

ОСОБЛИВОСТІ МІКРОБІОТИ РОТОГЛОТКИ ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ ТА ГОСТРУ РЕСПІРАТОРНУ ІНФЕКЦІЮ

Резюме. Стаття присвячена порівнянню складу колонізуючої мікрофлори ротоглотки дітей, які хворіють на бронхіальну астму (БА) та гостру респіраторну інфекцію (ГРІ). Константними для біотопів ротоглотки дітей з ГРІ та БА були стафілококи та α -гемолітичні стрептококи. Групи дослідження відрізнялися за складом другорядних за значенням мікроорганізмів: при ГРІ виділені *Streptococcus* spp. з β -гемолізом, *E.coli* та *Candida* spp., при БА — представники автохтонної мікрофлори (*Streptococcus* spp. з β -гемолізом, *Moraxella* spp., *Corynebacterium* spp.). Варіабельність видового складу біоти ротоглотки у хворих на ГРІ майже вдвічі перевищувала таку в пацієнтів із БА. Домінуючими за показником зустрічальності P_i мікроорганізмами при обох захворюваннях були стафіло- та стрептококи.

Ключові слова: бронхіальна астма, ГРІ, мікрофлора ротоглотки, діти.

Вступ

Згідно з фактами, встановленими на сьогодні, людину (10^{13} -клітинний макроорганізм) населяє 10^{14} – 10^{15} мікроорганізмів. Усі ці мікроорганізми живуть в оточенні один одного і не можуть існувати поза цим середовищем, життєво залежним від людського організму, який, у свою чергу, також не може жити без цього об'єднання: «Причем это не просто параллельное сосуществование, а жизненная необходимость в обеспечении себя питанием и получении жизненно необходимых средств, условиями для размножения, возможностями защиты и т.д.» [1]. Той факт, що бактерії здатні утворювати складні бактеріальні спільноти, був відомий давно, проте в 90-х роках минулого сторіччя було доведено існування феномену колективної поведінки бактерій, який отримав назву quorum sensing (QS) — «відчуття кворуму» [16, 17, 24]. Quorum sensing відбувається за участі регуляторних систем за рахунок взаємодії зі специфічними рецепторами, розташованими на поверхні мембрани бактерії, такими як N-ацилгомосерин дегідрогенази лактон [22] та інші [10]. Склад мікрофлори генетично пов'язаний в середині біоплівки, специфічний на штамовому рівні для кожного індивідуума й навіть детермінований спадково [7]. Біота настільки індивідуальна, що за її складом можна ідентифікувати індивіда з більшою точністю, ніж за відбитками пальців. Отже, колонізуючий склад мікрофлори в дітей з певними захворюваннями генетично детермінований. Тому цікавим є вивчення відмінностей видового складу мікроорганізмів, що населяють ротоглотку хворих з гострими респіраторними епізодами та пацієнтів, які тривало хворіють, зокрема дітей з бронхіальною астмою (БА).

Близько 60 % хронічних і рецидивуючих інфекцій, торпідних до стандартної терапії, пов'язані із формуванням на різних поверхнях (передусім на слизових оболонках) біоплівок [17, 18]. На сьогодні доведена роль мікробних біоплівок в етіології й патогенезі багатьох гострих і хронічних бактеріальних інфекцій. До останніх відносять муковісцидоз [12] і вентиляційно-залежні пневмонії [24]. Тобто в етіології та патогенезі захворювань дихальної системи біоплівки відіграють особливу роль. Основними бактеріями, що входять до складу біоплівки при хронічних обструктивних захворюваннях легень (ХОЗЛ), є, як правило, *H.influenzae*, пневмокок і *Moraxella catarrhalis* [22]. Механізм формування біоплівки при ХОЗЛ пов'язаний з пошкодженням епітелію дихальних шляхів через куріння тютюну або забруднення довкілля [13]. Ці фактори сприяють розвитку запалення та активації макрофагів, нейтрофілів і дендритних клітин [11, 20]. Останнє може також активувати клітини адаптивного імунітету й запускати автоімунні механізми, що викликають хронічне запалення [11, 19, 20].

Роль інфекційних агентів у виникненні та персистенні запального процесу у хворих із бронхіальною астмою постійно викликає інтерес і неоднозначно

Адреса для листування з авторами:

Стеценко В.В.

