ОЦЕНКА МИКРОБИОЦЕНОЗА И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ С РАСЩЕЛИНОЙ ВЕРХНЕЙ ГУБЫ И НЕБА ПЕРЕД ПРОВЕДЕНИЕМ РЕКОНСТРУКТИВНОЙ РИНОХЕЙЛОПЛАСТИКИ

Е.В. Русанова[1], С.Н. Радванская[1], Н.В. Загальская[1], Н.В. Малыченко[1], А.Ю. Миронов[2]

[1]ГУ Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского (МОНИКИ)
[2]Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова

Проведено микробиологическое исследование слизистой и верхних дыхательных путей, а также определены иммунологические показатели у пациентов с врожденной одно- и двусторонней расщелиной верхней губы и неба после первичной ринохейлопластики. Микрофлора, определяющая дисбиоз, превалирует над нормофлорой на слизистой ороназального соустья на 127%, слизистой носа со стороны поражения – на 56%, слизистой носа со здоровой стороны – на 17%, а на слизистой зева она составляет всего 50%. Иммунологические исследования выявили существенные нарушения в фагоцитарной функции нейтрофилов, проявляющиеся в достоверном снижении фагоцитарной активности нейтрофилов и значительном уменьшении их переваривающей способности, а также уровня сывороточного лизоцима.

Ключевые слова: ринохейлопластика, верхние дыхательные пути, микрофлора, фагоцитарная функция нейтрофилов.

ASSESSMENT OF MICROBIOCENOSIS AND IMMUNOLOGIC INDICES IN PATIENTS WITH CLEFT LIP AND CLEFT PALATE BEFORE RECONSTRUCTIVE RHINOCHILOPLASTY

E.V. Rusanova[1], S.N. Radvanskaya[1], N.V. Zagalskaya[1], N.V. Malychenko[1], A.Yu. Mironov[2]

[1]M.F. Vladimirsky Moscow Regional Clinical and Research Institute (MONIKI)
[2]I.M. Sechenov Moscow Medical Academy

Microbiologic investigation of mucosa and upper respiratory tracts were carried out as well as immunologic indices in patients with congenital uni- and bilateral cleft lip and cleft palate after primary rhinochiloplasty. Microflora characterizing dysbacteriosis exceeds normal flora in mucosa of oronasal anastomosis by 127%, in nasal mucosal lesion – by 56%, on healthy nasal mucosa – by 7%, and in fauces mucosa the normal flora forms only 50%. Immunologic studies revealed considerable disturbances of phagocytic neutrophil function manifesting themselves in reliable decrease of both phagocytic activity and digestion capacity of neurtophils as well as in that of the serum Lysozime level.

Ключевые слова: rhinochiloplasty, upper respiratory tracts, microflora, phagocytic function of neutrophils.

Реконструктивная ринохейлопластика – один из трудоемких разделов хирургии челюстно-лицевой области. Это объясняется сложностью анатомического строения носа, его топографическим положением, функциональной нагрузкой [3, 7, 11, 12]. Из-за своеобразия анатомических структур, входящих в концевой отдел носа и наличия факторов, провоцирующих развитие осложнений, после ринопластики могут возникать рубцовые деформации носовых ходов [4, 10, 12].

Провоцирующими факторами развития осложнений могут быть обострения хронических заболеваний верхних дыхательных путей, аллергические реакции, нарушения гормонального фона, т.е. состояния, ведущие к развитию общей и тканевой гипоксии с нарушением репаративных процессов в тканях. Соотношение индигенных (представителей нормофлоры) и условно-патогенных микроорганизмов, обсеменяющих различные биотопы, а также состояние иммунной

системы могут влиять на возникновение, тяжесть и длительность течения раневого процесса [2].

Изучены обсемененность верхних дыхательных путей и иммунный статус больных с рубцовой деформацией носа, явившейся следствием операции по поводу врожденной расщелины верхней губы и неба. Исследование выполнялось перед проведением реконструктивной ринохейлопластики.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находились 27 пациентов в возрасте от 12 до 18 лет, которым была выполнена первичная ринохейлопластика по поводу врожденной одно- и двусторонней расщелины верхней губы и неба. Пациенты поступили для проведения вторичной операции – реконструктивной ринохейлопластики. У 46% из них имелось ороназальное соустье, то есть сообщение между полостями носа и рта. При поступлении у всех больных брались мазки со слизистой носового хода со стороны поражения и со здоровой стороны, мазки со слизистой зева, при наличии ороназального соустья – мазок из области соустья, а также кровь на иммунный статус. Забор материала осуществлялся согласно нормативным документам [5].

