УДК 616.216.1-002.3-036.1-071:616.379-008.64]:616-008.87

О.О. МАЗУР

РОЛЬ АСОЦІАЦІЙ МІКРООРГАНІЗМІВ У РОЗВИТКУ ХРОНІЧНОГО ГНІЙНОГО ВЕРХНЬОЩЕЛЕПНОГО СИНУСИТУ У ПАЦІЄНТІВ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 1 ТИПУ

ВДНЗ «Буковинський державний медичний університет»
(ректор – проф. Т.М. Бойчук)

РОЛЬ АССОЦИАЦИЙ МИКРООРГАНИЗМОВ В РАЗВИТИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГНОЙНОГО ВЕРХНЕЧЕЛЮСТНОГО СИНУСИТА У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА

Мазур А.А. (Черновцы)

А н н о т а ц и я

Бактериологическими и микологическими методами проведено исследование видового состава, популяционного уровня и количественной характеристики ассоциантов микробиоты биотопа верхнечелюстных пазух у 50 больных хроническим гнойным верхнечелюстным синуситом с сахарным диабетом 1 типа и 37 у больных хроническим гнойным верхнечелюстным синуситом такого же возраста без сопутствующей патологии. В содержимом верхнечелюстных пазух больных хроническим гнойным верхнечелюстным синуситом, совмещенным с сахарным диабетом 1 типа, выделено и идентифицировано 175 штаммов разных видов микроорганизмов, относящихся к 24 различным таксономическим группам, которые в биотопе формируют различные по качественному составу микробные ассоциации, состоящие из 3 разных видов у 58% больных, из 4 видов – у 34% и из 5 разных таксонов – у 8%.

Хронический гнойный верхнечелюстной синусит у пациентов с СД 1 типа нарушает микробные ассоциации. У них растет количество ассоциаций, состоящих из 3 видов, в 2,7 раза, но уменьшается на 11,76% количество ассоциаций, состоящих из 4 видов микроорганизмов. Количество ассоциаций, состоящих из 5 видов, уменьшается в 3,5 раза.

Среди наиболее многочисленных ассоциаций, состоящих из 3 видов патогенных и условно патогенных автохтонных факультативных микроорганизмов, чаще встречаются ассоциации следующих представителей: M. catarrhalis, S. aureus и Bacteroides spp.; Prevotella spp., S. viridans и S. salivarius; M. catarrhalis, Prevotella spp. и S. epidermitis; H. influenzae, Prevotella spp. и S. epidermitis. Ассоциации, состоящие из 4 видов, обнаружены у 34% больных и состоят из S. pneumoniae, M. catarrhalis, S. pyogenes, Fusobacterium spp; S. pneumoniae, E. coli, S. aureus и Candida spp.; S. pneumoniae, E. coli Hly+ , S. viridans и Candida spp.

У больных хроническим гнойным верхнечелюстным синуситом, совмещенным с СД 1 типа с тяжелый течением, имелись ассоциации, которые состояли из S. pneumoniae, M. catarrhalis, Candida spp. и S. epidermitis; S. pneumoniae, M. catarrhalis, S. pyogenes, S. epidermitis; Bacteroides spp., H. influenzae, S. pyogenes, Enterobacter spp.; Bacteroides spp., H. influenzae, S. pyogenes, Candida spp. Перечисленное выше может свидетельствовать о влиянии не только этиологического агента, а также и определенной ассоциации микроорганизмов на тяжесть течения верхнечелюстного синусита, сочетанного с СД 1 типа.

У больных хроническим гнойным верхнечелюстным синуситом, совмещенный с тяжелым течением СД 1 типа, были выявлены ассоциации микроорганизмов, состоящие из 5 видов. Их состав был разным, но у всех был выделен и идентифицирован возбудитель S. pneumoniae в высоком популяционном уровне, условно патогенные облигатные анаэробные бактерии рода Bacteroides и Prevotella, Fusobacterium, стрептококки и золотистый стафилококк.

По индексу постоянства и доминирования Бергера-Паркера доминирующими возбудителями хронического воспалительного процесса в верхнечелюстных пазухах являются S. pneumoniae, H. influenzae, M. catarrhalis. Другие бактерии (S. pyogenes, S. aureus, E. coli Hly+, B. fragilis) являются дополнительными или случайными (E. coli Hly+, B. fragilis) возбудителями. Все ведущие возбудители персистируют в биотопе в ассоциации. Ассоцианты, в зависимости от их роли в нормобиоценозе, могут ингибировать патогенетическую активность ведущего возбудителя или же, наоборот, активировать его патогенетическую роль, что необходимо учитывать при выборе лечебной тактики.

Ключевые слова: синусит, дисбиоз, ассоциации микроорганизмов, сахарный диабет.

THE ROLE OF MICROORGANISM ASSOCIATION IN THE DEVELOPMENT OF CHRONIC PURULENT MAXILLARY SINUSITIS IN PATIENTS WITH TYPE I DIABETES MELLITUS

Mazur O.O.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University"; e-mail: lor@bsmu.edu.ua

A b s t r a c t

Backround. Today the question concerning biocoenotic disorders in the upper respiratory tract in patients with chronic purulent maxillary sinusitis associated with type I diabetes mellitus remains inadequately studied. Investigation of a qualitative and quantitative content and quantitative characteristics of microbiota in the paranasal sinuses in patients with chronic purulent maxillary sinusitis associated with type I diabetes mellitus is essential not only for diagnostics but for the elaboration of effective individual therapeutic tactics.

Aim*:* to study qualitative and quantitative content of microbiota of the maxillary sinuses and the role of microorganism associations in the development and course of chronic purulent sinusitis in patients with type I diabetes mellitus.

Materials and methods. Microbiological examination of 87 samples of the maxillary sinus content has been conducted. The main group included 50 patients with chronic purulent maxillary sinusitis with type I diabetes mellitus aged from 20 to 67 (39 patients with moderate and 11 with severe DM). The control group included 37 patients with chronic purulent maxillary sinusitis of the same age without type I diabetes mellitus.

