

УДК 616-003.218-008.817-056.7-053.2:[616.31:616.211/.24]:57.083.1

*Р.С. Назарян, М.В. Ткаченко, Н.І. Коваленко*

*Харківський національний медичний університет*

## МІКРОБІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОТОПІВ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ ТА ДИХАЛЬНОЇ СИСТЕМИ ПРИ МУКОВІСЦИДОЗІ У ДІТЕЙ

Досліджено мікробіоценоз зубного нальоту дітей, хворих на муковісцидоз, та його залежність від мікробіоти дихальних шляхів. Показано, що у хворих на муковісцидоз відбувається часткове заміщення представників нормальної мікрофлори ротової порожнини  $\alpha$ -гемолітичних стрептококів і непатогенних *Neisseria spp.* умовно-патогенними мікроорганізмами. На кількісні і якісні характеристики мікрофлори зубного нальоту чинять вплив вік хворої дитини та склад мікробіоти органів дихальної системи. Тяжкість перебігу захворювань ротової порожнини визначається розширенням спектра патогенів у зоні ураження, а саме: виявленням трикомпонентних асоціацій бактерій і грибів *C. albicans*.

**Ключові слова:** муковісцидоз, зубний наліт, мікробіота дихальних шляхів.

Муковісцидоз – поширена спадкова патологія із мультиорганною маніфестацією, що супроводжується генералізованим ураженням екзокринних залоз. Частота захворювання – 1:2–2,5 тис. новонароджених у представників європеїдної раси [1].

Дегідратація секретів усіх екзокринних залоз організму лежить в основі патології органів дихальної системи, шлунково-кишкового тракту, гепатобіліарної і сечостатевої систем. Мукостаз, що розвивається в органах дихальної системи, призводить до розвитку інфекційно-запальних процесів та колонізації слизових оболонок умовно-патогенними і патогенними мікроорганізмами, які, у свою чергу, обтяжують інфекційний процес [2–7].

Перебіг інфекційних захворювань при муковісцидозі ускладнюється зниженням мукозального імунітету, кількості макрофагів та їх функції («сплячі макрофаги»), фагоцитарної функції лейкоцитів [8–10].

Мета дослідження – вивчення мікробіоценозу зубного нальоту дітей, хворих на муковісцидоз, та його залежності від мікробіоти дихальних шляхів.

**Матеріал і методи.** Обстежено 37 дітей у віці від 8 місяців до 17 років. У роботі

використані результати бактеріологічних досліджень різного клінічного матеріалу від 20 хворих на муковісцидоз (основна група) та 17 дітей, що звернулися до стоматолога з метою санації порожнини рота (контрольна група). Як клінічний матеріал було взято мазки із зубного нальоту та додатково у хворих на муковісцидоз досліджували мокротиння і мазки із зіва. Етіологічну значущість у захворюванні враховували при рівні мікробного числа для бактерій не менше  $10^4$  КУО і для грибів  $10^3$  КУО.

Мікробіологічне дослідження включало виділення збудників, ідентифікацію за морфологічними, культуральними та біохімічними властивостями культур відповідно до Наказу МОЗ СРСР від 22.04.85 № 535 [11]. Всього було виділено і проаналізовано 89 штамів мікроорганізмів.

**Результати та їх обговорення.** При вивченні етіологічної структури представників мікробіоти зубного нальоту у хворих на муковісцидоз було виділено 46 штамів умовно-патогенних мікроорганізмів і у дітей контрольної групи – 43 штами умовно-патогенних мікроорганізмів. У хворих основної групи найбільш значущими були  $\alpha$ -гемолітичні

© Р.С. Назарян, М.В. Ткаченко, Н.І. Коваленко, 2015

стрептококи (37,2 %), у той час як у пацієнтів контрольної групи провідне місце належало *Neisseria spp.* (39,5 %) і  $\alpha$ -гемолітичним стрептококам (37,2 %), табл. 1. У хворих обох груп приблизно з однаковою частотою виді-

ганізмами, а саме: *S. aureus*, *E. aerogenes* і *E. coli*. Кількісні характеристики виділеної мікрофлори у хворих основної групи не мали вірогідної різниці від показників контрольної групи (табл. 1).

