

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

© Колектив авторів, 2014
УДК 616.34-002.191

**С.І. Климнюк, М.М. Савчук, Ю.М. Андрейчин, О.В. Покришко, Н.І. Красій,
Л.Б. Романюк, М.С. Творко, Н.І. Ткачук, Н.Г. Климнюк**

ОСОБЛИВОСТІ МІКРОБІОЦЕНОЗУ НОСА ТА НОСОГЛОТКИ У ХВОРИХ НА ГРИП ТА ГРВІ

Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського

Наведено результати вивчення мікробіоценозу слизової оболонки носа та носоглотки у 52 хворих на грип і ГРВІ. Показано, що обстежувані хворі переважно мали середньотяжкий перебіг захворювання (63,5 %). У 30,7 % осіб спостерігалися ускладнення у вигляді гострого синуситу різної локалізації та ларинготрахеїту. Виявлено, що мікробний пейзаж носа та носоглотки формували асоціації стафілококів, стрептококів, нейсерій, мораксел, гемофільних бактерій, ентеробактерій, псевдомонад та ін., серед яких домінують стрептококи і стафілококи. Носіями стафілококів були 76,9 % хворих, стрептококів – 40,4 %. Їх колонізаційний рівень досягав 5,1-6,6 Іг КУО/мл.

Існують певні відмінності у складі мікробіоценозів слизової оболонки носа та носоглотки хворих, які мають різні супутні захворювання. У хворих із синуситами різної локалізації на слизовій оболонці з'являються такі транзитори мешканці, як *Rothia spp.*, *Granulicatella spp.*, *Clostridium spp.*

Ключові слова: грип, ГРВІ, ніс, носоглотка, мікробіоценоз.

При сучасних швидких темпах розвитку методів діагностики та лікування різноманітних хвороб спостерігається зростання зацікавленості мікробіологів і практичних лікарів до всебічного вивчення мікробіоценозів тіла людини, враховуючи їх велику участь як у забезпеченні численних фізіологічних процесів в організмі, так і потенційну роль у розвитку різноманітних ускладнень основного захворювання [1-7]. Верхні відділи дихальних шляхів анатомічно та фізіологічно пристосовані для осадження мікроорганізмів із вдихуваного повітря, тому часто слугують мішенями для інфекції, «вхідними воротами». Ось чому більшість захворювань дихальної системи виникають внаслідок формування спочатку дисбіозу у даному біотопі під впливом різноманітних факторів. Це стосується, зокрема, й вірусних захворювань верхніх дихальних шляхів, таких як грип і ГРВІ [8-14]. Дані патології залишаються до сьогодні ще некеровани-

ми інфекціями, томуносять суттєву шкоду здоров'ю населення та спричиняють серйозні економічні збитки. Через свою здатність спричиняти епідемії, втягуючи у процес широкі верстви населення будь-якого віку, часто викликаючи тяжкий перебіг хвороби, наявність значно питомо частки ускладнених форм цієї хвороби постійно знаходяться в центрі уваги спеціалістів-медиків.

Виходячи з цього, метою роботи було вивчення особливостей мікробіоценозу носу й носоглотки у хворих на грип і ГРВІ з метою подальшої розробки критеріїв оцінювання ризику виникнення можливих бактерійних ускладнень.

Матеріали і методи

Матеріал з носа та носоглотки від 52 хворих на грип, ГРВІ зі супутньою патологією ЛОР-органів досліджено загальноновизнаним мікробіологічним методом [15]. Мазки із носу і носоглотки забирали стерильним ватним тампоном, з наступним ретельним суспендуванням в 1 мл стерильного фізіологічного розчину. В подальшому робили десятикратні розведення і мірно засівали їх на елективні та селективні живильні середовища, які згодом інкубували при оптимальній температурі протягом 24-48 год. Після завершення інкубації, кількість колоній, які виростили на середовищах, підраховували за допомогою приладу ПСБ. Рівень колонізації досліджуваного матеріалу виражали десятковим логарифмом числа колонієутворюючих одиниць бактерій в 1 мл клінічного зразка (Іг КУО/мл). Загальний популяційний рівень виражали середньою геометричною від усіх значень [16]. Ідентифікували мікроби загальноприйнятими прийомами згідно останньої редакції класифікації Берджі [17]. У ряді випадків ідентифікацію проводили за допомогою напівавтоматичного мікробіологічного аналізатора «Vitek-2» [15].

