

© Романюк Л.Б., Климнюк С.І., Копча В.С., 2022
 УДК 616.311-008.87-06:616.155.33-053.2
 DOI 10.11603/1681-2727.2022.1.13020

Л.Б. Романюк, С.І. Климнюк, В.С. Копча

АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ ДЕЯКИХ ПРЕДСТАВНИКІВ МІКРОБІОТИ РОТОГЛОТКИ У ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА ВЕБ-ІНФЕКЦІЮ

Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського

Первинна інфекція, спричинена вірусом Епштейна-Барр (ВЕБ-інфекція), зумовлює розвиток інфекційного мононуклеозу приблизно в $\frac{1}{4}$ пацієнтів, якщо інфікування відбувається у підлітковому віці.

Матеріали і методи. Зі згоди батьків обстежено 28 хворих на ВЕБ-інфекцію дітей, віком від 5 до 16 років. Всім пацієнтам на основі комплексу клініко-лабораторних досліджень було встановлено діагноз: ВЕБ-інфекція, типова форма, перебіг середньої тяжкості. Мікробіологічне дослідження мазків із ротоглотки здійснювали класичним бактеріологічним методом, чутливість до антибіотиків виділених чистих культур досліджували за методом Кірбі-Бауера.

Результати досліджень та їх обговорення. У мікробіоценозі ротоглотки дітей, хворих на ВЕБ-інфекцію (чи інфекційний мононуклеоз), переважали β -гемолітичні стрептококи (64,3 %), які найчастіше викликають захворювання у людини. Поява *Enterobacter* spp., *E. coli* та збільшення кількості грибів роду *Candida* є індикатором зниження рівня колонізаційної резистентності цього біотопу. Виявлення *S. aureus* у третини пацієнтів свідчить про порушення структури нормального мікробіоценозу ротоглотки, що є наслідком необґрунтованого призначення масивної антибіотикотерапії. 52,6 % виділених штамів стрептококів і 25,0 % стафілококів виявилися резистентними до азитроміцину, крім того стрептококи у 20,0 % були резистентними до цефтріаксону та 40,0 % – до цефалексину. Необґрунтоване використання антибіотиків веде до розвитку антибіотикорезистентності представників нормофлори ротоглотки у дітей і погіршує прогноз лікування бактерійних інфекцій, зумовлених умовно-патогенними мікроорганізмами.

При ВЕБ-інфекції у дітей призначення антибіотиків показане лише у випадку активації бактерійної флори та після попереднього визначення чутливості найпоширеніших представників цього мікробіому до антибіотиків. Безконтрольне та необґрунтоване ви-

користання антибіотиків веде до розвитку антибіотикорезистентності представників нормофлори ротоглотки у дітей і погіршує прогноз лікування бактерійних інфекцій, зумовлених умовно-патогенними мікроорганізмами у майбутньому.

Висновок. У мікробіомі ротоглотки дітей, хворих на ВЕБ-інфекцію, суттєво переважали β -гемолітичні *Streptococcus* spp. (64,3 %). Поява *Enterobacter* spp., *E. coli* та збільшення кількості грибів роду *Candida* є індикатором зниження рівня колонізаційної резистентності цього біотопу. Виявлення *S. aureus* у 35,7 % пацієнтів свідчить про порушення структури нормального мікробіоценозу ротоглотки, що є наслідком необґрунтованого призначення масивної антибіотикотерапії. Вивчення антибіотикочутливості стафіло- та стрептококів засвідчило наявність резистентності у 52,6 % виділених штамів стрептококів та 25,0 % стафілококів до азитроміцину. Крім того, стрептококи у 20,0 % були резистентними до цефтріаксону та 40,0 % – до цефалексину.

Ключові слова: ВЕБ-інфекція, діти, ротоглотковий мікробіом, антибіотикорезистентність.

У 1964 р. Епштейн, Барр й Ахонг описали віріони герпесвірусу в клітинах лімфоми африканських дітей. Нині доведено зв'язок нововиявленого герпесвірусу, названого вірусом Епштейна-Барр – *Epstein Barr virus*, з різноманітними епітеліальними та лімфоїдними пухлинами. Первинна ВЕБ-інфекція спричиняє розвиток інфекційного мононуклеозу (також відомого як залозиста гарячка, моноцитарна ангіна) приблизно в $\frac{1}{4}$ пацієнтів, якщо інфікування відбувається у підлітковому віці. ВЕБ – поширений повсюдно [1]. У країнах, що розвиваються, практично у кожній дитині, яка досягла 5-річного віку, виявляють сироваткові антитіла проти цього вірусу. У розвинених країнах інфікованість нижча, однак все ж у 50 % випускників середніх шкіл виявляють антитіла, а до 40-річного віку – у 90 % популяції [2]. 90 %

випадків інфекційного мононуклеозу спричинені ВЕБ, решта 10 % – цитомегаловірусом [3]. Протягом 2019 р. в Україні 5 467 людей захворіли на інфекційний мононуклеоз. Зокрема, 863 випадки зафіксували у жителів сільської місцевості, а 4 597 – у дітей віком до 17 років [4].

