

МІКРОБІОЛОГІЯ

DOI 10.29254/2077-4214-2018-3-145-247-250

УДК 616.24 002.363

Алиев М. Х., Ибаева Ш. Е.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ И КАЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ МИКРООРГАНИЗМОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

Азербайджанский медицинский университет (г. Баку, Азербайджан)

nauchnayastatya@yandex.ru

Связь публикации с плановыми научно-исследовательскими работами. Данная работа является фрагментом выполняемой диссертации на соискание ученой степени доктора философии по медицине «Изучение этиопатогенеза инфекций верхних дыхательных путей вызванных условно патогенными микроорганизмами».

Вступление. Существуют 3 формы бронхитов: острый бронхит, трахеобронхит и обострение хронического бронхита. При остром бронхите наблюдается кашель и наличие мокроты (обычно белого или кремового цвета), но при рентгенографии грудной клетки серьезных изменений не обнаруживается. Ведущую роль в инфекционном процессе играет *M. pneumoniae* [1]. При трахеобронхите кашель носит острый характер, однако он не сопровождается об разованием большого количества мокроты. Возбудителями инфекционного процесса часто являются вирусы, но, несмотря на это, наблюдаются проявления системного характера, такие, как температура и миалгия. Обострение хронического бронхита сопровождается хроническим мокрым кашлем и образованием большого количества гнойной мокроты. Возбудителями являются респираторные вирусы или же микроорганизмы, например *S. pneumoniae* и *H. influenzae* [2].

На практике три степени тяжести заболевания обладают некоторыми сходствами. Исследование культуры мокроты обладает ограниченным диагностическим весом. Некоторые авторы считают, что его необходимо проводить, когда отсутствует реакция на лечение через 48 часов [3]. Лечение антибактериальными средствами (например, оральный ампициллин или эритромицин) на протяжении нескольких дней дает терапевтический эффект лишь у некоторых больных, однако большинству пациентов пользы не приносит. Больным с сердечной и легочной недостаточностью рекомендуется заранее провести вакцинацию против пневмококковой инфекции и гриппа.

Острая пневмония может возникнуть до и после приема в больницу. Эта инфекция вызывает наибольшую смертность в мире. У больных острой пневмонией всегда отмечается кашель, грудные симптомы и температура. Кашель может быть сухим или же мокрым и гнойным. Грудные симптомы изменчивы и высока вероятность их субъективной оценки [4]. Эти симптомы проявляются в виде очагов уплотнения и эфузии [5]. Острая пневмония приводит к нарушению дыхания и это должно приниматься во внимание в первую очередь. Установление возмож-

ного этиологического фактора определяет тактику антимикробной терапии. Внимательный опрос и обследование больного и рентгенография грудной клетки позволяют получить некоторую информацию о возможных причинах заболевания [2].

Выделяют 4 клинико-патологические формы острой пневмонии: лobarная, интерстициальная, аспирационная и бронхопневмония.

Для лobarной пневмонии характерно:

- уплотнение легких, ограниченное его сегментом или долькой;
- часто вызывается *S. pneumoniae*;
- микроорганизмы *S. pyogenes* (стрептококки группы А) и *Legionella pneumophila* также могут быть возбудителями этой формы.

При бронхопневмонии:

- вокруг больших дыхательных путей наблюдаются уплотнения в разбросанном виде;
- возбудителями являются *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *H. influenzae* и *L. pneumophila*.

Интерстициальная пневмония характеризуется:

- очагами интерстициальной инфильтрации в разных участках легких;
- мокрота обычно отсутствует;
- возбудителями являются *Legionella* sp., *Micoplazma* spp. или вирусы;
- терапия начинается обычно с использованием эритромицина [6].

Аспирационная пневмония:

- Возникает после аспирации пищи или содержимого изо рта или желудка;
- Повреждение обычно провоцируется химическими или механическими факторами;
- При рентгенографии наблюдаются изменения в правой нижней доле легкого или на ее вершине, если больной лежит на спине.

Этиологическим фактором бактериального повреждения легких служат стрептококки или анаэробы.

Цель исследования: сравнительная оценка качественных и количественных показателей α -гемолитического стрептококка и видов *Neisseria* при бронхите и пневмонии в зависимости от степени тяжести заболевания.

