

ЗМІНИ СТРУКТУРИ МІКРОБІОЦЕНОЗУ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ У ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА ГРВІ

Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського (м. Тернопіль)

Робота є фрагментом комплексної міжкафедральної теми «Формування високоефективних технологій, оптимізація системи імунного захисту організму людини до грипу та ГРВІ» № держреєстрації, шифр теми 0110U001824.

Вступ. Інфекційні захворювання протягом багатьох століть були і залишаються найбільш небезпечними для людського організму із-за їх здатності втягнути в процес велику кількість здорових людей за короткий період [11, 19]. Щорічно практично кожен шостий житель України буває втягнутий в епідемічний процес, причому діти хворіють на гострі респіраторні вірусні інфекції (ГРВІ) та грип в 4 рази частіше, ніж дорослі [1, 18].

Проведеними дослідженнями ІПАГ АМН України встановлено, що у 42% практично здорових дітей дошкільного та молодшого шкільного віку спостерігаються різнопланові порушення імунного статусу функціонального характеру, а 28% дітей та підлітків відносять до групи часто хворюючих дітей [1]. Без сумніву, підвищена сприйнятливості до інфекцій дихальних шляхів має тісний зв'язок з різними функціональними механізмами [23, 27].

Відомо, що загальнотоксична дія вірусу грипу пригнічує як клітинну, так і гуморальну ланки імунітету, що, поряд з усуненням захисної функції поверхневого епітелію і депресією місцевих факторів імунного захисту, сприяє активізації бактеріальної інфекції, яка сапрофітує в порожнині рота та дихальних шляхах [4, 5, 9]. Разом з тим, при багатьох інфекціях, зокрема при грипі, ГРЗ, ентеровірусних, ротавірусних інфекціях важливе значення має створення місцевого імунітету слизових оболонок дихальних шляхів та шлунково-кишкового тракту [6, 8, 15, 17]. Відомо, що імунна функція слизової оболонки порожнини рота (СОПР) полягає в забезпеченні місцевого імунітету ротової порожнини, хоч вона, очевидно, виражена слабше, ніж в каудальніше розміщених ділянках травного тракту, проте саме в порожнині рота мікробні антигени та антигени, що містяться в їжі, воді, повітрі, вперше завдають дію на тканини організму [2, 9, 10]. Слизова порожнини рота містить клітинні елементи, які приймають участь як в афферентному, так і в ефферентному ланках імунних реакцій.

Проте виникненню захворювання сприяють і чітко виражені вікові морфологічні особливості структури слизової оболонки порожнини рота: низька диференційовка сполучної тканини власне слизової оболонки, незначний вміст в епітелії глікогену та ДНК,

низька активність місцевого тканинного імунітету, висока проникливість гісто-гематичних бар'єрів, недостатня активність реакцій клітинного імунітету, ін. [3, 13, 17, 25]. У дітей раннього віку природня депресія призводить до різкого зниження всіх показників неспецифічної та специфічної імунологічної реактивності, зокрема активності лізоциму сироватки крові та фагоцитарних реакцій, яким надається важливе значення в забезпеченні захисту дитячого організму від мікробних та вірусних інфекцій.

Колонізація слизової оболонки верхнього відділу респіраторного тракту нормальними для даного екологічного локусу мікроорганізмами створює місцевий імунітет слизових оболонок [7, 9, 11, 28, 29]. Проте ГРВІ відіграють основну роль серед численних причин, що знижують колонізаційну резистентність слизової оболонки порожнини рота та верхніх дихальних шляхів, приводячи до захворювання [12, 14, 21, 22].

Мета дослідження. В той же час, питання впливу різних видів збудників на клінічні прояви та особливості перебігу захворювання з локалізацією вогнищ ураження в порожнині рота, на характер імунної відповіді при цьому, до цих пір залишаються остаточно невирішеними. Наведені вище дані і визначили ддоцільність даного дослідження.

