

ISSN 1816-031X

VINNYTSIA NATIONAL PYROGOV MEMORIAL MEDICAL UNIVERSITY

BIOMEDICAL AND BIOSOCIAL ANTHROPOLOGY

SCIENTIFIC JOURNAL №19 2012

© Фоміна Н.С., Фомін О.О.

УДК: 616.31-001.4:615.28 *Фоміна Н.С., Фомін О.О.*

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

ДОСЛІДЖЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ МІКРООРГАНІЗМІВ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ РОТА ХВОРИХ ПАЦІЄНТІВ ТА ЧУТЛИВОСТІ ДО АНТИМІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ

Резюме. *В роботі приводяться результати вивчення властивостей мікроорганізмів, що колонізують слизову оболонку ротової порожнини хворих осіб. Досліджено чутливість виділених штамів до антибіотиків та антисептиків декасану, мірамістину. Встановлено потенціювання антисептиком декасаном дії антибіотиків цефалоспоринового ряду (цефтріаксону, цефотаксиму).*

Ключові слова: *лімфобластний лейкоз, мікрофлора ротової порожнини, декасан, мірамістин, антибіотики, цефтріаксон, цефотаксим.*

Вступ

Хіміотерапія, променева терапія покращують прогноз у пацієнтів з лейкозами. Проте на передній план виходять інфекційні ускладнення, які виникають на фоні зниженого імунного статусу. Ризик виникнення інфекційних ускладнень зростає при проведенні хірургічних операцій, внаслідок перебування пацієнтів в палатах інтенсивної терапії, можливої перехресної контамінації мікроорганізмами, не раціонального використання антибіотиків [Варлан, 2007].

Інфекційні ускладнення у хворих переважно бактеріальної, грибкової етіології або представлені бактеріально-грибковими асоціаціями. Профілактику та лікування інфекційних ускладнень у пацієнтів здійснюють антибактеріальними препаратами широкого спектру дії. Призначення антибактеріальних препаратів проводять згідно протокового лікування, переважно цефалоспоринового ряду [Гусєва, Петруша, 2006]. Тривале застосування антибіотиків не тільки пригнічує життєдіяльність нормальної мікрофлори, але й інгібує імунну відповідь, знижує активність клітинних і гуморальних факторів неспецифічного протиінфекційного захисту організму, порушує бар'єрну функцію ретикулоендотеліальної системи, негативно впливає на функції окремих органів і систем.

Асоційовані з прийомом антибіотиків дисбіотичні порушення, що супроводжуються зниженням колонізаційної резистентності організму та формування вторинних імунодефіцитів, створюють сприятливі умови не тільки для інфікування хворого госпітальними штамми, але й для

підвищення вірулентності умовно-патогенних представників аутофлори. Однак, в ряді випадків навіть своєчасне призначення високоефективних антибактеріальних засобів не дозволяє зупинити розвиток інфекційних ускладнень та попередити смерть пацієнта. Це пов'язане з тим, що деякі грампозитивні мікроорганізми володіють полірезистентністю до антимікробних заходів [Richards et al., 1999]. Тому триває пошук альтернативних препаратів, які можуть бути використані у хворих з місцевими вогнищами інфекції. Перспективним є застосування антисептичних препаратів з наявними місцевими гнійно-запальними ускладненнями та з метою санації можливих вогнищ інфекції [Палій та ін., 2002; Мороз та ін., 2002].

Враховуючи те, що інфекційні ускладнення ротової порожнини займають провідне місце в структурі всіх інфекційних ускладнень після проведеної хіміотерапії, та сприяють інвазії мікроорганізмів у внутрішнє середовище макроорганізму доцільно дослідити спектр і біологічні властивості мікрофлори слизової оболонки ротової порожнини.

Метою роботи є дослідження властивостей мікроорганізмів, що колонізують слизову оболонку ротової порожнини у пацієнтів та чутливості до антибіотиків, антисептиків.

