



3. Марусина М. Я., Казначеева А. О. Современные виды томографии: учеб. пособие. – СПб.: СПбГУ ИТМО, 2006. – 132 с.
4. Перевозникова И. А., Козак А. Р. Комплексная лучевая диагностика рубцовых стенозов трахеи // Лучевая диагностика и терапия. – 2010. – № 3. – С. 33–38.
5. Рабкин И. Х., Овчинников В. И., Ермаков Н. П. Основы компьютерной томографии. – М.: Медицина, 1992. – 81 с.
6. Рущенко Н. Г., Меженин А. В. Компьютерные методы реконструкции и 3D-моделирования органов человека // Мат. первой междунар. конф. «Трехмерная визуализация научной, технической и социальной реальности. Кластерные технологии моделирования». – Ижевск, 2009.
7. Тозик В. Т., Меженин А. В. 3ds Max 9: трехмерное моделирование и анимация. – СПб.: БХВ-Петербург, 2007. – С. 1056.
8. Хоружик С. А., Михайлов А. Н. Основы КТ-визуализации. Ч. 1. Просмотр и количественная оценка изображений // Радиология – практика. – 2011. – № 3. С. 62–75.
9. Частота выявления патологии околоносовых пазух по данным магнитно-резонансной и компьютерной томографии / А. С. Лопатин [и др.] // Вестн. оторинолар. – 1996. – № 6. – С. 11–13.
10. CT findings of laryngeal tuberculosis: comparison to laryngeal carcinoma / M. D. Kim [et al.] // J. Comp. Assis. Tomography. – 1997. – N 21. – P. 29–34.
11. Preoperative airway evaluation using multi-slice three dimensional computed tomography for a patient with severe tracheal stenosis / K. Toyota [et al.] // Brit. J. of Anaesthesia. – 2004. – Vol. 93 (6). – P. 865–867.

**Мамедов** Рамис Фирудунович – н. с. отдела реконструктивной хирургии полых органов шеи МНПЦ оториноларингологии ДЗ Москвы. 117152, Москва, Загородное шоссе, д. 18а, стр. 2, тел.: 8-495- 536-91-83, e-mail: 43Lor@mail.ru

УДК 616.327.2-022-07

## **ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА МИКРОБИОТЫ НОСОГЛОТКИ МЕТОДАМИ ДЕТЕКТИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ ПО ХИМИЧЕСКИМ МАРКЕРАМ В СРАВНЕНИИ С БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИМ ИССЛЕДОВАНИЕМ**

**О. Э. Мицкевич**

### **COMPATIVE ANALYSIS OF COMPOSITION MICROBIOT OF NASOPHARYNX BY METHODS OF DETECTING MICROORGANISMS ACCORDING TO CHEMICAL INDICATORS AND BACTERIOLOGICAL INVESTIGATION**

**О. Е. Mitskevich**

*ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого»  
(Зав. каф. ЛОР-болезней с курсом ПО – проф. С. Г. Вахрушев)*

В настоящее время актуальной остается тема лечения хронического аденоидита. Успех консервативного лечения во многом зависит от определения этиологического фактора. В современной медицинской литературе активно дискутируется вопрос об этиологической роли нетипичных возбудителей патологии верхних дыхательных путей, например анаэробных микроорганизмов. В статье приведены результаты сравнительного исследования микробиоты носоглотки детей с хроническим аденоидитом традиционным культуральным методом и результаты газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией. Результаты исследования показали, что определение 60–80% микробиоценоза слизистой оболочки носоглотки недоступно для культуральных методов исследования. При этом данные газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией выявили, что на поверхности глоточной миндалины энтеробактерий, зубактерий, кластридий и различных видов грибов вместе и по отдельности на порядок больше, чем стрептококков и стафилококков.

**Ключевые слова:** хронический аденоидит, бактериологическое исследование, газовая хроматография, масс-спектрометрия, биопленка.

**Библиография:** 10 источников.

A resume increasing of efficiency of therapy chronic adenoiditis is an incontestable actual matter in children's otorinolaryngology. At present, ethiological role of untypical agents of pathology of the top respiratory ducts, for example anaerobes is being discussed. The article has the results of comparative investigation of microbiot of children's nasal pharynx with chronic adenoiditis by the traditional culture method and the results of gas chromatography in combination with massspectral measuring. The results of this investigation showed that determining 60–80% of microbiocenoses of mucosus of nasopharynx isn't within the capacity of the culture methods of investigating. With this, data of gas chromatography in combination with mass spectrum measuring revealed that there is a cut above enterobacteria, eubacteria, clostridia and different kinds of fungi all together and separately, on the surface of the gullet tonsil.