Isolation and identification of viable (colony-formation units (CFU)) microorganisms have been performed by means of common methods to determine appropriate for every microbe characteristics: morphology, tinctorial peculiarities, the character of growth on solid and liquid media, metabolic processes (biochemical properties), antigenic structure and sensitivity to antibiotics.

The characteristics of microecological microflora condition in the cavity of the maxillary sinuses has been evaluated by constancy index, occurrence frequency, quantitative dominance and significance coefficients of a taxon in the group (association) of microorganisms.

Results and discussion. In patients with chronic purulent maxillary sinusitis a number of associations consisting of three kinds increases by 2,7 times, but associations consisting of four kinds are on 11,76% less, and a number of associations consisting of five kinds decreases by 3,5 times. At the same time, a number of pathogenic and opportunistic autochtonous facultative and allochtonous microorganisms for the biotope increased considerably. The process of elimination and contamination of microorganisms of the maxillary sinuses considerably changes a quantitative characteristics of microbe associations of the whole biotope. The change of quantitative indices of the association always results in disorders of qualitative characteristics of microbe associations. It is qualitative characteristics of microbial association that enables to detect a leading causative agent of an inflammatory process, to select an appropriate antimicrobial medicine and to choose therapeutic tactics.

Among the most numerous associations consisting of three kinds of pathogenic and opportunistic autochtonous facultative and allochtonous microorganisms the most frequent associations are those containing the following agents: M.catarrhalis, S.aureus and Bacteroides spp.; Prevotella spp., S.viridans and S.salivarius; M.catarrhalis, Prevotella spp. and S.epidermitis; H.influenzae, Prevotella spp. and S.epidermitis. Other associations consisting of three kinds are found in 42% of patients.

The associations consisting of four kinds are found in 17(34%) patients, among which 2 patients had the associations containing S.pneumoniae, M.catarrhalis, S.pyogenes, Fusobacterium spp. In other 2 patients the associations were formed with S.pneumoniae, E. coli, S.aureus and Candida spp., in 2 more patients – with S.pneumoniae, E.coli Hly^+, S.viridans and Candida spp. Other associations presented in Table 3 consisting of four kinds were found in one patient.

In the content of maxillary sinuses of patients with maxillary sinusitis associated with type I diabetes mellitus (DM) 175 strains of different kinds of microorganisms were isolated and identified, belonging to 24 various taxonomic groups which form different by their qualitative content microbial associations in the biotope consisting of three different kinds in 58% of patients, consisting of four kinds – in 34,0% and five various taxons – in 8,0% of patients.

Patients with chronic maxillary sinusitis associated with type I DM demonstrate a considerable decrease of the population level and analytical coefficients of autochtonous obligate bacteria.

According to the population level of every biotope associate it became possible to identify leading causative agents of purulent-inflammatory process. The taxon having the largest population level and no less than 5,0 lg/CFU/ml, was considered to be a leading causative agent among other biotope associates.

Key words: sinusitis, dysbiosis, microorganism associations, diabetes mellitus.

На сьогоднішній день недостатньо вивченим залишається питання про порушення біоценозу верхніх дихальних шляхів у хворих на хронічний гнійний верхньощелепний синусит при цукровому діабеті 1 типу. У пацієнтів з хронічними запальними захворюваннями верхніх дихальних шляхів часто спостерігаються мікроекологічні порушення нормального біоценозу слизової оболонки верхніх дихальних шляхів [2, 3]. Безпосередньою причиною розвитку гнійного синуситу є контамінація, персистенція і колонізація слизової оболонки навколоносових пазух патогенною та умовно патогенною мікрофлорою на високому популяційному рівні [12]. Колонізація аутохтонної мікрофлори призводить до активації умовно патогенних мікроорганізмів, що погіршує перебіг основного захворювання [3].

В переважній більшості захворювання викликається асоціацією декількох мікроорганізмів [14]. При цьому важливе значення в розвитку хронічного гнійного синуситу мають взаємовідношення між асоціантами даного біотопу [11, 13]. Вплив асоціантів в умовах міжмікробних відносин в асоціації може бути індиферентним, інгібіруючим, стимулюючим та інвертуючим [1]. При реалізації запального процесу у верхніх дихальних шляхах відбувається конкурентна боротьба мікроорганізмів за колонізацію екологічної ніші [6]. Колонізації звільненої екологічної ніші золотистим стафілококом у випадках хронічного гнійного запалення навколоносових пазух сприяють мікроорганізми-синергісти, якими частіше є кишкова паличка і дріжджоподібні гриби роду Candida [6]. В значній мірі явища дисбіозу посилюються під впливом антибіотиків, які є основою етіотропного лікування при гострих та загостреннях хронічних гнійних процесів, особливо у пацієнтів з цукровим діабетом 1 типу.

Серед багатьох побічних проблем, які негативно впливають на економіку всіх без винятку країн і здоров'я всього людства, цукровий діабет посідає одне з перших місць. Це одне з найпоширеніших захворювань на Землі. Захворюваність на цукровий діабет постійно зростає, і кожні 15-20 років кількість хворих подвоюється. Тому вивчення якісного та кількісного складу та кількісної характеристики асоціацій мікробіоти навколоносових пазух у хворих на хронічний гнійний верхньощелепний синусит, асоційований з цукровим діабетом 1 типу, є необхідним не тільки для діагностики, а й для розробки ефективної індивідуальної лікувальної тактики.

Мета дослідження: Вивчити якісний та кількісний склад мікробіоти вмісту верхньощелепних пазух та роль асоціацій мікроорганізмів у розвитку і перебігу хронічного гнійного гайморит у пацієнтів з цукровим діабетом 1 типу.

Матеріали і методи дослідження

Проведено мікробіологічне обстеження 87 зразків вмісту порожнини верхньощелепних пазух. Основну групу складали 50 хворих на хронічний гнійний верхньощелепний синусит з цукровим діабетом (ЦД) 1 типу віком від 20 до 67 років (10 пацієнтів віком 20-31 рік, 14 – 31-45 років і 26 – віком 45-67 років). У 39 хворих основної групи ендокринологи визначили перебіг цукрового діабету 1 типу середньої тяжкості, у 11 – тяжкий ступінь перебігу. Контрольну групу становили 37 пацієнтів з хронічним гнійним верхньощелепним гайморитом такого ж віку без ЦД 1 типу.