Основна небезпека цієї інфекції в тому, що після перенесеної недуги тривалий час утримуються порушення імунної системи і людина стає сприйнятливою до найрізноманітніших мікроорганізмів – бактерій, вірусів, грибів, які можуть стати причиною численних інфекційних ускладнень. Це обумовлює важливість вивчення структури ротоглоткового мікробіому та антибіотикорезистентності найпоширеніших у ньому опортуністичних мікроорганізмів, що можуть бути причиною респіраторних захворювань бактерійної етіології на тлі ВЕБ-інфекції.

Мета роботи – вивчити популяційний склад мікробіоти ротоглотки та визначити антибіотикочутливість окремих її представників, що виділяються у клінічно значущих концентраціях (більше 10^6 КУО/мл) у дітей, хворих на ВЕБ-інфекцію, які отримували антибіотикотерапію, з метою запобігання формуванню вторинної антибіотикорезистентності представників мікробіому та ефективного лікування можливих бактерійних ускладнень.

Пацієнти і методи

За згоди батьків, обстежено 28 дітей, хворих на ВЕБ-інфекцію, віком від 5 до 16 років. Всім пацієнтам на основі комплексу клініко-лабораторних досліджень було встановлено діагноз: ВЕБ-інфекція, типова форма, перебіг середньої тяжкості. Етіологічно діагноз верифіковано за результатами ПЛР-тесту на виявлення ДНК вірусу у слині та крові, а також ІФА для визначення рівня специфічних IgM.

Мікробіологічне дослідження мазків із ротоглотки здійснювали класичним бактеріологічним методом з дозованим посівом суспензованого матеріалу на диференційно-діагностичні середовища та подальшою родовою ідентифікацією мікроорганізмів за морфологічними, культуральними, біохімічними властивостями. Антибіотикочутливість ізолятів визначали за методом Кірбі-Бауера, оцінюючи діаметри зон затримки росту бактерій із використанням стандартних таблиць: константними вважали види з індексом постійності більше 50 %; такими, що виявляються часто – від 20 до 50 %; такі, що виявляються не часто – 1-19 %; а які виявляються рідко – менше 1 % [5]. Так, аналізуючи результати бактеріологічного дослідження, з метою оцінки частоти виявлення популяцій різних мікроорганізмів на слизовій оболонці ротоглотки, використовували показник виявлення P_i , а про ступінь домінування того чи іншого представника мікробіоти в угрупованні судили за частотою

його появи у зразках, використовуючи при цьому індекс постійності – C (%).

Крім того, було опрацьовано історії хвороб вказаних пацієнтів з метою визначення особливостей антибіотикотерапії під час стаціонарного лікування. Результати дослідження опрацьовані за допомогою стандартного набору програм для персонального комп'ютера.

Результати досліджень та їх обговорення

Усі 28 дітей перебували на стаціонарному лікуванні в діагностичному відділенні КНП «Тернопільська обласна дитяча клінічна лікарня» ТОР. Левову частку склали пацієнти віком до 10 років – 22 (78,6 %), що збігається з даними літератури про максимальний рівень інфікування ВЕБ у такому віковому прошарку. Всі діти отримували антибіотикотерапію, хоча згідно з протоколами лікування та рекомендаціями провідних фахівців, вона показана лише у випадку приєднання бактерійної інфекції [4]. Таку терапевтичну практику можна пояснити труднощами встановлення діагнозу на догоспітальному етапі та відсутністю результатів серологічного дослідження на момент встановлення діагнозу. Однак, враховуючи те, що у всіх дітей була ВЕБ-інфекція, типова форма, перебіг середньої тяжкості, складно аргументувати призначення 42,9 % пацієнтів поєднання двох антибіотиків, як правило групи цефалоспоринов III покоління та макролідів.