Объект и методы исследования. Были изучены результаты анализов больных бронхитом ($n=12$) и пневмонией ($n=10$), обратившихся для проведения микробиологического анализа в Центральную Лабораторию Республиканской Клинической Больницы имени М.А. Миркасимова. При необходимости были проведены дополнительные микробиологические

исследования во время обострения заболевания и в период раннего выздоровления. В образцах мокроты количественно и качественно были определены встречаемость и колониебобразующая единица (КОЕ) стрептококка и *Neisseria*. В микробиологии КОЕ показывает количество жизнеспособных бактерий или микроргиков в микробиологических образцах. При этом под жизнеспособностью подразумевается способность множественного размножения делением на два в определенных условиях. При подсчете под микроскопом КОЕ считаются только живые клетки. Визуальный просмотр колоний в культуре клеток требует большого увеличения. Число колоний при их происхождении из одной клетки или группы клеток бывает неопределенным.

Полученные результаты были подвержены статистической обработке с использованием параметрических и непараметрических методов при помощи стандартных программных пакетов (Microsoft Excel и Statistica 7.0 для Windows).

Результаты исследования и их обсуждение. В ходе исследований установлено, что в образцах мокроты 12 больных бронхитом в остром периоде заболевания α -гемолитический стрептококк встречался у 11 из 12 больных, что составило 91,7% данной группы. Показатели встречаемости этого микроорганизма в начальном периоде выздоровления были одинаковы с таковыми в остром периоде заболевания.

Выявлено, что α -гемолитический стрептококк встречался в биологических образцах 9 из 10 больных пневмонией как в остром периоде заболевания, так и в начальном периоде выздоровления, что составило 90% от всей соответствующей группы.

Изучение качественных показателей стрептококков этой группы показало, что колониебобразующая способность этих микроорганизмов у 12 больных бронхитом составила $6,65 \pm 0,22$ КОЕ/мл в остром периоде заболевания и несколько меньше, т.е. $6,57 \pm 0,26$ КОЕ/мл в начальном периоде выздоровления.

В биологических образцах 10 больных пневмонией колониебобразующая способность составила $6,32 \pm 0,30$ КОЕ/мл в остром периоде и несколько выше, т.е. $6,42 \pm 0,23$ КОЕ/мл в начальном периоде выздоровления.

Гемолитическая активность стрептококков исследовалась в виде α -, β , и γ -гемолиза. β -гемолитический стрептококк группы А в агаре с кровью барана вызывает β -гемолиз. Наблюдается полный гемолиз вокруг колонии бактерий. Стрептококки группы В, С, и G тоже вызывают β -гемолиз, а стрептококки *Viridans* (например, *Streptococcus salivarius*) – α -гемолиз, при котором образуются участки зеленого цвета.

Гамма-стрептококки не обладают гемолитической активностью и не вызывают гемолиз внутри и на поверхности агара. Большинство стрептококков группы D, как например, *Streptococcus faecalis*, негемолитичны, однако это свойство микроорганизмов изменчиво.

В некоторых случаях α -гемолитический стрептококк и *Streptococcus pneumoniae* из-за схожей гемолитической активности могут быть перепутаны друг с другом. Для различия этих микроорганизмов

необходимо помнить о наличии их главных особенностей:

а) стрептококки размножаются в бульоне с оптохином, а *Streptococcus pneumoniae* не растут даже при разведении оптохина 1/500000;

б) стрептококки размножаются в питательных средах с солями желчных кислот, а *Streptococcus pneumoniae* растворяется;

с) стрептококки, в отличие от *Streptococcus pneumoniae*, не вызывают ферментацию инулина.

Стрептококки малоустойчивы к теплу и погибают при температуре 56°C, а энтерококки термофильны и размножаются даже при температуре 45°C. Стрептококки неустойчивы к антисептикам и дезинфицирующим средствам. Бета-гемолитические стрептококки обычно чувствительны к антибиотикам.

На внешней поверхности некоторых стрептококков существуют антигены капсул со структурой гиалиуроновой кислоты, образованной из субъединиц N-ацетил-D-глюкуроновой кислоты. Непосредственно под ними располагается клеточная стенка.

Клеточная стенка стрептококков состоит из антигенов M, T, R протеинов, а также углеводов и протеогликанов. Углеводы «С», расположенные на клеточной стенке специфичны для группы. Они имеются у всех стрептококков, кроме стрептококка *viridans*.