В усіх обстежуваних вміст порожнини пазух негайно піддавався мікробіологічному дослідженню, яке направлене на виділення та ідентифікацію облігатних анаеробних, факультативних анаеробних та аеробних аутохтонних, аллохтонних, грампозитивних і грамнегативних бактерій та дріжджоподібних грибів роду Candida. Виділення та ідентифікація життєздатних (колоніє-утворюючих) мікроорганізмів проводились загальновідомими методами визначення відповідних до кожного мікроба характеристик: морфології, тинкторіальних особливостей, характеру росту на твердих і рідких середовищах, процесів обміну (біохімічні властивості), антигенної структури та чутливості до антибіотичних препаратів [5].

Для росту і розмноження мікроорганізмів використовувались оптимальні для кожного виду поживні середовища, на яких культивувались посіви. Облігатні анаеробні бактерії вирощували в стаціонарному анаеростаті «CO2-incubator, T-125» фірми ASSAB Medsin (Sweden) протягом 5-7 днів,

інколи 14 діб. Факультативні анаеробні та аеробні мікроорганізми вирощувались у термостаті протягом 1-2 діб [10, 15].

Виділення і культивування бактерій роду Bifidobacterium виконувалось на середовищі «Бактофок-МП» (НПЦ «Гидробиоз», Москва, РФ). Для пригнічення росту асоціативних ентеробактерій у середовище додавався азид натрію з розрахунку: 100 мг/л. Бактерії роду Lactobacillus культивувались на середовищі А.А. Ленцнера.

Анаеробні бактерії роду Bacteroides, Prevotella, Peptococcus, Peptostreptococcus та ін. досліджувались на середовищі КАБ (кров'яний агар для бактероїдів) та Цейслера. Ідентифікація облігатних анаеробних бактерій здійснювалась за методами, що розроблені у Державній установі «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України» (м. Харків). Стафілококи вирощувались на молочно-жовтковому середовищі за Чистовичем. Ідентифікацію ентерококів ми проводили за здатністю росту при температурі 10°С і 45°С та у 10% і 40% жовчі, а також за ферментацією лактози, маніту, арабінози, інуліну та гліцерину.

Дріжджоподібні гриби роду Candida вирощувались на твердому середовищі Сабуро. Ентеробактерії (Escherichia, Klebsiella) – на диференційно-діагностичних середовищах Ендо, Лєвіна, Плоскірєва. Ідентифікацію цих культур здійснено з урахуванням 30 основних біохімічних тестів, рекомендованих міжнародним підкомітетом, використовуючи системи API-20E. Ентеропатогенні ешерихії визначались за здатністю продукувати гемолізини.

Характеристика мікроекологічного стану мікрофлори порожнин верхньощелепних пазух оцінювалась за індексом постійності, частотою зустрічання, коефіцієнтами кількісного домінування і значущості таксону в угрупуванні (асоціації) мікроорганізмів [9] .

Враховуючи те, що число бактерій та дріжджоподібних грибів роду Candida на одиницю об'єму (мл) патологічного матеріалу сягає мільйонів та мільярдів мікробних клітин, для зручності викладення матеріалу і статистичного опрацювання результатів застосовувались десяткові логарифми кількісного показника мікроорганізмів (lg КУО\мл – колонієутворюючих одиниць).

Одержані результати клініко-мікробіологічних досліджень проаналізовані з використанням методів варіаційної статистики за допомогою середньої арифметичної (M) та похибки середньої (± m). Достовірність відмінностей між середніми величинами вибірок проводили із застосуванням t-критерію Стьюдента. Різниці середніх і відносних частот вважались значущими при рівні достовірної ймовірності (P) менше 0,05. Статистичне опрацювання проводили за допомогою програмного продукту Statistica for Windows 5.0 (Statfort, USA) [7].

Результати дослідження та їх обговорення

Для розкриття механізмів контамінації і колонізації вмісту верхньощелепних пазух у хворих на хронічний верхньощелепний синусит з цукровим діабетом 1 типу використано екологічний метод, що дозволив визначити характеристики співіснування представників мікроекологічної системи «макроорганізм (хазяїн) – мікробіота» і прослідкувати спрямованість змін видового складу та популяційного рівня мікробіоти верхніх дихальних шляхів при дестабілізації мікробіоценозу, обумовленій гнійно-запальним процесом у біотопі (первинний фактор впливу на мікробіоту) та перебігом цукрового діабету 1 типу (вторинний фактор впливу на мікробіоту).

Типологію мікробіотних домінант досліджено на підставі визначення індексу постійності. При цьому домінуючими (головна мікробіота) видами вважаються мікроорганізми з індексами постійності від 50% і вище (100%). До додаткової мікробіоти віднесено мікроорганізми, що мали індекс постійності 25-49%, випадковими ж вважались ті види або групи мікроорганізмів, індекс постійності яких був меншим за 25%.

Першим етапом мікробіологічних досліджень вмісту верхньощелепних пазух було визначення видового складу та кількісної характеристики мікробіоти біотопу.

Результати вивчення видового складу та кількісної характеристики асоціантів мі-

кробіоти вмісту верхньощелепних пазух у хворих на хронічний гнійний верхньощелепний синуїт, асоційований з цукровим діабетом 1 типу, наведено в табл. 1 та 2.

