меньший. Более вероятно возможность получения ложноположительных результатов, которых следует опасаться. С этой точки зрения, тест QBC[®] является хорошим средством диагностики элиминации возбудителя, а его значение в качестве первоочередного средства обнаружения плазмодиев достоверно подтверждено. Для выполнения теста QBC[®] необходимо оборудование (ультрафиолетовый микроскоп, центрифуга), требующее существенных затрат, часто недоступных для неспециализированных лабораторий. По нашим данным, тест QBC[®] обладает достоверностью метода тонкого мазка, с чувствительностью до 95% (с порогом обнаружения порядка от 80 до 100 Pf/µl) и специфичностью около 98%. Быстро и легко выполнимый, этот тест является первоочередным в биологической диагностике малярии. Его результаты должны быть обязательно подтверждены и дополнены (диагностика вида плазмодия) с помощью исследования тонкого мазка.

Подверженный большому числу ошибочных результатов вследствие недостаточной или избыточной диагностики, метод определения плазмодийного HRP II тестом ParaSight[®] не должен ни в коем случае использоваться как единственное средство диагностики малярии. Он дополняет обычно используемые в лаборатории методы (тест QBC[®] и тонкий мазок), не улучшая существенно эффективность диагностики. Эти соображения за-

ставили нас на какое-то время отказаться от систематического применения теста ParaSight®. После 1997 года, мы вновь ввели тест ParaSight® в повседневную практику, в связи со многими случаями, доказавшими его дополнительные возможности в комплексе с тестом QBC® и тонким мазком.

Клинические примеры

Наблюдение 1.

Госпожа Г., 28 лет, уроженка Берега Слоновой Кости, жаловалась на головные боли и лихорадку до 39°C, возникшие по возвращении во Францию после месячного пребывания в родной стране. Самостоятельно принимала мефлокин (Lariam®) в лечебных дозах. Появление головокружения, рвоты, выраженной слабости на фоне нормальной температуры и выраженной дегидратации заставило больную обратиться в отделение неотложной помощи Госпитально-университетского центра Гренобля. Тонкий мазок и тест QBC® дали отрицательные результаты, тогда как тест ParaSight® был положительным, что свидетельствовало в пользу малярии, вызванной Plasmodium falciparum, недавно леченной и излеченной. Это было подтверждено в ходе последующего наблюдения и улучшением состояния больной после проведения регидратации.

Наблюдение 2.

Госпожа М, 23 лет, габонка, прибыла во Францию около месяца назад. У нее обнаруживались признаки инфекции мочевыводящих путей и симптомы, указывающие на начинающийся приступ болотной лихорадки.

Тест QBC® был положительным, тогда как при длительном изучении тонкого мазка обнаружено только два трофозоида Plasmodium falciparum, которые было трудно идентифицировать. Диагноз малярии был установлен и проведено лечение мефлокином (Lariam®), в то время как тест ParaSight® был отрицательным. Через два дня тестом ParaSight® была выявлена антигемия, при этом результаты исследования тонкого мазка и теста QBC® стали отрицательными, что подтверждает динамику результатов, присущих этим трем методам.

Наблюдение 3.

Господин Х., центроафриканец, прибыл во Францию после пребывания в родной стране, предъявлял жалобы на повышение температуры до 40,5°C с признаками, сопровождающими возникновение малярии. Исследование тонкого мазка дало отрицательный результат, тест QBC® выявил только лишь очень редкие элементы, вероятно, плазмодийные, но их идентификация была невоз-

можна. Таким образом, диагноз малярии был высоко вероятен, но без определения вида причинного плазмодия. Определенность внес резко положительный результат теста ParaSight®, без сомнения подтвердивший наличие Plasmodium falciparum, что позволило немедленно начать лечение мефлокином (Lariam®).

Заключение

Особенно велико искушение для неспециализированных исследователей заменить микроскопическую идентификацию вида Plasmodium другими тестами, не требующими большого персонального навыка. Наш опыт, основанный на сравнительной оценке различных лабораторных методов диагностики малярии, подтверждает риск ошибочных заключений (ложноположительных и ложноотрицательных), и мог бы повлечь за собой исключительное использование тестов, обнаруживающих антигемию. Напротив, эти тесты необходимо рассматривать только как дополнительные по отношению к другим методам диагностики. Основными способами диагностики неоспоримо являются тест QBC® и метод тонкого мазка. Первый метод позволяет быстро обнаруживать инвазию, но его результаты должны быть обязательно подтверждены и уточнены (определение вида Plasmodium) исследованием тонкого мазка. Определение HRP II (ParaSight®) может полезно дополнить два основных метода, в частности, идентифицировать Plasmodium falciparum, а также осуществить диагностику *a posteriori* синдрома, расцененного как малярия и пролеченного без какого-либо биологического подтверждения диагноза. Практически, эта вторая потребность в применении теста ParaSight® оказывается гораздо более значимой, чем это представляется. У больного, возвратившегося после пребывания в эндемичной зоне, очень часто любой приступ лихорадки расценивают как малярию и начинают лечение без определенно установленного диагноза. Через 48 часов неудача с лечением заставляет выдвинуть гипотезу о резистентности к антималярийным препаратам. Зачастую, только спустя много дней иная причина, чем болотная лихорадка, проявляет себя, но уже со всеми последствиями, которые может повлечь за собой столь запоздалая диагностика. Это именно тот вариант ошибки, которого помогает избежать "тест на полоске" (ParaSight®), если его применить через 2-3 дня после лечения. В целом, обнаружение HRP II, следовательно, дополняет другие методы исследования, но не является, как бы ни привлекала простота его выполнения, методом первого порядка диагностики болотной лихорадки.

LE DIAGNOSTIC DU PALUDISME DANS LES REGIONS NON ENDEMIQUES. VALEUR, LIMITES ET COMPLEMENTARITE DES METHODES ACTUELLES

Marie Pierre Brenier-Pinchart, Claudine Pinel, Renée Grillot, Pierre Ambroise-Thomas

(Département de Parasitologie-Mycologie Médicale et Moléculaire. Centre Hospitalier Universitaire. B.P. 217. 38043 Grenoble Cédex 9. France Tirés-à-part: Dr. Marie-Pierre BRENIER-PINCHART, adresse ci-dessus. Tél. 04 76 76 54 90. Fax 04 76 76 56 60)

Résumé. Le diagnostic biologique de paludisme est une urgence médicale d'importance vitale, et on observe chaque année en France plus de 5000 cas de paludismes importés. L'examen d'étalements minces de sang fixé et coloré demeure la technique de référence, mais elle exige une expérience personnelle dont ne disposent pas tous les biologistes praticiens. La tentation est donc de la remplacer par d'autres méthodes plus simples (QBC[®] test) ou qui n'exigent pas de compétences particulières (tests à la bandelette de détection d'antigènes plasmodiaux ParaSight[®] et ICT Malaria Pf[®]) mais qui sont exposées à plusieurs causes d'erreur. Ces différents tests doivent donc être considérés comme complémentaires et si possible simultanément mis en oeuvre, la meilleure séquence étant: test QBC[®] - étalement mince - détection d'antigènes plasmodiaux (tests ParaSight[®] ou ICT Malaria Pf[®])

Depuis longtemps, le paludisme n'est plus endémique en France Métropolitaine et il ne persiste que dans certains D.O.M.-T.O.M. (Guyane Française, Mayotte et peut-être Guadeloupe) [1]. Cependant, plus de 5000 cas de paludismes importés sont annuellement observés dans notre pays, chez des touristes ou chez des immigrants contaminés outremer [2]. Ce diagnostic est généralement très urgent et d'importance vitale. Le paludisme à *Plasmodium falciparum* peut en effet, être mortel, en particulier chez des sujets non prémunis (ce qui est évidemment le cas de la plupart des touristes) ou lorsque le diagnostic et le traitement sont tardifs.

Pendant de nombreuses décennies (en fait, depuis la découverte des *Plasmodium* par LAVERAN en 1880), le diagnostic biologique de paludisme reposait sur l'examen microscopique d'étalements minces ou de gouttes épaisses préalablement colorés par la méthode de May Grunwald Giemsa (MGG). Ce diagnostic purement morphologique est facile chez les sujets très parasités. Il est au contraire difficile en cas de faibles parasitémies, surtout si ne sont présentes que des formes atypiques compliquant l'identification précise de l'espèce plasmodiale en cause (ce qui est essentiel d'un point de vue aussi bien pronostique que thérapeutique). En outre, pour affirmer que l'examen au microscope est négatif, il est indispensable de poursuivre la lecture des lames pendant un temps suffisant (30 min. pour un étalement mince, d'après les normes de l'OMS). Il s'agit d'une contrainte qui est, en pratique, rarement respectée.

Ces difficultés ou ces contraintes sont particulièrement importantes pour des biologistes non spécialisés, ce qui est généralement le cas en France métropolitaine. Or, depuis quelques années, sont proposées de nouvelles méthodes. Il s'agit de techniques de concentration suivies de coloration par un fluoro-chrome et observation en microscopie à fluorescen-

ce (Quantitative Buffy Coat ou QBC[®]) ou encore de la recherche d'antigènes plasmodiaux solubles (Histidine Rich Protein II ou HRP II) ou d'une enzyme plasmodiale (Lactate Deshydrogénase Parasitaire ou pLDH).

En nous basant sur une expérience de plusieurs années [3-5], c'est à l'évaluation comparée de trois de ces méthodes (étalement mince, QBC[®], détection de HRP II par le test ParaSight[®]) que nous nous attacherons ici, d'un point de vue très pratique. En revanche, nous excluons de cette étude la sérologie, la biologie moléculaire et la recherche de la pLDH. En effet, si la sérologie du paludisme est la seule technique actuellement applicable à la prévention du paludisme post-transfusionnel [6,7] ou à certaines études épidémiologiques [8], notamment par immunofluorescence, elle ne présente pas d'intérêt diagnostique en raison de la très longue persistance des anticorps anti-*Plasmodium*. La biologie moléculaire peut être précieuse pour des contrôles post-thérapeutiques (distinction entre éventuelles rechutes et néo-contaminations) [9], ou bien, dans l'avenir, pour la prévention du paludisme post-transfusionnel [10], mais ses applications diagnostiques pour le paludisme sont encore limitées [11-13]. Enfin, nous n'envisagerons pas les résultats obtenus par détection des isoformes de la pLDH. Ce test, déjà disponible dans plusieurs pays étrangers pour le diagnostic de *Plasmodium falciparum* [14,15] et bientôt pour celui des 3 autres espèces plasmodiales parasites de l'homme, n'est en effet pas encore enregistré en France.

Méthodes disponibles (Tableau 1)

Examens au microscope d'étalements minces ou de gouttes épaisses fixés et colorés (GIEMSA)

Il s'agit des techniques de référence. Le prélèvement est constitué de quelques gouttes de sang re-

Tableau 1.

Caractéristiques des principales techniques utilisables en pratique pour le diagnostic biologique du paludisme

	Goutte épaisse	Frottis mince	QBC® malaria	Détection d'antigènes solubles	
				ParaSight®	ICT Malaria Pf®
Temps de réalisation	2 h-2 h 30	20-30 min.	10 min.	5-10 min.	< 5 min
Temps de lecture	Long	Long	rapide	instantanée	instantanée
Facilité de lecture	Difficile	Parfois difficile	assez facile	très facile	très facile
Diagnostic d'espèce	oui	oui	non	P. falciparum seulement	P. falciparum seulement
Calcul de la parasitémie	oui	oui	non	non	non
Équipement particulier	Lames et microscope optique	Lames et microscope optique	Microscope à fluorescence et objectif spécial (×50 immersion)	non	non
Enregistrement A.F.S.S.A.P.S.	/	/	oui (Becton Dickinson)	oui (Becton Dickinson)	oui (Fumouze)
Coût	faible	faible	élevé Trousse de 100: 3 165,75 FTTC	élevé Trousse de 50: 2 250,80 FTTC	élevé Trousse de 25: 1 447,20 FTTC

cueillies par piqûre au vaccinostyle au doigt, au lobe de l'oreille ou, chez les jeunes enfants, au talon. Les avis diffèrent sur le moment le plus favorable à ce prélèvement (avant la survenue de l'accès, ou, au contraire, au moment du pic thermique). Pour le frottis mince, une goutte de sang est étalée sur une lame porte objet soigneusement dégraissée. Une fois séché, cet étalement est fixé au méthanol absolu puis coloré par une solution de Giemsa. Le temps de réalisation est de 30 à 40 min. la qualité du frottis et celle de la coloration sont deux éléments essentiels pour permettre une lecture correcte au microscope. Un étalement de mauvaise qualité, non monocellulaire, est "illisible". Un étalement mal coloré (trop clair, trop foncé ou avec des dépôts de colorants) est difficile à "lire" et peut être à l'origine de résultats erronés. L'examen se fait à l'immersion avec un objectif 100 (grossissement ×700 à ×1000) par l'observation de 50 à 100 champs microscopiques, ce qui nécessite environ 10 min. [16] (30 minutes avant de pouvoir affirmer la négativité) et permet la détection d'une parasitémie-seuil d'environ 150 parasites/µl [17]. Ce seuil est évidemment fonction du nombre de champs examinés et surtout de l'expérience du microbiologiste (la parasitémie est normalement exprimée en pourcentage d'hématies parasitées). L'examen du frottis mince permet, et c'est essentiel, d'identifier la ou les espèce(s) plasmodiale(s) en cause, à partir de critères morphologiques précis.

Cette technique est de loin la plus utilisée. Pour l'ensemble des cas déclarés au Centre National de Référence pour les Maladies d'Importation (CNRMI), plus de 95% sont diagnostiqués par le frottis mince, seul (50%) ou associé à la goutte épaisse (34,4%) ou au QBC® (11,3%).

La goutte épaisse reste la technique de référence pour l'OMS. Elle permet une "concentration" des *Plasmodium* éventuellement présents dans l'échantillon examiné, si bien que la lecture en est normalement plus rapide et la sensibilité plus élevée (10 à 20

Plasmodium/µl). Pour sa réalisation, une grosse goutte de sang est déposée sur lame puis défibrinée par un mouvement en spirale à l'aide du coin d'une autre lame ou d'une pipette. Le sang ainsi étalé sur une surface d'environ 1,5 cm² doit être séché complètement à température ambiante (ce qui peut nécessiter environ 2 heures) ou dans un four à micro-ondes (en 2 à 3 minutes) [18]. Les hématies sont alors lysées par l'eau distillée ou par une solution de saponine [19] et les parasites sont colorés au Giemsa en solution aqueuse (eau tamponnée à pH 7,2) pendant 20 à 40 min. A partir de cette technique classique, diverses variantes ont été décrites avec, notamment, la concentration préalable en parasites par centrifugation ou cytocentrifugation [20]. En contrepartie d'une lecture plus rapide et d'une sensibilité plus élevée [21], la goutte épaisse présente l'inconvénient d'une lecture plus difficile, puisqu'il convient de repérer et d'identifier des *Plasmodium* dont les hématies-hôtes ont disparu (la parasitémie est déterminée par le nombre de *Plasmodium* pour 200 leucocytes). Ceci nécessite une certaine expérience et une longue pratique, ce qui est exceptionnellement le cas dans la plupart des laboratoires français.

Test QBC® (Quantitative Buffy Coat)

Décrite en 1983 [22], cette technique utilise une coloration par un fluorochrome, l'acridine orange, qui colore les acides nucléiques, notamment des parasites sanguicoles, comme cela a été montré dès 1965 [23]. L'examen porte sur un volume de sang de 40 à 60 µl recueillis dans un tube capillaire pré-imprégné d'oxalate de potassium, d'héparine, d'EDTA et d'acridine orange. Un flotteur en polystyrène occupant environ 90% du diamètre intérieur du tube est inséré dans le capillaire avant une centrifugation (5 min. à 5.000 g. dans une centrifugeuse à microhématocrites) qui permet la séparation différentielle des éléments figurés du sang, rassemble les hématies parasitées au

voisinage de la couche leucocytaire et les répartit en monocouche autour du flotteur (les gamétocytes ou les schizontes de *P. ovale* ou de *P. vivax* peuvent être retrouvés dans la couche leucocytaire ou dans la frange séparant plasma et plaquettes sanguines). Le tube capillaire est alors disposé sur un support spécial et directement examiné au microscope à fluorescence (émission UV à 350 nm à un grossissement $\times 500$ et à l'immersion). Le contenu du capillaire est examiné sur toute sa longueur, au cours de 3 rotations successives. Le noyau des *Plasmodium*, fortement fluorescent, est coloré en vert tandis que le cytoplasme, jaune pâle, est plus ou moins visible. 7 à 10 min. de préparation et 5 min. de lecture sont nécessaires à ce test dont l'apprentissage est en règle rapide et facile. Cependant, diverses erreurs sont possibles, en particulier par excès, avec la confusion, par des personnes peu entraînées, entre *Plasmodium* et éléments non parasitaires (plaquettes, granulations leucocytaires...). Le seuil de sensibilité est apprécié de façon variable selon les auteurs: 2 *Plasmodium*/5 μ l [24], 4 *Plasmodium*/ μ l [25], ou 130 *Plasmodium*/ μ l [26]. S'il est sensible, le test QBC[®] ne permet pas de déterminer la parasitémie ni l'espèce plasmodiale en cause (en dehors des rares cas où, par chance, sont présents des gamétocytes de *Plasmodium falciparum*, facilement identifiables par leur forme très particulière). L'impossibilité d'un diagnostic d'espèce est un important inconvénient puisque, sur le plan pronostique, seul *Plasmodium falciparum* peut entraîner des complications graves voire mortelles (neuropaludisme) avec, sur un plan thérapeutique un risque élevé de résistances à différents antipaludiques.

Détection d'antigènes solubles

C'est en 1992 que l'OMS a déclaré prioritaire la recherche et la mise au point de techniques diagnostiques rapides, simples et peu coûteuses permettant un diagnostic et un traitement précoce du paludisme, notamment dans des dispensaires de soins primaires en zones d'endémie [27]. De nouvelles méthodes diagnostiques ont donc été développées [28] et certaines de ces techniques détectant la HRP II, spécifique de *Plasmodium falciparum* sont déjà commercialisées en France: ParaSight[®] (Becton Dickinson Microbiology Systems, Meylan, France) et ICT Malaria Pf[®] (ICT Diagnostics, Sydney, Australie, distribué par les Laboratoires FUMOUZE, Levallois-Perret, France). Un autre test (Optimal[®], Flow Inc., Portland, Oregon, USA) basé sur la mise en évidence des isoformes des LDH plasmodiales – et par conséquent susceptible de détecter les quatre espèces de *Plasmodium* parasites de l'homme [29-30] – est commercialisé dans certains pays étrangers. Il n'est pas encore enregistré en France.

Détection d'HRP II (ParaSight[®], ICT Malaria Pf[®])

La Histidine Rich Protein II ou HRP II est un antigène plasmodial glycoprotéique. Il est exprimé à la surface des hématies parasitées par *Plasmodium falciparum* et il est sécrété durant le cycle intra-érythrocytaire avec un pic lors de la rupture des schizontes. Seules les formes asexuées de *P. falcipa-*

rum expriment cette glycoprotéine [31]. Les tests permettant la détection de la HRP II reposent sur le principe d'immunochromatographie. Le ParaSight[®] se présente sous la forme d'une bandelette de nitrocellulose sur laquelle est fixé un anticorps monoclonal IgG dirigé contre un peptide synthétique, l'AHH, dérivé de la HRP II. Ces bandelettes peuvent être conservées à la température ambiante. Le test est de réalisation facile, en 5 à 10 min., à partir de sang total prélevé par ponction capillaire ou par ponction veineuse. La positivité est affirmée par l'apparition d'une bande plus ou moins intense de précipité coloré en rose vif, chaque bandelette portant par ailleurs un témoin-contrôle positif. L'ICT Malaria P.f.[®] se présente sous la forme d'une carte support de bandelettes-test imprégnées d'un anticorps monoclonal IgM (qui doivent être conservées à +4°C). Effectué à partir de sang total, il est un peu plus rapide (3 à 5 min.) et encore plus simple que le ParaSight[®].

