

Abstract

УДК 616.24-002-078:579.8.083.1

N. I. Kovalenko,

T. M. Zamazii,

¹I. V. Novikova,

¹G. P. Taranenko,

Kharkiv National Medical University, 4 Nauky Ave, Kharkiv 61022, Ukraine;

¹Communal non-profit enterprise of the Kharkiv Regional Council "Regional Clinical Hospital", 13 Nezalezhnosti Ave, Kharkiv 61022, Ukraine

ECOLOGICAL ANALYSIS OF OPPORTUNISTIC MICROFLORA IN PNEUMONIA

Actuality: Purulent-inflammatory diseases of the respiratory tract are more often induced (under the influence of different triggers) by endogenous microflora. One of the factors that determine the appropriateness of the choice of antibiotics and, therefore, the beneficial outcome of the disease is the microbial spectrum of causative agents of infection. At the present time, there is increasing information on changes in the composition of human microbiota at various diseases and its role in the pathogenesis of various disorders, including respiratory diseases.

Objective: Studying the species composition of the microflora in non-hospital pneumonia and the determination of the participation of different species in the structure of microbiocenosis.

Materials and methods: Bacteriological research of various clinical materials from 336 patients with pneumonia is conducted. Microbiological examination included an isolation of pathogens, identification by morphological, cultural and biochemical properties.

An ecological analysis of the microflora of clinical material was carried out by studying its structure and functional characteristics using indicators such as the index of constancy, the Berger-Parker domination index.

Results and discussion: During the study of micro-ecological indicators of microflora of patients with pneumonia, the distribution of endogenous microorganisms of nasopharynx in the biocenosis of lungs was revealed, which was confirmed by the indices of constancy and the dominance of Berger-Parker. In the etiological spectrum of infectious factors, fungi of the genus *Candida* and streptococci of *viridans* group, which had a high colonization level, were prevailed. Microorganisms were isolated in both a monocultural and associative form, which contained two to five species. Combinations of bacteria and fungi of the genus *Candida* were the most common, which were registered at 80.7 % (152/187). The associations included not only autochthonous bacteria but also non-specific habitats such as *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *C. xerosis* and *A. baumannii*.

Conclusion: The obtained data have shown that the lungs of patients with pneumonia are actively colonized by the representatives of the microflora of the nasopharynx with certain qualitative and quantitative changes of microbiocenosis. This is manifested in the emergence of transient and random opportunistic microorganisms against the background of reduced domination of the autochthonous

microflora of the nasopharynx. Fungi of the genus *Candida* and streptococci of the viridans group were predominant among the other isolated opportunistic microorganisms and characterized by high colonization levels.

Keywords: opportunistic bacteria, pneumonia.

Corresponding author: karamell6995@ukr.net

Резюме

Н. І. Коваленко,

Т. М. Замазій,

¹⁾І. В. Новікова,

¹⁾Г. П. Тараненко,

Харківський національний медичний університет, пр. Науки, 4, Харків, Україна, 61022;

¹⁾Комунальне некомерційне підприємство Харківської обласної ради «Обласна клінічна лікарня», пр. Незалежності, 13, Харків, Україна, 61022

ЕКОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ УМОВНО-ПАТОГЕННОЇ МІКРОФЛОРИ ПРИ ПНЕВМОНІЯХ

У ході дослідження мікроекологічних показників мікрофлори хворих на пневмонію виявлено поширення ендегенних мікроорганізмів носоглотки у біоценозі легенів, що підтверджувалося індексом постійності та домінування Бергера-Паркера. В етіологічному спектрі інфекційних чинників переважали гриби роду *Candida* та стрептококи групи viridans, які мали високий колонізаційний рівень. Мікроорганізми висівалися як у монокультурній, так і асоціативній формі, яка налічувала від двох до п'яти видів. Найпоширенішими були комбінації бактерій і грибів роду *Candida*, які реєструвалися у 80,7 % (151/187). До складу асоціацій входили не лише автохтонні бактерії, а й нехарактерні для біотопу, такі як *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *C. xerosis* та *A. baumannii*.

Ключові слова: умовно-патогенні мікроорганізми, пневмонія.

Автор, відповідальний за листування: karamell6995@ukr.net

Вступ

Гнійно-запальні захворювання дихальних шляхів продовжують залишатися однією з актуальних проблем сучасної медицини. Пульмонологи частіше мають справу з ендегенними, а не екзогенними інфекціями, тобто з патологією, індукованою (під впливом різних пускових факторів) ендегенною мікрофлорою, що підтверджується роботами декількох останніх років [1, 2].

Одним із факторів, що визначає доцільність вибору антибіотиків і, отже, сприятливий результат захворювання є мікробний спектр збудника інфекції. На даний час з'являється все більше інформації про зміну складу мікробіоти людини при різних захворюваннях і її ролі в патогенезі різних розладів, у тому числі хвороб органів дихання [1, 2, 3].

Мета дослідження: вивчення видового складу мікрофлори при не госпітальних пневмоніях та визначення частки участі різних видів у структурі мікробіоценозу.