В зависимости от структурных различий по антигену «С» стрептококки делятся на группы. Таким образом, установлено существование 20 серогрупп (А-V): A, B, C, D,V.

Углеводный антиген «С» составляет 10% от сухой массы микроорганизма. Специфичность углеводного антигена по группе определяется группами аминосахаров. Так, С-полисахарид состоит из:

L-рамноза-N-ацетил-глюказамина у стрептококков группы А;

Рамноза-глюказамина у стрептококков группы В;

Глицерол тейхоатовой кислоты у стрептококков группы С;

Глюкопиранозил-N-ацетилгалактозамина у стрептококков группы F;

Рамноза-галактозаминовых детерминант у стрептококков группы G.

Молекулярный вес углевода «С» равен 8000-10000 Да, соотношение рамноза/N-ацетилглюказамин в среднем определено как 2/1.

M-протеин – один из трех поверхностных антигенов. Этот белок обладает молекулярным весом 3500 Да, устойчив к температуре и кислотам, подвергается лизису в спирте и чувствителен к трипсину. Молекулы этого белка укреплены в клеточной стенке и образуют на ней нитевидные выросты. M-протеин обеспечивает адгезию микроорганизмов к эпителиальным клеткам. Он является основным фактором вирулентности для стрептококков группы А и создает им устойчивость к фагоцитозу. Бактерии, теряющие M-протеин, становятся аморфными.

Стрептококки, содержащие этот антиген, образуют бледные мукоидные колонии. На основании антигенных особенностей M-протеина выделено более 80 вариантов стрептококков группы А.

Антигены M-протеина делятся на 2 подгруппы: I и II класса. Антитела к протеину, особенно I класса, входят в реакцию с тканью сердечной мышцы.

Т-протеїн являється антигеном, устойчивим к протеолитическим ферментам пепсин и трипсин. Он нерастворим в спиртах и не повышает вирулентность.

R-протеїн не является типоспецифичным и не имеет связи с вирулентностью. Установлено 2 его типа: 3R – расщепляемый пепсином и трипсином, и 28R – расщепляемый только пепсином.

В ходе наших исследований представители *Neisseria* были обнаружены у 10 из 12 больных острым бронхитом, что составило 83,3% данной группы пациентов. В начальном периоде выздоровления встречаемость этих микроорганизмов оказалась одинаковой (таблица). Несмотря на это были выявлены различия между указанными периодами заболевания в колониеобразующей способности. Так, этот показатель в остром периоде составил $6,62 \pm 0,18$ КОЕ/мл, тогда как в начальном периоде выздоровления он оказался несколько ниже – $6,54 \pm 0,23$ КОЕ/мл.

Встречаемость представителей вида *Neisseria* у больных пневмонией составила 8 человек в остром периоде заболевания и 7 человек в начальном периоде выздоровления, что составило соответственно 80% и 70%.

Колониеобразующая способность *Neisseria* в остром периоде пневмонии оказалась $6,29 \pm 0,27$ КОЕ/мл. В начальном периоде выздоровления этот показатель несколько повышался и был равным $6,35 \pm 0,20$ КОЕ/мл.

Пневмония считается вызывающей наибольшую смертность в мире инфекцией. Нами была проведена сравнительная оценка качественных и количественных показателей α -гемолитического стрептококка и видов *Neisseria* в зависимости от степени тяжести заболевания при бронхите и пневмонии.

Таблица.
Кількісні і якісні показники різних видів мікроорганізмів залежно від ступеня тяжкості захворювань верхніх дихальних шляхів

Показатели	Больные бронхитом (n=12)		Больные пневмонией (n=10)	
	Встреча-емость, (%)	Колоние-образующий показатель (КОЕ/мл)	Встреча-емость, (%)	Колоние-образующий показатель (КОЕ/мл)
<i>Streptococcus</i> (α -гемолитический)				
Острый период	11 (91,7)	$6,65 \pm 0,22$	9 (90,0)	$6,32 \pm 0,30$
Начальный период выздоровления	11 (91,7)	$6,57 \pm 0,26$	9 (90,0)	$6,42 \pm 0,23$
<i>Neisseria</i> spp.				
Острый период	10 (83,3)	$6,62 \pm 0,18$	8 (80,0)	$6,29 \pm 0,27$
Начальный период выздоровления	10 (83,3)	$6,54 \pm 0,23$	7 (70,0)	$6,53 \pm 0,20$