Ces tests ont fait l'objet de nombreuses publications, rapportant des sensibilités et des spécificités différentes, compte-tenu des patients étudiés (habitants de zones d'endémie ou voyageurs) et des techniques de référence utilisées (goutte épaisse, frottis mince et/ou PCR) [32-38]. Ceci est particulièrement vrai pour le ParaSight[®] qui a été commercialisé en France avant l'ICT Malaria P.f.[®] Une méta-analyse des résultats, publiée en 1996 par l'OMS [39], estimait la sensibilité du ParaSight[®] supérieure à 96% lorsque la parasitémie [évaluée sur goutte épaisse ou étalement mince] est supérieure à 100 *Plasmodium falciparum* (Pf/ μ l). Elle est de 81,3% pour une parasitémie comprise entre 10 et 100 Pf/ μ l et inférieure à 74,6% pour une parasitémie inférieure à 10 Pf/ μ l. Cette étude de synthèse dégage une sensibilité globale de 87% [avec un seuil de détection de l'ordre de 40 à 60 Pf/ μ l]. D'une façon générale, les deux tests ParaSight[®] et ICT Malaria P.f.[®] peuvent demeurer positifs plusieurs jours après un traitement antipaludique alors que tous les parasites ont été éliminés du sang et que les techniques classiques [étalement mince ou goutte épaisse] sont négatives. Avec le ParaSight[®], la persistance de cette antigénémie peut être relativement longue, dans l'ensemble supérieure à 3 jours après la disparition de la parasitémie mais peut atteindre jusqu'à 28 jours [33]. Certains faux positifs du ParaSight[®] peuvent être expliqués par la présence de facteurs rhumatoïdes IgM anti-IgG [40], puisque l'immunoglobuline monoclonale fixée sur la bandelette est une IgG. Ce risque d'erreur est très variable selon le contexte [37,40]. Il est de 3 à 5% d'après notre expérience et n'existerait pas avec l'ICT Malaria P.f.[®] puisque le monoclonal utilisé est une IgM [37]. Des faux positifs ont été également observés dans le cas de syndromes inflammatoires, de phlébites ou d'hépatites virales. Par ailleurs, ce test peut être faussement négatif [33,35], même pour les paludismes à *P. falciparum*. C'est toujours le cas lorsque le prélèvement contient uniquement des gamétocytes de *P. falciparum* (la HRP II est uniquement sécrétée par les stades asexués du parasite) ou bien lorsque l'infection est due à des espèces

plasmodiales autres que *P. falciparum* que ces tests ne permettent donc pas de dépister.

Commentaires

Depuis 1993, nous réalisons systématiquement le diagnostic de paludisme en associant deux techniques, le QBC[®] comme méthode de dépistage rapide et le frottis mince pour confirmation et détermination de l'espèce plasmodiale et de la parasitémie. Depuis plus de 3 ans, nous avons ajouté à ces deux méthodes une recherche systématique de la HRP II plasmodiale par ParaSight[®]. C'est donc avec un recul de plusieurs années, portant sur plusieurs centaines d'examenés que se fonde notre expérience actuelle.

Dans l'ensemble, la valeur des diverses méthodes ne peut être appréciée que par rapport à celle du frottis mince considéré comme technique de référence. Comme toutes les autres, cette technique a bien entendu elle aussi ses limites, ses pièges et ses causes d'erreur dont l'importance est d'autant plus grande que le biologiste qui "lit" les préparations n'est guère expérimenté. Les mêmes réserves s'imposent évidemment pour le test QBC[®], avec cependant la notion que, dans les mains de biologistes non spécialisés, le risque d'erreurs par défaut (faux négatifs) est faible et que c'est surtout la possibilité de faux positifs qui est à craindre. A cet égard, le test QBC[®] constitue donc un bon moyen de diagnostic d'élimination et son emploi comme test de dépistage, en première intention, est justifié, mais l'équipement qu'il nécessite (microscope UV, microcentrifugeuse) est un investissement important, souvent prohibitif pour les laboratoires non spécialisés. D'après nos observations, il dispose, *versus* l'étalement mince, d'une sensibilité de 95% (avec un seuil de détection de l'ordre de 80 à 100 Pf/μl) et d'une spécificité d'environ 98%. Rapide et facilement mis en oeuvre, ce test peut constituer, le premier temps très utile du diagnostic biologique du paludisme. Ses résultats doivent cependant être vérifiés et complétés (diagnostic d'espèce plasmodiale) par l'examen d'un frottis mince.

Exposée à plusieurs causes d'erreurs par excès ou par défaut, la recherche d'HRP II par le ParaSight[®] ne doit, en aucun cas être utilisée comme seul moyen de dépistage. Son addition aux méthodes normalement utilisées au laboratoire (QBC[®] et étalement mince) n'améliorerait pas nos performances diagnostiques, considérées dans leur ensemble, ce qui nous a fait un moment abandonner son usage systématique. Depuis 1997, nous l'avons réintroduit dans notre pratique quotidienne, à la suite de plusieurs cas montrant la complémentarité de cette méthode, du QBC[®] et de l'étalement mince.

Observation 1

Madame G..., 28 ans, ivoirienne, présente des céphalées et une fièvre à 39°C au retour d'un séjour d'un mois dans son pays d'origine. Elle s'automédique par la méfloquine (Lariam[®]) à doses curatives. L'apparition de vertiges, de vomissements et d'une importante asthénie, conduit cette malade devenue apyrétique mais très déshydratée, à consulter en urgence au CHU de Grenoble. Le frottis mince et le

test QBC[®] sont négatifs alors que le ParaSight[®] est positif, ce qui est bien en faveur d'un paludisme à *Plasmodium falciparum* récemment traité et guéri. C'est ce que confirment la suite de l'observation et l'évolution clinique ultérieure après réhydratation.

Observation 2

Madame M., 23 ans, gabonaise, est arrivée en France depuis environ 1 mois. Elle présente une infection urinaire associée à une symptomatologie évoquant un accès palustre. Le QBC[®] est positif ainsi que le frottis mince qui montre, après un long examen au microscope, seulement deux trophozoïtes de *P. falciparum* qui sont en outre difficiles à identifier. Le diagnostic est donc certain et un traitement par la méfloquine (Lariam[®]) est instauré, malgré un test ParaSight[®] négatif. Deux jours plus tard l'antigénémie (ParaSight[®]) se positive alors que frottis mince et QBC[®] se sont négativés, ce qui est bien conforme à la cinétique des résultats respectifs de ces trois tests.

Observation 3

Mr X., centrafricain, présente à son arrivée en France au retour d'un séjour dans son pays d'origine, une hyperthermie à 40,5°C avec des signes d'accompagnement évoquant un paludisme. Le frottis mince est négatif, le test QBC[®] ne montre au total que de très rares éléments probablement plasmodiaux, mais dont l'identification précise est impossible. Le diagnostic de paludisme est donc hautement probable mais sans qu'on puisse préciser l'espèce plasmodiale en cause. C'est cette précision qu'apporte le test ParaSight[®] dont la forte positivité traduit sans conteste un paludisme à *P. falciparum* et justifie la mise en oeuvre immédiate d'un traitement par la méfloquine (Lariam[®]).

Conclusion

Surtout pour des biologistes non spécialisés, la tentation est grande de substituer à l'identification microscopique des *Plasmodium*, d'autres méthodes ne nécessitant pas une pratique personnelle particulière. Notre expérience, basée sur l'évaluation comparative de ces différents tests, confirme les risques d'erreurs (faux positifs et faux négatifs) que peut entraîner l'emploi exclusif de méthodes détectant l'antigénémie. Au contraire, ces techniques doivent être considérées comme uniquement complémentaires des autres tests. La complémentarité la plus indiscutable concerne d'abord le QBC[®] et l'étalement mince, le premier test permettant un dépistage rapide mais qui doit être impérativement confirmé et précisé (diagnostic d'espèce plasmodiale) par la seconde méthode. La détection d'HRP II (ParaSight[®]) peut utilement compléter les deux tests précédents, en particulier pour identifier *Plasmodium falciparum* ou bien pour établir un diagnostic *a posteriori* d'un syndrome étiqueté "paludisme" et traité sans aucune confirmation biologique. En pratique, cette deuxième éventualité est malheureusement plus fréquente qu'on ne l'imagine. Chez un malade de retour d'un séjour en zones d'endémie, tout accès fébrile est trop souvent considéré comme probablement palustre et traité sans que le diagnostic soit formellement établi. Après 48 heures, l'échec du traitement fait alors évoquer l'hypothèse

d'une résistance aux antipaludiques. Ce n'est souvent qu'après plusieurs jours qu'une étiologie autre que palustre est finalement envisagée, avec toutes les conséquences que peut entraîner un tel retard diagnostique. C'est le type d'erreur que permet d'éviter le "test à

la bandelette" s'il est pratiqué dans les deux ou trois jours suivant le traitement. Au total, ce test est donc bien un complément des autres méthodes diagnostiques, et non pas, comme sa simplicité d'emploi le laisserait espérer, un test de dépistage de première intention.

Références

- Poinsignon Y, Arfi C, Sarfati C, Farge-Bancel D, Raccurt C. Accès palustre au retour d'un voyage aux Antilles Françaises. Discussion du mode de transmission. *Méd Trop*, 1999; 59, 55-57.
- Centre National de Référence pour les Maladies d'Importation, Institut Santé et Développement, Université Pierre et Marie Curie, Bulletin n°14, octobre 1998.
- Ambroise-Thomas P, Pinel C, Pelloux H, Picot S. Le diagnostic du paludisme: actualités et perspectives. *Cahiers Santé*, 1993; 3, 280-284.
- Pinel C, Faure O, Ambroise-Thomas P. Paludisme: complémentarité de deux méthodes de détection de *Plasmodium* en pratique hospitalière. *Ann Biol Clin*, 1993; 51, 129-132.
- Brenier-Pinchart MP, Pinel C, Croissonnier A, Brion JP, Faure O, Ponard D, Ambroise-Thomas P. Diagnosis of malaria in non endemic country: interest of Parasight in routine clinical laboratory. *Am J Trop Med Hyg*: soumis pour publication.
- Ambroise-Thomas P. Prévention of post-transfusion malaria. In *Blood Transfusion and Infectious Diseases*. Piccin Ed. Padoue, 1989, 261-274.
- Décret n°95-195 du 16 février 1995 relatif aux analyses biologiques et test de dépistage des maladies transmissibles effectués sur les prélèvements du sang et ses composants.
- Ambroise-Thomas P, Wernsdorfer W, Grab B, Bertagna P, Cullen J. Longitudinal sero epidemiological studies on malaria in Tunisia. *WHO Bul.*, 1976; 54, 355-367.
- Ciceron L, Jaureguiberry G, Gay F, Danis M. Development of a *Plasmodium* PCR for monitoring efficacy of antimalarial treatment. *J Clin Microbiol* 1999; 37, 35-38
- Hang VT, Be TV, Tran PN, Thanh LT, Hien LV, O'Brine E, Morris GE Screening donor blood for malaria by polymerase chain reaction. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1995; 89, 44-47.
- Tham JM, Lee SH, Tan TMC, Ting RY, Kara UAK. Detection and species determination of malaria parasites by PCR: comparaison with microscopy and with ParaSight-F and ICT Malaria PF test in a clinical environment. *J Clin Microbiol* 1999; 37, 1269-73.
- Postigo M, Mendoza-Leon A, Perez HA. Malaria diagnosis by the polymerase chain reaction: a field study in south-eastern Venezuela. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1998; 92, 509-511.
- Zhong HJY. Evaluation of a colorimetric PCR-based assay to diagnose *Plasmodium falciparum* malaria in travelers. *J Clin Microbiol* 1999; 37, 339-341.
- Piper R, Lebras J, Wentworth L, Hunt-Cooke A, Houze S, Chiodini P, Makler M. Immunocapture diagnostic assays for malaria using *Plasmodium* lactate dehydrogenase [pLDH]. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 60, 109-118.
- Piper RC, Vander Jagt DL, Holbrook JJ, Makler M. Malaria lactate dehydrogenase: target for diagnosis and drug development. *Am J Trop Med Hyg* 1996; 90, 433-437.
- Wery M. Diagnostic biologique du paludisme. In: Danis M, Mouchet J. *Paludisme*. Ellipses, Aupélf Ed. Paris, 1991, 111-127.
- Makler CJ, Palmier C, Ager AL. A review of practical techniques for the diagnosis of malaria. *Ann Trop Med Parasitol* 1998; 92, 203-206.
- Chevalier B, Cavallo JD, Baudet JM, Samson T, Gros P, Crenn Y, Meyran M. Diagnostic rapide du paludisme: le four à micro-onde. *Bull Soc Path Ex* 1992; 85, 223-225.
- Gleason RM. An improved method for thick film preparation using saponin as a lysing agent. *Clin Lab Haem* 1997; 19, 249-251.
- Petithory JC, Ardoin F, Ash LR, Vandmeulebroecke E, Galeazzi G, Dufour M, Paugam A. Microscopic diagnosis of blood parasites following a cytocentrifugation technique. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 57, 637-642.
- Dowling MAC, Shut GT. A comparative study of thick and thin blood films in the diagnosis of scarcely malaria parasitemia. *WHO Bull*, 1966; 34, 249-267.
- Wardlaw SC, Levine RA. Quantitative Buffy Coat analysis, a new laboratory tool functioning as a screening complete blood cell count. *JAMA* 1983; 5, 617-520.
- Ambroise-Thomas P., Michel-Brun J., Despeignes J. Identification rapide des parasites sanguicoles par coloration à l'acridine orange et microspe à fluorescence. *Bull Soc Pathol Exot*, 1965; 58, 630-639.
- Moody AH, Hunt-Cooke A, Chiodini PL. Experiences avec le Becton Dickinson QBC® pour le diagnostic biologique du paludisme. *Cahiers Santé* 1990; 4, 289-297.
- Rickman LS, Oberst R, Sangalang R, Culay JD, Long GW, Cabandan A, Smith JI, Hoffman SL. Rapid diagnosis of malaria by acridin orange staining of centrifuged parasites. *Lancet* 1989; 14, 68-71.
- Parzy D, Raphenon G, Martet G, Nicolas P, Touze JE, Baudon D, Lecamus JL. Quantitative Buffy Coat [QBC test] Monofluo kit falciparum. Intérêt comparé dans le diagnostic rapide du paludisme. *Med Trop* 1990; 50, 97-102.
- WHO. Ministerial conference on Malaria, Amsterdam, The Netherlands, 26-27 october, 1992. Geneva: World Health Organization, mimeographed document CTD/MEM/92.3.
- Beadle C, Long GW, Weiss WR, Mc Elroy PD, Maret SM, Oloo AJ, Hoffman SL. Diagnosis of malaria by detection of *Plasmodium falciparum* HRP-II antigen with rapid dipstick antigen-capture assay. *Lancet* 1984; 343, 564-568.
- Cooke AH, Chiodini PL, Doherty T, Moody AH, Ries J, Pinder M. Comparison of a parasite lactate dehydrogenase-base immunochromatographic antigen detection assay [OptiMAL®] with microscopy for the detection of malaria parasites in human blood samples. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 60, 173-177.
- Palmer J, Lindo JF, Klaskals WI, Quesada JA, Kaminsky R, Baum MK, Ager AL. Evaluation of the OptiMAL® test for rapide diagnosis of *Plasmodium*

- vivax and Plasmodium falciparum malaria. J Clin Microbiol 1998; 36, 203-206.
31. Horward RJ, Uni S, Aikawa M, Aley SB, Leech JH, Lew AM, Wellems TE, Renner J, Taylor DW. Secretion of a malaria Histidine Rich Protein [Pf HRPII] from Plasmodium falciparum infected erythrocytes. J Cell Biol 1986; 103, 1269-1277.
 32. Humar A, Ohrt C, Harrington MA, Pillai D, Kain CA. ParaSight test compared with the polymerase chain reaction and microscopy for the diagnosis of Plasmodium falciparum malaria in travellers. Am J Trop Med Hyg, 1997; 56, 44-48.
 33. Cavallo JD, Hernandez E, Gerome P, Plotton N, Debord T, Le Vaguereuse R. Antigénémie HRP II et paludisme d'importation à Plasmodium falciparum: comparaison de ParaSight-F et de l'ICT Malaria P.f.. Méd Trop 1997; 57, 353-356.
 34. Funk M, Schlagenhauf P, Tschopp A, Steffen R, MalaQuick® versus Parasight® as diagnostic aid in travellers' malaria. Trans Roy Soc Trop Med Hyg, 1999; 91, 268-272.
 35. Gautret P, Rodier MH, Kauffmann-Lacroix C, Jacquemin JL. Diagnostic du paludisme: attention aux faux négatifs avec des réactifs sur bandelette. Presse Méd 1999; 28, 913-914.
 36. Laferi H., Kandel K., Pichler H., False positive dipstick test for malaria. N Engl J Med, 1997; 337, 1635-1636.
 37. Mishra B, Samantaray JC, Kumar A, Mirdha BR. Study of false positivity of two rapid antigens detection tests for diagnosis of Plasmodium falciparum malaria. J Clin Microbiol, 1999; 37, 1233.
 38. Jelinek T, Grobusch MP, Schwenke S, Steidl S, von Sonnenburg F, Northdurft HD, Klein E, Loscher T. Sensitivity and specificity of dipstick tests for rapid diagnosis of malaria in non immune travelers. J Clin Microbiol 1999; 37, 721-723.
 39. WHO. A rapid dipstick antigen capture assay for the diagnosis of falciparum malaria. Bull WHO, 1996; 74, 47-54.
 40. Bartoloni A, Strihmeyer M, Sabatinelli G, Benucci M, Serni U, Paradisi F. False positive paraSight-F test for malaria in patients with rheumatoid factor. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1998; 92, 33-34.

© ШУРЫГИНА И.А., МАЛОВ И.В., МАРАМОВИЧ А.С., КЛИМОВ В.Т., ЧЕСНОКОВА М.В. – УДК 616.9

ВЛИЯНИЕ ПЛАЗМИДЫ С МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССОЙ 82 MD НА КЛИНИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ПСЕВДОТУБЕРКУЛЕЗА

И.А. Шурыгина, И.В. Малов, А.С. Марамович, В.Т. Климов, М.В. Чеснокова.

(Россия. Иркутск. Государственный медицинский университет, ректор – акад. МТА и АН ВШ А.А. Майборода, кафедра инфекционных болезней, зав. – проф. И.В. Малов)

Псевдотуберкулез относят к числу заболеваний, обладающих выраженным полиморфизмом клинических проявлений. При анализе данных литературы мы обратили внимание на значительные различия в течении псевдотуберкулеза в различных регионах страны. Так, экзантема наблюдается от 35% [6] до 92-100% больных [12,14]. Гепатомегалия по данным разных авторов встречается от 18,2-27,6% [1] до 86% [10] наблюдений, увеличенные размеры селезенки – от 9% [11] до 41% [6], желтуха – от 5,5% [13] до 57% [7]. Частота рецидивов заболевания составляет от 4,4-10,6% [3,16] до 35-48% [11,12].