Таблиця 1

Видовий склад мікробіоти гнійного вмісту верхньощелепних пазух у хворих на хронічний гнійний гайморит, асоційований з цукровим діабетом 1 типу

Мікроорганізми	Основна група (n=50)			Контрольна група (хворі на хрон. гнійний гайморит) (n=37)		
	виділено штамів	індекс постійності	частота зустрічання	виділено штамів	індекс постійності	частота зустрічання
Облігатні анаеробні бактерії						
Біфідобактерії	0	-	-	2	5,41	0,018
Лактобацили	1	2,00*	0,006	7	18,92	0,063
Бактероїди	20	40,00	0,114	6	16,22	0,054
Превотели	18	36,00*	0,103	4	10,81	0,036
Фузобактерії	10	20,00*	0,057	2	5,41	0,018
Факультативні анаеробні та аеробні мікроорганізми						
S.pneumoniae	18	36,00*	0,133	8	21,62	0,072
S. pyogenes	11	22,00	0,063	4	10,81	0,036
S. salivarius	3	6,00	0,017	5	13,51	0,045
S. viridans	10	20,00	0,057	7	18,92	0,063
S. sanguis	2	4,00*	0,011	5	13,51	0,045
S. mitis	3	6,00	0,017	5	13,51	0,045
S. mutans	0	-	-	7	18,92	0,063
S. aureus	10	20,00	0,057	8	21,62	0,072
S. epidermiditis	12	24,00	0,060	10	27,03	0,090
M. luteus	4	8,00	0,023	5	13,51	0,045
L. lactis	0	-	-	1	2,70	0,009
Corynebacterium spp.	1	2,00	0,006	0	-	-
Neiseria spp.	1	2,00	0,006	0	-	-
H. influenzae	13	26,00	0,074	6	16,22	0,054
M. catarhalis	13	26,00	0,074	9	24,32	0,081
E. coli	7	14,00	0,040	3	8,11	0,027
E. coli Hly+	2	4,00	0,011	0	-	-
Klebsiella oxytoca	1	2,00	0,006	0	-	-
Enterobacter freundii	1	2,00	0,006	0	-	-
Candida spp.	14	28,00	0,080	7	18,92	0,063

Примітка: * - ступінь достовірності $P < 0,05$.

Таблиця 2

Кількісна характеристика асоціантів мікробіоти верхньощелепних пазух у пацієнтів з хронічним верхньощелепним синуситом та цукровим діабетом 1 типу

Показники	Основна група (хворі на хронічний гнійний гайморит з ЦД 1 типу) (n=50)			Хворі на хронічний гнійний гайморит без супутньої патології (n=47)		
	Асоціації, що складаються з:					
	3 видів	4 видів	5 видів	3 видів	4 видів	5 видів
Кількість хворих	29	17	4*	14	19	14
Абсолютна кількість хворих	87	68	20*	42	76	70
Відносна кількість хворих (%)	58,00*	34,00	8,00*	29,79	40,42	29,79

Примітка: * - достовірність відмінності з показниками контрольної групи (P<0,05).

Доведено, що хронічний верхньощелепний синусит у пацієнтів з ЦД 1 типу порушує мікробні асоціації. У них зростає кількість асоціацій, що складаються з 3 видів у 2,7 рази, але зменшується на 11,76% кількість асоціацій, що складаються з 4 видів мікроорганізмів, а кількість асоціацій, що складаються з 5 видів зменшується у 3,5 рази. На основі даних табл.1 і 2 можна пояснити зменшення у хворих асоціацій, що складаються з 4 і 5 видів мікроорганізмів, елімінацію аутохтонних облігатних та аутохтонних факультативних мікроорганізмів у більшості пацієнтів. При цьому значно зросла кількість патогенних та умовно патогенних аутохтонних факультативних та алохтонних для біотопу мікроорганізмів. Процес елімінації та контамінації мікроорганізмів верхньощелепних пазух змінює кількісну характеристику мікробних асоціацій усього біотопу, про що мова йде вище. Зміна кількісних показників асоціації завжди призводить до порушень якісних характеристик мікробних асоціацій. Саме якісна характеристика мікробних асоціацій дає можливість визначити провідного збудника запального процесу, правильно підібрати антимікробний препарат та вибрати тактику лікування. Тому нами проведено дослідження, направлені на визначення якісної характеристики мікробних асоціацій, що виявляються у верхньощелепних пазухах хворих на верхньощелепний синусит, поєднаний з ЦД 1 типу. Результати досліджень наведено в табл. 3.

Серед найбільш численних асоціацій, що складаються з 3 видів патогенних та умовно патогенних аутохтонних факультативних та алохтонних представників, частіше зустрічаються асоціації, що складаються з наступних представників: M. catarrhalis, S. aureus і Bacteroides spp.; Prevotella spp., S. viridans і S. salivarius; M. catarrhalis, Prevotella spp. і S. epidermitis; H. influenzae, Prevotella spp. і S. epidermitis. Інші асоціації, що складаються з 3 видів, зустрічаються у 42% хворих.

Асоціації, що складаються із 4 видів, виявлено у 17 (34%) хворих, серед яких у 2 пацієнтів асоціації складались з S. pneumoniae, M. catarrhalis, S. pyogenes, Fusobacterium spp. В інших 2 хворих асоціації сформовані з S. pneumoniae, E. coli, S.aureus і Candida spp., ще у 2 хворих – з S. pneumoniae, E. coli Hly^+ , S. viridans і Candida spp. Інші асоціації з 4 видів мікроорганізмів, наведені в табл. 4, зустрічалися лише в одного хворого.

У хворих на хронічний гнійний верхньощелепний синусит, поєднаний з ЦД 1 типу, в яких відмічався тяжкий перебіг, були наявними асоціації, що складалися із S. pneumoniae, M. catarrhalis, Candida spp. і S. epidermitis; S. pneumoniae, M. catarrhalis, S. pyogenes, S. epidermitis; Bacteroides spp., H. influenzae, S. pyogenes, Enterobacter spp.; Bacteroides spp., H. influenzae, S. pyogenes, Candida spp. Перераховане вище може свідчити про вплив не тільки етіологічного агента, а також і певної асоціації мікроорганізмів на тяжкість перебігу верхньощелепного синуситу, поєднаного із ЦД 1 типу.