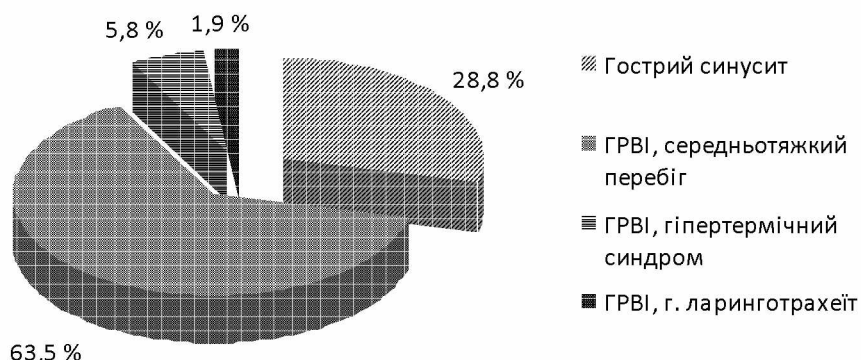
Результати досліджень та їх обговорення

Як показали результати дослідження, 63,5 % хворих із грипом і ГРВІ мали середньотяжкий перебіг

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

захворювання, 5,8 % – гіпертермічний синдром. У 28,8 % осіб захворювання ускладнилося гострим

синуситом різно локалізації, а в 1,9 % – гострим ларинготрахеїтом (мал. 1).



Мал. 1. Структура нозологій у хворих на грип і ГРВІ.

Як показали результати проведених досліджень, популяційний склад мікробного пейзажу слизової оболонки носа та носоглотки обстежуваних хворих представляли популяції факультативно-анаеробних, аеробних та анаеробних бактерій, які частіше висілилися або у вигляді двох-, трьохкомпонентних асоціацій або як монокультура.

Таксономічне положення ізолятів, згідно останньої редакції класифікації Берджі (2005) [8], наведено в табл. 1. Вони представляли 3 типи і 5 класів збудників. Найчисленішим був тип *Firmicutes*, до якого належало 72,4 % штамів. Тип *Actinobacteria* репрезентували 18,4 %, а тип *Proteobacteria* – 9,2 % штамів.

У типі *Firmicutes* ідентифіковані мікроорганізми, які належали до 2 класів: *Bacilli* (вилучених штамів) і *Clostridia* (відповідно 97,2 і 2,8 % штамів), а також 5 родів. Серед останніх домінували представники родів *Staphylococcus* і *Streptococcus* (85,9 % цієї групи збудників). Тип *Actinobacteria* формував однойменний клас, у якому ідентифіковано мікроорганізми 4 родів, з переважанням *Corynebacterium spp.* (55,6 % штамів), а тип *Proteobacteria* – класи *Betaproteobacteria* та *Gamma proteobacteria* (відповідно 33,3 і 66,7 % штамів). У цій групі мікробів домінували бактерії, які належали до родів *Neisseria* і *Moraxella* (66,7 % вилучених ізолятів (табл. 1).

Таблиця 1

Таксономічний спектр бактерій, які колонізують слизову оболонку носа та носоглотки хворих на грип і ГРВІ

Тип збудника	Клас збудника	Родина	Рід	Кількість виділених штамів	
				абс. число	частка у мікробіоценозі, %
<i>Firmicutes</i>	Клас III. <i>Bacilli</i>	<i>Staphylococcaceae</i>	<i>Staphylococcus</i>	40	40,8
		<i>Streptococcaceae</i>	<i>Streptococcus</i>	21	21,4
		<i>Enterococcaceae.</i>	<i>Enterococcus</i>	5	5,1
		<i>Carnobacteriaceae</i>	<i>Granulicatella</i>	3	3,1
	Клас I. <i>Clostridia</i>	<i>Clostridiaceae</i>	<i>Clostridium</i>	2	2,0
<i>Actinobacteria</i>	Клас I. <i>Actinobacteria</i>	<i>Corynebacteriaceae</i>	<i>Corynebacterium</i>	10	10,2
		<i>Micrococcaceae</i>	<i>Micrococcus</i>	1	1,0
		<i>Micrococcaceae</i>	<i>Kocuria</i>	3	3,1
		<i>Micrococcaceae</i>	<i>Rothia</i>	4	4,1
<i>Proteobacteria</i>	Клас II. <i>Betaproteobacteria</i>	<i>Neisseriaceae</i>	<i>Neisseria</i>	3	3,1
	Клас III. <i>Gamma proteobacteria</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia</i>	1	1,0
		<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonas</i>	1	1,0
		<i>Pasteurellaceae</i>	<i>Haemophilus</i>	1	1,0
		<i>Moraxellaceae</i>	<i>Moraxella</i>	3	3,1