У результаті мікробіологічного дослідження матеріалу із ротоглотки від 28 дітей виділено 74 штами мікроорганізмів. Константними виявились *Streptococcus spp.* групи А з β -гемолізом – 64,3 %, а до цієї групи належать види, що викликають захворювання у людини. Тими, що виявляються часто – α -гемолітичні *Streptococcus spp.* – 42,9 % та *S. aureus* – 35,7 %. До цієї ж групи за індексом постійності були віднесені γ -гемолітичні *Streptococcus spp.* – 28,6 %, *Candida spp.* та *Moraxella spp.* – 21,4 %. Від двох дітей (7,1 %) висіяна монокультура *S. epidermidis*, що засвідчує вплив антибіотиків на склад і кількість мікроорганізмів цього біотопу. Поява *Enterobacter spp.*, *E. coli* та збільшення кількості грибів роду *Candida*, а також частоти виявлення *S. aureus* є індикатором зниження рівня колонізаційної резистентності цього біотопу, що відіграє надзвичайно важливу роль у запобіганні розвитку бактерійних і вірусних інфекцій, які передаються повітряно-краплинним шляхом і для яких вхідними воротами є слизова оболонка ротоглотки. Це набуває надзвичайної ваги з огляду на те, що ВЕБ-інфекція може переходити у хронічну форму. Хронічна активна ВЕБ-інфекція є рідкісним станом і територіально в основному обмежується Японією та Східною Азією, але привернула увагу міжнародної спільноти через збільшення кількості випадків у всьому світі [6].

Показник виявлення Рі є досить низьким для всіх груп мікроорганізмів ротоглоткового мікробіому за винятком β-гемолітичних *Streptococcus spp.*, що може свідчити про збіднення біорізноманіття біоценозу через застосування антибіотикотерапії у дітей, хворих на інфекційний мононуклеоз (табл. 1).

Таблиця 1

Структура мікробіому ротоглотки дітей, хворих на ВЕБ-інфекцію, які отримували антибіотикотерапію

Мікроорганізм	Абсолютна кількість	Індекс постійності С (%)	Показник виявлення Рі
<i>S. aureus</i>	10	35,7	0,14
<i>Streptococcus spp.</i> з α-гемолізом	12	42,9	0,16
<i>Streptococcus spp.</i> з β-гемолізом	18	64,3	0,24
<i>Streptococcus spp.</i> з γ-гемолізом	8	28,6	0,11
<i>E. coli</i>	4	14,3	0,05
<i>Candida spp.</i>	6	21,4	0,08
<i>Neisseria spp.</i>	2	7,1	0,03
<i>Moraxella spp.</i>	6	21,4	0,08
<i>Enterococcus spp.</i>	2	7,1	0,03
<i>Micrococcus spp.</i>	4	14,3	0,05
<i>Enterobacter spp.</i>	2	7,1	0,03
Всього	74	-	-

Найбільш використовуваними антибактерійними препаратами, які призначали дітям при ВЕБ-інфекції, були макроліди та цефалоспорини, а максимально поширеними представниками мікробіоти ротоглотки, які висівалися від цих хворих на фоні антибіотикотерапії, були стафілококи та стрептококи. Вивчали антибіотикочутливість виділених мікроорганізмів до препаратів цих двох груп, а саме макролідів: еритроміцину та азитроміцину; цефалоспоринів: цефтріаксону, цефалексину. Крім того, макроліди належать до препаратів першого ряду серед «Рекомендованого переліку антибіотиків для визначення чутливості, залежно від окремих родів і видів бактерій» для стафілококів та β-гемолітичних стрептококів [7].

Резистентними до азитроміцину виявилися 52,6 % виділених штамів стрептококів, помірно-резистентних і чутливих штамів не було. До цього ж препарату були чутливими 25,0 % і помірно-резистентними 50,0 % стафілококових ізолятів, проте 25,0 % стафілококів мали

резистентність до азитроміцину. До еритроміцину помірно-резистентними були 10,5 % штамів стрептококів, але 6 ізолятів (75,0 %) чутливих стафілококів, резистентних і помірно-резистентних штамів не було. До цефтріаксону було 20,0 % резистентних стрептококів, але жодного штаму стафілококів. До цефалексину були резистентними 40,0 % стрептококових ізолятів та 25 % штамів стафілококів.