Таблиця 3

Якісна характеристика асоціацій мікроорганізмів верхньощелепних пазух
у хворих на хронічний гнійний гайморит, асоційований з цукровим діабетом 1 типу

Мікроорганізми, що формують асоціацію	Абсолютна кількість асоціацій	Відносна кількість асоціацій
Асоціації, що складаються із 3 видів		
Bacteroides spp., M.catarrhalis, S.aureus	2	6,90
Prevotella spp., S. salivarius, S.viridans	2	6,90
Prevotella spp., H.influenzae, S.epidermiditis	2	6,90
Prevotella spp., M.catarrhalis, S.epidermiditis	2	6,90
Bacteroides spp., S.pneumoniae, Lactobaccillus	1	3,45
Bacteroides spp., S.pneumoniae, S.mitis	1	3,45
Bacteroides spp., S. pyogenes, S.mitis	1	3,45
Bacteroides spp., H.influenzae, S.mitis	1	3,45
Bacteroides spp., H.influenzae, M.luteus	1	3,45
Bacteroides spp., M.catarrhalis, M.luteus	1	3,45
Bacteroides spp., Fusobacterium spp., S.epidermiditis	1	3,45
Bacteroides spp., S. salivarius, S.epidermiditis	1	3,45
Bacteroides spp., S.sanguis, S.epidermiditis	1	3,45
Bacteroides spp., M.catarrhalis, S.epidermiditis	1	3,45
Bacteroides spp., M.catarrhalis, S.aureus	1	3,45
Bacteroides spp., H.influenzae, Candida spp.	1	3,45
Bacteroides spp., Fusobacterium spp., Candida spp.	1	3,45
Prevotella spp., S.sanguis, M.luteus	1	3,45
Prevotella spp., S.aureus, Corynebacterium spp.	1	3,45
Prevotella spp., H.influenzae, Neisseria spp.	1	3,45
Prevotella spp., M.catarrhalis, S.viridans	1	3,45
Prevotella spp., M.catarrhalis, S.aureus	1	3,45
Prevotella spp., Fusobacterium spp., Candida spp.	1	3,45
Prevotella spp., H.influenzae, M.luteus	1	3,45
Prevotella spp., E.coli, M.luteus	1	3,45
Всього:	**29**	**100,0**
Асоціації, що складаються з 4 видів		
S. pneumoniae, M. catarrhalis, S. pyogenes, Fusobacterium spp.	2	11,76
S. pneumoniae, E. coli, S. aureus, Candida spp.	2	11,76
S. pneumoniae, E.coli Hly+, S. viridans, Candida spp.	2	11,76
S. pneumoniae, M. catarrhalis, S. epidermiditis, Candida spp.	1	5,88
S. pneumoniae, M. catarrhalis, S.pyogenes, S.epidermiditis	1	5,88
S. pneumoniae, E. coli, S. epidermiditis, Candida spp.	1	5,88
S. pneumoniae, E. coli, S. epidermiditis, Fusobacterium spp.	1	5,88
S. pneumoniae, E. coli, S. pyogenes, Candida spp.	1	5,88
S. pneumoniae, E. coli, S.viridans, Candida spp.	1	5,88
Bacteroides spp., H. influenzae, Enterobacter spp., S. pyogenes	1	5,88
Bacteroides spp., H. influenzae, Candida spp., S. pyogenes	1	5,88
Bacteroides spp., H. influenzae, Candida spp., S.viridans	1	5,88
Prevotella spp., H. influenzae, Fusobacterium spp., S.pyogenes	1	5,88
Prevotella spp., H. influenzae, Candida spp., S. viridans	1	5,88
Всього:	**17**	**100,0**

Продовження табл. 3

Асоціації, що складаються з 5 видів		
S. pneumoniae, Bacteroides spp., Fusobacterium spp., S. viridans	1	25,0
S. pneumoniae, Prevotella spp., Fusobacterium spp., S. pyogenes, S. aureus	1	25,0
S. pneumoniae, Bacteroides spp., S. pyogenes, S. viridans, S. aureus	1	25,0
S. pneumoniae, Prevotella spp., Fusobacterium spp., S. aureus, Klebsiella spp.	1	25,0
Всього:	**4**	**100,0**

У хворих на верхньощелепний синусит, поєднаний з тяжким перебігом ЦД 1 типу, були виявлені асоціації мікроорганізмів, що складалися із 5 видів (див. табл. 3). Їхній склад був різним, але у всіх був виділений та ідентифікований збудник S. pneumoniae у високому популяційному рівні, умовно патогенні облігатні анаеробні бактерії роду Bacteroides і Prevotella, Fusobacterium, стрептококи і золотистий стафілокок.

Таким чином, у вмісті верхньощелепних пазух хворих на верхньощелепний синусит, поєднаний з ЦД 1 типу, виділено та ідентифіковано 175 штамів різних видів мікроорганізмів, що відносяться до 24 різних таксономічних груп, які у біотопі формують різні за якісним складом мікробні асоціації, що складаються із 3 різних видів у 58% хворих, із 4 – у 34,0% та з 5 різних таксонів – у 8,0% хворих.

Характерною особливістю видового складу мікробіоти верхньощелепних пазух є елімінація з біотопу облігатних аутохтонних бактерій та контамінація біотопу патогенними та умовно патогенними аутохтонними факультативними та алохтонними мікроорганізмами. Роль кожного таксону у мікробіоценозі визначається його популяційним рівнем. Результат дослідження кількісного складу мікробіоти вмісту верхньощелепних пазух у хворих на верхньощелепний синусит, поєднаний з ЦД 1 типу, наведено у табл. 4.

У практично здорових людей за популяційним рівнем, коефіцієнтом кількісного домінування та коефіцієнтом значущості основу мікробіоти вмісту верхньощелепних пазух складають стрептококи (S.salivarius, S.mitis, S.sanguis, M.luteus, L.lactis), лактобацили, епідермальний стафілокок. Інші мікроорганізми мають низький популяційний рівень, ККД і КЗ, а також індекс постійності та індекс домінування Бергера-Паркера і їх роль у мікробіоценозі є незначною або ж мінімальною.