Последние достижения в изучении биологии *Y. pseudotuberculosis* позволяют предположить, что различия в клинической картине заболевания могут определяться биологическими свойствами возбудителя, в частности его плазмидным спектром. В то время как роль плазмиды вирулентности с молекулярной массой 42-48 MD к настоящему времени изучена достаточно хорошо, значение других плазмид *Y. pseudotuberculosis* в реализации патологического процесса остается недостаточно выясненным. Особый интерес представляет плазида с молекулярной массой 82 MD, обнаруживаемая только у *Y. pseudotuberculosis* I се-

рвара и не встречающаяся у других представителей рода *Yersinia*. Приписываемая этой плазмиде способность вызывать вспышечную заболеваемость [5,18,19] оспаривается многими авторами [2,9]. В последнее время появились единичные данные об иммуносупрессивном действии рVM 82, полученные на экспериментальных моделях, хотя механизм этого действия еще не ясен [4,5,8,17].

На территории Иркутской области сложилось два очага псевдотуберкулеза, вызванных циркуляцией возбудителей с различным плазмидным составом: север области, где возбудитель имеет только одну плазмиду – 47 MD и юг, где возбудитель несет 2 плазмиды – 47 и 82 MD.

Цель исследования: изучить влияние плазмиды 82 MD *Y. pseudotuberculosis* на течение инфекционного процесса при псевдотуберкулезе.

Материалы и методы

Изучение клинической картины при псевдотуберкулезе проводилось в условиях вспышечной заболеваемости в период с 1987 по 1995 г. Комплектование групп осуществлялось методом сплошной выборки среди лиц обоего пола, не имеющих признаков сопутствующих заболеваний.

Верификация диагноза проводилась на основе данных эпидемиологического анамнеза, клинико-лабораторных показателей, данных бактериологического и серологического исследований. Проведен анализ 8 вспышек заболевания. Из них 4 (1987, 1989, 1992, 1993 г.) произошли на севере области, где от больных выделен штамм *Y. pseudotuberculosis* I серовара, имеющий плазмиду 47 MD. Зарегистрированы на юге области 4 вспышки (1997, 1988, 1992, 1995 г.), которые были вызваны *Y. pseudotuberculosis* I серовара с плазмидами 47 и 82 MD. Всего обследовано 353 больных.

Проведено заражение мышей линии СВАj методом свободного спаивания культуры *Y. pseudotuberculosis* I серовара в изотоническом растворе в дозе 109 микробных клеток на одно животное. В работе использовано два штамма *Y. pseudotuberculosis*: №244 с плазмидой 47 MD и № 289 с плазмидами 47 и 82 MD. Всего в опытах использовано 198 животных, контролем служили 10 здоровых мышей. Исследование проведено через 1, 2, 3, 4, 7 и 10 суток после инфицирования. При помощи световой и электронной микроскопии изучены морфологические изменения в терминальном отделе тонкого кишечника, печени и селезенке. Методом непрямой иммунофлюоресценции изучено влияние плазмидного спектра возбудителя на распространение *Y. pseudotuberculosis* в организме экспериментальных животных.

Статистическую обработку полученных результатов проводили методами вариационной статистики (критерий Стьюдента, χ^2).

Результаты собственных исследований

Проведенный нами анализ вспышек псевдотуберкулеза показал, что клиническая картина заболевания, вызванного возбудителем с плазмидами 47 и 82 MD, значительно отличается от обусловленной одноплазмидным штаммом.

Во всех случаях наблюдался полиморфизм клинических проявлений с явлениями общей интоксикации, экзантемой, поражением желудочно-кишечного тракта, печени и других органов. Однако частота отдельных симптомов заболевания, обусловленного одно- и двухплазмидными штаммами *Y. pseudotuberculosis*, значительно различалась, что и определяло своеобразную картину отдельных вспышек псевдотуберкулеза.

У подавляющего числа больных заболевание начиналось остро, сопровождалось ознобом, повышением температуры, головными болями.

Одним из наиболее ярких симптомов периода разгара заболевания являлась сыпь. Этот патогномичный для псевдотуберкулеза симптом достоверно чаще наблюдался у больных, от которых был выделен одноплазмидный возбудитель по сравнению с больными, чье заболевание было обусловлено двухплазмидным штаммом (89,04±2,59% и 58,94±3,42% соответственно). Высыпания преимущественно были мелкоточечными или пятнисто-папулезными. Характерной была лока-

лизация сыпи вокруг крупных суставов и в естественных складках кожи. У отдельных больных наблюдалась экзантема в виде нодозной эритемы. Появление типичной экзантемы в разгар заболевания всего лишь у половины больных, чье заболевание обусловлено двухплазмидным штаммом *Y. pseudotuberculosis*, значительно затрудняет диагностику, особенно при спорадической заболеваемости.

У значительного числа пациентов в периоды начальных проявлений и разгара заболевания наблюдались симптомы поражения верхних дыхательных путей в виде насморка, сухого кашля, болей в горле при глотании, гиперемии задней стенки глотки, небных дужек, язычка, увеличения миндалин. Данные симптомы встречались с одинаковой частотой в сравниваемых группах (70,55±3,77% и 69,57±3,20%).

Характерной особенностью течения псевдотуберкулеза являлось частое вовлечение в патологический процесс органов пищеварения. Поражение желудочно-кишечного тракта проявлялось в виде тошноты и рвоты, жидкого или кашицеобразного стула, болей в животе различной локализации. Причем все эти симптомы достоверно чаще наблюдались у больных, от которых был выделен двухплазмидный штамм *Y. pseudotuberculosis* (47 и 82 MD) по сравнению с пациентами, чье заболевание было обусловлено *Y. pseudotuberculosis* с одной плазмидой 47 MD (тошнота и рвота наблюдались у 47,34±3,47% и 10,96±2,59% (P<0,001); диарея – у 46,38±3,47% и 5,48±1,88% (P<0,001); боли в животе – у 78,26±2,87% и 44,52±4,11% (P<0,001) соответственно). Причем выраженность отдельных симптомов значительно варьировала. Так, например, диарея при псевдотуберкулезе чаще всего характеризуется только кашицеобразным стулом 1-2 раза в сутки длительностью от 1 до 3 дней, а у больных из г. Ангарска (1995 г.) данный симптом зарегистрирован у 76,47±7,27% и проявлялся у части больных жидким стулом (до 5-7 раз в сутки без патологических примесей).

Такой характерный признак псевдотуберкулеза, как “малиновый” язык, наблюдался только у 40% больных в обеих сравниваемых группах.

Обращало на себя внимание частое вовлечение в патологический процесс печени и селезенки у пациентов, заболевание которых было вызвано двухплазмидными штаммами возбудителя. Так, увеличение размеров печени наблюдалось у 55,56±3,45%, а селезенки – у 16,91±2,61%. У больных, заболевание которых было обусловлено одноплазмидными штаммами возбудителя, печень и селезенка вовлекались в патологический процесс значительно реже. Так, гепатомегалия наблюдалась у 14,38±2,90% больных, спленомегалия не отмечена ни у одного больного.

Изменения со стороны опорно-двигательного аппарата проявлялись в виде артралгий, причем достоверно чаще этот симптом наблюдался в группе пациентов, от которых был выделен двухплазмидный возбудитель (68,60±3,23%), по срав-

Сравнительный анализ зависимости клинических проявлений псевдотуберкулеза от плазмидного профиля *Y. pseudotuberculosis* в условиях вспышечной заболеваемости

	<i>Y. pseudotuberculosis</i> (47 MD)	<i>Y. pseudotuberculosis</i> (47 и 82 MD)	P
Количество больных	146	207	
Гиперемия зева, %	70,55±3,77	69,57±3,20	>0,05
Малиновый язык, %	41,78±4,08	42,03±3,43	>0,05
Сыпь, %	89,04±2,59	58,94±3,42	<0,001
Артралгии, %	30,82±3,82	68,60±3,23	<0,001
Боль в животе, %	44,52±4,11	78,26±2,87	<0,001
Диарея, %	5,48±1,88	46,38±3,47	<0,001
Тошнота, рвота, %	10,96±2,59	47,34±3,47	<0,001
Гепатомегалия, %	14,38±2,90	55,56±3,45	<0,001

нению с больными, чье заболевание было обусловлено одноплазмидными штаммами (30,82±±3,82%, P<0,001). Значительно реже отмечено развитие реактивных артритов. У части больных артралгии были настолько интенсивными и упорными, что выступали на первый план среди жалоб пациентов.

Кроме субъективных проявлений у больных в период разгара заболевания отмечались отклонения лабораторных показателей от нормы: нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом лейкоцитарной формулы влево, эозинофилия, ускорение СОЭ.

Рецидивы заболевания отмечались с одинаковой частотой в группах наблюдения.

Сравнение клинических проявлений заболевания в зависимости от плазмидного профиля *Y. pseudotuberculosis* I серовара приведено в таблице 1.

При изучении морфологических изменений при экспериментальном псевдотуберкулезе нами установлено, что принципиально патоморфологический процесс у всех животных протекал однотипно. Вначале наблюдали скопления бактерий в просвете кишечника, затем инфильтрацию кишечной стенки нейтрофилами, деструкцию апикальных частей ворсин, увеличение размеров пейеровых бляшек. В печени выявлено образование инфильтратов, состоящих вначале из нейтрофилов и макрофагов без выраженной зональности. Затем в инфильтратах появлялись четко разграниченные зоны: центральная, состоящая из распадающихся нейтрофилов, и периферическая - из макрофагов и лимфоцитов. Позднее в паренхиме печени наблюдали гранулему, имеющую типичное строение: в центре зона некроза, вокруг нее вал из нейтрофилов, затем - слой, состоящий из макрофагов, лимфоцитов и единичных эпителиоидных клеток. В селезенке наблюдали инфильтрацию красной пульпы нейтрофилами и иммуноморфологические изменения со стороны белой пульпы.

Однако сроки появления и выраженность морфологических изменений у животных в группах наблюдения были различны. Так, у мышей, зараженных двухплазмидным штаммом возбудителя, бактерии в терминальном отделе тонкого

кишечника появлялись уже через 1 сутки после заражения. При электронной микроскопии наблюдали адгезию бактерий к щеточной кайме энтероцитов (рис.1). У животных, инфицированных одноплазмидным штаммом, бактерии в терминальном отделе тонкого кишечника впервые зарегистрированы через 2 суток. В последующие сроки у животных, зараженных двухплазмидным штаммом, инфильтративные и альтеративные проявления были более выражены, чем у мышей, зараженных штаммом возбудителя, несущим только одну плазмиду, и уже на вторые сутки у них отмечено образование клиновидных некрозов, достигающих до мышечной пластинки слизистой оболочки; при электронномикроскопическом исследовании у них отмечено более раннее и выраженное поражение энтероцитов терминального отдела тонкого кишечника: уже на 2 сутки отмечена массовая деструкция энтероцитов различной степени тяжести - от незначительной (разрушение микроворсинок, набухание и дегградация крист митохондрий, просветление цитозоля) до необратимых изменений (кариолизис, разрушение органоидов). Отмечено внутриклеточное расположение бактерий в энтероцитах. У животных, инфицированных одноплазмидным штаммом, в этот срок структура энтероцитов была не изменена.

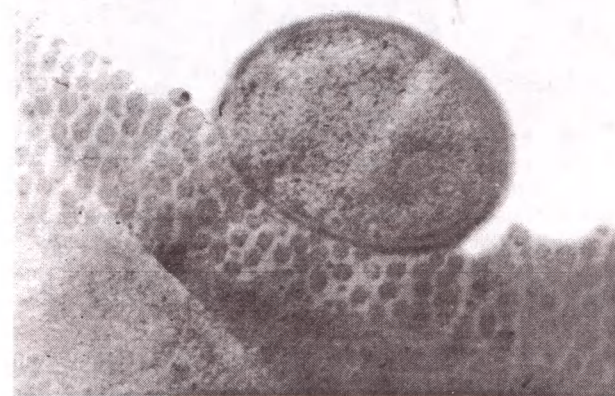


Рис.1. *Y. pseudotuberculosis* (47 и 82 MD). 2 сут. после заражения. Адгезия бактерии на поверхности энтероцита. Электронограмма.

В паренхиме печени у животных, инфицированных штаммом возбудителя с плазмидой рVM 82, инфильтраты появлялись в более ранние сроки по сравнению с животными, зараженными штаммом *Y. pseudotuberculosis*, не обладающим этой плазмидой (2 и 4 сутки соответственно) (рис.2, 3). До 7 суток у животных, зараженных одноплазмидным штаммом, размер инфильтратов в печени был достоверно меньше, чем при заражении двухплазмидным штаммом. В поздние сроки наблюдения различия в размерах инфильтратов нивелировались за счет появления новых инфильтратов, обусловленных, возможно, повторными волнами бактериемии, что согласуется с представлениями о патогенезе псевдотуберкулеза [15].

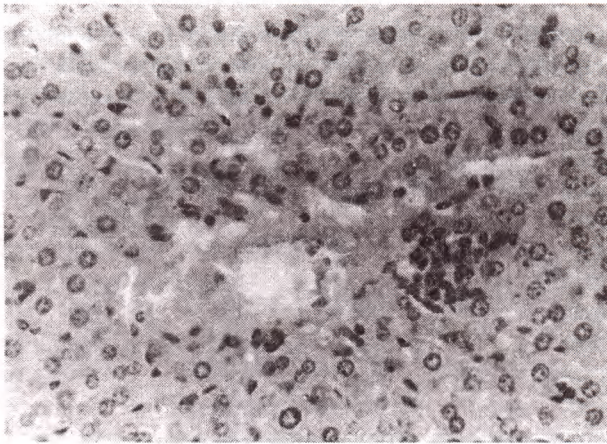


Рис.2. *Y. pseudotuberculosis* (47 MD). 4 сут. после заражения. Мелкий периваскулярный инфильтрат в паренхиме печени. Окраска гематоксилин-эозином (ув. 200).

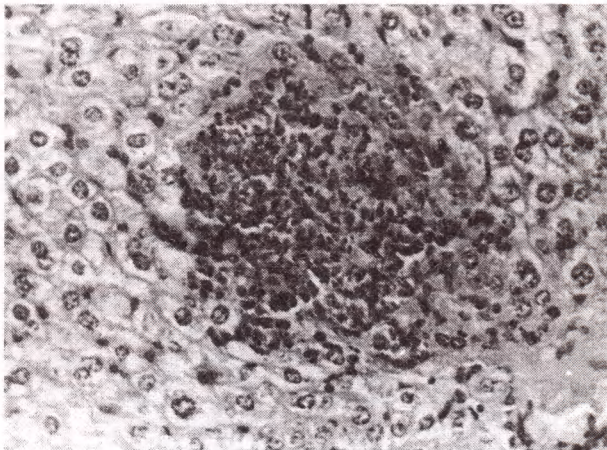


Рис.3. *Y. pseudotuberculosis* (47 и 82 MD). 4 сут. после заражения. Крупный инфильтрат в паренхиме печени. Ярко выраженная вакуольная дистрофия гепатоцитов. Окраска гематоксилин-эозином (ув. 200).

Также у животных, зараженных штаммом *Y. pseudotuberculosis* с криптической плазмидой 82 MD, в более ранние сроки отмечалось появление инфильтрации красной пульпы селезенки нейтрофилами (2 и 4 сутки соответственно).

Изучение иммуноморфологических изменений в белой пульпе селезенки показало, что активация “центров размножения” у животных, зараженных одноплазмидным штаммом возбудителя, происходит в более ранние сроки, чем у мышей, инфицированных двухплазмидным штаммом (2 и 4 сутки соответственно). Образование реактивных центров, отмеченное нами у зараженных одноплазмидным штаммом животных на 4 сутки, при инфицировании двухплазмидным штаммом не зарегистрировано до конца наблюдения. С 7 суток у животных, инфицированных двухплазмидным штаммом, наблюдались зоны некроза в центрах фолликулов селезенки.

Данные о сроках появления изменений в органах животных при экспериментальном псевдотуберкулезе представлены в таблице 2.

Таблица 2.

Сроки появления патоморфологических изменений в органах животных, инфицированных одно- и двухплазмидными штаммами *Y. pseudotuberculosis*

Исследуемый орган	штамм №244 (47 MD)	штамм №289 (47 и 82 MD)
кишечник	2 сутки	1 сутки
инфильтраты в печени	4 сутки	2 сутки
инфильтрация красной пульпы селезенки	4 сутки	2 сутки
иммуноморфологические изменения белой пульпы селезенки	2 сутки	4 сутки

Методами непрямой иммунофлюоресценции нами выявлены различия в скорости распространения в организме животных возбудителей псевдотуберкулеза, отличающихся по плазмидному спектру. Штамм, имеющий кроме плазмиды вирулентности криптическую плазмиду 82 MD, зарегистрирован в терминальном отделе тонкого кишечника, печени, селезенке в более ранние сроки по сравнению с одноплазмидным штаммом.

Возбудитель, имеющий две плазмиды, выявлялся в просвете терминального отдела тонкого кишечника уже через 1 сутки после заражения. У животных, инфицированных одноплазмидным штаммом возбудителя, в этот срок бактерии не зарегистрированы и впервые обнаруживались в просвете кишечника со 2 суток (рис.4).

В ткани селезенки мышей, зараженных двухплазмидным штаммом, бактерии также появлялись в более ранние сроки по сравнению с одноплазмидным штаммом (1 и 3 сутки соответственно), их количество резко увеличивалось к 7 суткам.

В печени у мышей, инфицированных двухплазмидным штаммом возбудителя, специфическое свечение впервые зарегистрировано на 3 сутки, на 4-7 сутки бактерии образовывали скопления в центрах инфильтратов. У животных, зара-

женных одноплазмидным штаммом возбудителя, бактерии появлялись в паренхиме печени лишь к 7 суткам.

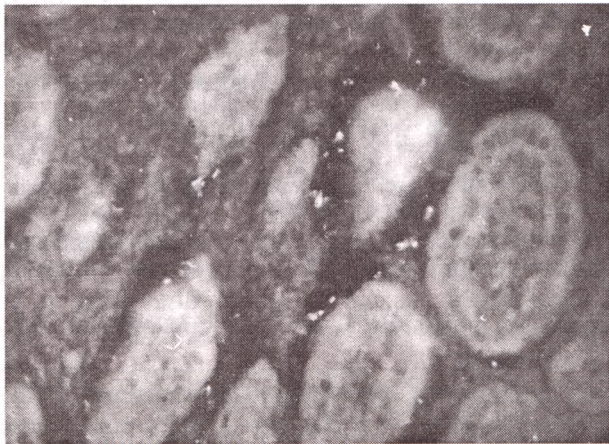


Рис.4. *Y. pseudotuberculosis* (47 и 82 MD). 2 сут. после заражения. Иммунофлюоресценция. Большое количество бактерий в просвете терминального отдела тонкого кишечника (ув. 330).

Выводы.

1. Заболевание, обусловленное штаммом возбудителя с плазмидой pVM 82, отличается по течению от вызванного одноплазмидным штаммом.
2. У больных, заболевание которых вызвано штаммами *Y. pseudotuberculosis* I серовара с

Литература

1. Блюгер А.Ф., Карташова О.Я., Осна Э.М. и др. Клинико-морфологические особенности поражения печени при иерсиниозе и псевдотуберкулезе // Иерсиниозы: Микробиология, эпидемиология, клиника, патология, иммунология: Тез. Всесоюз. науч.-практ. конф. – Владивосток, 1986. – С.153-154.
2. Брикман В.Д., Балахонов С.В., Миронова Л.П., Апарин Г.П. Плазмидный состав и характеристики патогенности штаммов *Y. pseudotuberculosis*, выделенных от людей на фоне эпидемической и спорадической заболеваемости // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1989. – №7. – С.3-7.
3. Буланьков Ю.И. Изучение эффективности некоторых новых методов лабораторной диагностики псевдотуберкулеза // Лаб. дело. – 1990. – №4. – С.15-17.
4. Волков Л.В., Бартенева Н.С., Пронин А.В. и др. Роль плазмиды с молекулярной массой 82 MD при модуляции воздействия *Yersinia pseudotuberculosis* на пролиферативную активность лимфоидных клеток мыши // Молекул. генетика, микробиология и вирусология. – 1991. – №12. – С.29-32.
5. Гинцбург А.Л., Шубин Ф.Н., Шовадаева Г.А. и др. Новый признак патогенности, кодируемый плазмидой pVM 82 *Yersinia pseudotuberculosis* // Генетика. – 1988. – Т.24, №9. – С.1562-1571.
6. Дмитриевская Т.И., Дмитриевский А.М. Формы течения иерсиниозной инфекции // Здравоохранение Казахстана. – 1985. – №8. – С.51-54.