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Аналізуючи частоту носійства мікроорганізмів різних родів на слизовій оболонці носоглотки і носа, можна дійти висновку, що найчастіше дані біотопи хворих колонізували грампозитивні коки – стафілококи і стрептококи, коефіцієнт постійності для яких становив відповідно 76,9 і 40,4 % (табл. 2). Майже п'ята-шоста частина обстежуваних була носіями *Corynebacterium spp.*, а шоста – *Micrococcus spp.* У деяких хворих слизова оболонка носу й носоглотки була колонізована моракселями, нейсеріями (5,8 % хворих), а також ентеробактеріями та псевдомонадами (по 1,9 % пацієнтів).

Таблиця 2

Частота носійства окремих родів бактерій на слизовій оболонці носа та носоглотки у хворих на грип і ГРВІ

Мікроорганізм	Частота носійства n=52	
	абс. число штамів	%
<i>Staphylococcus spp.</i>	40	76,9
<i>Streptococcus spp.</i>	21	40,4
<i>Enterococcus spp.</i>	5	9,6
<i>Micrococcus spp.</i>	8	15,4
<i>Corynebacterium spp.</i>	10	19,2
<i>Neisseria spp.</i>	3	5,8
<i>Moraxella spp.</i>	3	5,8
<i>Pseudomonas spp.</i>	1	1,9
<i>Escherichia spp.</i>	1	1,9
<i>Granulicatella spp.</i>	3	5,8
<i>Hemophylus spp.</i>	1	1,9
<i>Clostridium spp.</i>	2	3,8

Проведений у подальшому аналіз складу мікробіоценозу слизових носа та носоглотки підтвердив виявлені вище закономірності (табл. 3). Зокрема, 78,6 % мікробіоценозу утворювали грампозитивні й грамнегативні кокові мікроорганізми (стафілококи, стрептококи, мікрококи, нейсері), 10,2 % його складу належало коринібактеріям, популяціям мораксел, ентеробактерій та псевдомонад – 2,0-3,1 %.

Високий рівень колонізації слизово оболонки був притаманний стрептококам з ентерококами (6,6 Іг КУО/мл), моракселям (5,8 Іг КУО/мл), *Staphylococcus spp.* і *Corynebacterium spp.* – 5,1 Іг КУО/мл (табл. 3). На порядок нижчою була щільність колонізації слизово оболонки нейсеріями – 4,4 Іг КУО/мл і мікрококами – 4,9 Іг КУО/мл.

Надалі проаналізовано склад бактерійних угруповань, які колонізували слизову оболонку носа і носоглотки обстежених хворих. До складу другого за чисельністю угруповання – стрептококів увійшли

Таблиця 3

Склад мікробіоценозу та рівень колонізації слизово оболонки носа та носоглотки бактеріями у хворих на грип і ГРВІ

Угруповання	Частка у мікробіоценозі		Рівень колонізації, ІгКУО/мл
	абс.	%	
Стафілококи	40	40,8	5,1
Стрептококи та ентерококи	26	26,5	6,6
Нейсері	3	3,1	4,4
Мораксели	3	3,1	5,8
Мікрококи	8	8,2	4,9
Коринібактері	10	10,2	5,1
Ентеробактері та псевдомонади	2	2,0	7,7
Інші	6	6,1	4,8
Разом	98	100,0	5,5

представники родів *Streptococcus* і *Enterococcus* (відповідно 80,8 і 19,2 % виділених штамів). Серед них найвищий рівень колонізації слизово був притаманний саме стрептококам – 7,4 Іг КУО/мл (табл. 4).

