

## ОРИГИНАЛНИ СТАТИИ

## ORIGINAL ARTICLES

## ПРОТОЗОЙНА ЧРЕВНА ФЛОРА ПРИ ДЕЦА С САМПУЛОБАКТЕР-ИНФЕКЦИЯ

В. Велев<sup>1</sup>, М. Павлова<sup>2</sup>, С. Алексиева<sup>1</sup>, Е. Добрева<sup>2</sup>, А. Мангъров<sup>1</sup> и Т. Червенякова<sup>1</sup><sup>1</sup>СБАЛИПБ „Проф. Ив. Киров“, Медицински университет – София<sup>2</sup>Отдел „Микробиология“, Национален център по заразни и паразитни болести – СофияPROTOZOAL INTESTINAL FLORA IN CHILDREN WITH  
CAMPYLOBACTER-INFECTIONV. Velev<sup>1</sup>, M. Pavlova<sup>2</sup>, S. Alexieva<sup>1</sup>, E. Dobreva<sup>2</sup>, A. Mangarov<sup>1</sup> and T. Chervenakova<sup>1</sup><sup>1</sup>Specialized Hospital for Active Treatment for Infections and Parasitic Disease “Prof. Iv. Kirov”,  
Medical University – Sofia<sup>2</sup>Department of Microbiology, National Centre of Infectious and Parasitic Diseases – Sofia

**Резюме.** Наред със смятаня в повечето случаи за коменсал *Entamoeba coli*, най-честите болестотворни протозои, докладвани у нас, са *B. hominis* и *G. intestinalis*. От своя страна кампилобактериозата е една от най-честите бактериални чревни инфекции в глобален мащаб. **Целта** е да установим честотата и особеностите на съпровождащата протозойна чревна флора при деца, болни от кампилобактериоза. **Материал и методи.** За периода януари 2013 – февруари 2014 г. в СБАЛИПБ „Проф. Ив. Киров“ са хоспитализирани и проучени 105 деца между 0 и 14 г. с остър диаричен синдром и минимум два от следните симптоми: патологични примеси в изхожданията, фебрилитет, коремни болки, повръщане и/или анамнестични данни за консумация на животински продукти. Всички болни са изследвани чрез бързи (имунохроматографски) тестове (CertestBiotec, Spain) за фекален антиген на *Campylobacter*. Част от позитивните проби са верифицирани културално чрез посевка на фецес на кръвен агар (БулБио–НЦЗПБ ЕООД) по мембранен способ с нитроцелулозни мембрани. Всички фекални проби са посетени на сухи хранителни среди за *Enterobacteriaceae* (БулБио–НЦЗПБ ЕООД) и *Enteropluri-Test* (Liofilchem). Всички проби са изследвани за чревни паразити чрез нативен метод и седиментационни методи. **Резултати.** От проучените 105 деца 62 (59%) са от мъжки пол и 38 (41%) от женски. От фекалните проби 33 (31%) се позитивираха на имунохроматографския тест (ИХТ) за кампилобактер, а от тях 12 (36%) се верифицираха и културално. При паразитологичните изследвания на фецес с протозои бяха 16 (15%) деца – *B. hominis* – 2 (1,9%), *G. duodenalis* – 1 (0,9%), *Ent. coli* – 13 (12%). От болните с кампилобактериоза 10 (30%) имаха и придружаваща протозойна инвазия. За контролна група използвахме 30 деца с доказана салмонелоза – 3 (10%) имаха съпровождаща протозойна коинфекция. **Заключение.** Във връзка със сравнително тежкото протичане на кампилобактериозата, често с инвазиране на чревната лигавица и дисбиоза, в затегнатите случаи е препоръчително паразитологично изследване на фецес за протозои и евентуално включване в терапевтичния план на антипротозойни препарати.