плазмидами 47 и 82 MD чаще отмечаются симптомы поражения желудочно-кишечного тракта (тошнота, рвота, диарея, боли в животе), вовлечение в патологический процесс печени и селезенки, развитие артралгий.

3. У больных, заболевание которых вызвано одноплазмидным штаммом *Y. pseudotuberculosis*, чаще отмечается появление экзантемы.
4. Морфологические изменения в исследуемых органах у животных, инфицированных двухплазмидным штаммом возбудителя, появляются раньше и более выражены.

Таким образом, клинически и морфологически инфекционный процесс, обусловленный штаммом *Y. pseudotuberculosis* с плазмидой 82 MD, протекает более тяжело, чем вызванный одноплазмидным штаммом. Возможно, это обусловлено сниженной иммуногенностью штамма, несущего плазмиду pVM 82, что согласуется с наблюдениями других авторов [4,5,8,17]. Это подтверждается большей скоростью распространения в организме животных штамма *Y. pseudotuberculosis* I серовара, несущего плазмиду pVM 82, а также более поздним появлением “центров размножения” в фолликулах белой пульпы селезенки у мышей линии СВА при инфицировании двухплазмидным штаммом возбудителя.

Проведенное исследование показало, что биологические свойства возбудителя псевдотуберкулеза оказывают значительное влияние на морфологические и клинические проявления инфекции.

7. Зайденов А.М., Морозов А.А., Костюковская В.М. и др. Псевдотуберкулез в Краснодарском крае. Клинико-эпидемиологические особенности заболеваемости и биологические свойства штаммов // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1991. – №4. – С.26-28.
8. Исачкова Л.М., Шубин Ф.Н. Патогенетическое значение плазмид-ассоциированной вирулентности псевдотуберкулезного микроба // Тез. 17 съезда Всесоюз. о-ва эпидемиологов, микробиологов и паразитологов им. И.И. Мечникова. – М., 1989. – Ч.1. – С.172-173.
9. Климов В.Т., Марамович А.С., Лемешко Р.А. и др. Использование плазмидного профиля возбудителя в изучении эпидемиологии псевдотуберкулеза // Тез. 17 съезда Всесоюз. о-ва эпидемиологов, микробиологов и паразитологов им. И.И. Мечникова. – М., 1989. – Ч.1. – С.63-64.
10. Латенко Я.П., Горчица Л.В., Дергилева М.П. и др. Клинико-эпидемиологическая характеристика псевдотуберкулеза // Врачеб. дело. – 1986. – №3. – С.108-111.
11. Марков И.С., Ткаченко В.И., Силян Д.Д. Вспышки псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза среди советских специалистов и членов их семей в Монгольской Народной Республике // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1989. – №8. – С.43-49.
12. Махнев М.В., Терешков О.Г. Динамика клинико-лабораторных показателей, физической и умствен-

- ной работоспособности при псевдотуберкулезе // Военно-мед. журн. – 1989. – №12. – С.43-46.
13. Нагорная Л.Е. Материалы клинико-патогенетического изучения дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки (псевдотуберкулеза): Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Хабаровск, 1973. – 18с.
14. Протасеня И.И. Значение биологически активных веществ в патогенезе аллергических проявлений псевдотуберкулеза у детей: Дис. ... канд. мед. наук. – Хабаровск, 1986. – 194с.
15. Сомов Г.П., Покровский В.И., Беседнова Н.Н. Псевдотуберкулез. – М.: Медицина. – 1990. – 240с.
16. Томила Г.С., Привен В.З., Гордиская Н.М. Характеристика псевдотуберкулеза у взрослых в Хабаровске // Иерсиниозы (микробиология, эпидемиология, клиника, патогенез, лаб. диагностика): Тез. Всесоюз. науч.-практ. конф. – Владивосток, 1989. – Ч.2. – С.74-75.
17. Шовадаева Г.А., Шубин Ф.Н., Шагинян И.А. и др. Альтернативная локализация детерминант патогенности, кодируемых плазмидой рVM 82 *Yersinia pseudotuberculosis* // Молекуляр. генетика, микробиология и вирусология. – 1991. – №11. – С.23-27.
18. Шубин Ф.Н., Багрянцев В.Н. Молекулярно-генетические аспекты эпидемиологии псевдотуберкулеза // Бюл. СО АМН СССР. – 1986. – №4. – С.71-75.
19. Шубин Ф.Н., Сибирцев Ю.Т., Рассказов В.А. Плазмиды *Yersinia pseudotuberculosis* и их значение в реализации эпидемического процесса при псевдотуберкулезе // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1985. – №12. – С.53-56.

© ЛЕНОК Г.В., САВИЛОВ Е.Д., ФИЛИППОВ Е.С. –
УДК 616.36-002.2

КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ОСТРЫХ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ У РАБОЧИХ ПРЕДПРИЯТИЙ НЕФТЕХИМИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Г.В. Ленок, Е.Д. Савилов, Е.С. Филиппов.

(Россия. Иркутск. Институт эпидемиологии и микробиологии научного центра медицинской экологии ВСНЦ СО РАМН, директор – чл. корр. РАМН проф. В.Ю. Злобин, Государственный медицинский университет, ректор – акад. МТА и АН ВШ А.А. Майборода)

Резюме. У взрослого населения работающего на предприятиях нефтехимической промышленности имеет место более тяжелое течение инфекционного процесса и увеличение длительности заболевания при острых вирусных гепатитах А, В и С. Это позволяет рекомендовать рассматривать указанную профессиональную группу населения как группу риска.

В настоящее время высокий уровень заболеваемости различной этиологии многие авторы связывают с влиянием техногенного загрязнения окружающей среды на здоровье человека. Круг исследований, посвященных этому вопросу, достаточно широк. Однако, остается практически не изученной проблема, связанная с воздействием загрязнения окружающей среды на клинические проявления инфекционных болезней.

В контексте рассматриваемой вопроса следует отметить, что для здравоохранения мира актуальнейшей проблемой остается заболеваемость вирусными гепатитами, которые в ряду вирусных болезней представляют наибольшую угрозу для здоровья человека (человечества). Вместе с тем существующие материалы по проблеме “техногенное загрязнение окружающей среды – вирусные гепатиты” весьма немногочисленны и разрозненны. Исходя из вышеизложенного целью настоящего сообщения является выявление клинических особенностей острых вирусных гепатитов А, В и С у рабочих предприятий нефтехимической промышленности.

Представленные исследования были проведены в промышленном центре Восточной Сибири г.Ангарске, градообразующим комплексом кото-

рого являются предприятия нефтехимической, нефтеперерабатывающей и химической промышленности. Основу указанных предприятий составляет целый ряд заводов нефтехимической промышленности под единым названием – Акционерное общество “Ангарскнефтеоргсинтез” (АО АНОС).

В основу работы положены наблюдения за 1606 больными острыми вирусными гепатитами А, В и С (ОВГА, ОВГВ и ОВГС соответственно), проживающими в городе Ангарске и находившимися на стационарном лечении в этом же городе. Оценка клинического материала была проведена по данным историй болезни и личным наблюдениям за 1994-1998 годы. Опытная группа населения состояла из больных (192 человека), работающих на АО АНОС, то есть связанных по роду своей профессиональной деятельности с поступлением химических веществ в воздух рабочей зоны. Количество больных по отдельным нозологическим видам острых вирусных гепатитов составило: ОВГА – 91 человек; ОВГВ – 70; ОВГС – 24 и микст-инфекция (ОВГВ и ОВГС) – 7.

Контрольную группу составили больные (1414 человек), не работающие на АО АНОС и, следовательно, не испытывающие воздействия загряз-

ненного воздуха производственных помещений (прочее взрослое население города). Соотношение обследованных больных по отдельным этиологическим видам вирусных гепатитов соответствовало опытной группе и составляло: 754, 571, 80 и 9 человек соответственно.

Нами установлено, что тяжесть инфекционно-го процесса напрямую зависела от условий труда работающих. Сопоставление выраженности симптомов болезни у больных в выделенных группах населения выявило более тяжелое их течение (по частоте проявления симптомов) для всех рассматриваемых этиологических форм вирусных гепатитов у работников АО АНОС по сравнению с контрольной группой населения ($p < 0,05$ для каждой из нозологических форм). При этом для ОВГА и ОВГВ указанная закономерность имела место соответственно для желтушного и преджелтушного периода заболевания, а для ОВГС эти различия выявлены для обоих периодов.

Легкие формы заболевания при всех видах вирусных гепатитов имели место лишь в контрольной группе, представляющее "прочее" взрослое население, и полностью отсутствовали у больных, связанных по своей производственной деятельности с предприятиями химической промышленности. Тяжелая форма заболевания отмечалась лишь у работающих на АНОСе (ОВГА), или превалировала по сравнению с контрольной группой населения при ОВГВ и ОВГС. Соответственно и среднетяжелая форма отмечалась на более высоком уровне у лиц, связанных по своей профессиональной деятельности с предприятиями химической

промышленности. Особенно наглядно эти расхождения отмечены для больных острым гепатитом А.

Выявленные клинические особенности различных видов вирусных гепатитов у больных, работающих в неблагоприятных экологических условиях, сказались и на длительности их пребывания в стационаре. Средняя продолжительность койко-дня была выше у больных опытной группы (работающие на АО АНОС). И хотя эти различия не носили достоверного характера можно утверждать о наличии выраженной тенденции между сравниваемыми группами населения в связи с тем, что повышенные показатели пребывания первой группы больных в стационаре имели место при всех видах вирусных гепатитов, в том числе, и при микст-инфекции.

Выявленная закономерность более тяжелого течения вирусных гепатитов у рабочих, связанных с вредными условиями труда, подтверждается и такими критериями как сроки обращаемости, установления диагноза и госпитализации со дня заболевания. У больных этой группы населения указанные показатели имеют значительно меньшую величину для всех видов вирусных гепатитов.

Таким образом, проведенный нами клинко-эпидемиологический анализ позволяет рекомендовать рассматривать взрослое население, работающих на предприятиях нефтехимической промышленности, как группу риска по развитию у них более тяжелого течения острых вирусных гепатитов различной этиологии.

© КИКЛЕВИЧ В.Т., ИЛЬИНА С.В., САВИЛОВ Е.Д. –
УДК 616.9

КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ У ДЕТЕЙ НА ТЕРРИТОРИЯХ С ВЫСОКИМ УРОВНЕМ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

В.Т. Киклевич, С.В. Ильина, Е.Д. Савилов.

(Россия. Иркутск. Государственный медицинский университет, ректор – акад. МТА и АН ВШ А.А. Майборода, Институт эпидемиологии и микробиологии научного центра медицинской экологии ВСНЦ СО РАМН, директор – чл. корр. РАМН проф. В.Ю. Злобин)

Резюме. Проблема связи инфекционной заболеваемости с техногенным загрязнением окружающей среды остается недостаточно исследованной. В связи с этим авторами проведено изучение клинко-эпидемиологических особенностей ОРВИ и вирусного гепатита А у детей в крупных промышленных центрах Восточной Сибири – городах Иркутске и Ангарске.

Изучение многолетней заболеваемости вышеуказанными инфекциями показало их более высокий уровень и нестабильность циклической составляющей эпидемического процесса в Ангарске – городе с высоким уровнем техногенного загрязнения окружающей среды.

Для выявления клинко-лабораторных особенностей этих заболеваний проводилось наблюдение за 537 больными ОРВИ и 420 больными ВГА, находившимися на стационарном лечении и проживающими в городах Ангарске и Иркутске.

Отмечено, что заболевания у детей, проживающих на экологически неблагоприятных территориях, имеют большую тяжесть и более длительное течение. При ОРВИ у них чаще разви-

ваются осложнения (бронхиты, осложнения со стороны ЛОР-органов, а также – протеинурический микроочевой синдром) по сравнению с детьми из зон с меньшим уровнем техногенного загрязнения.

При вирусном гепатите А у детей, проживающих в районах с высоким уровнем техногенного загрязнения окружающей среды, по сравнению с детьми из экологически благоприятных условий, более длительно сохраняются маркеры цитолиза и гепатомегалия.

Проблема техногенного загрязнения окружающей среды в последние годы приобретает все большее значение в связи с возрастающим влиянием этого фактора на здоровье населения. Проведены многочисленные исследования, показывающие связь различных техногенных факторов с отдельными классами заболеваний и демографическими показателями.

Недостаточно исследованной остается проблема связи инфекционной заболеваемости с воздействием техногенных ксенобиотиков. Заболеваемость инфекционными болезнями в целом или отдельные нозологические формы не включены в перечень экологически ориентированных медико-статистических показателей. Несмотря на широкую распространенность инфекционной патологии, большинство авторов проводят исследования только в области влияния техногенных загрязнителей на заболеваемость острыми заболеваниями органов дыхания.

Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) продолжают доминировать в структуре заболеваемости детей, особенно младшего возраста. Повторные ОРВИ способствуют формированию хронических очагов инфекции, вызывают аллергизацию организма, задерживают физическое и психомоторное развитие, препятствуют проведению профилактических прививок.

Другой важной проблемой для здравоохранения в России и в мире остается проблема вирусных гепатитов (Т. Debord, Y. Buisson, 1998). Проблему вирусных гепатитов Е.П. Шувалова (1998) называет самой серьезной проблемой в ряду вирусных болезней. Ежегодно 1/3 коек (31,5-39,4%) в инфекционных стационарах занято этими больными.

Вирусный гепатит А (ВГА) составляет в разные годы от 26,0 до 76,0% от всех вирусных гепатитов (И.В. Шахгильдян, 1994; Е.П. Шувалова, 1998). В последние годы участились случаи летальности и формирования хронических форм у больных гепатитами с энтеральным путем передачи. Так, А.Р. Рейзис с соавт. (1997) указывают на увеличение на современном этапе частоты холестатических форм, нарастание степени тяжести и склонности к затяжной реконвалесценции у детей с вирусным гепатитом А. Существует мнение, что это явление связано с влиянием нарастающего экологического неблагополучия.

Из вышеизложенного следует, что проблема влияния загрязнения окружающей среды на инфекционную патологию у детей является одной из наиболее значимых проблем настоящего времени. Особую актуальность имеет она в Сибирском регионе, где уровень загрязнения воздуха в городах,

в среднем, значительно выше, чем в городах Европейской части России.

Таким образом, целью нашей работы было выявление особенностей распространенности и течения ОРВИ и ВГА у детей, проживающих в условиях техногенного загрязнения окружающей среды при уровнях загрязняющих веществ, типичных для современного промышленного города.

Материалы и методы

В основу работы положены наблюдения за 537 больными ОРВИ и 420 – ВГА, находившимися на стационарном лечении и проживающими в городах Ангарске и Иркутске.

Среди ведущих загрязнителей Ангарска следует назвать углеводороды, амины, оксид углерода, пыль, сероводород, фенолы, фториды, бенз(а)-пирен, диоксид азота, аммиак, нитрозамины и другие.

Иркутск, так же как и Ангарск, входит в список городов Российской Федерации с наибольшим уровнем загрязнения атмосферного воздуха. Основными источниками этого загрязнения являются предприятия теплоэнергетики и автотранспорт. Ведущие загрязнители атмосферного воздуха в Иркутске: твердые частицы (пыль), диоксид серы, оксид углерода, оксиды азота, углеводороды, бензин, толуол, аммиак, фтористые соединения, ксилол, ацетон.

Уровень практически всех загрязняющих веществ в Ангарске превышает таковой в Иркутске.

Территория Иркутска, в свою очередь, была разделена на две группы районов: с большим и меньшим уровнем загрязнения атмосферного воздуха. Такая постановка исследования позволила изучить течение инфекционного процесса у детей, проживающих в регионах с разным уровнем техногенного загрязнения окружающей среды.

Результаты исследования

Для выявления закономерностей эпидемического процесса ОРВИ и ВГА в условиях техногенного загрязнения окружающей среды проводилось изучение многолетней динамики заболеваемости детского населения в Ангарске и Иркутске. Обнаружено, что заболеваемость респираторными инфекциями негриппозной этиологии выше в городе с высоким уровнем техногенного загрязнения атмосферного воздуха (рис.1). Другой особенностью заболеваемости в Ангарске является ее меньшая стабильность по сравнению с Иркутском, т.е. большая выраженность колебаний относительно линии тренда.

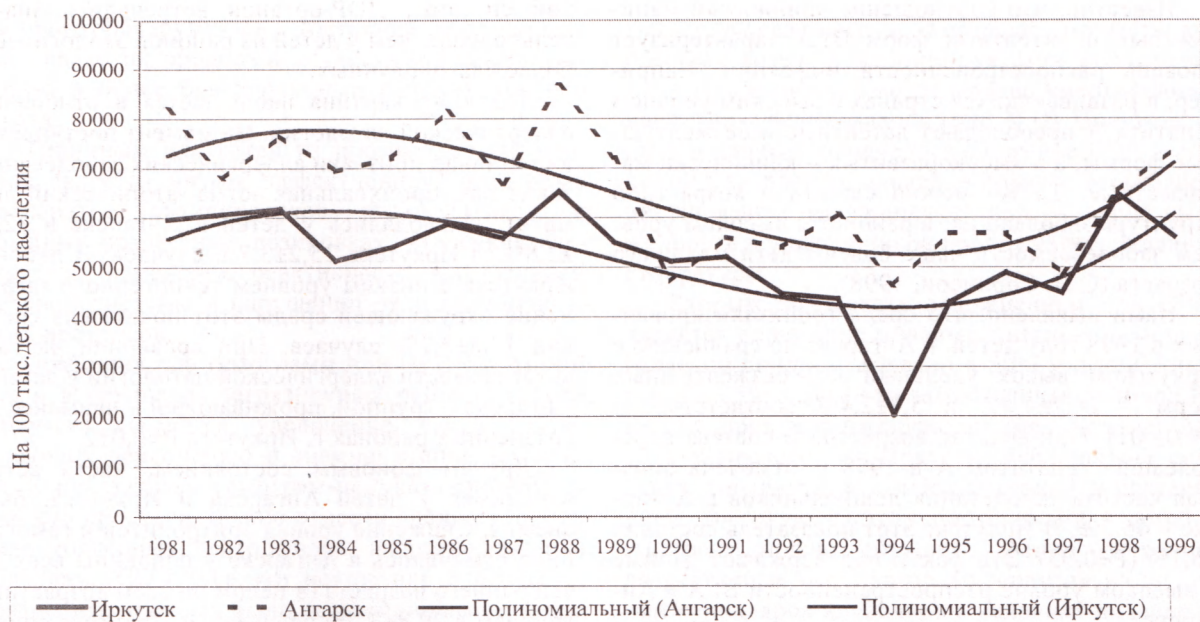


Рис.1. Динамика показателей заболеваемости ОРВИ детского населения в г.г.Ангарске и Иркутске (на 100 тыс. населения) в 1981-1999 гг.

Острые респираторные заболевания негриппозной этиологии являются, по существу, совокупностью ряда инфекционных заболеваний, каждое из которых подвержено собственным изменениям эпидемического процесса, имеет собственную многолетнюю тенденцию и многолетнюю периодичность. Нерегулярные колебания заболеваемости, выраженные в значительной степени в районах с высоким уровнем техногенного загрязнения атмосферы, могут быть объяснены дестабилизацией системы под действием экологического неблагополучия.