Таблиця 1. Частка окремих представників мікрофлори, виділеної із зубного нальоту хворих обстежених груп

Мікроорганізми	Частота виділення мікроорганізмів		Щільність мікробної колонізації, Ig КУО/г (M $\pm$ m)
	абс.	%	
<i>Основна група</i>			
Альфа-гемолітичні стрептококи	18	39,1	6,05 $\pm$ 0,60
<i>S. aureus</i>	6	13,0	4,67 $\pm$ 1,00
<i>S. epidermidis</i>	–	–	–
<i>Neisseria spp.</i>	8	17,4	5,25 $\pm$ 0,70
<i>E. aerogenes</i>	4	8,7	4,75 $\pm$ 0,20
<i>E. coli</i>	2	4,3	4,0 $\pm$ 0,0
<i>C. albicans</i>	8	17,4	4,25 $\pm$ 0,70
<i>Контрольна група</i>			
Альфа-гемолітичні стрептококи	16	37,2	6,19 $\pm$ 0,50
<i>S. aureus</i>	1	2,3	4,0 $\pm$ 0,0
<i>S. epidermidis</i>	1	2,3	4,0 $\pm$ 0,0
<i>Neisseria spp.</i>	17	39,5	5,65 $\pm$ 0,70
<i>E. aerogenes</i>	–	–	–
<i>E. coli</i>	–	–	–
<i>C. albicans</i>	8	18,6	4,35 $\pm$ 0,90

лялися гриби *Candida albicans* (17,4 % – в основній групі, 18,6 % – у контрольній). У хворих основної групи порівняно з контролем значно переважали *Staphylococcus aureus* (13,0 і 2,3 % відповідно), а також виявлялися грамнегативні палички *Enterobacter aerogenes* (8,7 %) та *Escherichia coli* (4,3 %). Отримані результати свідчать про те, що у хворих на муковісцидоз відбувається часткове заміщення представників нормальної мікрофлори ротової порожнини  $\alpha$ -гемолітичних стрептококів і непатогенних *Neisseria spp.* умовно-патогенними мікроор-

Ізольовані із зубного нальоту мікроорганізми у хворих без муковісцидозу виділялися тільки в асоціаціях, в той час як у дітей з муковісцидозом 90 % мікроорганізмів виявлялися в асоціаціях, а 10 % – у монокультури (табл. 2). У дітей обох груп більшість асоціацій була представлена грампозитивними і грамнегативними бактеріями. У 44,4 % хворих на муковісцидоз і 47 % дітей контрольної групи до бактеріальної мікрофлори приєднувалися гриби *C. albicans*. Виявлені асоціації мікроорганізмів в обох групах були як дво-, так і трикомпонентні.

Таблиця 2. Склад мікрофлори (асоціації), виділеної із зубного нальоту хворих обстежених груп

Мікроорганізми	Частота виділення у хворих обстежених груп			
	основної		контрольної	
	абс.	%	абс.	%
Монокультура	2	10	0	0
Асоціації:	18	90	17	100
Бактерії + <i>C. albicans</i>	8	44,4	8	47
Грампозитивні бактерії	1	5,6	0	0
Грампозитивні бактерії + грамнегативні бактерії	9	50	9	53
Двокомпонентні	10	50	8	47
Трикомпонентні	8	40	9	53

Найчастіше до складу двокомпонентних асоціацій у хворих обох груп входили  $\alpha$ -гемолітичні стрептококи і *Neisseria spp.*, до яких у випадку трикомпонентних асоціацій приєднувалися гриби *C. albicans* (табл. 3, 4).

