

УДК: 616.211/22-008.87-06:[616.2-022.6+616.248]-053.2

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КОЛОНИЗИРУЮЩЕЙ МИКРОФЛОРЫ РОТОГЛОТКИ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ОРИ И БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Бурбела Е. И. (Emilija_bb@yahoo.com), Волянская Л. А. (La.voljanska@gmail.com), Романюк Л. Б. (romanyuk@tdmu.edu.ua), Стеценко В. В. (stecenko@yahoo.com)
ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского», Тернополь, Украина

Колонизирующий состав микрофлоры у детей с определенными заболеваниями имеет генетически детерминированную зависимость. Целью исследования было качественно и количественно охарактеризовать микрофлору биотопа ротоглотки у детей, болеющих БА и ОРИ. В исследовании приняли участие 15 детей, больных БА в периоде обострения легкой и средней степени тяжести и 11 пациентов с ОРИ возрастом от 9 до 17 лет, которые получали стационарное лечение. Степень доминирования того или другого микроорганизма в группе определяли по частоте его выявления с использованием индекса постоянности С, а для оценки частоты фиксации - показатель встречаемости Pi. Константными и доминирующими по показателю встречаемости Pi для биотопов ротоглотки детей с ОРИ и БА были только два вида – стафилококки и α-гемолитические стрептококки. Группы исследования отличались по составу второстепенных за значением микроорганизмов. Вариабельность видового состава биоты ротоглотки у больных ОРИ почти в два раза превышала аналогичную биоту пациентов с БА.

Ключевые слова: бронхиальная астма, острые респираторные инфекции, дети, биотоп, ротоглотка

Введение

Согласно фактам, установленным на нынешний день, человека (1013- клеточный макроорганизм) населяют 1014—1015 микроорганизмов [7, 11, 12]. Все эти микроорганизмы живут в окружающей друг друга и не могут сосуществовать без этой среды, жизненно зависимой от человеческого организма, который в свою очередь тоже не может жить вне данного объединения. «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]. Состав микрофлоры генетически связан внутри биопленки и специфичен на штаммовом уровне для каждого индивидуума, и даже детерминирован наследственно [6, 10]. Биота настолько индивидуальна, что по ее составу можно идентифицировать индивид с большей точностью, чем по отпечаткам пальцев. Таким образом, колонизирующий состав микрофлоры у детей с определенными заболеваниями имеет генетически детерминированную зависимость. Поэтому представляет интерес изучение различий видового состава микроорганизмов, которые населяют ротоглотку у пациентов с острыми респираторными эпизодами, и у пациентов, длительно болеющих, в частности у детей с бронхиальной астмой (БА).

Роль инфекционных агентов в возникновении и персистенции воспалительного процесса у пациентов с БА постоянно вызывает интерес и неоднозначно объясняется клиницистами, микробиологами и патоморфологами [3, 9, 13]. Нерешенным остается вопрос первичности и вторичности роли патогенной микрофлоры в частоте возникновения обострений и снижении эффективности проведенного лечения, что логично при учете использования препаратов (кортикостероидные гормоны, антибиотики, и т.д.), которые в свою очередь побочным эффектом

имеют нарушения местного микробного баланса [9].

Материалы и методы

Целью нашего исследования было качественно и количественно охарактеризовать микрофлору биотопа ротоглотки у детей, болеющих БА и ОРИ.

В исследовании приняли участие 15 детей, больных БА, в периоде обострения легкой и средней степени тяжести, а также 11 пациентов с ОРИ в возрасте от 9 до 17 лет, которые получали стационарное лечение в пульмонологическом и инфекционно-диагностическом отделениях КУТОР ТОДКБ. В исследование были включены пациенты, родители которых дали согласие на клинико-лабораторное обследование детей и анализ их медицинской документации. Группы детей, включенных в исследование, были сравнимы по возрасту, полу и месту жительства.

Пациенты с БА получали стандартную базисную терапию периода обострения согласно протоколу диагностики и лечения детей, страдающих БА, утвержденному МЗО Украины от 08 октября 2013 г. № 868. Все пациенты получали перорально и ингаляционно кортикостероидные препараты, ингаляционный холинолитик на фоне β₂-агонистов краткого действия для снижения симптомов астмы. Микробиологическое обследование проводилось в первые дни периода обострения. У 38,46% (n=5) пациентов обострение возникло на фоне легкого персистирующего течения заболевания. У остальных 61,54% (n=8) обследованных имела место БА средней степени тяжести. У всех обследуемых диагностирована частично контролируемая БА. Давность заболевания составила в среднем 6,76±3,13 года, частота обострений БА – 13,53±8,69 раза в год. Последний прием антибиотиков у пациентов фиксировался от 1 до 7 месяцев до данного обследования. Все обследованные принимали только 1 вид антибиотика (чаще цефалоспори-

ны). Ингаляционные кортикостероидные препараты использовались ими от нескольких месяцев до 1 года. Основными методами исследования этой группы были:

- общеклинические: сбор анамнеза, осмотр пациента, оценка жалоб пациента;
- функциональные: исследование функции внешнего дыхания;
- микробиологические.