Матеріали та методи

Обстежено 60 пацієнтів з встановленим діагнозом лімфобластного лейкозу віком до 17 років. Контрольну групу склали 30 здорових дітей. Вивчення мікробної контамінації слизової оболонки ротової порожнини проводили шляхом посіву матеріалу із зіву на щільні поживні середовища. Всього було виділено 203 штами мікроорганізмів. Властивості стафілококів ідентифікували всередині роду за допомогою СТАФІтест-16 (PLIVA - Lachema a. s. Брно, Чеська республіка), який включає в себе 17 біохімічних тестів (уреаза, аргінін, орнітин, бета-галактозидаза, бета-глюкоронідаза, ескулін, нітрати, фосфатаза, галактоза, сахароза, трегалоза, манітол, ксилоза, мальтоза, манноза, лактоза, VP-тест). Стрептококи тестували на середовищах, що містять 6,5 % NaCl та жовч, за здатністю змінювати забарвлення молока з метиленовим синім, утворювати каталазу. Гемолітичну активність стрептококів враховували за появою зони провітління (руйнування еритроцитів) навколо колоній на середовищі з кров'ю.

Виділені штами грибів роду *Candida* ідентифікували за морфологічними, культуральними властивостями, оцінювали здатність утворення ростових трубок після культивування на середовищі з сироваткою, враховували властивості щодо ферментації цукрів.

Біохімічні властивості ентеробактерій та неферментуючих грамнегативних бактерій визначали за допомогою ЕНТЕРОтест-24 та НЕФЕРМтест-24 (PLIVA - Lachema a. s. Брно, Чеська республіка). Набір

НЕФЕРМтест-24 містить 24 біохімічних тести (індол, аргінін, уреаз, лізин, глюкоза, фруктоза, інозитол, сахароза, фосфатаза, бета-галактозидаз, бета-глюкоронідаза, N-ацетил-бета-D-глюкозамінідаза, манітол, ксилоза, целобіоза, галактоза, нітрати, нітрити, ескулін, гамма-глутамілтрансфераза, лактоза, мальтоза, трегалоза, цитрат Сімонса), розташованих в 3-рядовій пластинці, які були доповнені тестом для визначення цитохромоксидазної активності - ОКСТестом. Набір ЕНТЕРОтест-24 містить 24 біохімічних тести (індол, сірководень, лізин, орнітин, уреаз, аргінін, цитрат Сімонса, мапонат, фенілаланін, бета-галактозидаз, інозитол, адонітол, целобіоза, сахароза, трегалоза, манітол, ацетоін, ескулін, сорбітол, рамноза, мелібіоза, рафіноза, дульцит, глюкоза).

Найбільш ефективними та безпечними у сьогоднішній день вважають антисептики. Аптечна мережа пропонує у переліку антисептики декасан, основною діючою речовиною яких є декаметоксин, та антисептик мірамістин. Чутливість виділених культур мікроорганізмів до антисептиків декасану, мірамістину проводили методом послідовних серійних розведень у рідкому поживному середовищі [Волянський та ін., 2004]. Чутливість до антибіотиків ципрофлоксацину, цефомандолу, олеандоміцину, імпіпенему, цефалотину, ампіциліну, канаміцину, гатіфлоксацину, амікацину, амоксициліну, левофлоксацину, пefлоксацину, цефоперазону, цефтріаксону, цефаклору, цефуроксиму, оксациліну визначали диско-дифузійним методом [Некрасова та ін., 2007].

Результати. Обговорення

Оснoву мікробного пейзажу ротової порожнини в контрольній групі людей склали стрептококи. Дані мікроорганізми зустрічали у 80 % випадків. У хворих лімфобластним лейкозом дані мікроорганізми були виявлені у 65 % обстежених. Друге місце серед мікрофлори ротової порожнини в контрольній групі посідали стафілококи, які виділяли у 40 % обстежених. У хворих лімфобластним лейкозом кількість виділених стафілококів перевищувала кількість стрептококів в 1,2 рази і склала 78,3 %. Серед стафілококів переважали золотисті ($p < 0,05$), що склало 43,3 % випадків. Виділення епідермальних стафілококів зареєстрували в 35 % випадків.

Однією з характерних ознак дисбіозу ротової порожнини є наявність дріжджоподібних грибів роду *Candida*. При обстеженні контрольної групи *C.albicans* були виділені у 13,3 % осіб. Обстеження пацієнтів дослідної групи показало достовірно вищий показник виділення грибів роду *Candida* який становив 41,6 % ($p < 0,05$).