льоту, свідчили про те, що з віком дітей зростає роль *S. aureus* і *C. albicans* в інфекційних процесах ротової порожнини за рахунок витіснення представників нормальної мікрофлори ротової порожнини  $\alpha$ -гемолітичних стреп-

Таблиця 3. Якісний та кількісний склад двокомпонентних асоціацій, виділених із зубного нальоту

Вид мікроорганізму	Частота асоціацій				
	<i>Neisseria spp.</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
<i>Основна група</i>					
Альфа-гемолітичні стрептококи	4	1	0	2	2
<i>S. aureus</i>	0	0	1	0	0
<i>Контрольна група</i>					
Альфа-гемолітичні стрептококи	7	0	0	0	0
<i>S. epidermidis</i>	1	0	0	0	0

Таблиця 4. Якісний і кількісний склад трикомпонентних асоціацій, виділених із зубного нальоту

Вид мікроорганізмів	Частота асоціацій		
	<i>C. albicans</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. aerogenes</i>
<i>Основна група</i>			
Альфа-гемолітичні стрептококи + <i>Neisseria spp.</i>	4	–	–
Альфа-гемолітичні стрептококи + <i>S. aureus</i>	1	–	2
<i>S. aureus</i> + <i>E. aerogenes</i>	1	–	2
<i>Контрольна група</i>			
Альфа-гемолітичні стрептококи + <i>Neisseria spp.</i>	8	1	0

У деяких хворих на муковісцидоз  $\alpha$ -гемолітичні стрептококи були представлені в асоціаціях з *S. aureus* або грамнегативними паличками *E. aerogenes* чи *E. coli*.

У 75 % хворих на муковісцидоз трикомпонентні асоціації виявлялися при наявності важкого або середнього з обтяженням ступеня процесу. Крім того, у цих хворих визначали високий індивідуальний рівень інтенсивності карієсу або важкий ступінь запального процесу в яснах (у 95 % хворих було встановлено хронічний генералізований катаральний гінгівіт). У дітей контрольної групи трикомпонентні асоціації виділялися у випадках середнього і високого рівня інтенсивності карієсу (67 %) чи наявності гінгівіту (15 %), а у 5 осіб був установлений гастрит (55,5 %).

З метою виявлення поширеності мікроорганізмів залежно від віку діти, хворі на муковісцидоз, були розподілені за віком на групи: 1-ша – до 3 років, 2-га – 4–6 років, 3-тя – 7–14 років, 4-га – 15–17 років. Результати аналізу мікрофлори, виділеної із зубного на-

тококів і непатогенних нейсерій (табл. 5). Так, кількість виділених штамів *S. aureus* у хворих 3-ї і 4-ї груп становила по 33,3 %, тоді як у 1-ї і 2-ї вікових групах стафілокок виділявся тільки у 16,7 % випадків. Розширення мікробіоценозу зубного нальоту за рахунок *C. albicans* мало чітко виражену вікову залежність. У той час як у дітей 1-ї групи частка грибів становила лише 12,5 %, у хворих 2-ї і 3-ї груп – по 25 %, то у дітей віком 15–17 років кандиди виділялися у 37,5 %. Натомість частка непатогенних нейсерій у хворих 4-ї групи знизилася до 12,5 %, а стрептококів – до 16,7 %, що було нижче за показники молодших вікових груп.

При вивченні мікрофлори, виділеної із мокротиння і зіва хворих на муковісцидоз, було ідентифіковано 10 видів і 2 роди мікроорганізмів (табл. 6). Спостерігалася кореляція між частотою виділення бактерій і грибів із мокротиння і зіва. Найпоширенішими були бактерії роду *Pseudomonas* (*P. aeruginosa* і *P. alcaligenes*) – 26,5 % у мокротинні і 16,3 %

Таблиця 5. Частка окремих представників мікрофлори, виділеної із зубного нальоту хворих на муковісцидоз, залежно від віку