Все дети с ОРИ были тщательно клинически обследованы, включительно с детальным анализом жалоб, анамнеза жизни, наличия сопутствующих заболеваний, употребления лечебных препаратов, данных status presents objectivus. Комплекс лечения ОРИ состоял из местной противовирусной (лаферобион, 5% ЕААК), симптоматической (жаропонижающие, муколитики, бронхолитики) и антибактериальной (у большинства пациентов) терапии. Микробиологическое исследование проводилось в первый день стационарного лечения.

Для оценки биоты ротоглотки исследованного контингента использованы общепринятые методы с посевом мокроты на живительные среды (колумбийский агар, шоколадный агар, агар Макконки, желточно-солевой агар, среда Сабуро, сусло-агар и др.). Количественный подсчет бактерий проводился путем выражения объективного количества колоний микроорганизмов в колониеобразующих единицах на грамм (КУО/г). Учитывалось количество изолированных штаммов сапрофитных бактерий (*Neisseria* spp., *St. epidermidis* и др.) и условно патогенных бактерий (*St. aureus*, *Klebsiella* spp. и др.) в количестве 1×10^5 и больше, дрожжевых (*Candida* spp.) и плесневых микромицетов (*Aspergillus* spp., *Penicillus* spp., и т.д.) [2, 5,]. Степень доминирования того или иного микроорганизма в группе определяли по частоте его выявления. Для этого использовали индекс постоянности С, что выражается дробью умножения количества образцов, которые содержат исследованный вид (р) на 100% от количества взятых образцов (Р). Виды, которые чаще всего встречались (>50%), считались константными; в пределах 20-50% – второстепенными; такими, которые встречаются не часто – от 1 до 19%; такими, которые встречаются редко – меньше 1%. Для оценки частоты фиксации использовали показатель встречаемости P_i , что представляет собой соотношение числа штаммов данного вида к общему количеству штаммов [4].

Статистическая обработка материала проводилась с помощью лицензионных программных продуктов, которые входят в пакет Microsoft Office Professional 2007, лицензия на персональном компьютере в программе Excel.

Результаты и обсуждение

Среди обследованного контингента 6 детей, больных ОРИ (54,54%), были носителями стафилококков, причем у 4-х из них – *S. aureus*. Разного рода стрептококки выделены почти у половины обследованных: α -гемолитические – 54,54%, β -гемолитические – 45,45% (табл.1).

Таблица 1. – Степень доминирования микроорганизмов в ротоглотке детей, больных ОРИ

Микроорганизм	С (%)
1 Staphylococcus spp.	63,63%
2 Streptococcus spp. α -гемолизом	54,54%
3 Streptococcus spp. β -гемолизом	45,45%
4 E.coli	45,45%
5 Candida spp.	36,36%
6 Neisseria spp.	18,18%
7 Moraxella spp.	18,18%
8 Corynebacterium spp.	9,09%
9 Klebsiella spp.	9,09%
10 Streptococcus pneumoniae	9,09%
11 Branhamella spp.	9,09%

Таким образом, к константным видам при ОРИ можно отнести стафилококки и α -гемолитические стрептококки, к второстепенным, соответственно, β -гемолитические стрептококки, *E.coli* (45,45%), и *Candida* spp. (36,36%). Остальные микроорганизмы – нейссерии, моракселлы, коринебактерии, клебсиеллы, пневмококки и бранхамеллы – отнесены к третьей группе, это те, которые встречаются не часто.

При БА степень доминирования микроорганизмов имела некоторые отличия, хотя константные виды были теми же. Хотя в сравнении с микрофлорой при ОРИ значительно возросло количество α -гемолитических стрептококков (80,0% против 51,60%) и увеличился удельный вес автохтонных микроорганизмов: *Corynebacterium* spp., *Branhamella* spp., *Moraxella* spp.