Первичный посев проб клинического материала осуществляли количественным методом на плотные питательные среды (агар с 5% кровью барана, желточно-солевой агар по Чистовичу, Сабуро, тиогликолевая среда) [8, 9]. Идентификацию выделенных чистых культур осуществляли общепринятыми методами [1], результаты выражали в колониеобразующих единицах на тампон (КОЕ/там). Процент обсемененности проб клинического материала рассчитывали как отношение количества выделенных культур к числу проб с наличием роста. За нормальную обсемененность микроорганизмами принимали наличие на слизистой носа *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus*, *Micrococcus spp*, *S.* группы *viridans*, в концентрации 10^3-10^4 КОЕ/мл, представленные преимущественно монокультурами; на слизистой зева – *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus, Micrococcus spp, S.* группы *viridans*, непатогенные *Neisseria*. По структуре микробного пейзажа перечисленные микроорганизмы в норме составляют двух-трехкомпонентные ассоциации в концентрации, не превышающей 10^5 КОЕ/мл.

Иммунологические показатели характеризовали по уровню иммуноглобулинов классов G, A, M, циркулирующих иммунных комплексов (крупных – 3%, средних – 4%, мелких – 10%), комплемента (СН-50), сывороточного лизоцима, антител с стрептококку (АСЛ-О), антител к стафилококковому α-токсину. Изучение фагоцитарной функции нейтрофилов проводили с *S. aureus* 209Р и *E. coli* с определением фагоцитарной активности (ФА) нейтрофилов через 30 и 120 минут инкубации (ФА-30 и ФА-120 – процент клеток, вступивших в фагоцитоз, от общего их числа) и фагоцитарного индекса (ФИ): ФИ-30 и ФИ-120 – среднее число бактерий, находящихся внутри фагоцита (частное от деления общего числа поглощенных бактерий на число клеток, вступивших в фагоцитоз). Индекс переваривания (ИП) рассчитывали по формуле ФИ-120/ФИ-30×100 [9]. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием методов дисперсионного и корреляционного анализов.

Сравнительный анализ полученных результатов по четырем биотопам показал, что рост микроорганизмов наблюдается на всех слизистых, за исключением ороназального соустья (8%). Монокультуры были выделены в 42% случаев со слизистой носа на стороне без поражения и слизистой ороназального соустья, при этом в зеве монокультуры отсутствовали в 100% случаев, а на слизистой со стороны поражения – у каждого четвертого пациента. Среди ассоциаций ведущими были двухкомпонентные на слизистых носа и трехкомпонентные на слизистых ороназального соустья и зева (рис. 1).

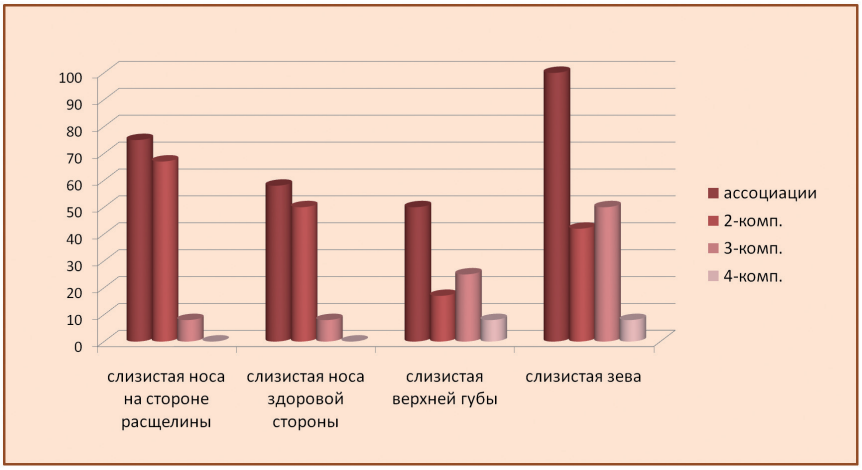

Рис. 1. *Количество микробных ассоциаций в зависимости от места локализации*

Средняя обсемененность слизистых составила: носа со стороны поражения – 183%, со здоровой стороны – 166%, ороназального соустья – 196%, зева – 250%.

