

Глава 4

Клинико-микробиологические сопоставления при коклюше в современных условиях

Среди факторов, определяющих тяжесть течения коклюша у детей, значительное место занимают биологические свойства коклюшного микроба. Так, проведенные рядом авторов исследования показали зависимость клинических проявлений коклюша от серовариантов *B. pertussis* (Бабаченко И.В., 1995; Попова О.П., 1999, 2005; Селезнева Т.С., 2002). Клинико-микробиологические сопоставления, представленные в главе, основываются на оценке влияния серотиповой и генотипической принадлежности *B. pertussis* на тяжесть течения коклюша.

Анализ влияния серотипов коклюшного микроба на тяжесть течения инфекции проведен среди непривитых детей в возрасте до 6 мес в сравнительном аспекте: у 170 больных, находившихся на стационарном лечении в 1990-е гг., и у 123 больных, получавших терапию в 2000-е гг. Клинические наблюдения показали, что и в 1990-е, и 2000-е гг. у больных преимущественно выделяли серотип 1.0.3 [у 118 (69,4±3,5%) и у 95 (77,2±3,8%) больных соответственно]. В результате клинико-микробиологических сопоставлений установлено, что в 1990-е гг. больные, у которых заболевание было вызвано коклюшным микробом серотипа 1.0.3, перенесли инфекцию в тяжелой форме в 18,6±3,6% случаев,

в среднетяжелой — в $69,5 \pm 4,2\%$, в легкой — в $11,9 \pm 2,9\%$ случаев (табл. 4.1). В группе детей, переносивших коклюш, вызванный серовариантами 1.2.3, у $42,3 \pm 6,8\%$ заболевание протекало в тяжелой форме, у $46,1 \pm 6,9\%$ — в среднетяжелой, $11,5 \pm 4,4\%$ — в легкой. Исследования, проведенные в 2000-е гг., показали, что среди пациентов, у которых идентифицирован серовариант 1.0.3, значительно увеличился удельный вес детей с тяжелыми формами болезни по сравнению с 1990-ми гг., достигая $43,2 \pm 5,0$ против $18,6 \pm 3,6$ ($p < 0,001$).

Таблица 4.1. Частота клинических форм тяжести коклюша в зависимости от серовариантов коклюшного микроба

Годы исследования	Сероварианты	n	Формы коклюша					
			тяжелая		среднетяжелая		легкая	
			Абс.	% (M±m)	Абс.	% (M±m)	Абс.	% (M±m)
1990-е	1.0.3	118	22	$18,6 \pm 3,6$	82	$69,5 \pm 4,2$	14	$11,9 \pm 2,9$
	1.2.3 1.2.0	52	22	$42,3 \pm 6,8$	24	$46,1 \pm 6,9$	6	$11,5 \pm 4,4$
Итого		170	44	$25,9 \pm 3,3$	106	$62,4 \pm 4,7$	20	$11,7 \pm 2,4$
2000-е	1.0.3	95	41	$43,2 \pm 5,0^{***}$	48	$50,5 \pm 5,1$	6	$6,3 \pm 2,5$
	1.2.3 1.2.0	28	10	$35,7 \pm 9,0$	16	$57,1 \pm 9,3$	2	$7,1 \pm 4,8$
Итого		123	51	$41,5 \pm 4,4$	64	$52,0 \pm 4,5$	8	$6,5 \pm 2,2$

*** Статистически значимые различия при $p < 0,001$.

Среднетяжелые формы болезни в этой группе детей отмечены в $50,5 \pm 5,1\%$ случаев, легкие — в $6,3 \pm 2,5\%$. Сравнительный анализ соотношения клинических форм среди детей, у которых коклюш был вызван *B. pertussis* 1.2.3 и 1.2.0, достоверной статистической разницы по сравнению с 1990-ми гг. не выявил.

В связи с тем что в последние годы появилось много данных, расширивших представление о возбудителе коклюшной инфекции и причинах, объясняющих усиление вирулентных свойств коклюшного микроба, исследования нами были продолжены. Принимая во внимание, что большое внимание уделяется изменениям генотипических свойств коклюшного микроба, как было указано выше, было предпринято изучение влияния генотипических свойств возбудителя на особенности течения коклюша. Исследования проводились в лаборатории диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций ФБУН «МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора (руководитель лаборатории — д-р мед. наук О.Ю. Борисова).