Об'єкт і методи дослідження. З метою вивчення показників гомеостазу ротової порожнини визначали активність лізоциму змішаної слини. Об'єктом дослідження у дітей служила нестимульована змішана слина, забір якої здійснювали через 1-2 години після сніданку. Нестимульовану змішану слину в кількості 1-2 мл збирали в стерильну пробірку, центрифугували протягом 10 хв. при швидкості 2000 об./хв. Зберігання проби здійснювали в замороженому стані при t° – 20°C. В нестимульованій змішаній слині визначали активність лізоциму слини за допомогою нефелометричного методу за Бухарінім О. В. [7].

Одним із чутливих індикаторів здоров'я є стан нормальної мікрофлори епітелію слизової оболонки порожнини рота. Вивчення природньої колонізації буккального епітелію проводили за методикою Маянського А. Н. [20]. Робили завис буккальних епітеліоцитів, отриманих при зіскобі із слизової оболонки пластмасовою ложечкою, у фізіологічному розчині, наносили тонким шаром на предметне скло, висушували на повітрі і після фіксації сумішшю Никифорова забарвлювали азуром А. Продивлялись (зб. 630) 50 клітин, диференціюючи їх в балах за числом

адгезованих бактерій: 0 балів – 0-30, 1 бал – 30-60, 2 бали – 60-100; 3 бали – 100-300, 4 бали – понад 300 бактерій. На основі цих даних підраховували індекс колонізації буккального епітелію (ІКБЕ) за формулою:

$$(0 n_0 + 1 n_1 + 2 n_2 + 3 n_3 + 4 n_4) : 50,$$

де n – число епітеліальних клітин з різним (0-4) рівнем колонізації.

Значення ІКБЕ більш 1,0 ум. од. рахували нормальними; 0,5 – 1,0 ум. од. – зниженими; менше 0,5 ум. од. – значно зниженими.

Для виявлення взаємозв'язку між важкістю перебігу захворювання та видовим і кількісним складом мікрофлори, ми проводили бактеріологічне дослідження мазків із слизової м'якого піднебіння, ротоглотки при грипозному стоматиті різного ступеня важкості. Бактеріальне дослідження проведено у 162 хворих на ГРВІ дітей, віком 6 міс. - 5 років; з них 54 – з легкою формою ГРВІ, 69 – із захворюванням середньої важкості та 39 – з важкою формою захворювання. Контрольну групу склали 30 здорових дітей відповідних вікових груп. Матеріал для дослідження мікрофлори порожнини рота брали сухим тампоном, який поміщали в стерильні пробірки і доставляли в лабораторію в максимально короткий термін (1-2 год.). Посів матеріалу та ідентифікацію культур проводили за морфо-функціональними і біохімічними показниками згідно загально прийнятих методик. При оцінці результатів дослідження враховували якісний та кількісний склад мікрофлори, що містилась в клінічному зразку.

Результати досліджень та їх обговорення.

Напруженість неспецифічної антиінфекційної резистентності, а саме факторів неспецифічного захисту, оцінювалась за станом колонізаційної резистентності СОПР, активності лізоциму в змішаній слині, індексу колонізації буккального епітелію. Вибір перерахованих тестів підтверджують факти кореляції представлених результатів з важкістю перебігу ГРВІ. Якщо при легкому перебігу ГРВІ проходять лише кількісне збільшення аутохтонної флори, активність лізоциму незначно підвищена, а індекс колонізації буккального епітелію дещо нижчий, то при збільшенні важкості характер змін суттєво змінюється.

Так, у дітей з легкою формою перебігу ГРВІ активність лізоциму незначно підвищена порівняно з контролем (21,3%) і становить 25,4%. Щодо заселення буккального епітелію (БЕ), то ІКБЕ дещо нижчий порівняно із контрольною групою (1,73 ум. од.) і становить 1,47 ум. од. ($P < 0,01$). Встановлені нами зміни буккальних епітеліоцитів відображають інтенсивність заселення СОПР нормальними бактеріями, що підтверджується рядом публікацій про зміну колонізаційної резистентності СОПР. Вивчення щільності бактеріального заселення СОПР показало деякі зміни у складі мікробної флори, проте від здорових дітей вона відрізнялась лише кількістю резидентної флори.