Привертає вагу те, що і стафілококи і стрептококи є представниками нормальної мікробіоти ротоглотки, тому розвиток у них антибіотикорезистентності є прогностично несприятливою ознакою, оскільки такі штами можуть спричинити розвиток інфекційних процесів в ослаблених вірусною інфекцією дітей. Крім того, стафілококи, зокрема *S. aureus*, можуть колонізувати ротоглотку дітей з ВЕБ-інфекцією у результаті внутрішньолікарняного інфікування, що передбачає розвиток їх резистентності у зв'язку із мутаціями у відповідних генах чи трансдукувальних плазмідах. Відомо, що представники цього роду характеризуються високим рівнем природної чутливості до антибактерійних препаратів (β-лактамів, аміноглікозидів, фторхінолонів, макролідів, лінкозамідів, глікопептидів, рифампіцину тощо). Проте в ряді випадків лікування стафілококової інфекції стає серйозною проблемою, яку пов'язують із формуванням антибіотикорезистентності [8]. За умов сучасних методів боротьби зі стафілококовою інфекцією проблема резистентності до антибактерійних препаратів постає досить гостро. За останні роки значення *S. aureus* зросло не стільки внаслідок їхньої широкої розповсюдженості, скільки внаслідок розвитку у них стійкості до антибіотиків [5, 8].

При ВЕБ-інфекції у дітей призначення антибіотиків показане лише у випадку активації бактерійної флори та після попереднього визначення чутливості найпоширеніших представників цього мікробіому до антибіотиків. Безконтрольне та необґрунтоване використання антибіотиків веде до розвитку антибіотикорезистентності представників нормофлори ротоглотки у дітей і погіршує прогноз лікування бактерійних інфекцій, зумовлених умовно-патогенними мікроорганізмами у майбутньому.

Висновок

У мікробіомі ротоглотки дітей, хворих на ВЕБ-інфекцію, суттєво переважали β-гемолітичні *Streptococcus spp.* (64,3 %). Поява *Enterobacter spp.*, *E. coli* та збільшення кількості грибів роду *Candida* є індикатором зниження рівня колонізаційної резистентності цього біотопу. Виявлення *S. aureus* у 35,7 % пацієнтів свідчить про порушення структури нормального мікробіоценозу ротоглотки, що є наслідком необґрунтованого призначення масивної антибіотикотерапії. Вивчення антибіотикочутливості стафіло- та стрептококів засвід-

чило наявність резистентності у 52,6 % виділених штамів стрептококів та 25,0 % стафілококів до азитроміци-

ну. Крім того, стрептококи у 20,0 % були резистентними до цефтріаксону та 40,0 % – до цефалексину.

Література

1. Bennett, N.J. (2018). Pediatric mononucleosis and Epstein-Barr virus infection medication. *Medscape*
2. Smoliar, N., Chukhray, N., & Savchyn, S. (2019). Epstein-Barr virus infection in children. *Aktualni problemy suchasnoyi medytsyny: Visnyk Ukrayinskoyi medychnoyi stomatolohichnoyi akademiyi – Current Issues of Modern Medicine: Bulletin of the Ukrainian Medical Dental Academy*, 19 (1), 43-47. Retrieved from: <https://doi.org/10.31718/2077-1096.19.1.43> [in Ukrainian].
3. Koyama, K., Anno, T., Urano, T., Shigemoto, R., Irie, S., Kawasaki, F., ... Tomoda, K. J. (2021). Primary Epstein-Barr virus infection shortly after primary Cytomegalovirus infection: a case report. *Med. Case Rep. May*, 3, 15 (1), 257. DOI: 10.1186/s13256-021-02817-2. PMID: 33941264
4. Protocol for diagnosis and treatment of infectious mononucleosis in children. Appendix to the order of the Ministry of Health No.354 of July 09, 2004. Retrieved from: <http://medstandart.net/> [in Ukrainian].
5. Order of the Ministry of Health of Ukraine No. 167 of April 05, 2007 «On approval of guidelines» Determination of sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs». Retrieved from: <https://zakon.rada.gov.ua/> [in Ukrainian].
6. Kolesnyk, Ya.V., Briukhanova, T.O., Slipechenko, M.Yu., Nakonechna, O.A., & Sorokina, O.H. (2021). Structural and functional state of blood lymphocytes of patients with infectious mononucleosis with different course. *Patolohiia – Pathology*, 18, 3 (53), 286-294. Retrieved from: <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2021.3.239166> [in Ukrainian].
7. Shyrobokov, V.P., & Klymnyuk, S.I. (2018). *Practical microbiology: a textbook*. Vinnytsya: Nova Knyha [in Ukrainian].
8. Klymnyuk, S.I., Romanyuk, L.B., Volyanska, L.A., Kopcha, V.S., Matviyenko, T.V., Kravets, N.Ya., & Borak, V.P. (2018). Improving the algorithm of the doctor's actions regarding the tactics of antibiotic therapy in acute respiratory infections, taking into account the results of bacteriological research. *Infektsiini khvoroby – Infectious Diseases*, 1 (91), 74-79 [in Ukrainian].