**Key words:** Bacterial biofilm, adenoid, bacteriological tests, gas chromatography, mass spectrometry

**Bibliography:** 10 sources.

В детском возрасте среди заболеваний ЛОР-органов ведущая роль принадлежит аденоидным вегетациям. Доля детей с хроническими аденоидитами колеблется от 20 до 50%. В группе часто болеющих детей этот показатель составил от 37 до 70%. [1]

Несмотря на многочисленные методики консервативного лечения данной патологии, операция аденотомия остается одной из составных частей в применяемом лечении. Изменения показаний к аденотомии в последние десятилетия несколько снизили общее количество операций, однако вмешательства на лимфоидном кольце глотки по-прежнему остаются самыми распространенными в оториноларингологии.

Одной из причин неудачи консервативного лечения хронического аденоидита, возможно, является присутствие «кворумных» микроорганизмов. Представление о развитии хронического процесса воспаления, в том числе и на слизистой оболочке носоглотки, сформировалось в последнее десятилетие. Основные открытия в этой области связаны с изучением бактериальных биопленок. Накопившиеся данные свидетельствуют о новых свойствах бактерий, находящихся в составе сообществ, наиболее актуальным из которых для практической медицины является повышенная выживаемость микроорганизмов в биопленках.

**Цель работы.** Сравнение микробного пейзажа слизистой оболочки носоглотки у детей при хроническом аденоидите, полученного методом детектирования микроорганизмов по химическим маркерам и данных бактериологического исследования культуральным посевом.

**Пациенты и методы.** Работа основана на результатах обследования 83 пациентов, проходивших плановое хирургическое лечение в ЛОР-отделении ККБ г. Красноярск в 2009–2012 гг. Возраст пациентов колеблется от 3 до 12 лет, средний возраст составил  $5,3 \pm 2,8$  года. Среди детей мальчиков было 49 (59%), девочек 34 (41%). Основным критерий включения в исследование – наличие у пациентов клинических проявлений хронического аденоидита с показаниями для хирургического лечения.

Для клинической диагностики микроорганизмов в составе биопленки используются различные молекулярные методы, в том числе газовая хроматография и ее сочетание с масс-спектрометрией. Детектирование микроорганизмов в составе биопленки проводится по составу специфических жирных кислот, альдегидов, спиртов и стероидов, определяемых в мазке, взятого с поверхности удаленной глоточной миндалины. В основе метода лежит высокоточное определение специфических маркерных молекул, входящих в состав клеточных липидов.

Этот метод микробиологического исследования быстр и универсален, поскольку не требует выращивания отдельных микроорганизмов на специальных средах и проведения для каждого из них специальных биохимических тестов для определения вида возбудителя. Точное количественное определение микроорганизмов способствует назначению целенаправленной антибактериальной терапии и оперативному контролю ее эффективности. Метод зарегистрирован Росздравнадзором в качестве новой медицинской технологии (Разрешение ФС № 2010/038 от 24 февраля 2010 г.). Метод масс-спектрометрии, в отличие от применяемого в обычной практике посева клинического материала на культуральные среды, позволяет получить информацию о «замаскированной» части микст-инфекции, состоящей из некультивируемых в условиях лабораторий клинической микробиологии микроорганизмов. По сравнению с традиционными методами бактериологического исследования использование хемодифференциации с помощью хроматомасс-спектрометрии позволяет значительно сократить время исследования до 2,5 ч и снизить его стоимость, минуя стадии повторных пересевов первичных колоний и тестовых ферментаций, которые особенно сложны и трудоемки для анаэробов.

Метод детектирования микроорганизмов по жирным кислотам-маркерам сходен с генетическим анализом (ПЦР, определение последовательности нуклеотидов 16sРНК). Однако высокочувствительный и селективный метод газовой хроматографии – масс-спектрометрии – позволя-

ет одновременно измерять концентрации более сотни микробных маркеров непосредственно в анализируемом материале: крови, моче, биоптатах и других биологических жидкостях и тканях – без использования тестовых биохимических материалов.

Все пациентам была проведена эндоскопическая аденотомия под эндотрахеальным наркозом под контролем зрения. Перед удалением под контролем эндоскопа стерильным тампоном проводили сбор материала с поверхности глоточной миндалины, используя коммерческие транспортные среды со средой Эймса.