У хворих на хронічний верхньощелепний синусит, поєднаний з ЦД 1 типу, відбувається суттєве зниження популяційного рівня та аналітичних коефіцієнтів у аутохтонних облігатних бактерій. Так, популяційний рівень S. salivarius знижується на 92,91%, S. sanguis – на 86,17%, S.mitis – на 45,33%, M. luteus – на 25, 35%. При цьому елімінують з біотопу S. mutans і L. lactis, біфідобактерії, лактобацили та інші мікроорганізми. Разом з тим зростає популяційний рівень умовно патогенних бактерій роду Bacteroides на 34,31%, Prevotella – на 84,59%, Fusobacterium – на 69,33%, S. pyogenes – на 50,50%, S. aureus – на 9,83%, H. influenzae – на 55,71%, M. catarrhalis – на 74,01%, Candida spp. – на 25,63%.

За коефіцієнтом кількісного домінування і коефіцієнтом значущості визначається роль певного виду або групи мікроорганізмів у формуванні та функціонуванні мікробіоценозу в біотопі. Що стосується вмісту верхньощелепних пазух хворих на хронічний верхньощелепний синусит, поєднаний з ЦД 1 типу, то в ньому суттєво знижується роль лактобацил – у 52,31 разів, S. salivarius – у 18,56 разів, S. sanguis – в 11,93 рази, S. mitis – у 8,28 разів, M. luteus – у 2,68 рази, S. epidermitis – на 40,0%, Corynebacterium spp. – у 6,82 разів, Neisseria – у 4,28 рази. На цьому фоні зростає роль у мікробіоценозі патогенних та умовно патогенних бактерій роду Bacteroides – у 2,10 рази, Prevotella – 6,37 рази, Fusobacterium – у 15,78 рази, S. pyogenes – у 15,46 разів, S.

viridans – у 2,49 рази, S.aureus – на 83,55%, H. influenzae – у 9,48 разів, M. catarrhalis – у 7,06 рази, Candida spp. – у 4,12 рази. Крім таких змін, з вмісту верхньощелепних пазух елімінувались облігатні бактерії роду Bifidobacterium і Lactobaccilus. Фізіологічна значимість цих бактерій для організму людини та їх виняткове значення у функціонуванні мікробної екосистеми доведене численними дослідженнями як у вітчизняній, так і у зарубіжній літературі і не викликає сумнівів. Відомо, що зниження їхнього популяційного рівня в біотопі або ж їх елімінація порушують процеси засвоєння заліза, вітаміну Д, активність ряду ферментів і біологічних речовин, призводячи до розвитку гіпопротеїнемії, гіповітамінозу і, можливо, бактеріемії. Дефіцит цих бактерій викликає зниження колонізаційної резистентності та підвищення здатності умовно патогенних мікроорганізмів заселяти такі біотопи – це повністю підтверджують одержані і викладені вище результати наших досліджень.

Таблиця 4

Популяційний рівень мікробіоти гнійного вмісту верхньощелепних пазух у хворих на хронічний верхньощелепний синусит, поєднаний з цукровим діабетом 1 типу

Мікроорганізми	Основна група (n=50)			Контрольна група (хворі на хронічний верхньощелепний синусит) (n=37)		
	популяційний рівень (lgКУО/мл) M±m	коефіцієнт кількісного домінування	коефіцієнт значущості	популяційний рівень (lgКУО/мл) M±m	коефіцієнт кількісного домінування	коефіцієнт значущості
Облігатні анаеробні бактерії						
Біфідобактерії	0	-	-	4,50±0,11	5,24	0,017
Лактобацили	4,00	1,65	0,005	4,69±0,08	19,08	0,064
Бактероїди	6,42±0,21*	53,06	0,151	5,75±0,18	20,06	0,067
Превотели	5,87±0,18*	43,66	0,125	5,18±0,17	12,04	0,040
Фузобактерії	5,08±0,19*	20,99	0,060	4,57±0,17	5,32	0,018
Факультативні анаеробні та аеробні мікроорганізми						
S. pneumoniae	6,70±0,26*	49,83	0,143	5,78±0,21	26,87	0,089
S. pyogenes	6,02±0,18*	27,36	0.078	5,23±0,22	12,16	0.040
S. salivarius	3,81±0,12*	4,72	0,013	4,72±0,13	13,71	0,046
S.viridans	4,29±0,16	17,73	0,051	4,31±0,15	17,54	0,058
S.sanguis	3,11±0,18*	2,57	0,008	4,08±0,11	11,85	0,039
S.mitis	3,64±0,09*	4,51	0,013	3,50±0,10	10,17	0,034
S.mutans	0	-	-	3,36±0,04	13,67	0,046
S. aureus	5,70±0,17*	23,55	0,082	5,18±0,17	24,08	0,080
S.epidermidis	4,87±0,13*	24,15	0,069	5,33±0,18	30,98	0,103
M. luteus	4,43±0,21	8,15	0,023	4,39±0,19	12,75	0,042
L.lactis	0	-	-	4,00	2,32	0,008
Corynebacterium spp.	3,60	1,49	0,004	0	-	-
Neiseria spp.	3,78	1,56	0,005	0	-	-
H.influenzae	5,45±0,17	29,28	0,083	5,22±0,18	18,21	0,061
M. catharralis	5,69±0,19	30,57	0,087	5,71±0,21	29,86	0,099
E.coli	4,33±0,14	12,52	0,036	4,01±0,17	6,99	0,023
E.coli Hly+	5,69±0,09	4,63	0,013	0	-	-
Klebsiella oxytoxa	4,30	2,02	0,006	0	-	-
Enterobacter freundii	4,60	1,90	0,006	0	-	-
Candida spp.	3,97±0,18*	22,97	0,006	3,43±0,18	13,96	0,046

Примітка: * - достовірність відмінності з показниками контрольної групи (P< 0,05).

Крім того, у хворих на хронічний верхньощелепний синуїт, поєднаний з ЦД 1 типу, крім зниження ролі біфідобактерій і лактобактерій за коефіцієнтами кількісного домінування та значущості, знижується роль у мікробіоценозі біотопу S. mutans і L. lactis, які також елімінують з біотопу.

За популяційним рівнем кожного асоціанта біотопу вдалося визначити провідних збудників гнійно-запального процесу. Той таксон, в якого спостерігався найбільший популяційний рівень, але не менший 5,0 lg/КУО/мл, серед асоціантів біотопу нами був віднесений до провідного збудника. Результати визначення провідних збудників запального процесу наведені у табл. 5.