Мікроорганізми	Групи хворих							
	1-ша		2-га		3-тя		4-та	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
<i>Streptococcus spp.</i>	5	27,8	4	22,2	6	33,3	3	16,7
<i>S. aureus</i>	1	16,7	1	16,7	2	33,3	2	33,3
<i>Neisseria spp.</i>	3	37,5	1	12,5	3	37,5	1	12,5
<i>C. albicans</i>	1	12,5	2	25,0	2	25,0	3	37,5
<i>E. aerogenes</i>	1	25,0	1	25,0	1	25,0	1	25,0
<i>E. coli</i>	–	–	–	–	2	100	–	–

Таблиця 6. Частка окремих представників мікрофлори, виділеної із мокротиння і зів хворих на муковісцидоз

Мікроорганізми	Мокротиння		Зів	
	абс.	%	абс.	%
<i>P. aeruginosa</i>	7	20,6	5	10,2
<i>P. alcaligenes</i>	2	5,9	3	6,1
<i>S. aureus</i>	5	14,7	7	14,3
<i>S. saprophyticus</i>	1	2,9	–	–
<i>Streptococcus spp.</i>	5	14,7	11	22,4
<i>S. pneumoniae</i>	2	5,9	–	–
<i>S. viridans</i>	–	–	1	2,0
<i>S. epidermidis</i>	1	2,9	9	18,4
<i>E. faecium</i>	2	5,9	5	10,2
<i>E. cloacae</i>	2	5,9	1	2,0
<i>E. coli</i>	–	–	2	4,1
<i>A. lwoffii</i>	2	5,9	–	–
<i>C. albicans</i>	4	11,8	3	6,1
<i>C. krusei</i>	–	–	1	2,0
<i>A. niger</i>	1	2,9	–	–
<i>Flavobacterium spp.</i>	–	–	1	2,0
Всього штамів	34		49	

у зіві. Наступними за значущістю були *S. aureus* (14,7 і 14,3 % відповідно) та *Streptococcus spp.* (14,7 і 22,4 % відповідно). *C. albicans* виділялися у 11,8 % випадків із мокротиння і у 6,1 % – із зіву.

За даними ряду авторів, провідними патогенами у хворих на муковісцидоз є *S. aureus* і *P. aeruginosa* [12–14].

При інфекціях легень у таких хворих виділяється більшість бактерій із навколишнього середовища, включаючи *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, *B. cepacia*, гриби, атипичні мікобактерії, тоді як *S. pneumoniae*, *H. influenzae* або *M. catarrhalis* й інші бактерії, які належать до ендогенної мікрофлори, при муковісцидозі зустрічаються значно рідше. Більше того, у зв'язку з хронічним пе-

ребігом захворювання легень бактеріальні патогени, такі як *S. aureus* або *P. aeruginosa*, міняють свій фенотип. При цьому нерідко спостерігаються мукоїдні або малі колоніальні варіації, які складно розпізнати в неспеціалізованих лабораторіях [15].

У більшості випадків у мокротинні і змивах із зіву переважали грампозитивні бактерії. Лише в одиничних випадках виділялися грамнегативні палички, а саме: *Enterobacter cloacae* і *Acinetobacter lwoffii* (5,9 %) із мокротиння, а *E. coli* (4,1 %) і *Flavobacterium spp.* (2,0 %) із зіву.

Мікроорганізми родів *Flavobacterium* (*Chryseobacterium*), *P. aeruginosa* та *Acinetobacter spp.* належать до групи неферментуючих бактерій, які викликають розвиток

інфекцій переважно в імунокомпрометованих хворих [16].

Розширення видового складу мікробіоценозів за рахунок грибів роду *Candida* також свідчить про зниження колонізаційної резистентності слизових оболонок дихальних шляхів.