E-mail: v_stetsenko_v@mail.ru

© Федорців О.Є., Бурбела Е.І., Волянська Л.А., Романюк Л.Б., Стеценко В.В., 2016

© «Актуальна інфектологія», 2016

© Заславський О.Ю., 2016

тракуються клініцистами, мікробіологами та патоморфологами [8, 5, 14]. Невирішеними залишаються питання про первинну або вторинну роль патогенної мікрофлори у виникненні загострень та зниженні ефективності проведеного лікування, що слід враховувати при застосуванні препаратів (кортикостероїдні гормони, антибіотики тощо), які, у свою чергу, як побічний ефект мають порушення місцевого мікробного балансу [8].

Матеріали та методи дослідження

Метою нашого дослідження було якісно та кількісно охарактеризувати мікрофлору біотопу ротоглотки в дітей, хворих на БА та гостру респіраторну інфекцію (ГРІ).

У дослідженні брали участь 15 дітей, хворих на БА в періоді загострення легкого та середнього ступеня тяжкості, та 11 пацієнтів із ГРІ віком від 9 до 17 років, які знаходились на стаціонарному лікуванні в пульмонологічному та інфекційно-діагностичному відділеннях Комунальної установи Тернопільської обласної ради «Тернопільська обласна дитяча клінічна лікарня». У дослідження включені пацієнти, батьки яких дали згоду на обстеження дітей та аналіз медичної документації. Групи обстежених дітей були порівнянні за віком, статтю та місцем проживання.

Хворих на БА розподілено за ступенем тяжкості, їм призначено стандартну базисну терапію періоду загострення відповідно до Наказу МОЗ України від 08.10.2013 № 868. Усі хворі отримували перорально та інгаляційно кортикостероїдні препарати, інгаляційний холінолітик на тлі β_2 -агоністів короткої дії для зменшення симптомів астми. Мікробіологічне дослідження проводилось у перші дні періоду загострення. У 38,46 % (n = 5) хворих загострення виникло на тлі легкого персистуючого перебігу захворювання. У решті 61,54 % (n = 8), обстежуваних мала місце БА середнього ступеня. Давність захворювання становила в середньому $4,46 \pm 2,50$ року. Востаннє антибактеріальну терапію пацієнти отримували в строк від 1 до 7 місяців до даного обстеження. Усі обстежувані приймали лише один вид антибіотика (переважно цефалоспорины). Інгаляційні кортикостероїдні препарати застосовувались їм від кількох місяців до 1 року.

Серед проявів ГРІ переважали ураження нижніх дихальних шляхів (n = 8; 72,73 %): трахеобронхіт (n = 2; 18,18 %), бронхіт (n = 1; 9,09 %), пневмонія (n = 5; 45,45 %). У решті (n = 3; 72,73 %) хворих патологічний процес локалізувався у верхній частині дихального тракту: ринофарингіт (n = 1; 9,09 %) та фарингіт (n = 2; 18,18 %). На стаціонарне лікування діти потрапляли переважно після другої доби від початку захворювання. Комплекс лікування ГРІ складався з місцевої противірусної (лаферобіон, 5% ЕААК), симптоматичної (жарознижуючі, муколітики, бронхолітики) та антибіотикотерапії (у більшості хворих (n = 9; 81,81 %)). Антибіотикотерапія проводилась цефалоспоринами 3-го покоління (цефтріаксон отримували 7 хворих (63,64 %), решта — цефотаксим). Мікробіологічне дослідження проводилось у першу добу стаціонарного лікування.

Основним методами дослідження цієї групи обстежених були:

- загальноклінічні: збирання анамнезу, огляд хворого, оцінка скарг хворого;
- функціональні: дослідження функції зовнішнього дихання;
- мікробіологічні.

Усі діти з ГРІ були ретельно клінічно обстежені, що включало детальний аналіз скарг, анамнезу життя, наявності супутніх захворювань, вживання лікарських препаратів, даних об'єктивного обстеження. Комплекс лікування ГРІ складався з місцевої противірусної (лаферобіон, 5% ЕААК), симптоматичної (жарознижуючі, муколітики, бронхолітики) та антибіотикотерапії (у більшості хворих). Мікробіологічне дослідження проводилось у першу добу стаціонарного лікування.