За індексом постійності та домінування Бергера-Паркера домінуючими збудниками хронічного запального процесу у верхньощелепних пазухах є S. pneumoniae, H. influenzae, M. catarrhalis. Інші бактерії (S. pyogenes, S. aureus, E. coli Hly^+, B. fragilis) являються додатковими або ж випадковими (E. coli Hly^+, B. fragilis) збудниками. Всі провідні збудники персистують у біотопі в асоціації. Асоціанти, в залежності від їх ролі у нормобіоценозі, можуть інгібірувати патогенетичну активність провідного збудника або ж, навпаки, активувати його патогенетичну роль, що необхідно враховувати при виборі лікувальної тактики.

Таблиця 5

Провідні збудники гнійного процесу у верхньощелепних пазухах пацієнтів з цукровим діабетом 1 типу

Мікроорганізми	Обстежено хворих	Виділено провідних збудників	Індекс постійності	Індекс домінування Бергера-Паркера
S. pneumoniae	50	16	32,0	0,32
S. pyogenes	50	5	10,00	0,10
S. aureus	50	3	6,00	0,06
H .influenzae	50	13	26,00	0,26
M. catarrhalis	50	11	22,00	0,22
E. coli Hly+	50	1	2,00	0,02
B. fragilis	50	1	2,00	0,02

Висновки

1. Хронічний гнійний верхньощелепний синусит у пацієнтів з ЦД 1 типу порушує мікробні асоціації. У них зростає кількість асоціацій, що складаються з 3 видів у 2,7 рази, але зменшується на 11,76% кількість асоціацій, що складаються з 4 видів мікроорганізмів. Кількість асоціацій, що складаються з 5 видів, у хворих зменшується в 3,5 рази.

2. У вмісті верхньощелепних пазух при хронічному гнійному верхньощелепному синуситі, поєднаному з ЦД 1 типу, виділено та ідентифіковано 175 штамів різних видів мікроорганізмів, що відносяться до 24 різних таксономічних груп, які у біотопі формують різні за якісним складом мікробні асоціації, що складаються з 3 різних видів у 58% хворих, з 4 видів – у 34,0% та з 5 різних таксонів – у 8,0% хворих.

3. Серед найбільш численних асоціацій, що складаються із 3-х видів патогенних та умовно патогенних аутохтонних факультативних мікроорганізмів, частіше зустрічаються асоціації наступних представників: M. catarrhalis, S. aureus і Bacteroides spp.; Prevotella spp., S. viridans і S. salivarius; M. catarrhalis, Prevotella spp. і S. epidermitis; H. influenzae, Prevotella spp. і S. epidermitis.

4. Асоціації з 4 видів мікроорганізмів виявлено у 34% пацієнтів, і вони складаються з S. pneumoniae, M. catarrhalis, S. pyogenes, Fusobacterium spp; S. pneumoniae, E. coli, S. aureus і Candida spp.; S. pneumoniae, E. coli Hly^+, S. viridans і Candida spp.

5. У хворих на хронічний гнійний верхньощелепний синуїт, поєднаний з ЦД 1 типу з тяжким перебігом, були наявними асоціації, що складалися із S. pneumoniae, M. catarrhalis, Candida spp. і S. epidermitis; S. pneumoniae, M. catarrhalis, S. pyogenes, S. epidermitis; Bacteroides spp., H. influenzae, S. pyogenes, Enterobacter spp.; Bacteroides spp., H. influenzae, S. pyogenes, Candida spp. Зазначене вище може свідчити про вплив не тільки етіологічного агента, а також і певної асоціації мікроорганізмів на тяжкість перебігу верхньощелепного синуситу, поєднаного із ЦД 1 типу.

6. У хворих на хронічний гнійний верхньощелепний синуїт, поєднаний з тяжким перебігом ЦД 1 типу, були виявлені асоціації мікроорганізмів, що складалися із 5 видів. Їхній склад був різним, але у всіх був виділений та ідентифікований збудник S. pneumoniae у високому популяційному рівні, умовно патогенні облігатні анаеробні бактерії роду Bacteroides і Prevotella, Fusobacterium, стрептококи і золотистий стафілокок.

7. За індексом постійності та домінування Бергера-Паркера домінуючими збудниками хронічного запального процесу у верхньощелепних пазухах є S.pneumoniae, H.influenzae, M.catarrhalis. Інші бактерії (S.pyogenes, S.aureus, E.coli Hly^+, B.fragilis) являються додатковими або ж випадковими (E.coli Hly^+, B.fragilis) збудниками. Всі провідні збудники персистують у біотопі в асоціації. Асоціанти, в залежності від їх ролі у нормобіоценозі, можуть інгібірувати патогенетичну активність провідного збудника або ж, навпаки, активувати його патогенетичну роль, що необхідно враховувати при виборі лікувальної тактики.

Перспективи подальших досліджень.

Одержані результати та виявлені порушення мікробіоценозу слизової оболонки верхніх дихальних шляхів при хронічному гнійному гайморіті з цукровим діабетом 1 типу дозволять поглибити уявлення про патогенетичне значення асоціацій мікроорганізмів та дисбіозу слизової оболонки у формуванні хронічного гнійного запалення у верхньощелепних пазухах та розробити методи лікування хворих на хронічний гнійний синусит з ЦД 1 типу з використанням в комплексній терапії пробіотиків, зокрема «Симбітеру» [2-4].