Ентерококи в контрольній групі контамінували слизову ротової порожнини у 6,6 % обстежених осіб. У пацієнтів з лімфобластним лейкозом дані мікроорганізми виділяли у 8,3 % випадках.

При обстеженні контрольної групи грамнегативних мікроорганізмів не було виявлено. При обстеженні хворих лімфобластним лейкозом встановлено, що кишкові палички колонізувала слизову оболонку рота у 10 % випадків, кпєбсієли - у 6,6 %, *P.aeruginosa* у 5 %.

В умовах світової тенденції росту кількості мікроорганізмів, резистентних до протимікробних засобів, визначення чутливості мікроорганізмів до антимікробних препаратів є важливою складовою у вирішенні питань, пов'язаних з терапією та профілактикою захворювань.

Аналізуючи отримані результати щодо чутливості стафілококів до антибактеріальних препаратів встановлено, що до жодної дослідної групи антибіотиків штами стафілококів не виявили 100% чутливості (рис. 1).

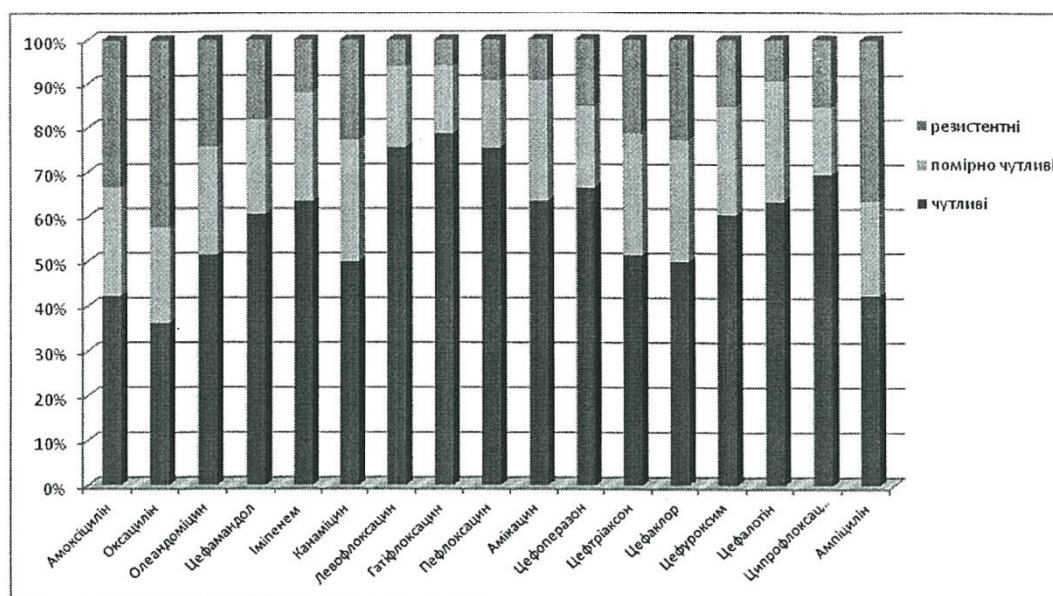


Рис. 1. Результати визначення чутливості стафілококів до антибіотиків.

Згідно протокольного лікування хворих на лімфобластний лейкоз препаратами вибору лікування інфекційних ускладнень є цефалоспоринові антибіотики. До цих препаратів чутливість стафілококів не перевищували 53,3 %. До цефтріаксону, який призначали найчастіше, чутливість *S.aureus* склала 50 %. Більш чутливими клінічні штами стафілококів були до препаратів фторхінолонового ряду. Ципрофлоксацин, пефлоксацин, левофлоксацин були ефективними щодо 73,3 % *S.aureus*, гатіфлоксацин - у відношенні 76,6 % штамів. Грамнегативні бактерії були високо чутливими до фтор-хінолонів. 100 % були чутливими до гатіфлоксацину, ципрофлоксацину. Чутливість до цефтріаксону була на рівні 73,7 %.

Враховуючи низьку чутливість виділених штамів до антибіотиків, було досліджено чутливість виділених клінічних штамів до антисептиків декасану, мірамісти-ну (табл. 1).