Выводы. В образцах мокроты 12 больных бронхитом в остром периоде заболевания α -гемолитический стрептококк встречался у 11 из 12 больных, что составило 91,7% данной группы. Представители *Neisseria* были обнаружены у 10 из 12 больных острым бронхитом, что составило 83,3% данной группы пациентов. В начальном периоде выздоровления встречаемость этих микроорганизмов оказалась одинаковой. Изучение качественных показателей видов *Neisseria* выявило различия в колониеобразующей способности этих микроорганизмов в остром периоде бронхита и в начальном периоде выздоровления. Так, колониеобразующий показатель составил $6,65 \pm 0,22$ КОЕ/мл в остром периоде заболевания и несколько меньше, т.е. $6,57 \pm 0,26$ КОЕ/мл в начальном периоде выздоровления.

Перспективы дальнейших исследований. Планируется дальнейшее изучение показателей возможных причин заболеваний: бронхит и пневмония.

Література

1. Moberley SA, Holden J, Tatham DP, Andrews RM. Vaccines for preventing pneumococcal infection in adults. Cochrane Database Syst Rev. 2008;1:CD000422.
2. Ochoa-Gondar O, Vila-Corcoles A, Ansa X, Rodriguez-Blanco T, Salsench E, de Diego C, et al. Effectiveness of pneumococcal vaccination in older adults with chronic respiratory diseases: results of the EVAN-65 study. Vaccine. 2008;26:1955-62.
3. Conaty S, Watson L, Dinnis J, Waugh N. The effectiveness of pneumococcal polysaccharide vaccines in adults: a systematic review of observational studies and comparison with results from randomised controlled trials. Vaccine. 2004;22:3214-24.
4. Mykietiuk A, Carratala J, Dominguez A, Gudiol F. Effect of prior pneumococcal vaccination on clinical outcome of hospitalized adults with community-acquired pneumococcal pneumonia. Eur J Clin Microbiol. Infect Dis. 2006;25:457-62.
5. Lee TA, Weaver FM, Weiss KB. Impact of pneumococcal vaccination on pneumonia rates in patients with COPD and asthma. J Gen Intern Med. 2007;22:62-7.
6. Maruyama T, Taguchi O, Niederman MS, Morser J, Kobayashi H, Kobayashi T, et al. Efficacy of 23-valent pneumococcal vaccine in preventing pneumonia and improving survival in nursing home residents: double blind, randomised and placebo controlled trial. BMJ. 2010;340:c1004.

КІЛЬКІСНІ І ЯКІСНІ ПОКАЗНИКИ РІЗНИХ ВІДВІДОВАНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ ЗАЛЕЖНО ВІД СТУПЕНЯ ТЯЖКОСТІ ЗАХВОРЮВАНЬ ВЕРХНІХ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ

Алієв М. Х., Ібаєва Ш. Е.

Резюме. В результаті дослідження з 12 в 11 випадках спостерігався високий рівень α -гемолітичного стрептокока в гострій фазі захворювання при бронхіті, що склало 91,7% пацієнтів. У біологічних зразках 10 хворих в гострій фазі бронхіту були виявлені види *Neisseria*, що становило 83,3% осіб з гострим бронхітом. У ранній період одужання види *Neisseria* в біологічних зразках виявлялися в ідентичній кількості випадків.

Ключові слова: бронхіт, пневмонія, бактерії.

КОЛИЧЕСТВЕННІ І КАЧЕСТВЕННІ ПОКАЗАТЕЛІ РАЗЛИЧНИХ ВІДОВ МІКРООРГАНІЗМОВ В ЗАВИСИМОСТІ ОТ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ЗАБОЛЕВАНЬ ВЕРХНІХ ДЫХАТЕЛЬНИХ ПУТЕЙ

Алиев М. Х., Ибаева Ш. Е.

Резюме. В результаті дослідження з 12 в 11 випадках було зафіксовано високий рівень а-гемолітичного стрептококка в острій фазі захворювання при бронхіті, що становило 91,7% пацієнтів. В біологіческих образцах 10 хворих в острій фазі бронхіту були виявлені види Neisseria, що становило 83,3% осіб з острим бронхітом. В ранній період відновлення види Neisseria в біологіческих образцах виявлялися в ідентичному кількості випадків.