Таблица 2. – Степень доминирования микроорганизмов в ротоглотке детей, больных БА

Микроорганизм	С (%)
1 Staphylococcus spp.	59,90 %
2 Streptococcus spp. α -гемолизом	80,00 %
3 Streptococcus spp. β -гемолизом	40,00 %
4 E.coli	–
5 Candida spp.	–
6 Neisseria spp.	6,70 %
7 Moraxella spp.	20,20 %
8 Corynebacterium spp.	20,20 %
9 Klebsiella spp.	6,70 %
10 Streptococcus pneumoniae	–
11 Branhamella spp.	13,30 %

В структуре биотопы ротоглотки детей, больных БА, не наблюдалось видимых явлений дисбиоза (наличие нехарактерных для данного биотопа микроорганизмов или увеличения количества тех, которые редко встречаются).

Следовательно, анализируя индекс постоянства (С,%) можно подытожить, что константными для биотопов ротоглотки детей с ОРИ и БА были только два вида – стафилококки и α -гемолитические стрептококки. Но, относительно ко второстепенным за значением микроорганизмам данные группы значительно различались: при ОРИ выделены *Streptococcus* spp. с β -гемолизом, *E.coli*, и *Candida* spp.; при БА – представители автохтонной микрофлоры: *Streptococcus* spp. с β -гемолизом, *Moraxella* spp., *Corynebacterium* spp. Среди микроорганизмов, которые встре-

чаются не часто у детей, больных ОРИ, были представители таких патогенов, как *Neisseria* spp., *Klebsiella* spp. и *Streptococcus pneumoniae*; у пациентов с БА, кроме, *Neisseria* spp., они не встречались.

Выделенные патогены респираторной группы у обследованных детей на 76-82% являются причинами патологии детского возраста, занимая в структуре инфекционной заболеваемости доминирующее место [8]. Из ротоглотки обследованных детей, больных ОРИ, выделено 95 различных штаммов микроорганизмов. Львиную их долю составили стафило- и стрептококки (n=7 и n=11, соответственно). Далее по уровню показателя встречаемости (Pi) находились *E.coli* и дрожжевые грибы рода *Candida* (рис.1). Это убедительно свидетельствует о наличии у значительной части обследованных (45,45%) дисбиоза ротоглотки, поскольку и кишечная палочка, и грибы *Candida* не являются представителями нормобиотопы ротоглотки.

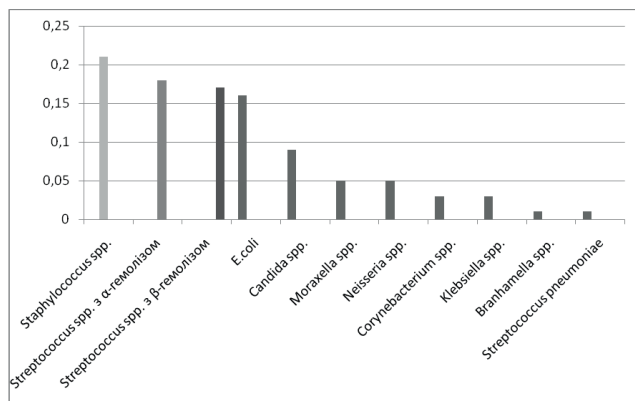


Рисунок 1. – Варибельность показателя встречаемости (Pi) у представителей микробиоценоза ротоглотки у детей, больных ОРИ (в единицах)

У детей, больных ОРИ, эпителий слизистой оболочки не выполнил свою защитную функцию, что создало оптимальные условия для контаминации последней аллохтонными микроорганизмами и способствовало их росту и размножению. Такая ситуация привела к росту количества условно-патогенных микроорганизмов, что в дальнейшем может стать причиной бактериальных осложнений. Ретроспективный анализ историй болезни обследованных детей выявил осложнения более чем у половины (n=7

Литература

1. Богадельников И. В. Этюды о человеке и микроорганизмах : монография / И. В. Богадельников ; Акад. технол. наук Украины, Крым. гос. мед. ун-т им. С. И. Георгиевского. – Симферополь : Ариал, 2014. – 160 с.
2. Воробьев, А. А. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / А. А. Воробьев, А. С. Быков, М. Н. Бойченко ; под ред. А. А. Воробьева. – 2-е изд., испр. и доп. – М. : МИА, 2006. – 704 с.
3. Исследование факторов патогенности бактерий, выделенных от детей в многопрофильном стационаре / Г. Б.

– 63,63 %) проанализированных случаев: у трети детей (4 – 36,36%) – пневмонии и у 3 (27,27%) – обструктивного бронхита.