Порівнявши мікрофлору, виділену із мокротиння, зіва та зубного нальоту хворих на муковісцидоз, ми виявили кореляцію між колонізацією вказаних біотопів золотистим стафілококом і грибами *C. albicans*. У 3 із 6 хворих (50 %), у яких виділявся стафілокок із зубного нальоту, даний патоген мав місце і у змивах із зіва у клінічно значущих значеннях. Гриби *C. albicans*, які висівалися із зубного нальоту у 8 хворих, були також виявлені в мокротинні і зіві у 6 із них (63 %). Альфа-гемолітичні стрептококи є представниками нормальної мікрофлори ротової порожнини, тому вони виділялися із зубного нальоту майже в усіх хворих (у 18 хворих, або 90 %) із щільністю мікробної колонізації Іg 6,05 КУО/г. Указані мікроорганізми були виявлені у мокротинні у 6 хворих (30 %) із щільністю мікробної колонізації Іg 5 КУО/г і у зіві – у 12 хворих (60 %) із щільністю мікробної колонізації Іg 6,7 КУО/г.

Таким чином, мікробіоценоз зубного нальоту дітей, хворих на муковісцидоз, характеризується активною колонізацією поверхні зубів  $\alpha$ -гемолітичними стрептококами, які виділяються в асоціаціях як з грампозитив-

ними чи грамнегативними бактеріями, так і з грибами *C. albicans*. Порівняно із результатами аналізу мікрофлори зубного нальоту дітей, які не хворіли на муковісцидоз, спостерігається розширення спектра мікроорганізмів за рахунок витіснення непатогенних нейсерій золотистим стафілококом та умовно-патогенними грамнегативними паличками родини *Enterobacteriaceae*. На кількісні і якісні характеристики мікрофлори зубного нальоту чинять вплив декілька факторів, зокрема, вік хворої дитини та склад мікробіоти органів дихальної системи. Так, з віком дітей зростає роль *S. aureus* і *C. albicans* в інфекційних процесах ротової порожнини через зменшення ролі представників нормальної мікрофлори ротової порожнини  $\alpha$ -гемолітичних стрептококів і непатогенних нейсерій. Колонізація слизових оболонок дихальних шляхів золотистим стафілококом та грибами *C. albicans* збільшує вірогідність розвитку захворювань ротової порожнини, викликаних вказаними мікроорганізмами. Тяжкість перебігу захворювань ротової порожнини визначається розширенням спектра патогенів у зоні ураження, а саме: виявленням трикомпонентних асоціацій бактерій і грибів *C. albicans*.

**Перспективним** є подальше вивчення стоматологічного статусу дітей з муковісцидозом і визначення шляхів профілактики та лікування патології органів порожнини рота серед даного контингенту хворих.

### Список літератури

1. *Ленарт Т. В.* Муковісцидоз у дітей / Т. В. Ленарт // *Новости медицины и фармации* : газета. – 2008. – № 256 (тематический номер). Аллергология, пульмонология и иммунология. – Режим доступа : <http://www.mif-ua.com/archive/article/6189>.
2. *Антипкин Ю. Г.* Современная клиническая характеристика течения муковісцидоза у детей в Украине / Ю. Г. Антипкин, Л. П. Михайлец // *Репродуктивное здоровье женщин*. – 2006. – № 3 (28). – С. 215–217.
3. *Ашерова И. К.* Муковісцидоз / И. К. Ашерова, Н. И. Капранов. – М., 2013. – С. 7–105.
4. *Генетика бронхолегочных заболеваний* / Е. К. Гинтер, Н. И. Капранов, Н. В. Петрова, Н. Ю. Каширская. – М. : Атмосфера, 2010. – Гл. 5. – С. 51–78.
5. *Капранов Н. И.* Муковісцидоз: современные достижения и актуальные проблемы : методические рекомендации / Н. И. Капранов, Н. Ю. Каширская. – М., 2008. – С. 20–46.
6. *Bush A.* Cystic fibrosis / A. Bush, M. Gotz // *Eur. Resp. Mon.* – 2006. – Ch. 15. – P. 234–289.
7. *Hodson M.* Cystic fibrosis / M. Hodson, G. Duncan, A. Bush. – [3<sup>rd</sup> ed.]. – London : Edward Arnold (Publishers)Ltd., 2007. – 477 p.
8. *Капранов Н. И.* Муковісцидоз – современное состояние проблемы / Н. И. Капранов // *Пульмонология*. – М., 2006. – Прилож. 15 лет Рос. центру муковісцидоза. – С. 5–11.