Таким чином, результати досліджень свідчать про активну реакцію на інфекційний процес неспецифічного ланцюга місцевого імунітету порожнини рота дітей, хворих на легку форму перебігу ГРВІ.

Визначення гомеостазу порожнини рота у дітей з ГРВІ у формі середньої важкості показало, що активність лізоциму змішаної слини – антибактеріального фермента, який міститься в гранулах фагоцитуючих клітин, достовірно вища ($P < 0,01$) і становить 28,7%. Що стосується інтенсивності заселення буккального епітелію резидентними мікроорганізмами, то слід сказати, що при середньо-важкій формі ГРВІ воно підлягає зміні. Підрахунок ІКБЕ – неспецифічного індикатора здоров'я – показав його зниження до 1,07 ум. од. порівняно з контролем та легкою формою ГРВІ.

В той же час, при перебігу ГРВІ у формі середньої важкості відбуваються якісні та кількісні зміни мікрофлори порожнини рота порівняно із здоровими та хворими на легку форму ГРВІ. В першу чергу, ці зміни проявляються у збільшенні кількості нетипових для дитячого віку патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів – золотистого стафілокока, кишкової палички, грибів роду *Candida*, β -гемолітичного стрептокока. Поряд з цим, аутохтонна флора (мікрококи, лактобацили, тощо) висівалась тільки у 2/3 хворих, як правило в асоціації з патогенними і умовно-патогенними мікроорганізмами – золотистим стафілококом, β -гемолітичним стрептококом чи грибами роду *Candida*. Пригнічення росту мікроорганізмів – представників аутохтонної мікрофлори, поява та інтенсивний ріст патогенних і умовно-патогенних нерезидентних мікроорганізмів є проявом дизбіотичного зсуву – дисбактеріозу I-II ступеня.

Отже, порушення в мікроекології СОПР при середньо-важкій формі ГРВІ, розвиток дисбактеріозу I-II ступенів є ознаками істотного зниження захисних бар'єрних властивостей СОПР. Інтенсивний ріст патогенних та умовно-патогенних нерезидентних мікроорганізмів та зникнення аутохтонної мікрофлори є несприятливою прогностичною ознакою перебігу захворювання.

Вивчення мікробіоценозу порожнини рота при важкій формі ГРВІ показало суттєві зміни в мікроекології СОПР. Активність лізоциму слини, фермента, який синтезується місцево клітинами моноцитарного ряду, у хворих дітей нижча, ніж у дітей з легкою та середньо-важкою формами ГРВІ. Суттєве її зниження до 24,1%, очевидно, пов'язане із неспроможністю компенсаторно-адаптаційних механізмів при ускладненому перебігу ГРВІ на фоні антибіотикотерапії. Це відбувається одночасно із зменшенням ІКБЕ до 0,57 ум. од., що достовірно нижче від показників здорових та хворих на легку та середньої важкості форми ГРВІ.

Найбільш суттєві відхилення виявлено в характері мікрофлори СОПР у дітей з важкою формою ГРВІ. Аутохтонні мікроорганізми (мікрококи, лактобацили, тощо) виділялись тільки в 23,7% випадків, як правило в асоціації з патогенними і умовно-патогенними мікроорганізмами (золотистим стафілококом,

β-гемолітичним стрептококом, грибами роду *Candida*). Найчастіше виділявся золотистий стафілокок (57,28%), дещо рідше – гриби *Candida* (35,31%) і β-гемолітичний стрептокок (25,46%). У 2/3 обстежених дітей аутохтонна мікрофлора була зовсім відсутня. Характерною особливістю мікрофлори є також наявність асоціацій патогенних мікроорганізмів – золотистого стафілокока з β-гемолітичним стрептококом (у 4,77% випадків), золотистого стафілокока чи β-гемолітичного стрептокока з грибами *Candida* (у 13,18% досліджувальних проб).