Таблиця 4

Склад окремих угруповань бактерій, які колонізують слизову оболонку носа та носоглотки

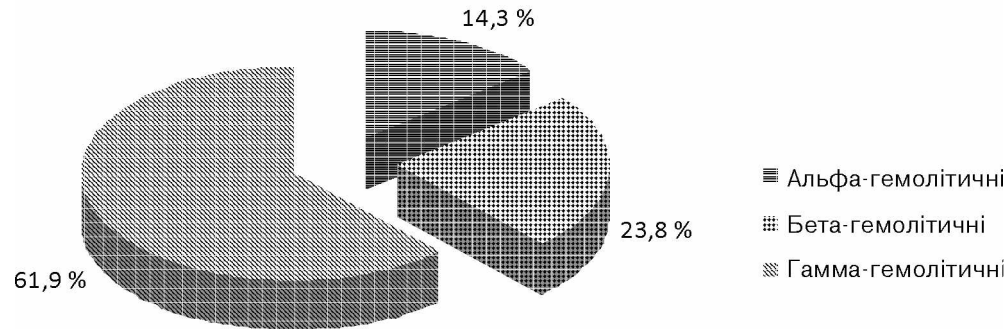
Мікроорганізм	Склад угруповання		Колонізаційний рівень бактерій Іг КУО/мл
	абс.	%	
стрептококи			
<i>Streptococcus spp.</i>	21	80,8	7,4
<i>Enterococcus spp.</i>	5	19,2	4,1
стафілококи			
<i>Staphylococcus spp.</i>	40		5,1
<i>S. aureus</i>	10	25,0	6,2
<i>S. epidermidis</i>	17	42,5	4,6
<i>S. haemolyticus</i>	5	12,5	5,3
<i>S. hominis</i>	3	7,5	4,3
<i>S. intermedius</i>	1	2,5	6,7
<i>S. lentus</i>	1	2,5	6,8
<i>S. simulans</i>	2	5,0	4,0
<i>S. warneri</i>	1	2,5	3,7
мікрококи			
<i>Kokuria kristinae</i>	3	37,5	4,1
<i>Rothia mucilaginoso</i>	4	50,0	5,9
<i>Micrococcus lylae</i>	1	12,5	4,66

Серед мікроорганізмів роду *Streptococcus* найчастіше висівали *S. mitis* (42,9 % штамів відповідного роду), *S. pyogenes* (23,8 %), частка *S. pneumoniae*

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

становила 14,3 %, а *S. oralis* і *S. salivarius* – по 9,5 %. Аналіз угруповання стрептококів за х гемолітичними

властивостями показав, що в ньому були α -, β - і γ -гемолітичні види (мал. 2).



Мал. 2. Склад угруповання стрептококів за х гемолітичними властивостями.

Рідше за інші у цієї категорії хворих були представлені α -гемолітичні варіанти (14,3 %), а домінували γ -гемолітичні стрептококи (61,9 %).

Слід зазначити, що колонізаційний рівень усіх гемолітичних варіантів перевищував 5,0 lg КУО/мл, це вище етіологічно значущої концентрації, проте найвищим він був у β -гемолітичних стрептококів – 8,2 lg КУО/мл, дещо поступався цим показником у γ -гемолітичних варіантів – 7,7 lg КУО/мл.

Угруповання стафілококів представляли 8 видів коагулазопозитивних і коагулазонегативних коків (табл. 4). Коагулазопозитивні *S. aureus* і *S. intermedius* формували майже третину відповідного угруповання (27,5 %), решта належала коагулазонегативним кокам, серед яких переважав *S. epidermidis* (42,5 %). Слід зазначити, що популяційний рівень коагулазопозитивного *S. aureus* був достатньо високим, досягаючи 6,7 lg КУО/мл і був, як правило, на 1-2 порядки вище, ніж у коагулазонегативних.

В угрупованні мікрококів було ідентифіковано мікроорганізми трьох родів мікробів: *Micrococcus*, *Kokuria* та *Rothia*. Половина угруповання була представлена *Rothia spp.*, які й мали найвищий в ньому колонізаційний рівень 5,9 lg КУО/мл (табл. 4). Хоча коринебактерії мають виражені антагоністичні властивості, забезпечуючи колонізаційну резистентність біотопу, їх виділено всього від 1/5-2 частини хворих, а їх колонізаційний рівень досягав 5,1 lg КУО/мл. Нейсерії та мораксели нечасто висівалися із слизової оболонки носа і носоглотки хворих, їх колонізаційний рівень коливався в межах 4,4-5,7 lg КУО/мл, суттєво поступаючи коагулазопозитивним стафілококам. Як було зазначено, ентеробактерії та псевдомонади з однаковою частотою висівалися з носоглотки хворих

(1,9 %), отже, вони з однаковою частотою (50,0 %) були представлені в цьому угрупованні (табл. 1), однак їх колонізаційний рівень був високим, перевищуючи 5,0-7 lg КУО/мл.