Генотипические свойства штаммов *B. pertussis*, выделенных от больных коклюшем, были изучены с помощью двух схем генотипирования — модификаций мультилокусного секвенирования ДНК — *MAST1* и *MAST2*. *MAST1*-генотип идентифицировали путем изучения аллельных комбинаций фрагментов трех генов *prn-ptxP-tcfA*, а *MAST2*-генотип — путем изучения аллельных комбинаций также фрагментов трех генов *ptxP-fim3-prn*. Выявление особенностей структуры этих генов связано с тем, что в последние годы отмечается увеличение функциональной значимости детерминант патогенности, кодируемых ими. Так, значимые изменения, произошедшие в промоторной *ptxP*-области, приводят к увеличенной продукции коклюшного токсина; а в генах детерминант адгезии и колонизации — *prn*, *fim3* и *tcfA* произошли не только множественные, но и функционально значимые мутационные изменения, оказывающие влияние на прикрепление возбудителя к поверхности чувствительного эпителия и запуск инфекционного процесса (Борисова О.Ю. и др., 2007).

При изучении генотипической принадлежности штаммов *B. pertussis*, выделенных у больных, находившихся в стационаре в 2009–2012 гг., установлено: если в 2009–2010 гг. у значительного числа больных выделяли генотип 232 *MAST1* (у 63,2±11,1 — 90,9±8,7%), то в 2011–2012 гг. преобладающим генотипом становится генотип 932 *MAST1* (у 60,8±10,2 — 63,3±8,8%; табл. 4.2). Сравнительный анализ генотипов *MAST2* показал, что в 2009–2010 гг. преобладал 322-й генотип *MAST2* (у 45,0±11,1 — 47,4±11,5% детей). В 2011 г. у значительного числа больных (60,9±10,2%) был идентифицирован генотип 329 *MAST2*, а в 2012 г. с одинаковой частотой были выделены 329 и 319-й генотипы *MAST2* (у 33,3±8,6% больных), реже другие генотипы.

Таблица 4.2. Характеристика генотипов коклюшного микроба, выделенных у больных коклюшем в 2009–2012 гг. (частота, %)

Модификации секвенирования	Генотипы	2009		2010		2011		2012	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
MAST 1	232	12	63,2±11,1	10	90,9±8,7	9	39,1±10,2	11	36,7±8,8*
	332	5	26,3±10,1	—	—	—	—	—	—
	932	2	10,5±7,1	1	9,1±8,7**	14	60,8±10,2**	19	63,3±8,8***
MAST 2	312	—	—	7	63,6±14,5	5	21,7±8,6	5	16,7±, 6,8
	319	4	21,1±9,4	—	—	4	17,4±7,9	10	33,3±8,6
	322	9	47,4±11,5	—	—	—	—	5	16,7±6,8
	323	2	10,5±7,0	—	—	—	—	—	—
	329	4	21,1±9,4	4	36,4±14,5	14	60,9±10,2	10	33,3±8,6

* Статистически значимые различия при $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

Анализ влияния генотипических свойств коклюшного микроба на клинические проявления коклюша касается 83 детей, больных коклюшем, возрастная структура которых была представлена следующим образом: детей в возрасте до 1 года было 64 (77,1±4,6%), 1–3 лет — 14 (16,9±4,1%), 4–6 лет — 2 (2,4±1,7%), 7–14 лет — 3 (3,6±2,0%). Причем необходимо отметить, что среди детей в возрасте до 1 года преобладали больные первого полугодия, составившие 75,6±4,7% (63 ребенка). По тяжести течения болезни были распределены следующим образом: 31 ребенок (37,3±5,3%) переносил тяжелую форму, 47 (56,6±5,4%) — среднетяжелую, 5 (6,0±2,6%) — легкую. При анализе прививочного анамнеза установлено, что значительная часть детей была не привита против коклюша (88,7±4,3%, 74 ребенка), 3 детей (3,6±2,0%) были привиты неполностью, лишь 6 (7,2±2,8%) привиты согласно Национальному календарю прививок.

С целью исключения влияния прежде всего возрастного фактора и вакцинального статуса предварительный анализ тяжести генотипических свойств *B. pertussis* на тяжесть течения инфекции проведен у 46 детей в возрасте до 3 мес. В результате исследований установлено, что коклюш, вызванный генотипом 932 *MAST1*, значительно чаще протекал в тяжелой форме — у 87,5±4,9 против 12,5±4,9% среднетяжелых форм ($p < 0,001$; рис. 4.1). Достаточно высоким был удельный вес тяжелых форм и при коклюше, вызванном генотипом 322, составивший 58,3±7,2 против 41,7±7,2% среднетяжелых форм.