Для оцінки біоти ротоглотки досліджуваного контингенту використані загальнозживані методи з посівом харкотиння на живильні середовища (колумбійський агар, шоколадний агар, агар Мак-Конкі, жовточно-сольовий агар, середовище Сабуро, сусл-агар тощо). Кількісний підрахунок бактерій проводився шляхом вираження об'єктивної кількості колоній мікроорганізмів у колонієутворюючих одиницях на грам (КУО/г). Враховувалася кількість виділених штамів сапрофітних бактерій (*Neisseria* spp., *St. epidermidis* та ін.) та умовно-патогенних бактерій (*St. aureus*, *Klebsiella* spp. та ін.) у кількості $1 \cdot 10^5$ і більше, дріжджових (*Candida* spp.) та пліснявих мікроміцетів (*Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. тощо) [2–4]. Ступінь домінування того чи іншого мікроорганізму в угрупованні визначали за частотою його виявлення. Для цього використовували індекс постійності С, що виражається часткою добутку кількості зразків, які містять досліджуваний вид (р), на 100 % від кількості взятих зразків (Р). Види, що зустрічалися найбільш часто (понад 50 %), вважали константними; у межах 20–50 % — другорядними; такими, що зустрічаються нечасто — від 1 до 19 %; такими, що зустрічаються рідко, — менше від 1 %. Для оцінки частоти зустрічальності популяцій різних мікроорганізмів в ротоглотці використовували показник зустрічальності Рі, що становить відношення числа штамів даного виду до загальної кількості штамів [6].

Статистична обробка матеріалу проводилася за допомогою ліцензійних програмних продуктів, які входять у пакет Microsoft Office Professional 2000, ліцензія на персональному комп'ютері у програмі Excel.

Обговорення результатів дослідження

Серед обстеженого контингенту 6 дітей, хворих на ГРІ (54,54 %), були носіями стафілококів, причому 4 з них — *S. aureus*. Різного роду стрептококи виділені майже від половини обстежуваних: α -гемолітичні — 54,54 %, β -гемолітичні — 45,45 % (табл. 1).

Отже, до константних видів при ГРІ можна віднести стафілококи та α -гемолітичні стрептококи, до другорядних — β -гемолітичні стрептококи та *E. coli* (45,45 %) і *Candida* spp. (36,36 %) відповідно. Решта мікроорга-

нізмів: нейсерії, мораксели, коринебактерії, клебсієли, пневмококи та бранхамели — віднесені до третьої групи — ті, що зустрічаються нечасто.

При БА ступінь домінування мікроорганізмів був дещо іншим, хоча константні види були тими ж (табл. 2). Проте порівняно з мікрофлорою при ГРІ значно зросла кількість α -гемолітичних стрептококів (80,0 % проти 54,54 %) та збільшилась питома вага автохтонних мікроорганізмів: *Corynebacterium* spp., *Branhamella* spp., *Moraxella* spp.

У структурі біотопу ротоглотки хворих на БА дітей не спостерігалось видимих явищ дисбіозу (наявності нехарактерних для даного біотопу мікроорганізмів або збільшення кількості тих, що зустрічаються рідко).

Отже, аналізуючи індекс постійності (С, %) можна підсумувати, що константними для біотопів ротоглотки дітей з ГРІ та БА були лише два види — стафілококи та α -гемолітичні стрептококи. Але щодо другорядних за значенням мікроорганізмів дані групи значно відрізнялися: при ГРІ виділено *Streptococcus* spp. з β -гемолізом,

E.coli та *Candida* spp., при БА — представників автохтонної мікрофлори: *Streptococcus* spp. з β -гемолізом, *Moraxella* spp., *Corynebacterium* spp. Серед мікроорганізмів, що зустрічаються нечасто в дітей, хворих на ГРІ, були представники таких патогенів, як *Neisseria* spp., *Klebsiella* spp. та *Streptococcus pneumoniae*; у хворих на БА, окрім *Neisseria* spp., їх не зустрічалось.

Виділені патогени респіраторної групи в обстежених дітей на 76–82 % є чинниками патології дитячого віку, посідаючи в структурі інфекційної захворюваності домінуюче місце [9]. Із ротоглотки досліджуваних дітей, хворих на ГРІ, виділено 95 різних штамів мікроорганізмів. Лівову частку становили стафіло- та стрептококи (n = 7 та n = 11 відповідно). Далі за величиною показника зустрічальності (Pi) знаходились *E.coli* та дріжджоподібні гриби роду *Candida* (рис. 1). Це переконливо свідчить про наявність у значної частки обстежених (45,45 %) дисбіозу ротоглотки, оскільки і кишкова паличка, і гриби *Candida* не є представниками нормобіотопу ротоглотки.