Отже, для важкої форми перебігу захворювання характерний дисбактеріоз II-III; при наявності асоціації патогенних мікроорганізмів з грибами роду *Candida* – IV ступенів. Наведені результати досліджень свідчать про наявність тісного взаємозв'язку між важкістю перебігу ГРВІ та характером мікрофлори, виділеної з поверхні СОПР. При важкій формі захворювання спостерігаються суттєві відхилення в мікробіоценозі ротової порожнини. Значні зрушення в мікроекології СОПР при ГРВІ, розвиток дисбактеріозу III-IV є ознаками істотного зниження захисних бар'єрних властивостей СОПР. Інтенсивний ріст патогенних та умовно-патогенних нерезидентних мікроорганізмів та зникнення аутохтонної мікрофлори є несприятливою прогностичною ознакою перебігу захворювання.

Встановлено [24], що непатогенна мікрофлора відіграє важливу роль в життєдіяльності людського організму, перш за все завдяки симбіотичного характеру взаємодії між макро- і мікроорганізмами. Завдяки такому співіснуванню формується природний імунітет, який підтримується в постійному активному стані, а також створюється колонізаційна резистентність слизових оболонок різних органів, в тому числі і слизової оболонки порожнини рота [26]. Остання завдяки наявності потужних специфічних і неспецифічних факторів місцевого імунітету

запобігає бактеріальному заселенню СОПР патогенними мікроорганізмами і відіграє протекторну роль у виникненні запальних процесів.

Висновки. Колонізаційна резистентність організму здійснюється спільно з іншими факторами імунної системи, локалізованими на слизових оболонках, зокрема, на СОПР, в т. ч. й станом нормальної для даного локусу мікрофлори. Чим важчий перебіг захворювання, тим істотніші відхилення в мікробіоценозі ротової порожнини. Суттєві порушення в колонізаційній резистентності СОПР, розвиток дисбактеріозу III-IV ступенів є ознаками істотного зниження захисних бар'єрних властивостей СОПР, причому навіть підвищення рівня активності лізоциму не здатне компенсувати цих порушень. Інтенсивний ріст патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів та зникнення аутохтонної мікрофлори є несприятливою прогностичною ознакою щодо важкості перебігу захворювання.

Отже, при ГРВІ відбуваються зміни структури мікробіоценозу ротової порожнини, які полягають у зменшенні відносного вмісту характерних для даного біотопу мікроорганізмів на фоні збільшення умовно-патогенної флори (золотистого стафілокока, β-гемолітичного стрептокока, ін.) та засіванні мікрофлорою, не характерною для порожнини рота дітей, що свідчить про набуття ознак дисбіозу в залежності від важкості перебігу захворювання.

Перспективи подальших досліджень. Враховуючи зміни структури мікробіоценозу ротової порожнини, порушення факторів неспецифічної резистентності у дітей при ГРВІ обґрунтованим є дослідження ротової рідини, оскільки її кількісні та якісні зміни пов'язані з глибиною метаболічних розладів, що дозволить проводити спостереження за перебігом патологічного процесу, змінами кислотно-лужного балансу середовища, зумовлених інфекційними агентами.