Проведенное исследование показывает, что многолетняя заболеваемость вирусным гепатитом А также имеет свои особенности у детей, прожи-

вающих в районах с высоким уровнем техногенного загрязнения окружающей среды, по сравнению с детьми, проживающими в районах с более благоприятной экологической ситуацией. Это касается, в первую очередь, уровня заболеваемости, который за период с 1981 года по 1999 год у детей Ангарска был достоверно выше, чем у детей Иркутска (рис.2). Однако мы не можем однозначно связать этот факт только с влиянием уровня атмосферного загрязнения, так как здесь, кроме того, возможно влияние особенностей водоснабжения Ангарска, водозаборные сооружения которого, располагаются ниже сброса сточных вод Иркутска.

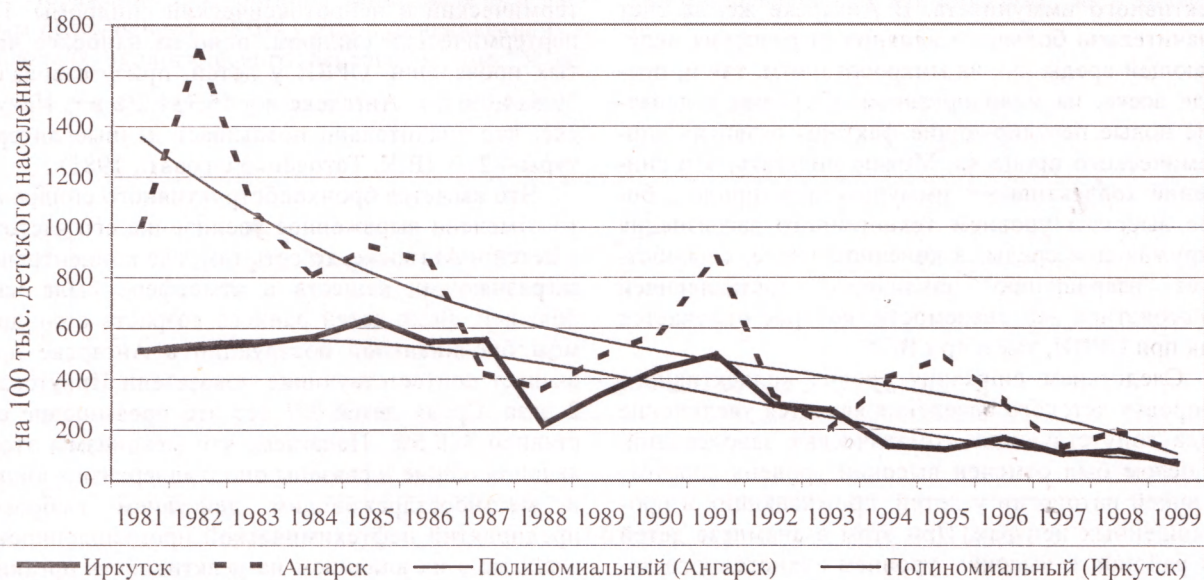


Рис.2. Многолетняя динамика заболеваемости детского населения вирусным гепатитом А в г.г. Ангарске и Иркутске в период 1981-1999 гг.

Известно, что соотношение клинически манифестных и латентных форм ВГА характеризует уровень распространенности инфекции. Например, в развивающихся странах с высоким уровнем гепатита А преобладают латентные и безжелтушные формы, а в высокоразвитых – клинически манифестные. То же можно сказать о возрастной структуре заболевших: в районах с высоким уровнем заболеваемости чаще болеют дети младшего возраста (С.Н. Соринсон, 1998).

Нами выявлено, что среди госпитализированных в 1998 году детей, в Ангарске по сравнению с Иркутском высок удельный вес безжелтушных форм – $26,7 \pm 4,4\%$ и $5,4 \pm 2,4\%$ соответственно ($P < 0,001$). При анализе возрастного состава переболевших гепатитом А в 1998 г. отмечена большая частота заболевания дошкольников в Ангарске – $46,2\%$. В Иркутске этот показатель составил $26,1\%$ ($P < 0,05$). Эти факты подтверждают данные о высоком уровне распространенности ВГА в Ангарске.

Анализ многолетней периодичности заболевания, показал, что среди детей Иркутска продолжительность циклов составляет 6 лет, а среди детей Ангарска колеблется в пределах 4-5 лет. Кроме того, доля циклической надбавки во время отдельных подъемов заболеваемости в Иркутске примерно одинакова ($22-29\%$), а в Ангарске различается более чем в 5 раз ($15-79\%$). Все это свидетельствует о нестабильном развитии циклической компоненты эпидемического процесса вирусного гепатита А в городе с высоким уровнем техногенного загрязнения окружающей среды.

Укорочение многолетних циклов у детей Ангарска может быть объяснено угнетением иммунных реакций под действием комплекса экотоксикантов и, в связи с этим, более ранним наступлением подъемов заболеваемости. Таким образом, в Иркутске эпидемический процесс гепатита А в большей степени регулируется состоянием коллективного иммунитета. В Ангарске же, за счет значительно большего влияния загрязнения окружающей среды как на микроорганизм, так и, прежде всего, на макроорганизм, вступают в действие новые регулирующие факторы развития эпидемического процесса. Можно полагать, что снижение коллективного иммунитета в городе с более высоким уровнем техногенного загрязнения окружающей среды, в конечном итоге, способствует “извращению” циклической составляющей многолетней заболеваемости, которое отмечается как при ОРВИ, так и при ВГА.

Следствием снижения уровня коллективного здоровья детского населения является увеличение ряда сопутствующих соматических заболеваний. В целом был отмечен высокий уровень сопутствующей патологии у детей, проживающих в промышленных центрах. При этом в анамнезе детей из районов с высоким уровнем техногенного загрязнения атмосферного воздуха указания на диагностированные ранее хронические заболевания желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудис-

той системы, ЛОР-органов встречались значительно чаще, чем у детей из районов экологически более благополучных.

Такая же картина наблюдается в отношении аллергической патологии. На момент поступления в стационар признаки аллергических заболеваний, таких как, бронхиальная астма, атопический дерматит, наблюдались у детей в Ангарске в $32,5 \pm 3,8\%$, в Иркутске $25,2 \pm 3,7\%$ случаев. В районах Иркутска с низким уровнем техногенного загрязнения окружающей среды этот показатель составил $17,8 \pm 3,7\%$ случаев. При сравнении частоты встречаемости аллергической патологии у детей г. Ангарска с группой, проживающей в наименее загрязненных районах г. Иркутска $P = 0,012$.

Другим фоновым состоянием, часто встречающимся у детей Ангарска и Иркутска, была анемия. Снижение уровня эритроцитов и гемоглобина отмечалось в Ангарске у половины всех детей раннего возраста (в целом по всем возрастным группам в $29,8 \pm 3,7\%$ случаев). В Иркутске снижение показателей гемоглобина обнаружено в опытной группе у $19,1 \pm 3,4\%$, а в контрольной у $18,7 \pm 3,8\%$. Если при сравнении показателей между Ангарском и Иркутском разница является достоверной ($P < 0,05$), то при сравнении районов Иркутска с разным уровнем техногенного загрязнения повышение количества детей с анемией отмечается на уровне тенденции. Аналогичные данные получены в группе больных ВГА.

Анализируя факты, касающиеся тяжести и течения ОРВИ в районах с разным уровнем техногенного загрязнения окружающей среды можно сделать следующие, приведенные ниже, обобщения.

Общей особенностью является большая длительность заболеваний в загрязненных районах и более тяжелое их течение. Тяжесть заболевания была обусловлена частым развитием синдромов,отягощающих течение ОРВИ, таких как гипертермический и нейротоксический синдромы. Гипертермический синдром, одно из наиболее частых проявлений ОРВИ у детей, присутствовал в $59,5 \pm 4,0\%$ в г. Ангарске и у $45,7 \pm 4,2\%$ в г. Иркутске, что значительно превышает данные литературы – 27% (В.К. Таточенко с соавт., 1981).

Что касается бронхообструктивного синдрома, то отмечено выраженное увеличение его частоты у детей в Ангарске, то есть там, где концентрация загрязняющих веществ в атмосфере была наибольшей. Доля детей раннего возраста с синдромом бронхиальной обструкции в Ангарске превышает соответствующие показатели Иркутска в 2 раза. Среди детей 3-7 лет это превышение составило $349,5\%$. Полагаем, что механизмы этого явления общие и связаны они с алергизирующим и местнораздражающим действием выбросов предприятий нефтехимической промышленности, а так же с их влиянием на реактивность организма. В разных районах города Иркутска, где концентрация загрязняющих веществ различалась менее выражено, достоверного увеличения часто-

ты бронхообструктивных состояний не обнаружено, однако их продолжительность превышала таковую в более благополучных районах почти в 2 раза.

Типичным для детей из промышленных центров является низкая эффективность некоторых препаратов (антипиретиков, спазмолитиков) в обычных возрастных дозировках, что свидетельствует о изменении реактивности вегетативной нервной системы и нарушении ряда метаболических процессов.

Особенностью гемограмм при ОРВИ в Ангарске и в группе из загрязненных районов города Иркутска, является увеличение числа детей, имеющих лейкопению и анемию в анализах крови. К показателям гемограммы, указывающим на тяжесть процесса, можно отнести сдвиг в сторону палочкоядерных нейтрофилов, анэозинофилию и ускорение СОЭ. Все эти показатели в более загрязненных районах были достоверно выше, чем в районах с меньшим уровнем загрязнения атмосферы.

В наших наблюдениях ускоренное СОЭ обнаруживалось в 35-80% случаев, причем отмечалось существенное различие в этом показателе между больными в Иркутске и Ангарске, тогда как в разных районах Иркутска это различие было недостоверным. Здесь, возможно, сказывается влияние не только количественного, но и качественного уровня загрязнителей (продукты нефтехимического производства).

Наиболее частым осложнением ОРВИ, по нашим данным, является поражение бронхов. У больных в Ангарске острые бронхиты наблюдались в 62,5±3,9% случаев (у детей до 3х лет – в 80,0±6,8%). В Иркутске число детей, у которых произошло осложнение ОРВИ бронхитом составило 43,1±4,2 и 48,6±8,8% соответственно ($p < 0,01$).

Поражение ЛОР-органов также являлось частым осложнением ОРВИ у детей, проживающих в условиях экологического неблагополучия. У де-

тей, проживающих в Ангарске, отсутствовала обычная возрастная динамика этих осложнений, т.е. их количество с возрастом не уменьшалось, а напротив, увеличивалось (рис.3). В Иркутске, по нашим данным, отмечалось снижение ЛОР-осложнений с возрастом, однако, в более чистом районе эта динамика имела значительно большую выраженность и у школьников приближалась к данным литературы.

Вторым по частоте осложнением при ОРВИ является поражение мочевыделительной системы. Мочевой синдром выявлен в 50% у детей Ангарска и в 25% у детей из загрязненных районов Иркутска, причем в Ангарске он имел характер протеинурического, а в Иркутске наблюдалось сочетание протеинурии с лейкоцитурией и бактериурией. Высокую частоту протеинурии у детей из Ангарска можно объяснить непосредственным воздействием респираторных вирусов на эндотелий капилляров клубочков в условиях подавления иммунной системы различными техногенными веществами.

Что касается кристаллурии, то она встречалась достоверно чаще у детей из Ангарска и носила с одинаковой частотой уратный, либо оксалатно-кальциевый характер. В Иркутске была выявлена тенденция к учащению кристаллурии у детей из районов города с высоким уровнем загрязнения атмосферы.

Следующим этапом исследований было выявление клинико-лабораторных особенностей вирусного гепатита А у детей, проживающих в условиях техногенного загрязнения окружающей среды.

Полученные нами данные свидетельствуют, что у больных из экологически загрязненных районов, заболевание протекает, в целом, тяжелее, чем у детей из более благоприятных условий. При этом тяжесть заболевания обусловлена выраженными проявлениями, как цитолиза, так и холестаза.

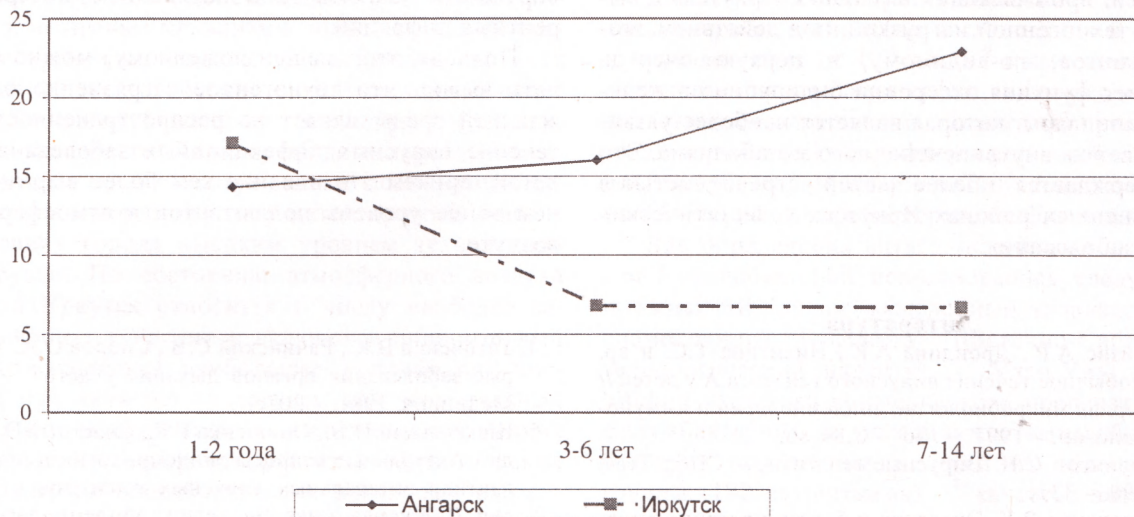


Рис. 3. Частота поражения ЛОР-органов при ОРВИ в разных возрастных группах у детей в Ангарске и Иркутске (в%).

Длительность сохранения гепатомегалии и гиперферментемии при ВГА у детей из городов Ангарска и Иркутска

Показатель	Ангарск	Иркутск	Районы Иркутска с высоким уровнем загрязнения	Районы Иркутска с низким уровнем загрязнения
Длительность повышения АлАТ (сутки)	20,8±1,0	17,4±0,9*	14,3±0,9	10,2±0,5**
Длительность повышения АсАТ (сутки)	20,1±2,5	9,5±0,7**	11,3±0,5	9,6±0,5*
Длительность гипербилирубинемии (сутки)	13,7±2,8	13,9±0,8	15,7±0,6	13,7±0,5*
Гепатомегалия более 30 суток (%)	33,7±4,7	8,7±2,9**	12,5±3,1	3,5±1,7*
Затянувшаяся реконвалесценция (%)	10,9±0,3	1,1±1,4*	1,9±1,0	0,9±0,3

Примечания: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$

Проведенные исследования достоверно доказывают большую выраженность синдрома цитолиза у детей, постоянно подверженных воздействию комплекса экотоксикантов в уровнях, типичных для современного промышленного города, по сравнению с детьми, проживающими в более благоприятных условиях.

Выраженность синдрома холестаза у больных, проживающих в одном городе, выше среди детей из районов с большим уровнем загрязнения окружающей среды. Так, удельный вес больных с холестатической формой заболевания у детей из загрязненных районов Иркутска имел тенденцию к увеличению по сравнению с «чистыми» районами (7,1% и 1,0%) соответственно.

В целом, между больными, проживающими в Ангарске и Иркутске, наибольшее различие выявлено в уровне энзимных тестов, а между группами больных из районов Иркутска с разным уровнем загрязнения – в уровне гипербилирубинемии, при несущественном различии в уровне ферментемии. У детей, проживающих в районах Иркутска с высокой техногенной нагрузкой, под действием экотоксикантов, по-видимому, в первую очередь страдает функция экскреции билирубина в желчные капилляры, которая является наиболее уязвимым звеном внутрипеченочного метаболизма. Это подтверждается и более частой встречаемостью в загрязненных районах Иркутска холестатических форм заболевания.

В Ангарске загрязнение атмосферного воздуха находится на более высоком уровне, кроме того ксенобиотики имеют иной качественный состав. Вероятно, в этом случае процесс повышения проницаемости мембран углубляется до цитолиза печеночной клетки, поэтому маркеры цитолиза по сравнению с более благоприятными районами резко повышены.

Значительный интерес представляет также изучение длительности сохранения маркеров цитолиза гепатоцитов и гепатомегалии. В наших исследованиях отмечена более поздняя нормализация клинических и биохимических показателей у детей из районов с высоким уровнем техногенного загрязнения (табл.1).

У детей из Ангарска, по сравнению с Иркутском, более часто встречается лейкоцитоз в анализах крови и проявления инфекции мочевыводящих путей, что подтверждает данные о более частой, по сравнению с контролем, встречаемости в экологически неблагополучных районах течения вирусного гепатита А с наслоением интеркуррентных инфекций.

Подводя итог вышеизложенному, можно сделать вывод, что техногенное загрязнение окружающей среды влияет на распространенность и течение вирусных инфекционных заболеваний у детей, причем это влияние тем более выражено, чем выше уровень поллютантов в атмосферном воздухе.

Литература

1. Рейзис А.Р., Дрондина А.К., Никитина Т.С. и др. Необычное течение вирусного гепатита А у детей // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1997. – №6. – С.84-86.
2. Соринсон С.Н. Вирусные гепатиты. – СПб.: Теза, 1998. – 331с.
3. Таточенко В.К. Экология и болезни органов дыхания // Экологические и гигиенические проблемы в педиатрии. Материалы III конгресса педиатров России. – М., 1998. – С.147-148.
4. Таточенко В.К., Рачинский С.В., Споров О.А. Острые заболевания органов дыхания у детей. – М.: Медицина, 1981. – 207с.
5. Шахгильдян И.В., Онищенко Г.Г., Счастливый Э.И. и др. Актуальные вопросы эпидемиологии и профилактики энтеральных вирусных гепатитов в России // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1994. – №5. – С.20-25.
6. Шувалова Е.П. Клинико-эпидемиологические аспекты инфекционной патологии (по материалам

© ПОПКОВА С.М., ЦИНДИК Т.Ю., КИЧИГИНА Е.Л., ЛЕЩУК С.И., НЕМЧЕНКО У.Д. –
УДК 616.34

ИММУНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА КИШЕЧНОГО ДИСБАКТЕРИОЗА У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА В ГОРОДЕ С РАЗВИТОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТЬЮ

С.М. Попкова, Т.Ю. Циндик, Е.Л. Кичигина, С.И. Лещук, У.Д. Немченко.

(Россия. Иркутск. Институт эпидемиологии и микробиологии научного центра медицинской экологии ВСНЦ СО РАМН, директор – чл. корр. РАМН проф. В.Ю. Злобин)

Резюме. В работе представлены материалы, отражающие особенности кишечного микробиоценоза у детей раннего возраста из районов города Иркутска с различными гигиеническими характеристиками. Показана тенденция экзогенности кишечного дисбактериоза.

Высказано предположение о том, что наличие в крови новорожденных высоких титров антител против лакто- и бифидобактерий может быть следствием "срыва" иммунологической толерантности к индигенной микрофлоре кишечника.