Таблиця 1. Ступінь домінування мікроорганізмів у ротоглотці хворих на ГРІ дітей

Мікроорганізм	С (%)
<i>Staphylococcus</i> spp.	63,63
<i>Streptococcus</i> spp. з α -гемолізом	54,54
<i>Streptococcus</i> spp. з β -гемолізом	45,45
<i>E. coli</i>	45,45
<i>Candida</i> spp.	36,36
<i>Neisseria</i> spp.	18,18
<i>Moraxella</i> spp.	18,18
<i>Corynebacterium</i> spp.	9,09
<i>Klebsiella</i> spp.	9,09
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	9,09
<i>Branhamella</i> spp.	9,09

Таблиця 2. Ступінь домінування мікроорганізмів у ротоглотці хворих на БА дітей

Мікроорганізм	С (%)
<i>Staphylococcus</i> spp.	59,90
<i>Streptococcus</i> spp. з α -гемолізом	80,00
<i>Streptococcus</i> spp. з β -гемолізом	40,00
<i>E. coli</i>	–
<i>Candida</i> spp.	–
<i>Neisseria</i> spp.	6,70
<i>Moraxella</i> spp.	20,20
<i>Corynebacterium</i> spp.	20,20
<i>Klebsiella</i> spp.	6,70
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	–
<i>Branhamella</i> spp.	13,30

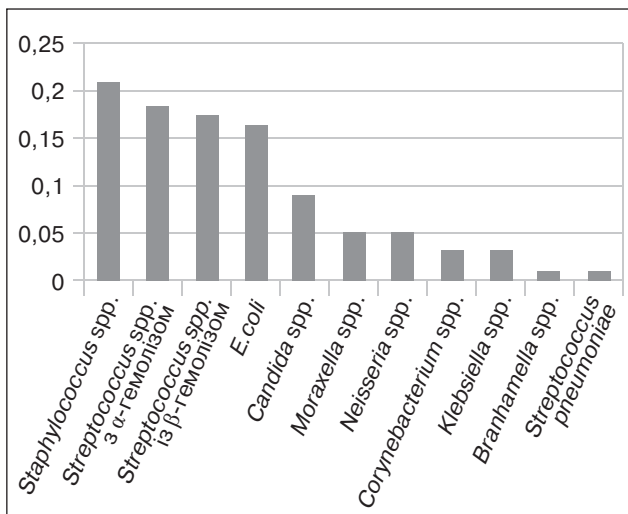


Рисунок 1. Варіабельність показника зустрічальності (Pi) представників мікробіоценозу ротоглотки дітей, хворих на ГРІ (в одиницях)

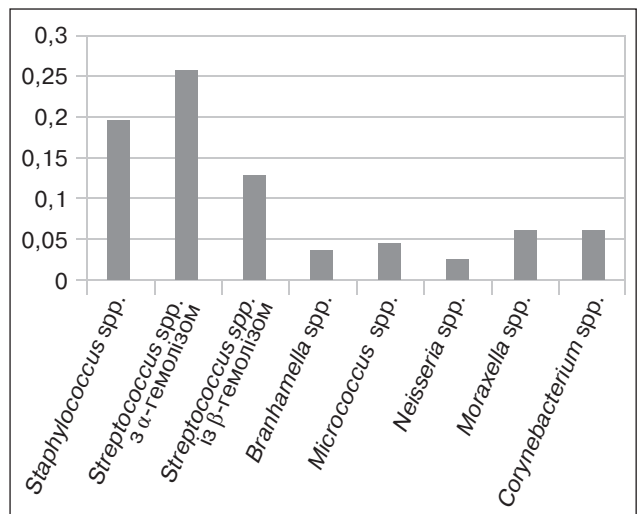


Рисунок 2. Варіабельність показника зустрічальності (Pi) представників мікробіоценозу ротоглотки дітей, хворих на БА (в одиницях)

У дітей, хворих на ГРІ, епітелій слизової оболонки не виконав свою захисну функцію, що створило оптимальні умови для контамінації останньої алохтонними мікроорганізмами та сприяло їх росту та розмноженню. Така ситуація призвела до зростання кількості умовно-патогенних мікроорганізмів, що в подальшому можуть стати причиною бактеріальних ускладнень. Ретроспективний аналіз історій хвороби обстежених дітей виявив ускладнення в понад половини ($n = 7$; 63,63 %) аналізованих випадків: у третини дітей (4; 36,36 %) — пневмонії та в 3 (27,27 %) — обструктивного бронхіту.

Серед 46 штамів, що виділені від 15 пацієнтів, хворих на БА, найвищий показник зустрічальності діагностовано в α -гемолітичних стрептококів, на другому місці був *S.aureus* та *Streptococcus* spp. з β -гемолізом. Решта представників зустрічались з практично однаковою частотою (рис. 2).