**Ключови думи:** протозои, кампилобактериоза, диария**Адрес за кореспонденция:** Д-р Валери Велев, СБАЛИПБ „Проф. Ив. Киров“, бул. „Акад. Ив. Гешов“ № 17, 1606 София,  
e-mail: velev\_md@abv.bg

**Summary.** Along with the commonly considered commensal *Entamoeba coli*, the most common disease-causing protozoa reported here are *B. hominis* and *G. intestinalis*. The *Campylobacter* infection is one of the most common bacterial intestinal infections globally. **Objective.** The objective of the study is to determine the frequency and characteristics of accompanying protozoal intestinal flora in children with *Campylobacter* infection. **Materials and Methods.** In the period January 2013 – February 2014, 105 children between 0 and 14 years old, with the acute diarrhea syndrome and at least two of the following symptoms: pathological impurities in stools, fever, abdominal pain, vomiting and/or a history of consumption of animal products, were examined in Hospital “Prof. Iv. Kirov”. All patients were examined by immunochromatographic assay (ICA) (CertestBiotec, Spain) for fecal *Campylobacter* antigen. Part of the positive samples were verified by culture through inoculation of feces on blood agar (BulBio-NCIPD Ltd) in membrane method to nitrocellulose membranes. All fecal samples

were sown on dry food environments for *Enterobacteriaceae* (BulBio-NCIPD-Ltd) and EnteroPluri-Test (Liofilchem). All samples were examined for intestinal parasites by a native method, and sedimentation methods. **Results.** From the studied 105 children 62 (59%) were male and 38 (41%) female. From the fecal samples 33 (31%) were positive with ICA for *Campylobacter*, and 12 of them (36%) were verified also in culture. In parasitological studies of feces protozoa were found in 16 (15%) children – *B. hominis* – 2 (1.9%) children, *G. duodenalis* – 1 (0.9%) child, *Ent. coli* – 13 (12%) children. Of all patients with campylobacteriosis 10 (30%) had also accompanying protozoal invasion. In the control group consisting of 30 children with proven salmonellosis 3 (10%) patients had accompanying protozoa coinfection. **Conclusion.** Given the relatively severe course of campylobacteriosis, often with invasion in intestinal mucosa and dysbiosis, parasitological study of feces for protozoa and eventual inclusion of anti-protozoal agents in therapeutic plan of affected patients is recommendable.

**Key words:** protozoa, *Campylobacter*, diarrhea

**Address for correspondence:** V. Velev, MD, SHATIPD “Prof. Iv. Kirov”, Medical University, 17 Acad. Iv. Geshov Blvd., Bg – 1606 Sofia, e-mail: velev\_md@abv.bg

Протозойните чревни инфекции се причиняват от едноклетъчни паразити (протозои); сложно устроени еукариоти. Най-често у нас са докладвани местни случаи на жиаридиоза и бластоцистоза. Предават се по фекално-орален път най-често чрез замърсени хранителни продукти или контаминирана вода [1, 11, 12]. През последните години разбирането за ролята на *B. hominis* в човешката патология претърпя сериозни промени. Отмина времето, когато се смяташе за безобиден коменсал, и днес медицинската общност е единодушна, че паразитът води до асимптомно или различно по тежест диарийно заболяване. Независимо от наличието или не на симптоматика, установяването на над 5 клетки на поле при микроскопиране дефинира състоянието като бластоцистоза [9]. Подобни дискусии все по-често могат да се прочетат в достъпната ни литература и за *Ent. coli* като протозой, който макар и приеман за коменсал в определени случаи може да се окаже болестотворен [13].

Кампилобактериозата е водеща бактериална хранителна инфекция в глобален мащаб, като рискови са животинските продукти (птиче месо, говеждо и мляко), както и водата, контактът с животни и по-рядко заразени хора [4, 5, 8].

## ЦЕЛ

Да установим честотата и особеностите на съпровождащата протозойна чревна флора при деца, болни от кампилобактериоза.

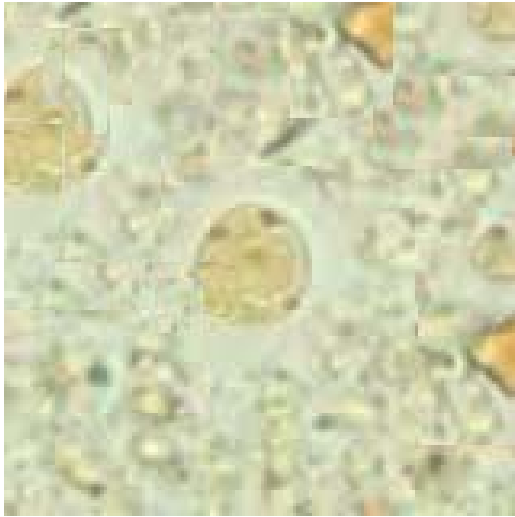
## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