Список літератури

1. Антипкін Ю. Г. Актуальні питання вакцинації дітей / Ю. Г. Антипкін // Перинатологія і педіатрія. – 2008. – №4. – С. 11-12.
2. Белик Л. П. Неспецифическая резистентность полости рта у детей с хроническим гломерулонефритом / Л. П. Белик, Л. П. Сукало // Современ. Стоматология. – 1999. – №1. – С. 16-17.
3. Быков В. Л. Функциональная морфология и гистогенез органов полости рта / В. Л. Быков. – С. -Пб., 1995. – 285 с.
4. Бондаренко В. Н. Ранние этапы развития инфекционного процесса и двойственная роль нормальной микрофлоры / В. Н. Бондаренко, В. Г. Петровская // Вестн. РАМН. – 1997. – №3. – С. 7-10.
5. Бородай Н. В. Морфофункциональные особенности слизистой оболочки полости рта та зміни в ній при різних патологічних процесах / Н. В. Бородай // Лабораторная диагностика. – 2001. – №1. – С. 49-54.
6. Булатова Е. М. Кишечная микробиота: современные представления / Е. М. Булатова, Н. М. Богданова, Е. А. Лобанова, Т. В. Габруская // Педиатрия. – 2009. – Т. 87, №3. – С. 104-110.
7. Бухарин О. В. Лизоцим и его роль в биологии и медицине / О. В. Бухарин, Н. В. Васильев. – Томск, 1974. – 104 с.
8. Волянська Л. А. Стан біотопу ротоглотки у дітей з частими респіраторними захворюваннями / Л. А. Волянська, Л. Б. Романюк, Р. Н. Калатай // Перинатологія і педіатрія. – 2009. – №3(39). – С. 160.
9. Гемонов В. В. Защитные свойства поверхностных слоев эпителия слизистой оболочки полости рта / В. В. Гемонов, М. А. Могильный // Стоматология. – 1996. – Т. 25, №3. – С. 4-6.
10. Дяченко Ю. В. Дисбактериоз при хроническом рецидивирующем афтозном стоматите / Ю. В. Дяченко, В. Я. Скиба, А. И. Подобуева // Вісник стоматології. – 1999. – №1. – С. 13-15.
11. Заплатников А. Л. Иммунопрофилактика и иммунотерапия острых респираторных инфекций у детей / А. Л. Заплатников // Леч. врач. – 2006. – №9. – С. 50-56.
12. Камышников В. С. Клинико-биохимическая оценка тяжести воспалительного процесса / В. С. Камышников, В. Г. Колб, Е. Т. Зубовская // Здравоохранение Беларуси. – 1991. – №6. – С. 62-68.