Среди 46 штаммов, которые были выделены от 15 пациентов, больных БА, самый высокий показатель встречаемости диагностировано у α-гемолитических стрептококков, на втором месте был *S. aureus* и *Streptococcus* spp. с β-гемолизом. Остальные представители встречались практически одинаково часто (рис. 2).

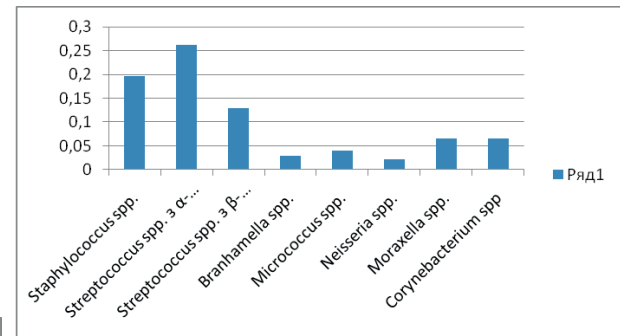


Рисунок 2. – Варибельность показателя встречаемости (Pi) у представителей микробиоценоза ротоглотки, детей, больных БА

То есть, за данным показателем существенных различий при сравнении биотопов ротоглотки у обследованных пациентов не выявлено, за исключением наличия *E.coli* и *Candida* spp. при ОРИ.

Выводы

1. Константными для биотопов ротоглотки детей с ОРИ и БА были стафилококки и α-гемолитические стрептококки.
2. Группы исследования отличались по составу второстепенных за значением микроорганизмов: при ОРИ выделено *Streptococcus* spp. с β-гемолизом, *E.coli*, и *Candida* spp., при БА – представителей автохтонной микрофлоры (*Streptococcus* spp. с β-гемолизом, *Moraxella* spp., *Corynebacterium* spp.).
3. Варибельность видового состава биоты ротоглотки у пациентов с ОРИ почти в два раза превышала аналогичную биоту у пациентов с БА.
4. Доминирующими микроорганизмами по показателю встречаемости Pi при обоих заболеваниях были стафило- и стрептококки.

Литература

1. Bogadelnikov, I. V. Etyudy o cheloveke i mikroorganizmah: monografiya / I. V. Bogadelnikov ; Akad. tehnol. nauk Ukrainyi, Kryim. gos. med. un-t im. S. I. Georgievskogo. – Simferopol : Arial, 2014. – 160 s.
2. Vorobev, A. A. Meditsinskaya mikrobiologiya, virusologiya i immunologiya / A. A. Vorobev, A. S. Byikov, M. N. Boychenko ; pod red. A. A. Vorobeve. – 2-e izd., ispr. i dop. – M. : MIA, 2006. – 704 s.
3. Issledovanie faktorov patogenosti bakterii, videlennih ot detei v mnogoprofil'nom stacionare / G. B. Ermolina [i dr.] // Sovremennii problemi epidemiologii : sb. st., posvyasch.

Ермолина [и др.] // Современные проблемы эпидемиологии : сб. ст., посвящ. 65-летию каф. эпидемиологии Нижегород. гос. мед. академ. – Н. Новгород : Изд-во НГМА, 2007. – С. 62-67.

4. Климноук, С. І. Мікробна екологія шкіри людини в різні вікові періоди в нормі та при патології : автореф. дис. ... мед. наук. : спеціальність 03.00.07 - мікробіологія / С. І. Климноук. – Київ, 1995. – 23 с.

5. Микробиологические методы обследования пульмонологических больных : метод. рекомендации / под ред. Л. А. Вишняковой. – Л., 1981. – 23 с.

6. Осипов, Г. Невидимый орган – микрофлора человека [Электронный ресурс] / Г. Осипов. – URL: <http://www.rusmedserv.com/microbdiaq/invisibleorgan.htm#b6>.

7. Парфенов, Ф. И. Энтерология на рубеже 20 и 21 веков / Ф. И. Парфенов // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2004. – № 3. – С. 41-44.

8. Юлиш, Е. И. Подходы к терапии острых респираторных заболеваний у часто и длительно болеющих детей / Е. И. Юлиш, Б. И. Кривущев, С. Я. Ярошенко // Здоровье ребенка. – 2011. – № 2. – С. 85-89.

9. 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.

10. Шендеров, Б. А. Медицинская микробная экология: некоторые итоги и перспективы исследований / Б. А. Шендеров // Вестн. РАМН. – 2005. – № 12. – С. 13-17.