Отримані результати показали високу чутливість клінічних штамів стафілококів до декасану. Так, МБЦК декасану для стафілококів 4,45-9,8

мкг/мл для. Нижчу чутливість стафілококи виявили до мірамістину МБЦК якого становила 7,38-15,6 мкг/мл.

Таблиця 1. Порівняльна характеристика протимікробної активності декасану, мірамістину на клінічні штами мікроорганізмів, М±т.

Вид мікроорганізмів	Кількість штамів	Декасан	Мірамістин	Показник достовірності, р
<i>S.aureus</i>	26	9,8±2,3	15,6±1,4	>0,05
<i>S.epidermidis</i>	30	4,45±0,44	7,38±0,4	<0,05
<i>S.haemolyticus</i>	3	6,02±1,29	9,5±0,7	>0,05
<i>Streptococcus spp.</i>	63	0,9±0,4	7,24±0,3	<0,05
<i>E.coli</i>	6	37,8±1,3	50±0	<0,05
<i>Candida spp</i>	29	17,1±1,7	20,1 ±1,8	>0,05
<i>P.aeruginosa</i>	3	87,5±15	*	
<i>E.faecalis</i>	7	6,6±1,2	10,2±1,2	>0,05
<i>K.pneumoniae</i>	4	75±6,1	*	

Примітка: * - відсутність бактерицидного ефекту 0,01 % розчину.

Стрептококи були високочутливими до декасану, МБЦК якого дорівнювала 0,9 мкг/мл. Бактерицидна концентрація мірамістину щодо даних мікроорганізмів була вищою у 8 разів і становила 7,24 мкг/мл.

Грамнегативні мікроорганізми були найбільш резистентними до мірамістину. Бактерії роду клебсіел, *P.aeruginosa* росли в присутності 100 мкг/мл препарату. Найбільш чутливими ентеробактерії були до декасану. Так, МБЦК декасану для кишкової палички становила 37,8 мкг/мл, для клебсіел - 75 мкг/мл, для палички синьо-зеленого гною - 87,5 мкг/мл. Дріжджоподібні гриби у хворих з імунодефіцитами здатні швидко викликати патологічні зміни в організмі і призводити до розвитку генералізованих мікозів. Визначення їх чутливості до оральних антисептиків має важливе практичне значення. Чутливість дріжджоподібних грибів роду *Candida* до декасану була на рівні 17,1 мкг/мл, до мірамістину - 20,1 мкг/мл.

Нами було досліджено можливість підвищення чутливості мікроорганізмів до цефтріаксону та цефотаксиму за допомогою декасану. Встановлено, що в присутності суббактеріостатичних концентрацій декасану МБЦК цефотаксиму до синьо-гнійної палички знизилась в 31 раз і становила 10 мкг/мл, до *S.epidermidis* в 32 рази (62,5 мкг/мл). МБЦК цефтріаксону до штаму епідермальних стафілококів в присутності суббак-

теріостатичних доз декасану знизилась у 8 разів і склала 156 мкг/мл, до клінічного штаму E.coii - в 62,4 рази і дорівнювала 25 мкг/мл.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. У онкогематологічних хворих на тлі імуносупресії слизова оболонка порожнини рота контамінована S.aureus, S.epidermidis, дріжджоподібними грибами.

2. Виділені ізоляти характеризуються високим рівнем резистентності до (3-лактамних антибіотиків, цефалоспоринів, і при цьому зберігають високий рівень чутливості до антисептика декасану.

3. При поєднаному системному застосуванні цефтріаксону, цефотаксиму і місцевого застосування декасану підвищується чутливість мікроорганізмів до антибіотиків цефтріаксону, цефотаксиму.

В подальшому планується дослідити клінічну ефективність декасану при лікуванні інфекційних запалень ротової порожнини.