Посев проводили методом секторов на дифференциально-диагностические среды (кровяной агар, желточно-солевой агар, Эндо, энтерококк-агар), учитывали количество колоний и выделяли чистые культуры микроорганизмов с их идентификацией.

Одновременно отобранный на стерильные зонды биологический материал подвергали серии химических модификаций, в результате которых анализировали лишь метиловые эфиры жирных кислот, спирты и альдегиды, проводя идентификацию микроорганизмов по специфическим жирным кислотам методом газовой хроматографии и масс-спектрометрии.

Благодаря выработанному ранее статистическому критерию отклонения от нормы приобретают клиническую значимость, когда численность микроорганизмов изменяется вдвое по сравнению с нормой [1].

Метод характеризуется следующими показателями: определение более 50 микроорганизмов одновременно в одном анализе при универсальности в отношении разных групп микроорганизмов: бактерии, грибы, вирусы. Время анализа составляет 2,5 ч, чувствительность  $10^3$ – $10^4$  клеток в пробе, селективность – до вида.

**Результаты исследования.** По результатам микробиологического исследования на поверхности глоточной миндалины были идентифицированы: *S. Aureus* (20 % от общего отчета микробиоты), *S. haemolyticus* (18 %), *S. Epidermidis* (15%).

Также присутствовали в меньших количествах *E. coli*, *E. faecium*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *P. morgani*, *P. mirabilis*, *S. saprophyticus*, *N. Subflava*. При этом в 30% случаев роста флоры не выявлено, в 36% случаев получена монокультура и в 34% случаев – ассоциации микроорганизмов. Несмотря на то что материалы сеялись на кровяной агар, который предназначен для выявления анаэробной инфекции, но они не были выявлены при бактериальном посеве.

Однако данные хроматомасс-спектрометрического исследования выявило присутствие в очаге воспаления совершенно иных микроорганизмов, таких как *Clostridium propionicum*, *Clostridium ramosum*, *Fusobacterium (Haemophilus)*, *Sp. Lactobacillus*, *Sp. Enterobacteriaceae (E. coli и др.)*, *Eubacterium moniliforme*, *E. nodatum*, *E. sabureum*, *Bifidobacterium sp.*, *P. freudenreichii*, *Ruminococcus*, *E. lentum 7741* (группа B), *Butyrivibrio/Cl. Fimetarum*, *Propionibacterium jensenii*, *Afipia sp.*, *Helicobacter mustelae*, *Actinomyces 10Me14*, микроскопические грибы и вирусы (*Herpes sp.*). Количество данных микроорганизмов превышало норму больше чем в 2 раза.

Полученные результаты указывали, что наиболее часто изменения микробиологического статуса слизистой оболочки носоглотки связаны с избыточным ростом *Enterobacteriaceae* и *Clostridium ramosum* с периодическим подключением многочисленных представителей рода *Eubacterium*. Более чем втрое, по сравнению с нормой растет концентрация маркеров *Clostridium ramosum* и *Clostridium propionicum*, почти у всех больных возрастает количество *E. lentum*.

Из экспериментальных данных следует, что измерение микробных маркеров *in situ* выявляет новую группу микроорганизмов из числа трудно культивируемых и поэтому мало известных в клинической практике. Эти участники инфекционного процесса – *Clostridium*, *Eubacterium*, *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillus*, *Helicobacter* – обладают высокой патогенетической активностью, и вызванные ею заболевания трудно поддаются лечению.

### Выводы

1. Результаты наших исследований показали достоверные различия результатов хроматомасс-спектрометрии в сравнении с планктонной культурой, высеваемой из материала с поверхности удаленной глоточной миндалины с достоверностью  $p < 0,05$ .
2. Данные микробиологического исследования в сравнении с хроматомасс-спектрометрией показали, что определение 60–80% микробиоценоза слизистой оболочки носоглотки недоступно для культуральных методов исследования.
3. Метод хроматомасс-спектрометрии является информативным, чувствительным, позволяет определить труднокультивируемые микроорганизмы, расширить перечень определяемых химических маркеров.
4. Использование в клинической практике результатов хроматомасс-спектрометрии может способствовать строго индивидуальному подбору оптимального антибиотика, что улучшит результаты консервативного лечения хронического аденоидита и, возможно, позволит отказаться от хирургического лечения некоторых пациентов.