Анализ видового состава показал, что микроорганизмы, определяющие нормоценоз, были представлены: *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S.* группы *viridans*, *Neisseria spp* в концентрации преимущественно 10^3 КОЕ/мл, за исключением слизистой зева, где концентрация составила 10^4-10^5 КОЕ/мл.

По данным литературы [5, 7], потенциальными патогенами верхних дыхательных путей являются: *S. aureus*, S. pyogenes, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, каждый из которых способен вызвать воспалительный процесс. Из перечисленных микроорганизмов нами был выделен только *S. aureus*. Вместе с тем, микрофлора, определяющая дисбиоз, была представлена: *S. aureus*, *S.* группы *D*, *E. faecalis*, дрожжеподобными грибами рода *Candida*. Золотистый стафилококк наиболее часто высевался со слизистой носового хода со стороны поражения (67%) в концентрации (преимущественно) 10^5 КОЕ/мл. Далее по частоте встречаемости следуют слизистая носового хода со здоровой стороны (58%), слизистая ороназального соустья (36%) и зева (17%). Концентрация выделенных микроорганизмов составила 10^3-10^4 КОЕ/мл (преимущественно 10^4 КОЕ/мл). Стрептококки группы *D* высевались практически в половине проб со слизистых ороназального соустья и со стороны поражения (64 и 45% соответственно), тогда как на слизистой зева и носа со здоровой стороны – только в каждой четвертой пробе. Концентрация выделенных микроорганизмов составила 10^3-10^4 КОЕ/мл. Энтерококки были представлены *E. faecium*, который высевался в 18% случаев только со слизистой ороназального соустья в концентрации 10^4-10^5 КОЕ/мл (преимущественно 10^5 КОЕ/мл). Высевались также дрожжеподобные грибы рода *Candida* в 45% в концентрации 10^4 КОЕ/мл (рис. 2, 3, 4, 5).

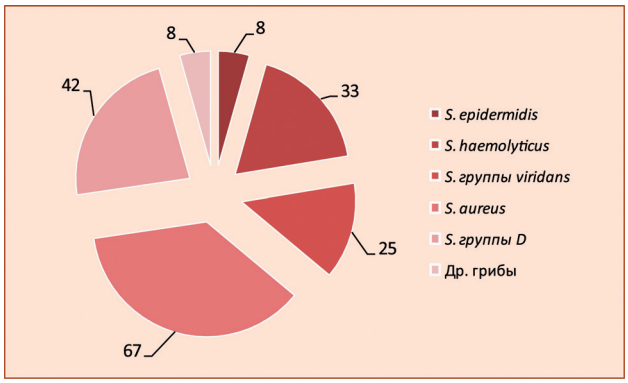

Рис. 2. *Частота встречаемости микроорганизмов со слизистой носа со стороны расщелины, %*

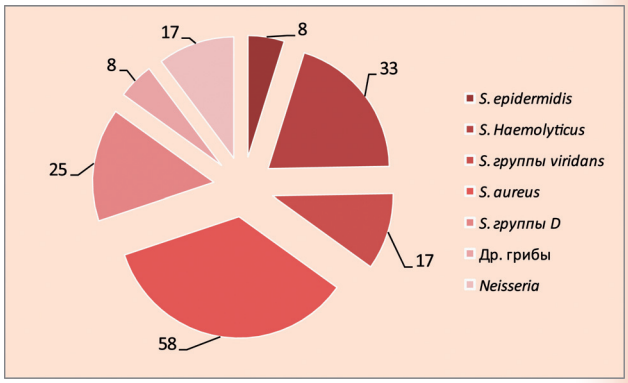

Рис. 3. *Частота встречаемости микроорганизмов со слизистой носа со здоровой стороны, %*