За периода януари 2013 – февруари 2014 г. в СБАЛИПБ „Проф. Ив. Киров“ са хоспитализирани и проучени 105 деца между 0 и 14 г. с остър диарийен синдром и минимум два от следните симптоми: патологични примеси в изхожданията, фебрилитет, коремни болки, повръщане и/или анамнестични данни за консумация на животински продукти. Всички болни са изследвани чрез бързи едностъпкови (имунохроматографски) тестове (CertestBiotec, Spain)

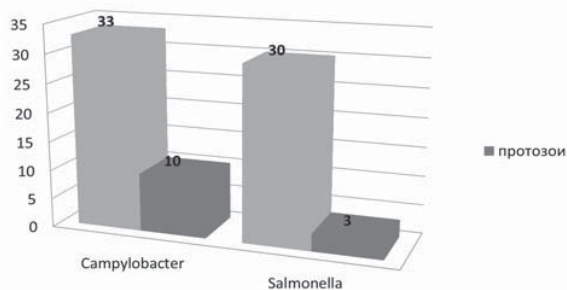
за фекален антиген на *Campylobacter*. На случаен принцип 25 от позитивните проби са верифицирани културално чрез посевка на фецес на кръвен агар (БулБио–НЦЗПБ ЕООД) по мембранен способ с нитроцелулозни мембрани (Sartorius Stedim Biotech GmbH 37070 Goettingen, Germany), култивиране в микроаерофилна атмосфера (5%O<sub>2</sub> + 10%CO<sub>2</sub> + 85%N<sub>2</sub>), която се генерира от Газ пак–„ХеликоКампи Пак“ (фирма Цветика, София) при 42-43°C за 48-72 h. Всички фекални проби са посетени на сухи хранителни среди за *Enterobacteriaceae* (БулБио–НЦЗПБ ЕООД) и EnteroPluri-Test (Liofilchem). Пробите на всички деца до 5 г. са изследвани за ротавирусен антиген с едностъпкови имунохроматографски тестове (CertestBiotec, Spain). Всички проби са изследвани за чревни паразити чрез нативен метод и седиментационни методи – гравитационен и по Телеман. На всеки болен са направени стандартни изследвания – ПКК, общо изследване на урина и допълнителни тестове по клинична преценка.

## РЕЗУЛТАТИ

От проучените 105 деца на възраст 0-14 г. (средно 3,1 г.) 62 (59%) са от мъжки пол и 38 (41%) от женски. От фекалните проби 33 (31%) се позитивираха на имунохроматографския тест (ИХТ) за кампилобактер, а от тях 12 (36%) се верифицираха и културално. При паразитологичните изследвания на фецес с протозои бяха 16 (15%) деца – *B. hominis* – 2 (1,9%), *G. duodenalis* – 1 (0,9%), *Ent. coli* – 13 (12%) – фиг. 1. От болните с лабораторно доказана кампилобактериоза коинфекцията с протозои беше, както следва: *Ent. coli* – 9, и *B. hominis* – 1. Общо 10 (30%) от болните с кампилобактериоза имаха и придружаваща протозойна чревна болест. За контролна група използвахме 30 деца с лабораторно доказана салмонелоза в същия възрастов диапазон. От тях 3 (10%) имаха съпровождаща протозойна коинфекция – съответно 2 с *Ent. coli* и 1 с *B. hominis* (фиг. 2). Детето с доказана жиардиоза беше без патологична чревна флора.