11. Янковский, Д. С. Микробная экология человека: современные возможности ее поддержания и восстановления : монография / Д. С. Янковский. – Киев : Эксперт, 2005. – 362 с.

12. Metagenomic Analysis of the Human Distal Gut Microbiome / S. R. Gill [et al.] // Science. – 2006. – Vol. 312, № 5778. – P. 1355-1359.

13. Miravittles, M. Exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease when are bacteria important? / M. Miravittles // Eur. Respir. J. – 2002. – Vol. 20, suppl. 36. – P. 9s-19s.

65-letiyu kaf. epidemiologii Nizhegorod. gos. med. akad. – N. Novgorod : Izd-vo NGMA, 2007. – С. 62-67.

4. Klimnyuk, S. I. Mikrobna ekologiya shkiri lyudini v rizni vikovi periodi v normi ta pri patologii: avtoref. dis. med. nauk. : spetsial'nost' 03.00.07 - mikrobiologiya / S. I. Klimnyuk. – Kiiv, 1995. – 23 s.

5. Mikrobiologicheskie metodyi obsledovaniya pulmonologicheskikh bolnyih : metod. rekomendatsii / pod red. L. A. Vishnyakovoy. – L., 1981. – 23 s.

6. Osipov, G. Nevidimii organ – mikroflora cheloveka [Elektronnii resurs] / G. Osipov. – URL: <http://www.rusmedserv.com/microbdiaq/invisibleorgan.htm#b6>.

7. Parfenov, F. I. Enterologiya na rubezhe 20 i 21 vekov / F. I. Parfenov // Ros. zhurn. gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii. – 2004. – № 3. – С. 41-44.

8. Yulish, E. I. Podhodi k terapii ostrih respiratornih zabolevaniy u chasto i dlitel'no boleyuschih detei / E. I. Yulish, B. I. Krivushev, S. Ya. Yaroshenko // Zdorov'e rebenka. – 2011. – № 2. – С. 85-89.

9. Rekalova, E. M. Vzaimosvyaz' mikroflori dihatel'nih putei s klinicheskimi osobennostyami hronicheskogo obstruktivnogo zabolevaniya legkih / E. M. Rekalova // Ukr. pul'monol. zhurn. – 2005. – № 3. – С. 23-26.

10. Shenderov, B. A. Meditsinskaya mikrobnaya ekologiya: nekotorie itogi i perspektivi issledovaniy / B. A. Shenderov // Vestn. RAMN. – 2005. – № 12. – С. 13-17.

11. Yankovskii, D. S. Mikrobnaya ekologiya cheloveka: sovremennie vozmozhnosti ee podderzhaniya i vosstanovleniya : monografiya / D. S. Yankovskii. – Kiev : Ekspert, 2005. – 362 s.

12. Metagenomic Analysis of the Human Distal Gut Microbiome / S. R. Gill [et al.] // Science. – 2006. – Vol. 312, # 5778. – P. 1355-1359.

13. Miravittles M. Exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease when are bacteria important? / M. Miravittles // Eur. Respir. J. – 2002. – Vol. 20, Suppl. 36. – P. 9s-19s.

COMPARATIVE ANALYSIS OF COLONIZING MICROFLORA OF OROPHARYNX IN CHILDREN WITH ACUTE RESPIRATORY INFECTION AND BRONCHIAL ASTHMA

Burbela E. I., Volianska L. A., Romanyuk L. B., Stetsenko V. V.

Educational Establishment "I.Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University", Ternopil, Ukraine

The colonizing composition of microflora in children with certain diseases has a genetically determined dependence. The aim of the study was to give qualitative and quantitative characteristics of microflora of oropharynx biotope in children with bronchial asthma and acute respiratory infection. 15 children with bronchial asthma in the period of exacerbation of mild and moderate forms and 11 patients with acute respiratory infection aged 9 to 17 years, which took in-patient treatment, were studied. The prevalence of one or other microorganism in the group was determined by the frequency of its revealing with the use of constancy index C, and to assess fixation frequency - incidence index Pi was used. According to incidence index Pi for biotopes of oropharynx in children with acute respiratory infection and bronchial asthma only two types were constant and dominating – staphylococci and α -hemolytic streptococci. The study groups had different composition of microorganisms. The variability of type composition in oropharynx biotope in patients with acute respiratory infection was 2-fold higher than the same biotope in patients with bronchial asthma.

Keywords: bronchial asthma, acute respiratory infections, children, biotope, oropharynx

Поступила: 22.11.2016

Отрецензирована: 22.11.2016