Тобто за даним показником суттєвих змін при порівнянні біотопів ротоглотки в обстежених хворих не виявлено, за винятком наявності *E.coli* та *Candida* spp. при ГРІ.

Отже, константними для біотопів ротоглотки дітей з ГРІ та БА були стафілококи та α -гемолітичні стрептококи. Групи дослідження відрізнялися за складом дурогрядних за значенням мікроорганізмів: при ГРІ виділено *Streptococcus* spp. з β -гемолізом, *E.coli* та *Candida* spp., при БА — представників автохтонної мікрофлори (*Streptococcus* spp. з β -гемолізом, *Moraxella* spp., *Corynebacterium* spp.). Варіабельність видового складу біоти ротоглотки в хворих на ГРІ майже вдвічі перевищувала таку в пацієнтів з БА. Домінуючими за показником зустрічальності Рі мікроорганізмами при обох захворюваннях були стафіло- та стрептококи.

Список літератури

1. Богадельников И.В. Этюды о человеке и микроорганизмах: Монография / И.В. Богадельников. — Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2014. — 160 с.
2. Белых Н.А. Сучасні підходи до діагностики та терапії бронхообструктивного синдрому інфекційного генезу в дітей / Н.А. Белых, Л.А. Заливна // Актуальна інфектологія. — 2015. — № 1(6). — С. 88-93.
3. Вишнякова Л.А. Микробиологические методы обследования пульмонологических больных: Метод. рекомендации / Под ред. Л.А. Вишняковой. — Ленинград, 1981. — 23 с.
4. Воробьев А.А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология (2-е изд.) / Под ред. А.А. Воробьева. — М.: Медицинское информационное агентство, 2006. — 704 с.
5. Ермолина Г.Б. Исследование факторов патогенности бактерий, выделенных от детей в многопрофильном стационаре / Г.Б. Ермолина (и др.) // Современные проблемы эпидемиологии: Сборник статей, посвященных 65-летию кафедры эпидемиологии Нижегородской гос. мед. академии. — Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2007. — С. 62-67.
6. Климнюк С.І. Мікробна екологія шкіри людини в різні вікові періоди в нормі та при патології: Автореф. дис... доктора мед. наук.: спец. 03.00.07 «Мікробіологія» / С.І. Климнюк. — К., 1995. — 23 с.
7. Осипов Г. Невидимый орган — микрофлора человека [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://www.rusmedserv.com/microbiadiag/invisibleorgan.htm#b6>

8. Рекалова Е.М. Взаимосвязь микрофлоры дыхательных путей с клиническими особенностями хронического обструктивного заболевания легких / Е.М. Рекалова // Укр. пульмонолог. журн. — 2005. — № 3. — С. 23-26.

9. Юлиш Е.И. Подходы к терапии острых респираторных заболеваний у часто и длительно болеющих детей / Е.И. Юлиш Б.И. Кривуцев, С.Я. Ярошенко // Здоровье ребенка. — 2011. — № 2(29). — С. 55.

10. Bhardwaj A.K. Bacterial quorum sensing inhibitors: attractive alternatives for control of infectious pathogens showing multiple drug resistance / A.K. Bhardwaj K.Vinothkumar, N. Rajpara // Recent Pat. Antiinfect. Drug Discov. — 2013. — 8. — P. 68-83.

11. Brusselle G.G. Joos New insights into the immunology of chronic obstructive pulmonary disease / G.G. Brusselle, G.F. Joos, K.R. Bracke // Lancet. — 2011. — 378. — P. 1015-26.

12. Davies J.C. Bugs, biofilms, and resistance in cystic fibrosis / J.C. Davies // Respir. Care. — 2009. — 54. — P. 628-40.

13. Eldika N. Role of nontypeable *Haemophilus influenzae* in exacerbations and progression of chronic obstructive pulmonary disease / N. Eldika, S. Sethi // Curr. Opin. Pulm. Med. — 2006. — 12. — P. 118-24.

14. Miravittles M. Exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease when are bacteria important? / M. Miravittles // Eur. Respir. J. — 2002. — Vol. 20. — P. 9-19.

15. Hall-Stoodley L. Evolving concepts in biofilm infections / L. Hall-Stoodley et al. // Cell. Microbiol. — 2009. — Vol. 11. — P. 1034-1043.