В последнее время многие исследователи отмечают значительные сдвиги в аутофлоре человека, которые связывают с изменившейся экологической обстановкой среды обитания человека, в особенности, с высоким уровнем техногенной нагрузки [9,14,15]. По данным современных исследователей, распространенность среди населения дисбактериоза можно оценить цифрами в 70-90%. Благополучие кишечника человека закладывается с момента рождения ребенка, когда начинает осуществляться сукцессия человека нормальной микрофлорой, и которая должна физиологично завершиться к 6-месячному возрасту ребенка. *Экстракорпоральный* орган, как образно называют некоторые исследователи симбиотическую систему представителей нормальной микрофлоры кишечника, (в основном это бифидо- и лактобактерии) [1,6] – это, действительно уникальная система, интимные механизмы которой в общей системе организма еще не до конца изучены, хотя понятно, что устойчивость этой системы зависит от того, какой "потенциал" она получит в младенческом возрасте. Поэтому представлялось целесообразным оценить современные особенности кишечного микробиоценоза у детей проживающих в условиях города высоким уровнем техногенной нагрузки. По состоянию атмосферного воздуха город Иркутск относится к числу наиболее загрязненных в России и включен в приоритетный список городов с наибольшим уровнем загрязнения, что является следствием как значительных выбросов от промышленных предприятий, мелких котельных и автотранспорта, так и климатических условий, не способствующих активному рассеиванию в атмосфере загрязняющих веществ [4].

Цель исследования: изучение распространенности, микробного пейзажа и некоторых иммуно-

логических аспектов кишечных дисбактериозов у детей в городе с высоким уровнем техногенного загрязнения.

Материалы и методы

Эпидемиологические: использовались амбулаторные карты детей раннего возраста, проживающих в разных районах г. Иркутска и обслуживаемых разными поликлиниками (всего около 250 детей). Применялись стандартные эпидемиологостатистические методы исследования.

Микробиологические: исследовали образцы кала детей от 0 до 5 лет, проживающих в г. Иркутске и имеющих предварительный диагноз "дисбактериоз". Всего обследовано около 800 детей имеющих в анамнезе дисфункцию кишечника, диатез, аллергию.

Для оценки колонизации кишечника проводились микробиологические исследования в серийных разведениях от 10^{-1} до 10^{-9} с высевом на селективные питательные среды, включающие количественное определение облигатных представителей нормальной микрофлоры кишечника (бифидо-, лактобактерии, эшерихии) и условно-патогенных бактерий (энтеробактерии, стафилококки).

Для определения антагонистической активности бифидобактерий использовались следующие штаммы: Bif. longum, выделенный из закваски кислоломочного "Бифивита" (Восточно-Сибирский технологический институт, г. Улан-Удэ) и Bif. bifidum из сухого коммерческого препарата "Бифидумбактерин", а также аутоштаммы бифидобактерий выделенные у детей из обследуемой группы (182 аутоштамма). В качестве антагонистической "мишени" были взяты эталонные штаммы условно-патогенных микроорганизмов St. aureus 209 и энтеропатогенная кишечная па-

лочка (ЭПК-028(57)), а также аутоштаммы условно-патогенных микроорганизмов (УПМ). Антагонистическая активность определялась на средах: полужидкая среда Блаурока и с 2% агаром, МРС-5, МПА, ЖСА. Результаты учитывались по наличию зоны задержки роста исследуемых и тестовых культур.

Иммунологические: серологически исследовано на наличие бактериальных антител к бифидо- и лактобактериям 152 образца сыворотки крови, взятых у новорожденных детей из пуповинной крови и одновременно у рожениц. Антитела определялись с помощью иммунодиагностикумов, полученных в лабораторных условиях. Конструирование диагностикумов с сенсибилизацией формализированных эритроцитов барана антигенами бифидо- и лактобактерий проводилось на основе РПГА [1]. Высокая специфичность, чувствительность, возможность автоматизации учета, а также перспективность использования этой реакции в массовых исследованиях и в научной работе убедительно показана исследованиями Б.В. Каральника [5].

Результаты и обсуждение

Изучалась распространенность кишечных дисбактериозов среди детей раннего возраста, проживающих в разных районах г. Иркутска и, по данным гигиенических исследований, имеющих различный уровень техногенной нагрузки [4].

При анализе материала вполне логичным оказалось, что основной “вклад” в общую сумму дисбактериозов осуществляют крупные родильные дома (ЦРД – 22-24%) по сравнению с небольшими (МСЧ – 1-3%), в независимости от места проживания. Сезонная динамика частоты регистрируемых кишечных дисбактериозов у детей в сравниваемых районах города была различна. При практически равных летних показателях (21% – в “чистом” районе и 19% – в “грязном”) зимние показатели частоты этого явления среди детей значительно различались: в “чистом” районе – 4%, в “грязном” – 18%.

Исходя из того, что некоторые исследователи отмечали более позднее становление полноценного микробиоценоза в современных условиях, чем это было в более “экологичные” времена [1], мы проанализировали динамику распространенности кишечного дисбактериоза у детей от рождения до 12 мес., распределив данные также по районам города. Как и ожидалось, основной пик частоты попадал на первые 3 месяца жизни, к 8-месячному возрасту происходило довольно резкое снижение, после которого уже почти на одном уровне частота дисбактериозов держалась до 12 мес.

Резюмируя эти наблюдения, можно отметить: во-первых, прослеживается тенденция экогенности кишечного дисбактериоза у детей, проживающих в районах города с разным уровнем техногенного загрязнения; во-вторых, полагаем, что в современных условиях полноценное становле-

ние микробиоценоза кишечника у детей происходит в более поздние сроки, и в условиях промышленного города этот период соотносится с 8-месячным возрастом ребенка.

Микробиологический пейзаж при кишечном дисбактериозе у детей, проживающих в городе с высоким уровнем техногенного загрязнения. Оценка результатов бактериологических исследований основывалась на современных представлениях о физиологических соотношениях различных видов нормальной микрофлоры кишечника [10]. Все обследуемые дети по степеням дисбактериоза (D1-D4) разделились таким образом (табл. 1), что с эубиозом (физиологическим составом микрофлоры – норма) оказалось всего 8% детей. Наибольший удельный вес составили дети с дисбактериозом 3-й степени (около 52%), т.е. с дефицитом “дружественной” микрофлоры и наличием условно-патогенной микрофлоры (УПМ).

Таблица 1.
Соотношение различных степеней дисбактериоза среди обследованных детей г. Иркутска

Степень дисбактериоза	% случаев (M±m)
D1	12,09±2,42
D2	15,38±2,76
D3	51,65±3,70
D4	12,64±2,46
Эубиоз кишечника	8,24±2,04

Дальнейший анализ материала, показал, что при количественном содержании бифидофлоры ниже нормы ($lg\text{ КОЕ}/г < 8$) наличие УПМ в значимых количествах выявлялось в 62% (*St. aureus*) случаев и в 59% (аномальной *E. coli*). При оптимальном же численном содержании бифидофлоры ($lg\text{ КОЕ}/г \geq 8$) содержание *St. aureus* в этиологически значимых количествах регистрировался в 38% случаев, а аномальной *E. coli* – 40%. Таким образом, наблюдалась зависимость между уровнем обсемененности энтеробактериями, *St. aureus*, аномальной кишечной палочкой и содержанием бифидофлоры в кишечнике детей. Еще раз подтверждается тенденция, отмеченная многочисленными исследованиями о нормализующем влиянии бифидобактерий на микробиоценоз.

Обращал на себя внимание высокий процент детей (около 40%), у которых при нормальном количественном содержании бифидобактерий выделялась УПМ в диагностически значимом количестве. Поэтому особый интерес представляла оценка антагонистических свойств аутоштаммов бифидобактерий по отношению к УПМ.

Как видим (табл.2), из 182 аутоштаммов бифидобактерий только 1% обладал высокой антагонистической активностью по отношению к эталонному штамму *St. aureus* 209 (зона задержки роста от 10мм и выше).

Таблица 2.

Антагонистические свойства аутоштаммов бифидобактерий к УПМ *

Культура	зона задержки роста (мм)**			
	0	0-5	5-10	10 и выше
St.aureus 209	16	114	50	2
ЭПК028	12	90	79	1
аутоштамм УПМ	18	136	26	2

Примечания: * – исследовано 182 аутоштамма; ** – согласно инструкции по оценке антагонистических свойств производственного штамма Bif. bifidum, задержка роста должна быть не менее 10 мм.

Если же сравнивать данные в двух правых колонках, по зонам задержки роста от 5 мм и выше, то можно заметить, что общий процент аутоштаммов бифидобактерий со средними и высокими антагонистическими свойствами по отношению к одному из аутоштаммов УПМ значительно ниже (около 15%) аналогичного показателя по отношению к эталонному штамму St. aureus (около 28%). Таким образом, показано, что у большинства детей раннего возраста (51,6%) с такими симптомами в анамнезе, как неустойчивость стула, диатез, микробиологически отмечался кишечный дисбактериоз 3-й степени (D3); только у 8% из них состояние кишечника по микробиологическим характеристикам можно было оценить как эубиоз. Почти 90% аутоштаммов бифидобактерий обладали низкой антагонистической активностью по отношению к УПМ.

Некоторые иммунологические аспекты кишечных дисбактериозов (в порядке дискуссии). Несмотря на многочисленные исследования проблем микробиоценозов человека, многие механизмы, лежащие в основе наблюдаемых взаимоотношений между симбионтной микрофлорой и организмом человека, остаются по-прежнему нераскрытыми. Особенно это касается организма ребенка, поскольку весь физиологичный микробный потенциал закладывается в первые мгновения жизни. Изучение микробной экологии человека в норме и патологии в настоящее время предусматривает необходимость принципиально новых подходов к изучению взаимосвязи между антигенными стимулами микробных экосистем и регуляцией ими динамического равновесия иммунного гомеостаза.

Исследования, посвященные проблеме кишечных микробиоценозов, как правило, мало затрагивают сторону интимных отношений симбионтной микрофлоры кишечника с иммунной системой макроорганизма. В сформулированной нами ранее концепции этой проблемы [12], мы говорили, что в основе нарушений взаимоотношений между макроорганизмом и его симбионтной микрофлорой, может быть причина, связанная с нарушением механизма *толерантности* иммунной системы

организма по отношению к доминантным представителям *симбионтной микрофлоры* (в основном – к бифидо- и лактобактериям). Некоторые исследователи косвенно касались этой стороны проблемы [1,2], но ясности до сих пор нет. Аналогично можно провести и с рядом работ по изучению антиэндотоксического иммунитета, где подчеркивается, что для приведения “иммунной системы в рабочее состояние определяющую роль играют дозы и качество антигенов” [13,20]. Возникает вопрос, почему в одних случаях иммунная система по отношению к микроорганизмам “работает по правилам” (синтез антител), в других – терпима (толерантность). Речь идет о достаточном высоких содержаниях антител в крови, которые способны ощутимо влиять на микроорганизмы.

В работе стояла задача оценить содержание антител к общим антигенам доминантной микрофлоры кишечника, бифидо- и лактобактериям, в крови у новорожденных детей и их матерей с тем, чтобы в дальнейшем проследить в динамике становление у детей микробиоценоза кишечника. Всего было исследовано 152 сыворотки новорожденных на наличие у них нормальных антител к бифидо-, лактобактериям: из них 40 пар сывороток взято одновременно у новорожденных (пуповинная кровь) и их матерей. В РПГА с помощью эритроцитарных диагностикумов выявлен широкий диапазон содержания антител ко всем изучаемым бактериальным антигенам: от 0 до 1:512. Около 10% исследованных сывороток крови имели высокие титры нормальных антител к определяемым антигенам.

Особенно интересным оказалось наблюдение, которому мы пока не готовы дать полноценного объяснения. При анализе содержания антител в парных сыворотках, мать – новорожденный (рис.1), прослеживалась определенная закономерность: у матерей с низкими и средними титрами антител к лакто- и бифидобактериям (1-4 лог. ед. с шагом разведения –2) родились дети с высокими для нормальных антител титрами (7-6 лог. ед.); от матерей со средними либо высокими титрами антител – дети с близкими к таковым матери.

И если последние данные – более-менее логичны, то почему в первом случае у детей содержание антител в пуповинной крови выше, чем у матери – не совсем ясно. Хотя возможно и оттолкнуться от работы Л.И. Райхера (1998), где интерпретируется наблюдение М.Т. Magistrus (1987), о том, что антибактериальная активность мононуклеаров новорожденного по отношению к сальмонеллам оказалась выше, чем у взрослого донора. Предлагаются объяснение, что трансформированные каким-то образом клетками матери антигенные субстанции, попадающие через плаценту, могут непосредственно активировать лимфоидные клетки ребенка.

Естественно, что эти исследования требуют продолжения, также будут продолжены наблюдения за становлением микробиоценоза у детей, имеющих при рождении высокие титры противо-



Рис.1. Уровень антител к лактобактериям в крови новорожденных в зависимости от их содержания у матери (в РПГА)

микробных антител к антигенам симбионтной микрофлоры.

С тенденцией неуклонного роста кишечных дисбактериозов, особенно у детей, естественным параллельным курсом возрастает практика их комплексной профилактики и коррекции [3,7,11]. Следует отметить, что отношение специалистов к применению так называемых пробиотиков в комплексной терапии кишечных дисбактериозов неоднозначно. Существуют полярные мнения на этот счет: от одобрения до полного отрицания [7, 8,9,15,17]. Свяzano это, скорее всего с неполным пониманием того, как ведут себя эубиотики в кишечнике, неясен их механизм действия. Есть наблюдения об адгезии в кишечнике используемых микробов-эубиотиков после курса лечения [3].

Однако, другие авторы считают, что искусственного заселения штаммами микробов-эубиотиков не происходит: после прекращения курса лечения они постепенно "вымываются" из организма [8]. С автором последнего мнения можно согласиться, поскольку в ряде экспериментальных исследованиях с помощью плазмидного профилирования лактобактерий новорожденных поросят и самки показано, что на сайты слизистого эпителия кишечника садятся строго генетически детерминированные к ним плазмидные типы лактобактерий. При этом доминантным плазмидным вариантом у новорожденных является один из материнских вариантов, но не тот, который преобладал у нее [19]. Таким образом, становится объяснима невозможность полноценной адгезии чужеродного штамма бактерий-эубиотиков.

Кроме того, предполагаем, возможен, и другой механизм частичного отторжения своих штаммов, аутоштаммов. Мы полагаем, что если при рождении не произошло полноценного физиологического заселения кишечника ребенка достаточным количеством "дружественной" микрофлоры, иммунная система тут же реагирует на это не развитием иммунологической толерантности. И в таком случае обычные способы коррекции не приводят к заселению кишечника полноценной дружественной микрофлорой, поскольку иммунная система будет

естественным образом реагировать на них, путем выработки антител. В пользу последнего утверждения, есть достаточное количество исследований, касающихся воздействия сывороточных антител на *E. coli*, в том числе и предложения по поводу разработок антиадгезивных вакцин [16,18]. Подобная иммунологическая оценка состояния макроорганизма при устойчивом кишечном дисбактериозе объясняет такую эмпирически подобранную профилактику кишечного дисбактериоза, как насыщение материнского организма микробами-эубиотиками вплоть до родов и в первые дни после родов (особенно в тех случаях, когда у матери имеется риск развития дисбактериоза). Тогда организм новорожденного в первые дни после рождения, когда можно развить иммунологическую толерантность, столкнется с достаточным количеством генетически чужеродной информации в "виде" дружелюбно кишечной микрофлоры, что повлечет за собой становление полноценного микробиоценоза.

Выводы:

- Выявлена тенденция экогенности кишечного дисбактериоза у детей, проживающих в районах города с различными гигиеническими характеристиками и обслуживаемых отдельными детскими поликлиниками;
- Установлено, что в современных условиях при проживании в крупном промышленном городе становление физиологического микробиоценоза кишечника у детей происходит к 8-месячному возрасту;
- У детей с дисфункцией кишечника микробиологически выявлен высокий уровень дисбактериозов 3-й и 4-й степени (более 60%);
- У 9-ти из 10-ти обследуемых детей аутоштаммы бифидобактерий имели низкую антагонистическую активность к условно-патогенной микрофлоре кишечника;
- Установлено отсутствие прямой зависимости между уровнями общих антител к бифидо- и лактобактериям в крови новорожденных и их матерей.

Литература

1. Бочков И.А., Овчарова Н.М. Бактериальная колонизация и сукцессия у новорожденных детей в аспекте проблемы госпитальных инфекций // Журнал микроб. – 1991. – №8. – С.71-74.
2. Вершинина В.И. Характеристика общих антигенов некоторых представителей микрофлоры кишечника человека (бифидобактерии, энтерококки, энтеробактерии) // Автореферат канд. Дисс. – 1982. – С.21.
3. Горбунова М.Л., Дрозд Т.Е., Ковальчук В.К. и др. Адгезивные и колонизирующие свойства *Aerococcus viridans* // Журн. микробиол. – 1991. – №9. – С.9-13.
4. Государственный доклад “О состоянии окружающей природной среды Иркутской области в 1988 г.” – Иркутск. – 1999. – 303с.
5. Каральник Б.Г. Эритроцитарные реагенты в клинической иммунологии // Иммунология. – 1995. – №3. – С.4-6.
6. Лыкова Е.А., Бондаренко В.М., Щачин Ю.А. и др. // Журн. микроб. – 1996. – №2. – С.88-91.
7. Лыкова Е.А., Бондаренко В.М., Сидоренко С.В. и др. Сочетанная антибактериальная терапия и пробиотическая терапия хеликобактерассоциированных заболеваний у детей // Журн. микроб. – 1999. – №2. – С.76-81.
8. Маянский А.Н. Дисбактериоз: иллюзии и реальность. Дискуссии // Интернет. – 2000. – №599.
9. Мухина Ю.Г. Диагностика и коррекция дисбактериоза у детей // Рус. мед. журн., 1999. – №11. – С.487-494.
10. Наумова О.В., Белова Е.Г., Хабазова Т.Н. Аутофлора человека в норме и патологии и ее коррекция // Горький. – 1988.
11. Нечисляев В.А. Пробиотики: ретроспектива, проблемы и достижения научно-производственной практики НПО “Биомед” // Журн. микроб. – 1998. – №2. – С.100-102.
12. Попкова С.М. Иммуно-экологическая концепция развития кишечных дисбактериозов. – Журн. инфекц. патологии. – 1991. – №1. – С.
13. Райхер Л.И. Антиэндоксический иммунитет, формирование, функции и детекция // Журн. микроб. – 1998. – №2. – С.9-12.
14. Хергет Х.Ф., Летцель Х., Петров Р.О. Комплексная терапия дисбактериозов // Журн. эпидемиологии и инфекц. болезней, 1997. – №6. – С.51-55.
15. Черненко Ю.В. Проблемы лечения дисбактериозов у детей, проживающих в экологически неблагоприятных зонах // Тез. науч.-практ. конф. Дисбактериозы и эубиотики. – М. – 1966.
16. Чхаидзе И.Г., Лихоед В.Г., Лихоед Н.В. и др. Корректирующее действие антител при экспериментальном кишечном дисбактериозе // Журн. микробиол. – 1998. – С.12-14.
17. Hamilton-Miller J.M. Living in the post-antibiotic era: could the of probiotics be effectiv strategy? // 1997. – Vol.3 – N.1. – P.2-4.
18. Labro M.T. Immunopathology of respiratory infections // Clinical Microbiology and infection-1997. – Vol.4. – N.2. – P.251-257.
19. Tannock G.W., Fuller R., Pedersen K. Lactobacillus succession in the piglet digestive tract demonstrated by plasmid profiling // Applied and enviromental microbiology. – 1999. – P.1310-1316.
20. Stekers G., Prienne-Ansart H., Eljafari-Corbin A., Annjert I. // Med. Sci. – 1993. – Vol.9. – N.3. – P.307-315.
21. Лещук С.И., Попкова С.М., Шмелева Е.А. Способ приготовления эритроцитарного иммунодиагностикума и способ оценки иммунорезистентности организма. – АС №96114922 от 23.07.96.

© ИЛЬИНА С.В., КИКЛЕВИЧ В.Т., САВИЛОВ Е.Д. –
УДК 616.9

ИММУННЫЙ ОТВЕТ ПРИ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЯХ У ДЕТЕЙ, ПРОТЕКАЮЩИХ НА ФОНЕ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

С.В. Ильина, В.Т. Киклевич, Е.Д. Савилов.