Література

1. Бухарин А.В., Валышев А.В., Гильмутдинова Ф.Г., Черкасов С.В. Экология микроорганизмов человека. – Екатеринбург: УроРАН, 2006. – 546 с.
2. Заболотная Д.Д. Применение пробиотических препаратов при лечении пациентов с хроническими заболеваниями ЛОР-органов / Д.Д. Заболотная // Журнал вушних, носових і горлових хвороб. – 2005. – №3-с. – С.99.
3. Заболотна Д.Д. Клініко-експериментальне обґрунтування застосування пробіотиків в комплексній терапії хронічних неспецифічних запальних та алергічних захворювань верхніх дихальних шляхів: Автореф. дис… д.мед.н. – К., 2010. – 47 с.
4. Заболотный Д.И. Применение новых пробиотических препаратов при лечении хронических воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей / Д.И. Заболотный, Л.И. Волосевич, О.Г. Вольская, И.С. Зарицкая, Д.Д. Заболотная // Тези IX з'їзду оториноларингологів України. – К.: ІЦ «Медпроминфо», 2000. – С. 59.
5. Каспрук Н.М. Провідні збудники негоспітальної пневмонії та їх імуносупресивні властивості / Н.М. Каспрук, Л.І. Сидорчук, С.А. Левицька (та ін.). Буковинський медичний вісник. – 2013. – Т.17, №3(67). – С. 22-27.
6. Левицька С.А. Роль асоціацій мікроорганізмів у розвитку запального процесу в навколоносових пазухах у дітей. / С.А. Левицька // Буковинський медичний вісник. – 2013. – Т.17, №3(67), ч. 2. – С. 45-47.
7. Минцер О.П., Шатунов В.Б. и др. Методы обработки медицинской информации. – К.: Вища школа, 1991. – 271 с.
8. Сидорчук І.Й., Ляшук Р.П., Пашковська Н.В., Ляшук П.М., Маслянко В.А., Павлович Л.Б., та ін. Дисбіоз кишечнику в діабетології: 2-е видання. – Чернівці: медуніверситет. – 2007. – 120 с.
9. Сидорчук Л.І. Мікробіота порожнини товстої кишки у спленектомованих білих щурів / Л.І.Сидорчук // Хірургія Донбасу. – 2012. – №1. – С.39-46.

10. Bergey' Manual of Systemic Bacterology. 2-th ed. \ D.R. Boone, R.W. Gastenhdz, M. George (et.al), New York: Springer verlag, 2001. – 679 p.
11. Biofilms in chronic rhinosinusitis a review / Cohen M., Kofonow J., Nayak J.V. [et al.]. // Am. J. Rhinol. Allergy. – 2009. – Vol.23(3). – P. 255-260.
12. Brook I. Microbiology of sinusitis / I. Brook // Proc. Am. Thorac. Soc. – 2011. – Vol.8(1). – P.90-100.
13. Characterization of bacterial community diversity in chronic rhinosinusitis infections using novel culture-independent techniques / F.A. Stressmann, G.B. Rogers, S.W. Chan .[et al.] // Am. J. Rhinol. Allergy. – 2011. – Vol.25(4). – P. 133-140.
14. Identification of bacterial contaminants in sinus irrigation bottles from chronic rhinosinusitis patiets / S. Lewenza, L. Charron-Mazenod, J.J. Cho. [et al.] // J. Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2010. – Vol. 39(4). – P. 458-463.
15. Manuel of clinical microbiology / P.R. Murray, E. I. baron, I. H. Jorgersen (et. al). Washington: ASM Press – 2003. – 517 p.

References

1. Bukharin AV, Valyshev AV, Gilmutdinova FG, Cherkasov SV. Ecology of microorganisms in human. Ekaterinburg: UroRAN; 2006. 546 p. Russian.
2. Zabolotna DD. The use of probiotics in the treatment of patients with chronic diseases of upper respiratory tract. Zhurnal vushnyh, nosovyh i gorlovyh hvorob. 2005;(3-c):99. Russian.
3. Zabolotna DD. Clinical and experimental justification for the use of probiotics in the treatment of chronic nonspecific inflammatory and allergic diseases of the upper respiratory tract [dissertation]. Kiev; 2010. 47 p. Ukrainian.
4. Zabolotny DI, Volosevich LI, Volsky OG, Zaritskaya IS, Zabolotna DD. Application of new probiotic preparations for the treatment of chronic inflammatory diseases of the upper respiratory tract. Proceedings of The IX Congress of Otorhinolaringologists of Ukraine. Kiev: ITS "Medprominfo"; 2000. P. 59. Russian.
5. Kaspruk NM, Sydorchuk LI, Levytska SA. Community-acquired pneumonia leading pathogens and their immunosuppressive properties. Bukovina Medical Journal. 2013;17(3):22-7. Ukrainian.
6. Levyts'ka SA The role of associations of microorganisms in the development of inflammation in the paranasal sinuses in children. Bukovina Medical Journal. 2013;17(3):45-7. Ukrainian.
7. Mintzer OP, Shatunov VB. Methods of medical information management. Kiev; Vishcha school; 1991. 271 p. Russian.
8. Sydorchuk IY, Lyashuk RP, Pashkovska NV, Lyashuk PM, Maslyanko VA, Pavlovych LB. Intestinal dysbiosis in diabetology, 2nd Edition. Chernivtsi: Meduniversytet; 2007. 120 p. Ukrainian.
9. Sydorchuk LI. Colon microbiota in splenectomee rats. Surgery of Donbass. 2012;(1):39-46. Ukrainian.
10. Bergey's Manual of Systemic Bacterology. 2-th ed. Garrity G, editor-in-chief. New York: Springer-Verlag; 2001. 679 p.
11. Cohen M, Kofonow J, Nayak JV, Palmer JN, Chiu AG, Leid JG, Cohen NA. Biofilms in chronic rhinosinusitis a review. Am J Rhinol Allergy. 2009;23(3):255-60.
12. Brook I. Microbiology of sinusitis. Proc Am Thorac Soc. 2011;8(1):90-100.
13. Stressmann FA, Rogers GB, Chan SW, Howarth PH, Harries PG, Bruce KD, Salib RJ. Characterization of bacterial community diversity in chronic rhinosinusitis infections using novel culture – independent techniques. Am J Rhinol Allergy. 2011;25(4):133-40.
14. Lewenza S, Charron-Mazenod L, Cho JJ, Mechor B. Identification of bacterial contaminants in sinus irrigation bottles from chronic rhinosinusitis patients. J Otolaryngol Head Neck Surg. 2010 Aug;39(4):458-63.
15. Manual of clinical microbiology. Murray P, editor. Washington: ASM Press; 2003. 517 p.

Поступила в редакцию 01.04.16.

© О.О. Мазур, 2016