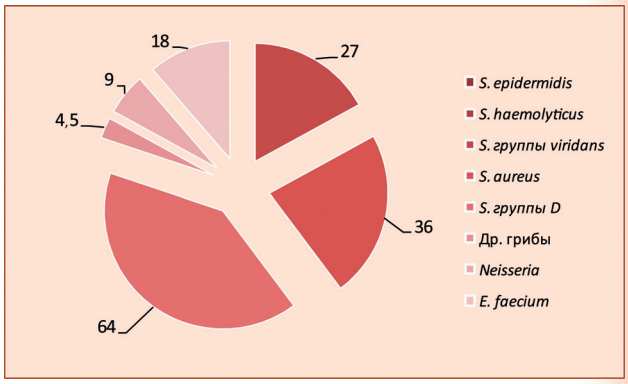

Рис. 4. *Частота встречаемости микроорганизмов со слизистой верхней губы, %*

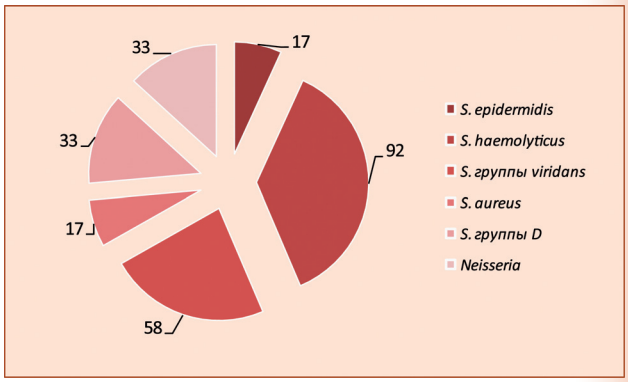

Рис. 5. *Частота встречаемости микроорганизмов со слизистой зева, %*

Оказалось, что микрофлора, определяющая дисбиоз, превалирует над нормофлорой на слизистой ороназального соустья на 127%, слизистой носа со стороны поражения – на 56%, со здоровой стороны – на 17%. На слизистой зева нормофлора составила 150% при общей обсемененности 200%.

Таким образом, микрофлорой, определяющей дисбиоз изученных биотопов, являются: *S. aureus, S.* группы *D*, *E. faecalis*, дрожжеподобные грибы рода *Candida*. Перечисленные микроорганизмы чаще и в больших концентрациях встречались на слизистой

ороназального соустья и слизистой носа со стороны поражения.

Следующим этапом работы явилось изучение у больных иммунологических показателей (рис. 6).

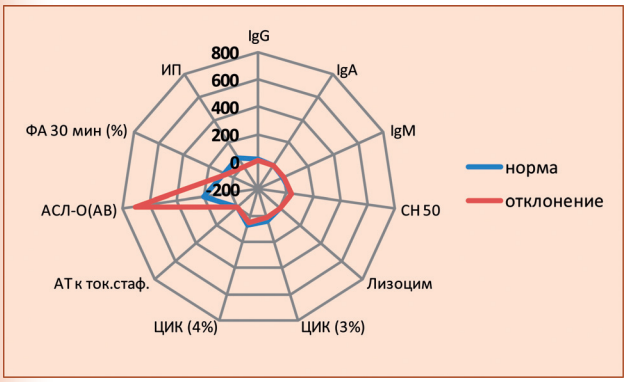

Рис. 6. *Характеристика иммунологических показателей у больных с врожденной расщелиной верхней губы и неба (красным отмечен показатель выше нормы): АТ к ток.стаф – антитела к токсину стафилококка, АСЛ-О(АВ) – антитела к стрептококкам*

Анализ полученных результатов показал, что наиболее существенные нарушения определяются в фагоцитарной функции нейтрофилов. Эти нарушения проявлялись в достоверном снижении ФА нейтрофилов, их переваривающей способности, а также уровня сывороточного лизоцима. Повышение титров антител к стафилококковому α-антитоксину и стрептококкам (АСЛ-О) свидетельствует об адекватной реакции на присутствие на слизистых верхних дыхательных путей золотистого стафилококка и стрептококков группы *D*.