(Россия. Иркутск. Государственный медицинский университет, ректор – акад. МТА и АН ВШ А.А. Майборода, Институт эпидемиологии и микробиологии научного центра медицинской экологии ВСНЦ СО РАМН, директор – чл. корр. РАМН проф. В.Ю. Злобин)

Резюме. Авторами было проведено изучение иммунного ответа при ОРВИ у детей, проживающих в крупных промышленных центрах Восточной Сибири – городах Иркутске и Ангарске. Всего было обследовано 98 больных, статистическая обработка материала проводилась с помощью итерационного кластерного анализа.

При исследовании иммунограмм детей из районов Иркутска с различным уровнем техногенного загрязнения атмосферного воздуха в период развернутой клинической картины ОРВИ получено 2 разных типа иммунного ответа. Первый тип выявлялся у жителей районов с менее интенсивным уровнем техногенного загрязнения и характеризовался высоким уровнем Т-лимфоцитов, их хелперной и супрессорно-киллерной субпопуляции, а так же натуральных киллеров. Показатели гуморального иммунитета – количество В-лимфоцитов и иммуноглобулинов, были достаточно высоки. Второй тип иммунного ответа встречался, в основном, в экологически неблагополучных районах и характеризовался уменьшением количества тотальных и акти-

вированных Т-лимфоцитов, их супрессорно-киллерной и хелперной субпопуляции, уменьшением количества НК-клеток. Показатели гуморального иммунитета (уровень В-лимфоцитов и иммуноглобулинов) также был снижен по сравнению с детьми из более благополучных районов. Это угнетение иммунной реакции отмечалось как у детей из экологически неблагополучных районов города Иркутска, так и у детей из города Ангарска.

В литературе имеется достаточное количество экспериментальных исследований, выявляющих влияние техногенных загрязнителей на иммунную систему (J.F. Albright, R.A. Goldstein, 1996; В.П. Вавилова с соавт., 1998).

Некоторые авторы считают, что изменение клинической симптоматики респираторных заболеваний, ассоциированное с атмосферным загрязнением, может быть связано не столько с повреждающим действием загрязнителя на дыхательный эпителий, сколько с угнетением местных факторов защиты (М.К. Selgrade, 1997). Так в эксперименте было показано снижение продукции интерлейкина 2 альвеолярным эпителием, зараженным респираторно-синцитиальным вирусом, при воздействии на него NO₂. (S. Becker, J.M. Soukup, 1999).

Материалы и методы

Нами было проведено изучение иммунного ответа детей, госпитализированных с диагнозом "острая респираторная вирусная инфекция", которые проживали в двух крупных городах Восточной Сибири – городах Иркутске и Ангарске. Среди ведущих загрязнителей Ангарска следует назвать углеводороды, амины, оксид углерода, пыль, сероводород, фенолы, фториды, бенз(а)пирен, диоксид азота, аммиак, нитрозамины и другие. Основными источниками загрязнения атмосферного воздуха города являются предприятия нефтехимической промышленности.

Город Иркутск, так же как и Ангарск, входит в список городов Российской Федерации с наибольшим уровнем загрязнения атмосферного воздуха. Основными источниками этого загрязнения являются предприятия теплоэнергетики и автотранспорт. Ведущие загрязнители атмосферного воздуха в Иркутске: твердые частицы (пыль), диоксид серы, оксид углерода, оксиды азота, углеводороды, бензин, толуол, аммиак, фтористые соединения, ксилон, ацетон.

Суммарный уровень загрязняющих веществ в Ангарске превышает таковой в Иркутске в 2,5-3 раза. В свою очередь, на территории Иркутска загрязняющие вещества в атмосферном воздухе распределены неравномерно, т.е. имеются районы с высоким и низким уровнем загрязнения.

Всего было обследовано 98 детей, из них 76 постоянно проживали в г. Иркутске и 22 – в г. Ангарске. Кровь для исследования забирали в период разгара ОРВИ (на 4-6 день от начала заболевания).

Тесты, использованные для оценки иммунного ответа больных ОРВИ, включали в себя опреде-

ление следующих показателей: абсолютное количество лейкоцитов, эозинофилов, нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, определение количественного состава Т-, В- и О-лимфоцитов, супопуляций Т-клеток (методы Е- и ЕАС-розеткообразования, определение теофилинчувствительных и теофилинрезистентных лимфоцитов в тесте Е-РОК); определение содержания иммуноглобулинов М, G и А методом иммуноферментного анализа; определение комплементарной активности сыворотки, определение фагоцитарной активности нейтрофилов и степени завершенности фагоцитоза (НСТ-тест); определение концентрации иммунных комплексов. Кроме того, у детей из Иркутска проводилось определение супопуляций Т-лимфоцитов методом моноклональных антител. В качестве нормативов были использованы показатели, установленные для детей Иркутской области (Б.В. Городиский, 1996).

Статистическая обработка материала проводилась с помощью итерационного кластерного анализа. Этот метод применен в связи с тем, что число наблюдений было ограничено, а количество изучаемых признаков – велико. Для группировки данных использовался метод Мак-Кина (k-средних). Переменные представляли собой показатели, входящие в иммунограммы 1 и 2 уровня (всего 52 показателя).

Результаты и обсуждение

При использовании для кластеризации всех переменных без исключения и заданном числе кластеров (k=2) были получены неравнозначные группы больных. Первая группа включала 21 ребенка и состояла на 95,2% из детей, проживающих в экологически более благополучных районах города Иркутска. Во 2 группу объединились 55 детей, из них в 89,1% случаев дети проживали в экологически загрязненных районах г. Иркутска и 10,9% – в более "чистых". Основное различие между группами заключалось в количестве клеток с рецепторами CD₄, CD₈, 3F₃, CD₁₆, при этом отмечалось достоверное снижение этих клеток у больных из районов с высоким уровнем техногенного загрязнения атмосферного воздуха.

При кластеризации с использованием выборочных показателей были получены результаты разбивки на кластеры аналогичные предыдущему исследованию. Так, при использовании в качестве переменных показателей супопуляций лимфоцитов с отдельными дифференцировочными антигенами и при заданном числе кластеров (k=2), совокупность случаев разделилась на группы таким образом, что состав этих групп оказался практи-

чески идентичными описанному ранее. Первый кластер (n=54) включал в себя иммунограммы детей, проживающих на большинстве загрязненных территорий г. Иркутска. Дети из относительно "чистых" районов города составили в этой группе только 18,5%. Во второй кластер (n=22) объединились иммунограммы детей из относительно "чистых" районов города. Удельный вес детей из загрязненных районов составил в этой группе лишь 9,1%. Кластерные средние и уровень значимости (P) представлены в таблице 1.

Анализ приведенных данных свидетельствует, что для загрязненных районов в целом характерны более низкие уровни В-лимфоцитов, Т-лимфоцитов и их хелперной и супрессорно-киллерной субпопуляций, а так же естественных клеток-киллеров по сравнению с районами, где техногенная нагрузка менее значительна. Для больных из районов с относительно невысоким уровнем техногенного загрязнения атмосферного воздуха в период разгара ОРВИ характерно повышение всех вышеперечисленных показателей (до верхней границы региональной нормы или несколько выше нормы). При этом достоверного различия в величине иммунорегуляторного индекса (ИРИ) в чистых и грязных районах обнаружено не было. В среднем по г. Иркутску в период разгара ОРВИ отмечается достаточно низкий уровень ИРИ ($1,2 \pm 0,1$).

Таблица 1.
Кластерные средние значения субпопуляций Т-лимфоцитов

Показатель	Кластер 1	Кластер 2	P
CD ₃ %	52,5	78,2	0,000
CD ₃	2,0	3,2	0,001
CD ₄ %	36,2	66,2	0,000
CD ₄	1,4	3,1	0,000
CD ₈ %	37,9	61,1	0,000
CD ₈	1,5	2,6	0,001
3F ₃ %	32,5	49,6	0,000
3F ₃	1,4	2,3	0,010
CD ₁₆ %	21,4	40,7	0,000
CD ₁₆	0,8	1,6	0,001
HLA_DR%	51,8	64,8	0,005
HLA_DR	2,1	2,6	0,2 (Н.Д.)

При анализе с использованием в качестве переменных показателей иммуноглобулинов и заданном k=2 были получены следующие группы больных:

- 1 кластер: дети из районов с высоким уровнем техногенного загрязнения составили 88,2%, из "чистых" районов – 12,8%
- 2 кластер: дети из экологически благополучных районов города составили 87,5%, из загрязненных районов – 12,5%.

Средние уровни иммуноглобулинов в данных группах представлены в таблице 2.

Таблица 2.
Кластерных средние значения уровней иммуноглобулинов (г/л)

Показатель	Кластер 1	Кластер 2	P
IgA	1,0	1,9	0,002
IgM	1,9	1,8	0,650 (Н.Д.)
IgG	10,1	19,3	0,000

Таким образом, можно видеть, что больные из экологически загрязненных районов города характеризуются достоверным снижением уровней IgA и IgG. Достоверной разницы в уровнях IgM выявлено не было.

Что касается фагоцитоза, то при кластеризации с k=2, k=3 и при использовании в качестве переменных показателей фагоцитоза, отчетливой разницы между детьми из "чистых" и "грязных" районов не выявлено. При k=4 были выявлены 2 группы больных (2 и 7 случаев), состоящих исключительно из детей, проживающих в "чистых" районах. Среднее значение фагоцитарного индекса составило 9,5 и 7,4. Другие 2 группы больных (29 и 35 случаев) включали в себя как детей из "грязных" районов, так и детей из экологически более чистых. Средние значения фагоцитарного индекса в них составили 5,6 и 6,2 соответственно, т.е. были более низкими. Уровень значимости нулевой гипотезы в данном случае составил 0,2, т.е. различия между группами были недостоверными. Однако при расширении числа переменных с использованием данных НСТ-теста спонтанного и индуцированного, был выделен кластер, с высокими показателями фагоцитоза, включающий только больных из чистых районов и практически совпадающий по выборке случаев с кластерами 1 и 2 из предыдущего исследования. Таким образом, кластер можно считать устойчивым, что говорит о четко выраженной тенденции к уменьшению показателей фагоцитоза в экологически более загрязненных районах. Расстояние между кластером, где были собраны только дети из "чистых" районов, и двумя другими, разнородными по составу, было в 2 раза больше, чем расстояние между последними.

Проведение сравнительного анализа иммунного ответа при ОРВИ в городах Иркутске и Ангарске было затруднено, в связи с тем, что для определения клеточных популяций и субпопуляций Т-лимфоцитов применялись разные методы, и, в связи с этим, сравнение средних значений абсолютных величин не представлялось возможным. По этой причине было проведено сравнение удельного веса различных изменений в иммунном статусе, касающихся клеточного ответа (табл.3).

Таким образом, можно видеть, что высокостатистическое различие обнаруживается, в основном, в отношении супрессорно-киллерной субпопуляции Т-лимфоцитов. У детей из г. Ангарска, по сравнению с г. Иркутском, отмечается снижение числа

больных с высоким содержанием в периферической крови этих клеток. Типичный для ОРВИ лимфоцитоз так же чаще наблюдается у детей из Иркутска. Повышение содержания О-лимфоцитов чаще встречается у детей из г. Иркутска, в г. Ангарске этот показатель не повышался выше нормы ни в одном случае. Кроме того, отмечается тенденция к снижению фагоцитарного индекса у детей в г. Ангарске, более выраженная, чем у детей в г. Иркутске.

Таблица 3
Клеточный иммунный ответ в периоде разгара ОРВИ в городах Ангарске и Иркутске (в %)

Параметры	Показатели иммунитета		
	Ангарск	Иркутск	Р
Лимфоцитоз	9,1±5,7	48,8±5,7	P<0,001
Лимфопения	13,6±7,3	3,9±2,2	Н.Д.
Повышение Т-лимфоцитов	31,8±9,9	36,8±5,5	Н.Д.
Повышение О-лимфоцитов	0	17,1±4,3	P<0,001
Повышение Т-хелперов	31,8±9,9	32,9±6,8	Н.Д.
Снижение Т-хелперов	9,1±5,7	10,5±3,5	Н.Д.
Повышение супрессорно-киллерной субпопуляции	9,1±5,7	51,3±5,7	P<0,001
Снижение супрессорно-киллерной субпопуляции	72,7±9,5	2,6±1,8	P<0,001
Снижение фагоцитарного индекса	40,9±10,5	19,7±4,6	Н.Д.

При сравнении гуморального ответа детей в городах Иркутске и Ангарске были выявлены следующие особенности (табл.4)

Таблица 4
Гуморальный иммунитет в остром периоде ОРВИ

Иммуноглобулины	Показатели иммуноглобулинов		
	Ангарск	Иркутск	Р
IgA (г/л)	1,40±0,17	1,40±0,14	Н.Д.
IgM (г/л)	1,20±0,21	1,88±0,14	P=0,018
IgG (г/л)	7,18±0,53	13,05±0,61	P=0,001

Анализируя данные таблицы, можно видеть высокостатистически достоверное снижение количества иммуноглобулинов классов М и G у детей г. Ангарска. По уровню иммуноглобулина А такого снижения отмечено не было. С этими данными сопоставимы данные о более низком уровне В-лимфоцитов у

детей г. Ангарска. Удельный вес больных, у которых в период разгара ОРВИ отмечено повышение В-лимфоцитов выше нормы в г. Иркутске составил 55,3±5,7%, а в г. Ангарске у всех больных В-лимфоциты находились в пределах нормы или даже были несколько снижены (P<0,001).

Таким образом, у детей, проживающих на территориях с различным уровнем техногенного загрязнения атмосферного воздуха, в период развернутой клинической картины ОРВИ получено 2 разных типа иммунного ответа.

Первый тип, характерный для жителей районов с менее интенсивным уровнем техногенного загрязнения, по существу, являлся нормальным иммунным ответом в стадии развернутой клинической картины ОРВИ, описанным в литературе (В.К. Таточенко, 1981). Для этого типа иммунного ответа был характерен высокий уровень Т-лимфоцитов, их хелперной и супрессорно-киллерной субпопуляции, количество натуральных киллеров. Показатели гуморального иммунитета – количество В-лимфоцитов и иммуноглобулинов так же были достаточно высоки.

Второй тип иммунного ответа встречался, в основном, в экологически неблагоприятных районах и характеризовался уменьшением количества тотальных и активированных Т-лимфоцитов, их супрессорно-киллерной и хелперной субпопуляции, уменьшением количества НК-клеток. Показатели гуморального иммунитета (уровень В-лимфоцитов и иммуноглобулинов) также был снижен по сравнению с детьми из более благополучных районов. Это угнетение иммунной реакции отмечалось как у детей из большинства районов г. Иркутска, так и у детей из Ангарска. Поскольку социально-экономические факторы жизни детей из Ангарска и Иркутска примерно одинаковы, эту особенность можно объяснить комплексным воздействием ряда ксенобиотиков. В прогностическом плане важно, что при наличии клинической картины воспаления нормальный уровень О-, Т- и В-клеток является неблагоприятным признаком и указывает на возможность более тяжелого течения заболевания с развитием осложнений.

Следует также отметить, что большинство авторов рассматривают эти случаи как прямое показание для назначения иммуномодуляторов (К.А. Лебедев, И.Д. Понякина, 1990).

При рассмотрении отдельно гуморального иммунного ответа можно видеть, что при равном снижении В-лимфоцитов в Ангарске и загрязненных районах г. Иркутска, в последнем более выражено снижение иммуноглобулинов классов А и G, тогда как в Ангарске преимущественно снижены G и М-иммуноглобулины. Возможно, этот факт объясняется разным составом поллютантов в исследуемых городах, и, соответственно, различным воздействием их на организм ребенка.

Литература

1. Вавилова В.П., Черных Н.С., Перевощикова Н.К. Профилактика нарушений местных факторов защиты у детей в экологически неблагоприятных условиях // Экологические и гигиенические проблемы педиатрии. Материалы III конгресса педиатров России. – М., 1998. – С.65.
2. Городиский Б.В. Референтные величины показателей иммунного статуса у детей Иркутской области. Метод. рекомендации. – Иркутск, 1996. – 13с.
3. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунограмма в клинической практике. – М.: Медицина, 1990. – 223с.
4. Таточенко В.К., Рачинский С.В., Споров О.А. Острые заболевания органов дыхания у детей. – М.: Медицина, 1981. – 207с.
5. Albright J.F., Goldstein R.A. Airborne pollutants and the immune system // Otolaryngol Head Neck Surg. – 1996. – Vol.114, №2. – P.232-38.
6. Becker S., Soukup J.M. Effect of nitrogen dioxide on respiratory viral infection in airway epithelial cells // Environ Res. – 1999. – Vol.81, №2. – P. 59-166.
7. Selgrade M.K., Lawrence D.A., Ullrich S.E. et al. Modulation of T-helper cell populations: potential mechanisms of respiratory hypersensitivity and immune suppression // Toxicol Appl Pharmacol. – 1997. – Vol.145. – P. 28-229.

© САВИЛОВ Е.Д. –
УДК 616.9

ОБОСНОВАНИЕ ОПТИМАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ДЛЯ УПРАВЛЕНИЯ ИНФЕКЦИОННОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬЮ

Е.Д. Савилов.

(Россия. Иркутск. Институт эпидемиологии и микробиологии научного центра медицинской экологии ВСНЦ СО РАМН, директор – чл. корр. РАМН проф. В.Ю. Злобин)

Резюме. Обосновывается положение о наибольшей уязвимости эпидемического процесса в период минимального проявления внутригодовой и (или) многолетней инфекционной заболеваемости. Эта гипотеза подтверждена в эпидемиологическом эксперименте на примере эпидемического процесса дизентерии. Следовательно, стратегические профилактические мероприятия должны приходиться на период с минимальными показателями инфекционной заболеваемости.

Регулирование инфекционной заболеваемости определяется временем активного воздействия профилактических мероприятий на динамику эпидемического процесса. Ранее эти мероприятия проводились преимущественно в период повышенных показателей заболеваемости (в сезонный период). В дальнейшем, вначале на интуитивном уровне, а затем на основе теории саморегуляции паразитарных систем [4] сроки проведения профилактических мероприятий сдвинулись на предсезонный период. В настоящем сообщении обосновывается положение, что оптимальным временем воздействия на эпидемический процесс является период минимальной инфекционной заболеваемости (межэпидемический период в многолетней динамике и месяцы наименьших уровней заболеваемости в годовой динамике).

В основу выдвинутого тезиса положены принципы саморегуляции биологической системы, связанные с внутривидовой разнообразием. Впервые под этим углом зрения мы рассмотрели эпидемический процесс лишь в последние годы [15,16,18].

Исходя из вышеизложенного, считаю целесообразным привести теоретическое обоснование выдвинутому положению в данной работе.

Напомним, что биологическими системами называются биологические объекты различной сложности, от клеток и тканей до биоценозов и экосистем и даже биосферы в целом, имеющие, как правило, несколько уровней структурно-функциональной организации. В наиболее общем виде она может быть определена как система, содержащая живые компоненты.

Типичный пример биологической системы – одна из разновидностей биоценоза, а именно паразитарная система, которую можно определить как популяцию паразита во взаимодействии с популяцией специфического хозяина и той частью среды, которая представляет собой необходимое условие их существования [6]. Эпидемический процесс является динамическим проявлением паразитарной системы и развивается на ее основе в комплексе с социальными и природными условиями.

Системная организация, присущая биологическим системам, обуславливает относительную са-

мостоятельность разных уровней организации живого с присущими для каждого из них специфическими особенностями. Однако для всех уровней биологических систем характерны и некоторые общие свойства, важнейшими из которых являются наличие биологических ритмов и биологического разнообразия.