16. Jakobsen T.H. Qualitative and quantitative determination of quorum sensing inhibition in vitro. Quorum sensing: methods and protocols / T.H. Jakobsen et al. // Methods in Molecular Biology. — 2011. — Vol. 692. — P. 253-263.

17. Nazzari E. Role of biofilm in children with recurrent upper respiratory tract infections / E. Nazzari, S. Torretta, L. Pignataro, P. Marchisio, S. Esposito // European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. — March 2015. — Vol. 34, Issue 3. — P. 421-429.

18. Pintucci J.P. Biofilms and infections of the upper respiratory tract / J.P. Pintucci, S. Corno, M. Garotta // Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. — 2010. — 14. — P. 683-90.

19. Rovina N. Inflammation and immune response in COPD: where do we stand? / N. Rovina, A. Koutsoukou, N.G. Koulouris // Mediators Inflamm. — 2013. — 2013. — P. 413-735.

20. Dancer R. Regulatory T cells and COPD / R. Dancer, D.M. Sansom // Thorax. — 2013. — 68. — P. 1176-1178.

21. Schuster M. Acyl-homoserine lactone quorum sensing: from evolution to application / M. Schuster, D.J. Sexton, S.P. Diggle, E.P. Greenberg // Ann. Rev. Microbiol. — 2013. — 67. — P. 43-63.

22. Sethi S. Airway bacterial concentrations and exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease / S. Sethi, R. Sethi, K. Eschberger, P. Lobbins, X. Cai, B.J. Grant et al. // J. Respir. Crit. Care Med. — 2007. — 176. — P. 356-61.

23. Tian X. Quorum sensing and bacterial social interactions in biofilms / X. Tian // Sensors (Basel). — 2012. — 12. — P. 2519-38.

24. Wiener-Kronish J.P. Ventilator-associated pneumonia: problems with diagnosis and therapy / J.P. Wiener-Kronish, H.I. Dorr // Best Pract. Res Clin. Anaesthesiol. — 2008. — 22. — P. 437-49.

ОТРИМАНО 20.08.16 ■

Федорцов О.Е., Бурбела Э.И., Волянская Л.А., Романюк Л.Б., Стеценко В.В.

ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского», г. Тернополь, Украина

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОТЫ РОТОГЛОТКИ ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ И ОСТРОЙ РЕСПИРАТОРНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Резюме. Статья посвящена сравнению состава колонизирующей микрофлоры ротоглотки детей, болеющих бронхиальной астмой (БА) и острой респираторной инфекцией (ОРИ). Константными для биотопов ротоглотки детей с ОРИ и БА были стафилококки и α -гемолитические стрептококки. Группы исследования отличались по составу второстепенных по значению микроорганизмов: при ОРИ выделены *Streptococcus* spp. с β -гемолизом, *E.coli* та *Candida* spp., при БА — представители

автохтонной микрофлоры (*Streptococcus* spp. с β -гемолизом, *Moraxella* spp., *Corynebacterium* spp.). Варибельность видового состава биоты ротоглотки у больных ОРИ почти в два раза превышала таковую у пациентов с БА. Доминирующими по показателю встречаемости Рі микроорганизмами при обоих заболеваниях были стафило- и стрептококки.

Ключевые слова: бронхиальная астма, острая респираторная инфекция, дети, биотоп, ротоглотка.

Fedortsiv O.Ye., Burbela E.I., Volianska L.A., Romaniuk L.B., Steetsenko V.V.

SHEI «I. Horbachevsky Ternopil State Medical University», Ternopil, Ukraine

FEATURES OF OROPHARYNGEAL MICROBIOTA IN CHILDREN WITH BRONCHIAL ASTHMA AND ACUTE RESPIRATORY INFECTION

Summary. The paper deals with the comparative analysis of composition of colonizing microflora in children with bronchial asthma (BA) and acute respiratory infection (ARI). The constant oropharyngeal biotopes in children with ARI and BA were *Staphylococci* and α -hemolytic *Staphylococci*. The arm groups differed by the content of secondary microorganisms: ARI were associated with *Streptococcus* spp. with β -hemolysis, *E.coli* and *Candida* spp., BA was associ-

ated with autochthonous microorganisms (*Streptococcus* spp. with β -hemolysis, *Moraxella* spp., *Corynebacterium* spp.). The variety of species composition of oropharyngeal biota was doubled in patients with ARI compared with the children with BA. *Staphylococci* and *Streptococci* prevailed at both ARI and BA.

Key words: bronchial asthma, acute respiratory infection, oropharyngeal microflora, children.