Фиг. 1. Светлинномикроскопска снимка на *V. hominis* – цистна форма – Carl-Zeiss x 40



Фиг. 2. Съотношение на протозойната чревна флора при деца с кампилобактериоза и салмонелоза

## ОБСЪЖДАНЕ

При клинично-диагностичните проучвания, които извършихме върху деца, болни от кампилобактериоза, ни направи впечатление сравнително високата честота на съпровождаща протозойна чревна флора. При предишни наши проучвания установихме, че почти 90% от децата, инфектирани с *Campylobacter*, са с хемоколит, а над 85% са били с фебрилитет над 38° С по време на боледуването. Подобни данни се срещат и в други литературни източници [2, 7]. Клинични показатели за инвазивността на инфекцията има и при описаните тук болни. Докато за съпровождащата бластоцистоза сме склонни да обвиним по-скоро хигиенните навици на болните деца, за високата честота на инвазията с *Ent. coli* смятаме, че е допринесла тежката дисбиоза, като следствие от инвазивния ход на чревната кампилобактериоза. За сравнение – при деца с другата най-честа бактериална чревна инфекция, салмонелозата, наши проучвания сочат честота на хемоколита между 5 и 7% [3]. Тоест, предполагаме по-ниска степен на дисбиоза, което явно корелира с по-малката честота на

протозои в тези случаи. В три от случаите на деца с кампилобактериоза и съпътстваща протозойна инфекция с *Ent. coli* се наложи да проведем и антипротозойно лечение с Metronidazole. Такова лечение приложихме и при всички болни с бластоцистоза.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Във връзка със сравнително тежкото протичане на кампилобактериозата, често с инвазиране на чревната лигавица и дисбиоза, в затегнатите случаи е препоръчително паразитологично изследване на фецес за протозои и евентуално включване в терапевтичния план на антипротозойни препарати. В литературата има множество данни за по-високата преживяемост на *Campylobacter* в присъствието на протозои, както в *in vitro*, така и *in vivo* условия [6, 10]. По този повод, а и предвид клиничните особености при този вид коинфекция, допълнителните фундаментални и клинично-диагностични изследвания в тази област безспорно трябва да продължат.

## БИБЛИОГРАФИЯ

1. Райнова, И., Д. Йорданова, Р. Харизанов и съавт. Паразитни болести в България през 2011 г. Разпространение и анализ. Информационен журнал на НЦЗПБ, 2011, № 2, 5-31.
2. Велев, В., Н. Найденова, Н. Дървеняшка и съавт. Проучвания на чревната кампилобактериоза при деца. – Детски и инфекциозни болести, 6, 2014, № 1, 3-6.
3. Велев, В., Н. Дървеняшка, Н. Найденова и съавт. Кампилобактериоза и салмонелоза – диференциалнодиагностично проучване при деца. – Български медицински журнал, 8, 2014, № 2, 48-51.
4. Jacobs-Reitsma, W. *Campylobacter* in the food supply. In: Nachamkin I, Blaser J, eds. *Campylobacter*, 2<sup>nd</sup> edn. Washington DC: American Society for Microbiology, 2000; 467-481.
5. Ji-Rong Yang, Ho-Sheng Wu, Chuen-Sheue Chiang et al. Pediatric campylobacteriosis in northern Taiwan from 2003 to 2005. *BMC Infectious Diseases* 2008, 8:151.
6. Lonel A., Selinger B., Uwiera R. et al. *Campylobacter jejuni* Colonization is associated with a dysbiosis in the cecal microbiota of mice in the absence of prominent inflammation. *PLOS ONE*, 2013; 8: 1-15.
7. Mishu-Allos, B. *Campylobacter jejuni* infections: update on emerging issues and trends. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1201-1206.
8. Pickering, LK. *Campylobacter* Infections. In: Kimberlin DW, Brady MT, Jackson MA, Long SS, editors. *Red Book: Report of the Committee on Infectious Diseases*. 30th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 2015. p. 273-275.
9. Potaturkina-Nesterova, N., Iulu K., Isaeva I. et al. Blastocystosis is human protozoosis. *Med Parazitol (Mosk)*. 2004; (4): 58-61.
10. Sterk, A., Schijven J., Husman A. et al. Effect of climate change on runoff of *Campylobacter* and *Cryptosporidium* from land to surface water. *Water Research*, 2016;95: 90-102.
11. Thapar, N, Sanderson IR, 2004. Diarrhoea in children: an interface between developing and developed countries. *Lancet*, 363: 641-653.
12. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010. *EFSA Journal* 2012;10 (3):2597.
13. Zavala, G., O. Garcia, M. Campos-Ponce et al. Children with moderate-high infection with *Entamoeba coli* have higher percentage of body and abdominal fat than non-infected children. *Pediatr Obes*. 2015, 2, 24-31.