Ключові слова: бронхіт, пневмонія, бактерії.

QUANTITATIVE AND QUALITATIVE INDICATORS OF DIFFERENT TYPES OF MICROORGANISMS DEPENDING ON THE DEGREE OF THE GRAVITY OF DISEASES OF THE UPPER RESPIRATORY WAYS

Aliev M. H., Ibaeva Sh. E.

Abstract. Objective: comparative evaluation of qualitative and quantitative indicators of α-hemolytic Streptococcus and Neisseria species in bronchitis and pneumonia, depending on the severity of the disease.

Methods. The results of the analysis of patients with bronchitis (n=12) and pneumonia (n=10) who applied for microbiological analysis to the Central Laboratory of the Republican clinical Hospital named after M. A. Mirkasimov were studied. If necessary, additional microbiological studies were carried out during the exacerbation of the disease and during early recovery. The occurrence and colony-forming unit (CFU) of Streptococcus and Neisseria were determined quantitatively and qualitatively in sputum samples.

Results. In sputum samples of 12 patients with bronchitis in the acute period of the disease α-hemolytic Streptococcus was found in 11 of 12 patients, which was 91.7% of this group. Indicators of occurrence of this microorganism in the initial period of recovery were the same as those in the acute period of the disease. It was revealed that α-hemolytic Streptococcus was found in biological samples of 9 out of 10 patients with pneumonia both in the acute period of the disease and in the initial period of recovery, which amounted to 90% of the entire corresponding group.

The study of qualitative indicators of streptococci in this group showed that the colony-forming ability of these microorganisms in 12 patients with bronchitis was 6.65 ± 0.22 CFU/ml in the acute period of the disease and slightly less, i.e. 6.57 ± 0.26 CFU/ml in the initial period of recovery. In biological samples of 10 patients with pneumonia colony-forming capacity was 6.32 ± 0.30 CFU/ml in the acute period and slightly higher, i.e. 6.42 ± 0.23 CFU/ml in the initial period of recovery. Hemolytic activity of streptococci was studied as α-, β-, and γ-hemolysis. Group a β-hemolytic Streptococcus in agar with RAM blood causes β-hemolysis. There is complete hemolysis around the colony of bacteria. Streptococci groups b, C, and G also cause β-hemolysis, and Viridans streptococci (e.g. Streptococcus salivarius), α - hemolysis, in which are formed the areas of the green. Gamma streptococci do not have hemolytic activity and do not cause hemolysis inside and on the surface of agar. Most group D streptococci, such as Streptococcus faecalis, are non-hemolytic, but this property of microorganisms is variable. In some cases, α-hemolytic Streptococcus and Streptococcus pneumoniae because of similar hemolytic activity can be confused with each other. The cell wall of streptococci consists of antigens M, T, R proteins, as well as carbohydrates and proteoglycans. Carbohydrates "C", located on the cell wall specific to the group. They are available in all streptococci, except Streptococcus viridans.

Depending on the structural differences in the antigen "With" streptococci are divided into groups – the existence of 20 serogroups (A-V): A, B, C, D,V. The incidence of representatives of the Neisseria species in patients with pneumonia was 8 people in the acute period of the disease and 7 people in the initial period of recovery, which was respectively 80% and 70%.

Colony-forming ability of Neisseria in the acute period of pneumonia was 6.29 ± 0.27 CFU/ml in the initial period of recovery, this figure increased slightly and was equal to 6.35 ± 0.20 CFU/ml.

Conclusion. In sputum samples of 12 patients with bronchitis in the acute period of the disease α-hemolytic Streptococcus was found in 11 of 12 patients, which was 91.7% of this group. Representatives of Neisseria were found in 10 of 12 patients with acute bronchitis, which amounted to 83.3% of this group of patients. In the initial period of recovery, the incidence of these microorganisms was the same. The study of qualitative indicators of Neisseria species revealed differences in colony-forming ability of these microorganisms in the acute period of bronchitis and in the initial period of recovery. Thus, the colony-forming index was 6.65 ± 0.22 CFU/ml in the acute period of the disease and slightly less, i.e. 6.57 ± 0.26 CFU/ml in the initial period of recovery.

Key words: bronchitis, pneumonia, bacteria.

Рецензент – проф. Лобань Г. А.

Стаття надійшла 24.08.2018 року