## ЛИТЕРАТУРА

1. Белобородова Н. В., Вострикова Т. Ю., Черневская Е. А. Этиология послеоперационных бактериемий в ОРИТ: связь с уровнем прокальцитонина // Анестезиология и реаниматология. – 2008. – № 4. – С. 22–27.
2. Определение микробиологического статуса и диагностика инфекций организма человека с использованием метода хроматомасс-спектрометрии / Е. Г. Струкова [и др.] // Журн. СФУ. – Химия. – Т. 2, вып. 4. – 2009. – С. 351–358.
3. Определитель бактерий Берджи: в 2 т. / Дж. Хоулт [и др.]. – М.: Мир, 1997. – Т. 2.
4. Осипов Г. А., Бойко Н. Б. Новые подходы к анализу инфекционных послеоперационных и посттравматических осложнений // Педиатрия. – 2010. – Т. I, № 1. – С. 61–65.
5. Пат. РФ № 2086642. МПК7 С 12N 1/00, 1/20, С12Q 1/4. Способ определения родового (видового) состава ассоциации микроорганизмов / Осипов Г. А.; заявл. 24.12.1993.
6. Тец В. В. Микроорганизмы и антибиотики. Инфекции в оториноларингологии. – СПб.: КЛЕТ, 2009. – 168 с.
7. Costerton J. W., Stewart P. S., Greenberg E. P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections // Science. – 1999. – Vol. 284. – P. 1318–1322.
8. Determination of endotoxins by gas chromatography: evaluation of electron-capture and negative-ion chemical ionization mass spectrometric detection of halogenated derivatives of beta-hydroxymyristic acid / A. Sonesson [et al.] // J. Chromatogr. – 1987. – Vol. 417, № 1. – P. 11–25.
9. Role of *Fusobacterium nucleatum* and coaggregation in anaerobe survival in planktonic and biofilm oral microbial communities during aeration / D. J. Bradshaw [et al.] // Infect. Immun. – 1998. – Vol. 66. – P. 4729–4732.
10. Watnick P., Kolter R. Biofilm / City of Microbes // J. Bacteriol. – 2000. – Vol. 182, N 10. – P. 2675–2679.

Мицкевич Оксана Эдуардовна – клинический ординатор ЛОР-кафедры Красноярского ГМУ им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого. 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; тел.: +7-963-266-69-83, e-mail: mickevich\_ia@mail.ru

УДК: 616.211-002.253

## О ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ РИНИТОВ У БЕРЕМЕННЫХ

Ю. С. Муллаярова

### DIFFERENTIAL DIAGNOSTIC OF RHINITIS IN PREGNANCY

Y. S. Mullayarova

ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова»

(Зав. каф. оториноларингологии с клиникой – проф. С. А. Карпищенко)

Симптомы ринита часто беспокоят беременных женщин и существенно снижают их качество жизни. Нами было обследовано 74 женщины на разных сроках беременности. У каждой больной тщательно собирался анамнез, оценивался ЛОР-статус, анализировалась риноцитограмма. После комплексного анализа собранных данных мы смогли выявить наиболее часто встречающиеся причины появления симптомов ринита у беременных женщин. Согласно нашему исследованию, наиболее частой причиной насморка (65%) в обследованной группе был аллергический ринит. Среди других причин можно отметить вирусный ринит и медикаментозный ринит.

**Ключевые слова:** ринит беременных, аллергический ринит, риноцитограмма.

**Библиография:** 6 источников.

Pregnant women frequently suffer from symptoms of rhinitis. We examined 74 women at different stages of pregnancy. The examination includes anamnesis's data, ENT status, nasal cytology. After a comprehensive analysis of the collected data, we were able to identify the most common causes of rhinitis symptoms in pregnant women. According to our study allergic rhinitis is the most frequent (65%) detected pathology in observed group. Among other reasons, we can mention viral rhinitis and rhinitis medicamentosa.

**Key words:** rhinitis of pregnancy, allergic rhinitis, nasal cytology.

**Bibliography:** 6 sources.

Согласно данным зарубежных авторов, 30% женщин страдают от симптомов ринита во время беременности [5]. Однако это лишь больные, обратившиеся к врачу. О том, сколько больных страдает от ринита, не обращаясь в медицинские

учреждения, считая это нормальным во время беременности, остается лишь догадываться.

Этиология ринита может быть различной (аллергический ринит, вазомоторный ринит вследствие искривления носовой перегородки,