9. Особенности бронхообструктивного синдрома при муковисцидозе – этиопатогенез и терапия / Н. Ю. Каширская, Н. И. Капранов, В. Д. Толстова [и др.] // РМЖ. Пульмология. – 2007. – Т. 4, № 15. – С. 1–6.
10. Пульмонология. Приложение. ГУ «Медико-генетический научный центр РАМН» (Российский центр муковисцидоза). – М., 2006. – С. 5124.
11. Приказ МЗ СССР от 22.04.85 № 535 Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений. – М., 1985. – 62 с.
12. Муковисцидоз. Рациональная фармакотерапия детских заболеваний / [под ред. А. А. Баранова, Н. Н. Володина, Г. А. Самсыгиной]. – М. : Литтерра, 2007. – С. 536–559.
13. *Льченко С. І.* Клініко-мікробіологічні особливості перебігу муковісцидозу у дітей великого промислового міста / С. І. Льченко // Патологія. – 2014. – № 3 (32). – С. 73–77.
14. Микробный пейзаж дыхательных путей при муковисцидозе у детей / В. А. Фёклин, В. П. Кандыба, Е. Г. Колиушко [и др.] // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2009. – № 13 (1/2). – С. 342.
15. *Ленарт Т. В.* Антибактериальная терапия муковисцидоза у детей / Т. В. Ленарт // Новости медицины и фармации : газета. – 2008. – № 236 (тематический номер). Антимикробная и противовирусная терапия. – Режим доступа : <http://www.mif-ua.com/archive/article/4823>.
16. Род *Chryseobacterium* (*Flavobacterium*): клиническое значение, идентификация, чувствительность к антибиотикам / Л. Г. Боронина, М. П. Кукушкина, К. В. Крутова, С. М. Блинова // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2003. – Т. 5, № 3. – С. 243–250.

***R.S. Nazaryan, M.V. Tkachenko, N.I. Kovalenko***

#### **МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БИОТОПОВ ПОЛОСТИ РТА И ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ МУКОВИСЦИДОЗЕ У ДЕТЕЙ**

Исследованы микробиоценоз зубного налета детей, больных муковисцидозом, и его зависимость от микробиоты дыхательных путей. Показано, что у больных муковисцидозом происходит частичное замещение представителей нормальной микрофлоры ротовой полости  $\alpha$ -гемолитических стрептококков и непатогенных *Neisseria spp.* условно-патогенными микроорганизмами. На количественные и качественные характеристики микрофлоры зубного налета оказывают влияние возраст больного ребенка и состав микробиоты органов дыхательной системы. Тяжесть течения заболеваний ротовой полости определяется расширением спектра патогенов в зоне поражения, а именно: выявлением трехкомпонентных ассоциаций бактерий и грибов *C. albicans*.

**Ключевые слова:** муковисцидоз, зубной налет, микробиота дыхательных путей.

***R.S. Nazaryan, M.V. Tkachenko, N.I. Kovalenko***

#### **MICROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE BIOTOPS OF ORAL CAVITY AND RESPIRATORY SYSTEM IN CHILDREN WITH CYSTIC FIBROSIS**

The microbiocenosis of dental plaque in children with cystic fibrosis is associated with the microbiota of the respiratory tract. It is shown, that patients with a mucoviscidosis have a partial replacement of representatives of a normal microflora of a mouth of  $\alpha$ -hemolytic *Streptococci* and nonpathogenic *Nisseria spp.* opportunistic microorganisms. On the quantitative and qualitative characteristics of the microflora of dental plaque is depends by the age of the child and the composition of the microbiota of the respiratory system. The severity of diseases of the oral cavity is defined by expansion pathogens in the affected area.

**Keywords:** cystic fibrosis, dental plaque, microbiota of the respiratory system.

*Поступила 13.10.15*