Список літератури

- Варлан Г. В. Цитотоксическая химиотерапия и развитие нейтропении у больных солидными опухолями / Г. Варлан // Врач. - 2007. - № 5. - 10-12.
- Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів : [метод. рекомендації] / Ю. Я. Волинський, В. П. Широбоков, С. В. Бірюкова [та ін.]. - К., 2004. - 38 с.
- Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів : [метод. рекомендації] / Л. С. Некрасова, В. М. Свита, Т. Г. Глушкевич [та ін.]-К., 2007. -74 с.
- Гусева С. А. Фебрильная нейтропения: методы профилактики и терапии //С. А. Гусева, А. О. Петруша //Український журнал гематології та трансфузіології. - 2006. - №1 (6). - С. 48 - 57.
- Палій Г. К. Антимікробна дія антисептиків на збудників гнійно-запальних процесів / Г. К. Палій, А. С. Барило, А. О. Чеснокова // Вісник Вінницького державного мед. ун-ту. - 2002. - № 2. - С. 337 - 338.
- Порівняльне дослідження протимікробних властивостей антисептиків / В. М. Мороз, Г. К. Палій, В. О. Соколов [та ін.] // Вісник Вінницького державного мед. ун-ту. - 2002. - № 2. - 315-320.
- Richards J. M. Nosocomial Infections in Pediatric Intensive Care Units in the United States and the National Nosocomial Infections Surveillance System / J. M. Richards, J. R. Edwards, H. Culver [et al.] // Pediatrics. - 1999. - Vol. 103. - P. 39.

Фомина Н.С., Фомин О.О.

ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ МИКРООРГАНИЗМОВ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ РТА У БОЛЬНЫХ ПАЦИЕНТОВ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ

Резюме. В работе приводятся результаты изучения свойств микроорганизмов, которые колонизируют слизистую оболочку

BIOMEDICAL AND BIOSOCIAL ANTHROPOLOGY

*Official Journal of the International Academy of Integrative Anthropology
Founded by the International Academy of Integrative Anthropology and
Vinnytsia National Pyrogov Memorial Medical University in 2003*

Періодичність виходу журналу 2 рази на рік №.19,2012

*Фахове наукове видання України МЕДИКО-БІОЛОГІЧНІ НАУКИ
згідно переліку наукових фахових видань України, затвердженого
Постановою Президії ВАК України від 14.10.2009 №1-05/4 (Бюлетень
Вищої Атестаційної Комісії України №11, 2009 р.)*

Editor-in-chief *Moroz V.M. (Vinnytsia)*
First assistant editor *Aleksina L.A. (Saint-Petersburg)*
Assistants editor *Kornetov N.A. (Tomsk)*
Nikolaev V.G. (Krasnoyarsk)
Executive secretary *Gunas I.V. (Vinnytsia)*
Secretary *Datsenko G.V. (Vinnytsia)*

Editorial board:

*Chaikovsky Yu. B. (Kyiv), Cherkasov V.R. (Kyiv), Halberg F. (Minneapolis),
Karimov M.K. (Hudzhand), Kazakov V.N. (Donetsk), Kolesnikov L.L. (Moscow),
Kostyuk G.Ya. (Vinnytsia), Koveshnikov V.G. (Luhansk), Lupyrov V.M. (Kharkiv),
Martirosov E.G. (Moscow), Petrushenko V.V. (Vinnytsia), Protsek O.G.
(Vinnytsia), Schedrina A.G. (Novosibirsk), Serheta I.V. (Vinnytsia), Tegako L.I.
(Minsk)*

Editorial council:

*Babanin A.A. (Simferopol), Bobin V.V. (Kharkiv), Dgebuadze M.A. (Tbilisi),
Guminskiy Yu.I. (Vinnytsia), Fedonyuk Ya.I. (Ternopil), Kaarma H.T. (Tartu),
Koynosov P.G. (Tumen), Lobko P.I. (Minsk), Mostovoy Yu.M. (Vinnytsia),
Nikityuk D.B. (Moscow), Orlov V.V. (Perm), Pishak V.P. (Chernivtsi),
Podkhomutnicov V.M. (Novokuznetsk), Popov V.L. (Saint-Petersburg), Shutz Yu.
(Munster), Sokolov V.V. (Rostov-on-Don)*

Адреса редакції та видавця:

вул. Пирогова, 56, м.Вінниця-18, Україна, 21018 Тел.: +38(0432)439411
Факс.: +38 (0432) 465530 E-mail: datsenko@vnmv.vinnica.ua