13. Каракушикова А. С. Вопросы формирования иммунного ответа новорожденных в неонатальном периоде / А. С. Каракушикова, Б. Ж. Тастанбеков, Г. М. Абдуллаева // Медицина и экология. – 2010. – № 2(55). – С. 29-34.
14. Ковальов Є. В. Мікробіологічне обстеження хворих на кандидоз слизової оболонки порожнини рота / Є. В. Ковальов, І. Я. Марченко // Вісник стоматології. – 1996. – № 4. – С. 279-282.
15. Коршунов В. М. Характеристика биологических препаратов и пищевых добавок для функционального питания и коррекция микрофлоры кишечника / В. М. Коршунов, Б. А. Ефимов, А. П. Пикина // Микробиология. – 2000. – № 3. – С. 86-91.
16. Крупник Н. М. Використання діагностичних тестів для визначення стану мікрофлори слини дітей / Крупник Н. М., Безвуско Е. В. // Вісник стоматології. – 2000. – № 2. – С. 60-62.
17. Кушнарева М. В. Особенности иммунного ответа слизистых оболочек дыхательных путей у недоношенных детей с немониями / М. В. Кушнарева, Г. М. Дементьева, Т. В. Виноградова // Педиатрия. – 2002. – № 1. – С. 13-18.
18. Лук'янова О. М. Медико-соціальні аспекти збереження здоров'я дітей, забезпечення їхнього гармонійного фізичного та інтелектуального розвитку / О. М. Лук'янова // Журн. АМН України. – 2001. – Т. 7, № 3. – С. 408-415.
19. Маричев І. Л. Вплив інфекційних агентів на формування імунодефіцитних станів / І. Л. Маричев // Вісник проблем біології і медицини. – 1999. – № 11. – С. 64-67.
20. Маянский А. Н. Феномен избирательного ослабления колонизационной (адгезивной) резистентности в системе «Candida albicans – буккальные эпителиоциты» / А. Н. Маянский, М. И. Заславская, Е. В. Салина [и др.] // Журнал микробиол., эпидемиологии и иммунобиологии. – 2002. – № 4. – С. 17-20.
21. Мельниченко Э. М. Микробно-вирусная сенсibilизация при рецидивирующих формах стоматита у детей / Э. М. Мельниченко, Л. В. Шугля // Новое в стоматологии. – 1998. – № 1. – С. 57-61.
22. Олейник И. И. Микробиоценоз полости рта в норме и патологии / И. И. Олейник, В. Н. Покровский, В. И. Царев [и др.] // Медицинские аспекты микробной экологии. – М., 1992. – № 3. – С. 61-64.
23. Острые респираторные заболевания у детей: лечение и профилактика. Научно-практическая программа Союза педиатров России. М., 2002.
24. Покровский В. Н. Медицинская микробиология / В. Н. Покровский, О. К. Поздеев. – М.: Медицина, 1999. – 1183 с.
25. Стефани Д. В. Иммунология и иммунопатология детского возраста / Д. В. Стефани, Ю. Е. Вельтищев. – М.: Медицина, 1996. – 384 с.
26. Ткаченко Е. И. Дисбактериоз кишечника. Рук-во по диагностике и лечению / Е. И. Ткаченко, Н. А. Суворов. – СПб.: ООО «Издательство «СпецЛит», 2007. – 176 с.
27. Учайкин В. Ф. Рецидивирующие респираторные инфекции у детей: применение иммуномодуляторов для лечения и профилактики / В. Ф. Учайкин // Педиатрия. – 2009. – Т. 87, № 1. – С. 127-132.
28. Хавки А. И. Микробиоценоз кишечника и иммунитет / А. И. Хавки // РМЖ. Детская гастроэнтерология и нутрициология. – 2003. – № 11(3). – С. 122-125.
29. Fons M. Mechanismus of colonization and colonization resistance of the digestive tract / M. Fons, A. Gomez, T. Karjalainen // Microbial. Ekol. Health Dis. – 2000. – Vol. 2. – P. 240-246.

УДК 616.311-008.87-02:616.2-022.6]-053.2

ЗМІНИ СТРУКТУРИ МІКРОБІОЦЕНОЗУ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ У ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА ГРВІ

Гевкалюк Н. О.

Резюме. Суттєві зрушення в колонізаційній резистентності слизової порожнини рота при респіраторних вірусних інфекціях, розвиток дисбактеріозу III-IV ступенів є ознаками істотного зниження захисних бар'єрних властивостей СОПР, причому навіть підвищення рівня активності лізоциму не здатне компенсувати цих порушень.

Ключові слова: мікробіоценоз, лізоцим, бактеріальне заселення, ГРВІ.

УДК 616.311-008.87-02:616.2-022.6]-053.2

ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ МИКРОБИОЦЕНОЗА РОТОВОЙ ПОЛОСТИ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ОРВИ

Гевкалюк Н. А.

Резюме. Существенные нарушения в колонизационной резистентности слизистой полости рта при респираторных вирусных инфекциях, развитие дисбактериоза III-IV степеней являются признаками значительного снижения защитных барьерных свойств СОПР, причем даже повышение уровня активности лизоцима не способно компенсировать этих нарушений.

Ключевые слова: микробиоценоз, лизоцим, бактериальное заселение, ОРВИ.

UDC 616.311-008.87-02:616.2-022.6]-053.2

Changes In Oral Microbiota In Children Patients With SARS Hevkalyuk N. O.

Summary. Significant changes in colonization resistance oral mucosa with respiratory viral infections, the development of dysbiosis III – IV levels are signs of a significant reduction of the protective barrier properties of the mucous membrane stomatomycosis, even increasing the activity of lysozyme is not able to compensate for these violations.

Key words: microbiocenosis, lysozyme, bacterial colonization, SARS.

Стаття надійшла 12.09.2012 р.
Рецензент – проф. Ніколішин А. К.