Биологические ритмы и функционирование биосистем

Функционирование биологических систем разных уровней интеграции возможно лишь при условии их нахождения в колебательном режиме, а сами биоритмы представляют собой универсальное и важнейшее свойство жизни.

Ярким примером рассматриваемого явления служат сезонность и цикличность инфекционной заболеваемости. Природа этих ритмов объясняется наличием разнообразных процессов, включающих гено- и фенотипическую изменчивость популяции паразита и хозяина под действием природных и социальных условий [4]. Сезонность и цикличность – взаимосвязанные процессы, что находит отражение в особенностях сезонности в зависимости от уровня многолетней заболеваемости и наоборот.

Наиболее убедительным обобщенным доказательством динамической изменчивости популяции паразита является наличие четырех фазовых преобразований в процессе его саморегуляции [4]. Наличие же четырех фаз (4 точки, не лежащие на одной прямой) позволяет не только однозначно определить синусоидальный ритм, но и судить о его параметрах [10].

Итак, биологические ритмы, являются основой для поддержания устойчивости биологических систем и управляются защитными саморегулирующимися механизмами. При отсутствии биологических ритмов эндогенные и (или) экзогенные воздействия привели бы в конечном итоге биологическую систему к разрушению.

Разнообразие и устойчивость биосистем

Из присущих всем уровням любой биосистемы некоторых общих свойств помимо биологических ритмов важнейшим является биологическое разнообразие, которое, в наиболее общем виде, можно определить как число и соотношение элементов на надорганизменных уровнях организации.

Формы биологического разнообразия выделяются на всех уровнях организации жизни. Можно говорить о разнообразии генотипическом, разнообразии жизненных форм, видов, популяций, сообществ и экосистем.

Биоразнообразие неразрывно связано с таким понятием, как сложность – чем сложнее структура, тем больше разнообразие [3]. Из многочисленной литературы известно, что устойчивость биосистем повышается с увеличением их сложности и разнообразия [8,9,13,20 и др.]. Об этом же сви-

детельствуют основные положения, полученные при оценке устойчивости паразитарных систем в зависимости от их сложности [11,19]. Одним из основных факторов, определяющих устойчивость паразитарных систем, является их иерархическая организация, т.е. устойчивость этих систем возрастает с уровнем их организации. Важнейшим элементом сложности паразитарной системы считается также гетерогенность популяций паразита и хозяина [4,6].

Экологи разных направлений уже давно связывают устойчивость биосистемы с разнообразием. Многочисленные исследования свидетельствуют о прямой зависимости между развитием и разнообразием биотических сообществ. Иными словами, на популяционном уровне имеет место повышение или снижение биоразнообразия на разных фазах популяционного цикла (в течение цикла динамики численности). При этом пик разнообразия приходится, как правило, на время максимального развития сообщества [3,8,13,14,20 и др.]

Вышеизложенное хорошо иллюстрируют работы Г.М. Алещенко, Е.Н. Букваревой [1,2,], в которых рассматриваются общие подходы к моделированию разнообразия в случайной среде на разных уровнях биологической иерархии. Авторы [1] выделяют два крайних типа систем, которые они условно называют статистическими и структурными. Статистические системы состоят из функционально однотипных элементов (например, неподразделенная элементарная популяция), а структурные объединяют функционально различные элементы (например, биоценоз).

Основной вывод анализа модели двух крайних типов биологических систем, существующих в среде со случайными колебаниями, свидетельствует о наличии для обоих видов систем области оптимального разнообразия. При выходе из этой области, как в сторону уменьшения, так и в сторону увеличения, популяция становится неустойчивой, снижается ее эффективность и другие жизненно важные характеристики биосистемы [1,2,7].

В соответствии с выделением двух типов биосистем авторы предлагают разнообразием внутри структурной системы считать число функционально различных элементов, а показателем разнообразия статистических систем – распределение частот типов их элементов.

В последнем положении несомненный практический и теоретический интерес представляет предложение по оценке разнообразия в статистических системах в связи с тем, что такая система по своей сути наиболее близка к понятию популяции паразита в паразитарной системе.

Общие положения о биологическом разнообразии наиболее ярко проявляются на высокой степени интеграции живого – от структурированной популяции и биоценоза до биома. Относительно паразитарной системы (паразит – хозяин),

да еще в ее простейшем выражении (простая двучленная замкнутая система), не приходится говорить о высоком уровне биоразнообразия. Однако при этом на ведущее место выступает такой механизм, как супердоминантность, т.е. захват отдельным видом широкого спектра экологических ниш при обеднении видового богатства в случае снижения разнообразия. Видовое разнообразие, по существу, заменяется внутривидовым, т.е. в конечном счете, устойчивость базируется все же на разнообразии [20]. При этом для внутривидового разнообразия необходимы, в частности, высокая пластичность и изменчивость. Следует отметить, что среди биологических систем разных уровней организации мир микроорганизмов стоит вне конкуренции именно по своим высоким адаптационным способностям.

Развитие эпидемического процесса и общие подходы к управлению инфекционной заболеваемостью

Важнейшим вопросом для решения общих подходов к устойчивости любой биологической системы является выяснение ее наиболее уязвимо звена. С этих позиций весьма интересные данные получены в работе по исследованию динамики разнообразия надвидовых таксонов методом математического моделирования [12]. В предлагаемой модели экзогенные кризисы (вмешательства) имитировались путем временного увеличения вероятности вымирания. Показано, что влияние экзогенных кризисов на эволюцию модельного семейства сильно зависит от того, в какой фазе филогенетического развития находится семейство в момент вмешательства. В фазе расцвета или упадка экзогенный кризис приводит к вымиранию большей части модельных родов. Экзогенный кризис как бы накладывается на приближающийся или уже наступивший эндогенный кризис и значительно усиливает его эффект. Часто после этого наступает длительная реликтовая фаза, во время которой судьба модельного семейства во многом зависит от фактора случайности, поскольку число родов мало. Начало регенерационных процессов может задерживаться на длительный срок.

В случае, если воздействие экзогенного кризиса приходится на фазу роста, его влияние менее заметно. Благодаря активно идущему процессу экстенсивной дивергенции, который в результате частичного вымирания только ускоряется, происходит быстрая компенсация последствий кризиса [12].

В рассмотренной работе, к сожалению, ситуация по оценке влияния экзогенного кризиса отрабатана не на минимальной фазе развития модельного семейства, а лишь в условиях, приближающихся к ней. Однако устойчивость биологических систем напрямую связана с разнообразием, которое, в свою очередь, уменьшается или увеличива-

ется с фазой популяционного цикла. Следовательно, можно полагать, что минимальное разнообразие будет соответствовать наименьшей устойчивости.

Это положение обосновал И.Г. Емельянов [8] при анализе как сезонной, так и годичной динамики плотности населения общественной полевки и возрастного разнообразия. Автор выдвинул принцип минимального разнообразия, основное положение которого заключается в том, что любая биологическая система разного уровня интеграции может существовать при условии определенного (минимального) разнообразия своих компонентов. Ниже минимального уровня находится критический, достижение которого ведет к разрушению биосистемы. Поскольку достижение критического уровня приводит к необратимым изменениям в биосистеме, то при воздействиях экзогенных факторов, направленных на уменьшение разнообразия, в действие вступают препятствующие достижению критического уровня защитные механизмы биосистемы, называемые обычно саморегуляцией.

Таким образом, выдвинуто принципиальное положение о том, что биологическая система, находящаяся в колебательном режиме (а как было показано выше, любой биосистеме присуще это свойство), наиболее уязвима в момент максимального спада биологического ритма. С этой точки зрения несомненный теоретический интерес представляет паразитарная система, в связи с тем, что, развивающийся на ее основе эпидемический процесс, обладает наиболее ярко выраженными свойствами ритмических колебаний в виде цикличности и сезонности. При этом необходимо отметить, что стадия резервации патогенных микроорганизмов неблагоприятна для их жизнедеятельности [5] и, следовательно, является наиболее уязвимым местом в популяционных циклах паразитов [11,19]. Классическим примером резервации паразита является его нахождение (сохранение) в межсезонный (внутригодовой) или межэпидемический периоды проявления эпидемического процесса [4,6].

Оценка внутригодовой минимальной заболеваемости как наиболее уязвимо периода эпидемического процесса

Представленные выше теоретические положения позволяют заключить, что наиболее уязвимым периодом такого вида биологической системы как эпидемический процесс является его минимальный уровень. Можно полагать, что этот критический период будет иметь место, как во внутригодовой, так и в многолетней динамике.

Наши многолетние исследования по оценке внутригодового периода минимальной инфекционной заболеваемости позволяют обосновать справедливость приведенного тезиса, хотя они оценивались не с позиций биоразнообразия, а с

классических эпидемиологических позиций [17, 18].

В качестве модели для обоснования наиболее уязвимого внутригодового периода эпидемического процесса была выбрана дизентерия – одна из наиболее массовых и хорошо изученных кишечных инфекций. Эпидемиологический анализ проводился с учетом ее основных видов – дизентерии Зонне и дизентерии Флекснера. Сопоставление уровней заболеваемости и оценка биологических свойств шигелл проводились по отдельным эпидемическим периодам года, а именно: в сезонный период (СП), который включал месяцы с последовательным превышением среднемесячного уровня заболеваемости, в предсезонный период (ПСП) – показатели заболеваемости месяцев от минимального уровня до начала сезонного подъема, и межсезонный период (МСП) – остальные месяцы года.

Изучение биологических свойств возбудителей шигеллезов показало, что в СП по сравнению с МСП циркулировали преимущественно штаммы, способные длительное время выживать в водопроводной воде, устойчивые к действию антибиотиков и бактериофага, а также к повышенным температурам. Кроме того, у бактерий выделенных в СП, был более четко выражен фактор адгезии. Таким образом, исследования возбудителей дизентерии показали, что МСП, соответствующий фазе резервации возбудителя, – наименее благоприятен для их жизнедеятельности.

Рассмотрение внутригодовой динамики заболеваемости позволило установить, что при многолетнем ее снижении наиболее интенсивный ее спад отмечается в межсезонные периоды по сравнению с периодами сезонных подъемов и годовыми показателями.

Для оценки роли выделенных эпидемических периодов в формировании годовой заболеваемости проведен автокорреляционный анализ. Показано, что достоверные коэффициенты корреляции получены в основном для СП и МСП. Наличие достоверных коэффициентов, приходящихся на СП, объясняется его влиянием на годовой итог заболеваемости (статистическая закономерность). Значимые связи в МСП позволяют предполагать, что заболеваемость в это время достоверно определяет уровень заболеваемости в другие месяцы.

Таким образом, в МСП происходит формирование предпосылок годовой (сезонной) заболеваемости дизентерией. Можно предположить, что именно этот период является наиболее уязвимой частью эпидемического процесса и, следовательно, может быть использован для эффективного проведения профилактических мероприятий.

Для проверки указанной гипотезы в пяти городах Восточной Сибири осуществлен эпидемиологический эксперимент, в котором специфические профилактические мероприятия были дополнительно проведены в период с минимальной ин-

тенсивностью заболеваемости дизентерией, а не только в СП или ему предшествующий как это принято в настоящее время. Основным средством профилактического воздействия в этот период явилось фагирование поливалентным дизентерийным бактериофагом организованного детского населения (ясли и детские сады) и обслуживающего их персонала.

В результате эксперимента было доказано, что предложенная система мер по предупреждению заболеваемости является эффективной. При циклическом росте заболеваемости происходят благоприятные изменения в группах риска и имеет место ее достоверное снижение по сравнению как со сравниваемыми (контрольными) группами детского населения, так и относительно расчетных показателей для совокупного населения. На фазе циклического снижения заболеваемости принятые профилактические меры способствуют ее достоверному снижению в целом для всего населения.

Несмотря на высокую доказательность полученных материалов о роли минимального периода заболеваемости в формировании эпидемического процесса дизентерии, возникает закономерный вопрос – относится ли выявленная закономерность только к шигеллезам или распространяется и на другие виды инфекционной патологии.

Положение о том, что минимальная заболеваемость наиболее чутко реагирует на любые экзогенные воздействия подтверждены нашими приоритетными материалами о влиянии техногенного загрязнения окружающей среды на различные виды инфекционной патологии [18].

В двух районах крупного промышленного города Восточной Сибири, которые отличались друг от друга лишь уровнем техногенного загрязнения атмосферного воздуха, проанализированы многолетние показатели десяти наиболее распространенных нозологических форм или групп инфекционной патологии с различными механизмами передачи. Проведенные исследования выявили прямую зависимость между степенью загрязнения атмосферного воздуха и многолетними уровнями заболеваемости. Наиболее выраженные различия ($p < 0,01$) обнаружены на уровне минимальной интенсивности эпидемического процесса. В этот период в более загрязненном районе отмечался односторонний рост инфекционной заболеваемости для всех взятых в разработку нозологических форм.

Опираясь на проведенные эпидемиологические и микробиологические исследования, а также на их экспериментальную проверку, можно заключить, что минимальный период внутригодовой инфекционной заболеваемости – наиболее уязвимая часть эпидемического процесса, на которую и необходимо направлять основной упор противозидемических мероприятий.

Заключение

Представленный выше материал свидетельствует, что для активного вмешательства в течение эпидемического процесса с целью значительного снижения уровня инфекционной заболеваемости (в идеале – достижение паразитарной системой критического уровня по показателю биологического разнообразия) необходимо с общебиологических позиций учитывать сложность паразитарной системы и период активного на нее воздействия.

Вполне очевидна связь между устойчивостью паразитарных систем и структурно-функциональной организацией, которая и определяет их сложность и соответственно биоразнообразие. Простые паразитарные системы наиболее типичны для антропонозов, а большинство зоо- и сапронозов можно характеризовать как сложные системы. Помимо структурно-функциональной организации паразитарных систем необходимо также учитывать пластичность (адаптационную способность) паразита, что напрямую может быть связано с внутривидовым разнообразием. В качестве примера сопоставим возбудителей брюшного тифа и дизентерии Зонне. Для лечения брюшного тифа в течение многих десятилетий используется левомицетин. Тем не менее возбудитель этого инфекционного заболевания практически во всех случаях чувствителен к нему. Напротив, для шигелл Зонне резистентность к указанному антибиотику превышает 90-95%. Подобная высокая адаптационная способность шигелл Зонне (тем более с учетом других антибиотиков) может создавать внутривидовое разнообразие за счет распределения частот различных типов антибиотикорези-

стентности. Можно предположить, что подобная возможность формирования биоразнообразия у шигелл – одна из причин, препятствующая снижению заболеваемости дизентерией по сравнению с брюшным тифом.

Таким образом, исходя из структурно-функциональной организации паразитарной системы и биологических особенностей паразита, можно выделить приоритетные группы инфекционной патологии, которые будут управляться противоэпидемическими мероприятиями. В первую очередь это относится к антропонозным инфекциям с возбудителями, имеющими низкую пластичность.

Активное воздействие на эпидемический процесс должно приходиться на период минимальной интенсивности заболеваемости при многолетнем и (или) внутригодовом ее движении. По-видимому, наиболее слабым звеном этой системы будет кратковременный период эпидемического процесса при совпадении двух минимальных его фаз – как многолетней, так и внутригодовой. В этом случае влияние воздействия будет более выраженным как по интенсивности, так и по продолжительности. Можно полагать, что наиболее эффективное воздействие на инфекционную заболеваемость будет осуществляться при массовых инфекциях с выраженным синусоидальным ритмом.

Заключая представленный материал следует отметить, что обоснованный критический период в развитии эпидемического процесса, во время которого должны осуществляться профилактические мероприятия, не отвергают проведение традиционных мер предупреждения заболеваемости, а дополняет (расширяет) наши представления и возможности в управлении инфекционной заболеваемостью.

Литература

1. Алешенко Г.М., Букварева Е.Н. // Журн. общей биологии. – 1991. – Т.52, №4. – С.499.
2. Алешенко Г.М., Букварева Е.Н. // Успехи соврем. биологии. – 1991. – Т.111, Вып.5. – С.803.
3. Алимов А.Ф. // Журн. общей биологии. – 1994. – Т.55, №3. – С.285.
4. Беляков В.Д., Голубев Д.Б., Каминский Г.Д., Тец В.В. Саморегуляция паразитарных систем. – Л.: Медицина, 1987. – 240с.
5. Беляков В.Д., Каминский Г.Д. / Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1993. – №1. – С.40.
6. Беляков В.Д., Яфаев Р.Х. Эпидемиология. – М.: Медицина, 1989. – 416с.
7. Букварева Е.Н., Алешенко Г.М. // Успехи соврем. биологии. – 1994. – Т.114, Вып.2. – С.133.
8. Емельянов И.Г. // Успехи соврем. биологии. – 1994. – Т.114, Вып.3. – С.304.
9. Камшилов М.М. // Журн. общей биологии. – 1973. – Т.34, №2. – С.174.
10. Катинас Г.С., Яковлев В.А. // Хронобиология и хрономедицина: Руководство. – М.: Медицина, 1989. – С.45.
11. Литвин В.Ю., Шляхов Э.Н. Руководство по эпидемиологии инфекционных болезней: Вопросы общей эпидемиологии. – М.: Медицина, 1993. – Т.1. – С.37.
12. Марков А.В., Наймарк Е.Б. // Журн. общей биологии. – 1994. – Т.55, №3. – С.303.
13. Одум Ю. Основы экологии. – М.: Мир, 1975. – 740с.
14. Одум Ю. Экология: В 2-х т. – М.: Мир., 1986. – Т.2. – 376с.
15. Савилов Е.Д. // Вестник РАМН. – 1997. – №8. – С.29.
16. Савилов Е.Д. // Доклады академии наук. – 1999. – Т.366. – №4. – С.572.
17. Савилов Е.Д., Астафьев В.А., Мамонтова Л.М., Володин Ю.Ф. Эпидемиологические особенности дизентерии в Восточной Сибири. – Новосибирск: Наука, 1994. – 151с.
18. Савилов Е.Д., Колесников С.И., Красовский Г.Н. Инфекция и техногенное загрязнение: Подходы к управлению эпидемическим процессом. – Новосибирск: Наука, 1996. – 192с.

19. Сомов Г.П., Литвин В.Ю. Сапрофитизм и паразитизм патогенных бактерий: Экологические аспекты. – Новосибирск: Наука Сиб. отд-ние, 1988. – 208с.

20. Чернов Ю.И. // Успехи соврем. биологии. – 1991. – Т.111, Вып.4. – С.490.

УЧРЕДИТЕЛИ:

Иркутский государственный медицинский университет. Россия
Факультет Медицины Университета Жозефа Фурье (Гренобль 1). Франция
Красноярская государственная медицинская академия
Читинская государственная медицинская академия
Иркутский территориальный фонд обязательного медицинского страхования

COFONDATEURS:

Universite d'État de Medecine d'Irkoutsk, Russie
Université Joseph Fourier (Grenoble 1) Faculté de Médecine. France
Académie d'État de Médecine de Krasnoïarsk
Académie d'État de Medecine de Tchita
Établissement Territorial de l'Assurance Médicale Obligatoire d'Irkoutsk

Компьютерная верстка: Бородачева А.Н.
Maquette: Antonina Borodatcheva

Отпечатано в типографии
Тираж 1000 экз.
Подписано в печать
Цена договорная.

Отпечатано по заказу Иркутского государственного медицинского университета.
Журнал зарегистрирован в ВСПУ по печати, рег. № И-0162 от 30.06.94 г.
Адрес редакции: г. Иркутск, 664003, ул. Красного Восстания, 1.
Редакция журнала «Сибирский медицинский журнал»
Adresse de la Rédaction: Comité de rédaction "Revue Médicale Sibérienne"
1, rue de Krasnogo Vosstanya, Irkoutsk, 664003, Russie.