Отримані результати, в основному, підтверджують дані літератури щодо структури мікробіоценозу слизової оболонки носа та носоглотки у людини. Слід відмітити, що в осіб, які мали ускладнення синуситу різної локалізації, з'являлися тимчасові мешканці слизової оболонки, такі як *Rothia spp.*, *Granulicatella spp.*, *Clostridium spp.* Як засвідчують літературні джерела, мікроорганізми саме цих родів можуть викликати серйозні захворювання ротоглотки та синуситу [18-21].

Висновки

1. Обстежувані хворі на грип і ГРВІ переважно мали середньотяжкий перебіг захворювання (63,5 %). У 30,7 % хворих спостерігалися ускладнення у вигляді гострого синуситу різної локалізації та ларинготрахеїту.

2. Мікробіоценоз слизової оболонки носа та носоглотки хворих на ГРВІ та гостру патологію ЛОР-органів представлений асоціаціями стафілококів, стрептококів, нейсерій, мораксел, гемофільних бактерій, ентеробактерій, псевдомонад та ін., серед яких домінують стафілококи (76,9 % хворих) і стрептококи (40,4 %).

3. Популяції мікроорганізмів різняться за своїми колонізаційними рівнями. Найвищих значень вони досягають в угрупованнях стрептококів – 6,6 lg КУО/мл і стафілококів – 5,1 lg КУО/мл, а також у мораксел – 5,8 lg КУО/мл.

4. У хворих із синуситами різної локалізації на слизовій оболонці з'являються такі транзитні мешканці, як *Rothia spp.*, *Granulicatella spp.*, *Clostridium spp.*

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Література

1. Ширококов В.П. Мікробна екологія людини з кольоровим атласом: Навчальний посібник / В.П. Ширококов, Д.С. Янковський, Г.С. Димент. – К.: ТОВ «Червона Рута-Турс», 2009. – 312 с.
2. Ковальчук М.Т. Особливості мікробіоценозу ротоглотки у хворих на розацеа та розацеа із супутніми лямбліозом і демодекозом / М.Т. Ковальчук, С.І. Клименко // Інфекційні хвороби. – 2012. – № 2. – С. 51-56.
3. Пономарева О.А. Роль нормальної мікрофлори в підтримці здоров'я людини // О.А. Пономарева, Е.В. Симонова // Сибирский мед. журн. – 2008. – № 8. – С. 20-24.
4. Кременчуцкий Г.Н. Роль мікроекології організму людини і принципи її корекції / Г.Н. Кременчуцкий, С.А. Рыженко, С.И. Вальчук. – Дніпропетровськ: Пороги, 2003. – 230 с.
5. Brook I. The role of bacterial interference in otitis, sinusitis and tonsillitis / I. Brook // Otolaryngology, Head and Neck Surgery. – 2005. – Vol. 133, N 1. – P. 139-146.
6. Legatzki A. Microbiome diversity and asthma and allergy risk / A. Legatzki, B. Rosler, E. von Mutius // Curr. Allergy and Asthma Rep. – 2014. – Vol. 14, N 10. – P. 466.
7. Exposure to Environmental Microorganisms and Childhood Asthma / [J.E. Markus, M. Mayer, A.C. Normand et al.] // New Engl. J. Med. – 2011. – Vol. 364. – P. 701-709.
8. Поступ у лікуванні хворих на грип та інші ГРВІ / [М.А. Андрейчин, В.С. Копча, В.Д. Москалюк та ін.] // Інфекційні хвороби. – 2013. – № 3 (73). – С. 10-18.
9. Особливості перебігу грипу та інших ГРВІ під час епідемії (жовтень-листопад 2009 р.) у Тернопільській області / [Н.А. Васильєва, М.А. Андрейчин, О.Л. Івахів та ін.] // Інфекційні хвороби. – 2010. – № 1 – С. 15-18.
10. Александрова М.А. Пневмония как осложнение гриппа / М.А. Александрова, С.В. Яковлев // Русс. мед. журн. – 2006. – № 14. – С. 90-94.
11. Лискова Е.В. Характеристика микрофлоры верхних дыхательных путей при острых респираторных вирусных инфекциях: автореф. дисс. ... канд. мед. наук / Е.В. Лискова. – Оренбург, 2012. – 19 с.
12. Сидорчук А.С. Можливості корекції мікробіоценозу слизових оболонок носоглотки у хворих на сезонний грип / А.С. Сидорчук, Л.І. Сидорчук // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2010. – № 1 (5). – С. 188-193.
13. A case of acute cerebral aspergillosis complicating Influenza A/H1N1pdm 2009 / [M.J. Kim, M.K. Kim, C.K. Kang et al.] // Infect. Chemother. – 2013. – Vol. 45, N 2. – P. 225-229.
14. Clinical and epidemiological characteristics of patients hospitalized with severe influenza in the season 2012-2013 / [K. Herrmannova, M. Trojanek, M. Havlickova et al.] // Epidemiol. Mikrobiol. Immunol. – 2014. – Vol. 63, N 1. – P. 4-9.
15. Методики клинических лабораторных исследований: Справочное пособие. Том 3. / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Лабора, 2009. – 880 с.
16. Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
17. Garrity G.M. Taxonomic outline of the prokaryotes Bergey's manual of systematic bacteriology second edition release 5.0 May 2004 // G.M. Garrity, J.A. Bell, T.G. Lilburn. – Електрон-