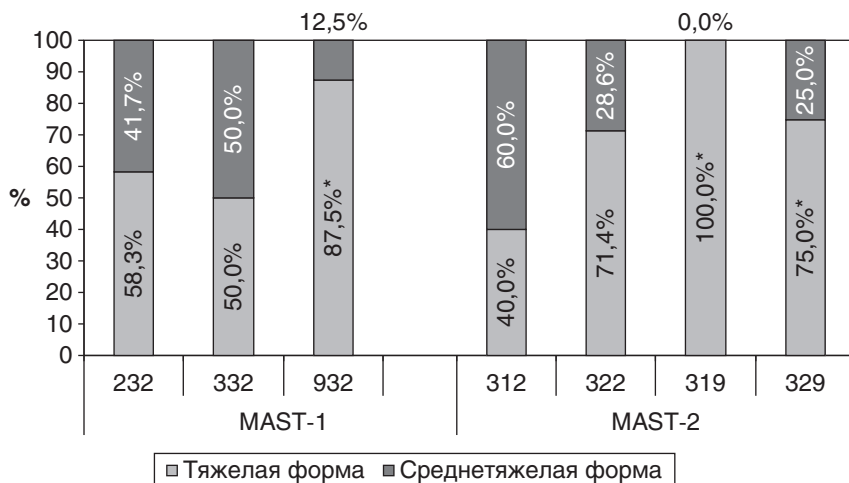


Рис. 4.1. Зависимость клинических форм коклюша от генотипов *B. pertussis*.

* Статистически значимые различия при $p < 0,05$.

В группе детей, у которых были идентифицированы генотипы *MAST2*, оказалось, что у всех детей при коклюше, вызванном 319-м генотипом, заболевание протекало в тяжелой форме. Последний единичный случай летального исхода у 2-месячного ребенка в 2012 г. был связан именно с этим генотипом, заболевание протекало с тяжелой энцефалопатией, выраженным геморрагическим синдромом, гиперлейкоцитозом до $90 \times 10^9/\text{л}$.

Обращало на себя внимание, что *B. pertussis* генотипа 329 *MAST2* вызывал преимущественно тяжелые формы коклюша — у $75 \pm 6,4\%$. В то же время среди детей, у которых идентифицирован генотип 312, преобладали среднетяжелые формы заболевания, составившие $60,0 \pm 7,7\%$.

Большой интерес представлял характер различных проявлений коклюша в зависимости от генотипических свойств коклюшного микроба. В результате клинического анализа симптоматики продромального периода достоверных различий не выявлено. Для всех больных с тяжелой формой коклюша, независимо от генотипической принадлежности, было характерно укорочение этого периода до 3–4 дней, а при среднетяжелых формах этот период удлинялся до 5–7 дней.

Тщательный анализ симптоматики периода спазматического кашля проведен в 2 группах детей: с тяжелой и среднетяжелой формой коклюша.

Из данных, представленных на рис. 4.2, видно, при коклюше, вызванном генотипом 932 *MAST1*, наиболее выражены были симптомы, определяющие тяжесть течения коклюшной инфекции. У $75,0 \pm 7,8\%$ детей частота приступов превышала 25 раз в сутки. Кашель у всех детей сопровождался цианозом лица, апноэ отмечались у $75,0 \pm 7,8\%$ детей. Течение коклюша осложнялось энцефалопатией у $37,5 \pm 17,1\%$ детей. Тяжелые приступы кашля приводили к утомлению, нарушению самочувствия, снижению аппетита у всех детей. В некоторых случаях наблюдалась анорексия, послужившая поводом для назначения зондового питания.

Изменения в анализах крови характеризовались повышением числа лейкоцитов до $21\text{--}30 \times 10^9/\text{л}$ у значительного числа детей (у $62,5 \pm 8,7\%$), а у $37,5 \pm 8,7\%$ больных отмечен лейкоцитоз выше $30 \times 10^9/\text{л}$. Вместе с тем приступы кашля в группе детей, у которых идентифицирован генотип 232 *MAST1*, реже сопровождались апноэ и значительно реже, чем в группе детей с генотипом 932 *MAST1*, осложнялись энцефалическими нарушениями (у $9,1 \pm 5,2\%$).

В группе больных с тяжелой формой коклюша, у которых заболевание было вызвано генотипами *MAST2*, обращало на себя внимание наиболее тяжелое течение коклюша при выявлении генотипов 319 и 329 (рис. 4.3). Как правило, повторные апноэ, наблюдавшиеся у всех детей, приводили