Корреляционный анализ микробиологических и иммунологических показателей выявил прямую корреляционную зависимость между количеством *S.* группы *D* на слизистой со стороны поражения и уровнем сывороточного IgA, ЦИК (средних и мелких), и обратную корреляционную зависимость величины сывороточного лизоцима, незавершенного фагоцитоза (ФА-30) и индекса переваривания нейтрофилов (см. таблицу). Выявлена также прямая корреляционная зависимость между обсемененностью *S. aureus* и *S.* группы *D* слизистой ороназального соустья и ЦИК, сывороточного лизоцима, переваривания нейтрофилов. Коэффициенты корреляции между иммунологическими показателями и микрофлорой слизистой носа со здоровой стороны и зева выявлено не было.

ВЫВОДЫ

1. Дисбиоз слизистой верхних дыхательных путей определяется наличием S. aureus, S. группы D, E. faecalis, дрожжеподобных грибов рода Candida.

2. Обсемененность микрофлорой слизистых носа со стороны расщелины и со здоровой стороны различается как по структуре микробного пейзажа, так и по степени.

3. Наиболее существенные изменения выявлены на слизистых со стороны расщелины и ороназального соустья, проявляющиеся высокой обсемененностью, наличием S. aureus, S. группы D, E. faecalis, и дрожжеподобных грибов рода Candida в концентрации 10^4-10^5 КОЕ/мл.

4. В иммунологических показателях отмечаются нарушения фагоцитарной функции нейтрофилов, характеризующиеся достоверным снижением фагоцитарной активности нейтрофилов и переваривающей способности.

Коэффициенты корреляции величин иммунологических показателей и содержания микроорганизмов на слизистых

Локализация	Микрофлора	ЦИК (3%)	ЦИК (4%)	Лизоцим	IgA	ФА-30	ИП
Сторона поражения	*S. aureus*	0,062	0,146	0,335	0,056	0,077	-0,117
	S. группы *D*	0,734	0,717	-0,730	0,702	-0,755	0,655
Ороназальное соустье	*S. aureus*	0,637	0,602	-0,699	0,589	0,085	0,112
	S. группы *D*	0,755	0,589	0,776	0,659	0,521	0,659

ЛИТЕРАТУРА

1. Приказ Минздрава СССР от 22.04.1985 № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». М., 1985.
2. *Афанасьев С.С., Онищенко Г.Г., Алешкин В.А., Афанасьев М.С.* Интерфероновый статус, препарат интерферона в лечении и профилактики инфекционных заболеваний и реабилитации больных. М.: Триада-Х, 2005.
3. *Бессонов С.Н., Давыдов Б.Н., Пшенисов К.П.* Вторичная ринохейлопластика при врожденных двусторонних расщелинах верхней губы // Стоматология. 2000. №5. С. 54-58.
4. *Вальтер К.* Осложнения ринопластики // Рос. ринология. 1995. №2. С.4-16.
5. Бюллетень нормативных и методических документов Госсанэпиднадзора // М., 2006. Вып. 2 (24).
6. *Извин А.И., Катаева Л.В.* Микробный пейзаж слизистой оболочки верхних дыхательных путей в норме и патологии // Вестн. оториноларинг. 2009. №2. С.64-68.
7. *Козин И.А.* Эстетическая хирургия врожденных расщелин лица. М.: Мартис, 1996. 563 с.
8. *Миронов А.Ю., Савицкая К.И., Воробьев А.А.* Условно-патогенные микроорганизмы при гнойно-воспалительных заболеваниях ЛОР-органов и менингитах // ЖМЭИ. 2000. №2. С.21-25.
9. Правила и техника работы с материалом, поступающим для исследования в микробиологическую (клинической микробиологии) лабораторию: Методические указания. М., 1999.
10. *Constantian M.B.* Differing characteristics in 100 consecutive secondary rhinoplasty patients following closed versus open surgical approusches // Plast. Reconstr. Surg. 2002. V.109, No.2. P.2097-2111.
11. *Salyer K.E.* Early and late treatments of ulateral cleft nasal deformity // Cleft Palate Craniofac. J. 1992. V.29, No.6. P.556-565.
12. *Shih C.W., Sykes J.M.* Correction of the cleft-lip nasal Deformity // Fac. Plast. Surg. 2002. V.18, No.4. P.253-261.