ANTIBIOTIC RESISTANCE OF SOME REPRESENTATIVES OF THE OROPHARYNGEAL MICROBIOTA IN CHILDREN WITH WEB-INFECTION

L.B. Romanyuk, S.I. Klymnyuk, V.S. Kopcha

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University

SUMMARY. Primary WEB-infection causes the development of infectious mononucleosis in approximately ¼ patients if the infection occurs in adolescence. WEB causes widespread infections.

Materials and methods. By prior consent of the parents 28 patients with WEB-infection aged 5 to 16 years were examined. On the basis of a complex of clinical and laboratory examinations all patients had moderate WEB-infection, typical form. Microbiological examination of oropharyngeal swabs was performed by the classical bacteriological method, the examination of antibiotic susceptibility of isolates was carried out by the Kirby-Bauer technique.

Results and discussion. β-hemolytic *Streptococcus* spp. were dominated in oropharyngeal microbiocenosis (64.3 %) of strains and this group includes a lot of streptococcal species causing disease in humans. The appearance of *Enterobacter* spp., *E. coli* and an increase in the number of *Candida* is an indicator of a decrease

in the level of colonization resistance of this habitat. Detection of *S. aureus* in 35.7 % of patients indicates a violation of the structure of the normal microbiocenosis of the oropharynx, which is a consequence of unreasonable prescribing massive antibiotic therapy. The examination of antibiotic susceptibility of staphylococci and streptococci showed the presence of antibiotic resistance of 52.6 % of streptococci isolated strains and 25.0 % of staphylococci to azithromycin. Besides 20.0 % of streptococci were resistant to ceftriaxone and 40.0 % to cephalexin. Nonrational use of antibiotics leads to the development of antibiotic resistance of the oropharyngeal normoflora in children and worsens the prognosis of treatment of bacterial infections caused by opportunistic pathogens. In case of WEB infection in children, the prescription of antibiotics is indicated only in the case of activation of bacterial flora and after preliminary determination of the sensitivity of the most common representatives of this microbiome to antibiotics. Uncontrolled and unreasonable use of antibiotics leads to the development of antibiotic resistance of the oropharyngeal normoflora in children and worsens the prognosis for the treatment of bacterial infections caused by opportunistic pathogens in the future.

Conclusion. *In the microbiome of the oropharynx of children with WEB infection, β -hemolytic Streptococcus spp. (64.3 %) prevailed. The appearance of Enterobacter spp., E. coli and an increase in the number of fungi of the genus Candida is an indicator of a decrease in the level of colonization resistance of this habitat. Detection of S. aureus in 35.7 % of patients indicates a violation of the structure of the normal microbiocenosis of the oropharynx, which is a consequence of unreasonable appointment of massive antibiotic therapy. The study of antibiotic susceptibility of staphylococci and streptococci showed resistance in 52.6 % of isolated strains of streptococci and 25.0 % of staphylococci to azithromycin. In addition, 20.0 % of streptococci were resistant to ceftriaxone and 40.0 % to cephalixin.*

Key words: *WEB-infection; children; oropharyngeal microbiome; antibiotic resistance.*

Відомості про авторів:

Романюк Лідія Богданівна – к. мед. н., доцентка кафедри мікробіології, вірусології та імунології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського; e-mail: romanyuk@tdmu.edu.ua

Климнюк Сергій Іванович – д. мед. н., професор, завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського; e-mail: klymnyuk@yahoo.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1308-3250>

Копча Василь Степанович – д. мед. н., професор кафедри інфекційних хвороб з епідеміологією, шкірними і венеричними хворобами Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського; e-mail: kopcha@ukr.net

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9499-3733>

Information about the authors:

Romaniuk L. B. – PhD, Associated Professor at the Department of Microbiology, Virology and Immunology, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University; e-mail: romanyuk@tdmu.edu.ua

Klymnyuk S. I. – MD, Professor, the Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University; e-mail: klymnyuk@yahoo.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1308-3250>

Kopcha V. S. – MD, Professor at the Infectious Diseases and Epidemiology, Skin and Venereal Diseases Department, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University; e-mail: kopcha@ukr.net

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9499-3733>

Конфлікт інтересів: немає.

Authors have no conflict of interest to declare.

Отримано 13.02.2022 р.