ний ресурс [Режим доступу] http://www.bergeys.org/outlines/bergeysoutline_5_2004.pdf

18. Rosenblum B.N. Sphenoid sinusitis caused by *Clostridium perfringens* / B.N. Rosenblum, M. Gutwein, M.F. Bartell // Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2001. – Vol. 125, N 1. – P. 101-102.
19. Severe acute tonsillitis caused by *Rothia dentocariosa* in a healthy child / [M. Ohashi, T. Yoshikawa, S. Akimoto et al.] // Pediatr. Infect. Dis. J. – 2005. – Vol. 24, N 5. – P. 466-467.
20. Molecular analysis of bacterial flora associated with chronically inflamed maxillary sinuses / S. Paju, J.M. Bernstein, E.M. Haase, F.A. Scannapieco // J. Med. Microbiol. – 2003. – Vol. 52, Pt. 7. – P. 591-597.
21. Hamilos D.L. Host-microbial interactions in patients with chronic rhinosinusitis / D.L. Hamilos // J. Allergy Clin. Immunol. – 2014. – Vol. 133, N 3. – P. 640-653.

PECULIARITIES OF NOSE AND NASOPHARYNX MICROBIOCENOSIS IN PEOPLE WITH INFLUENZA AND ACUTE RESPIRATORY VIRAL INFECTIONS

S.I. Klymnyuk, M.M. Savchuk, Yu.M. Andreychyn, O.V. Pokryshko, N.I. Krasnyy, L.B. Romanyuk, M.S. Tvorok, N.I. Tkachuk, N.H. Klymnyuk

SUMMARY. The results of the study of nasal and nasopharynx mucosal microbiota in 52 patients with influenza and acute respiratory viral infections are presented in this article.

About 64 % of patients had moderate disease duration, but 30,7 % persons had such complications as acute sinusitis and laryngotracheitis. It was revealed that nose and nasopharynx microbiocenosis was formed by associations of staphylococcal, streptococcal, neisserial, and others microbial populations. Staphylococci and Streptococci were dominant. About 77 % of patients were carriers of Staphylococcal populations and 40,4% – streptococcal ones. Their colonizational level was about 5,1-6,6 lg CFU/ml.

*There are some differences in the composition of nasal and nasopharynx mucosa microbiocenosis in patients with different comorbidities. Thus, in patients with sinusitis of different localization in the mucosa appear transient bacteria as residents such as *Rothia* spp., *Granulicatella* spp., *Clostridium* spp. were appeared on the surface of mucosa.*

Key words: *influenza, acute respiratory viral infections, nose, nasopharynx, microbiocenosis.*

Отримано 8.09.2014 р.