Матеріали і методи досліджень

Дослідження виконано на базі Комунального некомерційного підприємства Харківської обла-

сної ради «Обласна клінічна лікарня». У роботі використані результати бактеріологічних досліджень різного клінічного матеріалу від 336 хворих на пневмонію. У якості клінічного матеріалу були промивні води бронхів і мокротиння.

Мікробіологічне дослідження полягало у виділенні збудників та ідентифікації за морфологічними, культуральними і біохімічними властивостями культур відповідно до Наказу МОЗ СРСР № 535 від 22.04.1985р. [4].

Екологічний аналіз мікробного пейзажу клінічного матеріалу здійснювали шляхом вивчення його структури та функціональних характеристик з використанням показників: індексу постійності [5], індексу домінування Бергера-Паркера [6].

Індекс постійності розраховували за формулою: $C\% = p \cdot 100/P$, де $C\%$ – індекс постійності, p – кількість зразків, у яких виявлений вид, що досліджується, P – загальна кількість проаналізованих зразків. Залежно від отриманих значень усі види поділили на домінуючі або постійні ($C > 50\%$), рідкісні або додаткові ($25\% < C < 50\%$) і випадкові ($C < 25\%$).

Визначення колонізаційного рівня або кількісний облік щільності популяції мікроорганізмів проводили шляхом підрахунку життєздатних колонієутворюючих одиниць бактерій в 1 мл клінічного зразка і виражали десятичним логарифмом (lg КУО/мл).

Індекс домінування Бергера-Паркера, який означає відносну значимість найбільш поширеного виду, розраховували за формулою: $d = N_{\max}/N$, де d – індекс домінування, N_{\max} – кількість особин найбільш поширеного виду, N – кількість особин виду, що досліджується.

Результати досліджень та їх обговорення

Всього було виділено 617 штамів мікроорганізмів, які було віднесені до 11 родів і 17 видів (табл. 1). Популяційний склад мікробного пейзажу дослідженого клінічного матеріалу був представлений факультативно-анаеробними і аеробними бактеріями та грибами. За індексом постійності лише гриби роду *Candida* були від-

несені до рідкісних або додаткових, а всі інші види – до випадкових.

При аналізі частоти висівання мікроорганізмів із усіх досліджених матеріалів виявлено значну перевагу грибів роду *Candida* (37,4 %) і грампозитивних бактерій, а саме *Streptococcus* групи *viridans* (22,5 %) і *S. aureus* (6,3 %) (табл. 1). Серед грамнегативних бактерій значно домінували *K. pneumoniae* (13,6 %) та *P. aeruginosa* (6,2 %). Інші умовно-патогенні бактерії були представлені в межах 0,3-2,6 % (табл. 1). Хоча серед виділених мікроорганізмів були відсутні домінантні види, частина їх представляла нормальну мікрофлору носоглотки, проте досліджений мікробіоценоз характеризувався появою широкого спектру транзиторних видів. Бактерії родів *Escherichia*, *Enterococcus*, *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Proteus* виділялися в поодиноких випадках, але їх рівень колонізаційної щільності сягав від 5,0 до 9,0 lg КУО/г (табл. 2).

Таблиця 1 – Видовий склад мікрофлори, виділеної із клінічного матеріалу при пневмоніях

Мікроорганізм	Частота висівання мікроорганізмів (абсолютне значення/%)					
	Загальна	У моно- культурі	В асоціаціях			
			Дво- компонентних	Три- компонентних	Чотири- компонентних	П'яти- компонентних
<i>Streptococcus</i> групи <i>viridans</i>	139/22,5	39/28,1	68/48,9	25/18,0	6/4,4	1/0,7
<i>K. pneumoniae</i>	84/13,6	12/14,3	26/30,9	36/42,9	8/9,5	2/2,4
<i>S. aureus</i>	39/6,3	2/5,1	20/51,3	12/30,8	3/7,7	2/5,1
<i>P. aeruginosa</i>	38/6,2	11/28,9	10/26,3	14/36,8	3/7,9	-
<i>S. anhaemolyticus</i>	16/2,6	3/18,8	10/62,5	3/18,7	-	-
<i>E. faecium</i>	15/2,4	1/6,7	4/26,6	8/53,3	1/6,7	1/6,7
<i>E. faecalis</i>	12/1,9	-	8/66,7	3/25	1/8,3	-
<i>S. epidermidis</i>	10/1,6	4/40	3/30	3/30	-	-
<i>P. mirabilis</i>	7/1,1	-	-	4/57,1	2/28,6	1/14,3
<i>E. coli</i>	6/1	-	1/16,7	4/66,6	1/16,7	-
<i>S. pyogenes</i>	4/0,6	2/50	2/50	-	-	-
<i>A. baumannii</i>	4/0,6	2/50	2/50	-	-	-
<i>S. pneumoniae</i>	3/0,5	1/33,3	2/66,7	-	-	-
<i>P. vulgaris</i>	3/0,5	-	-	1/33,3	1/33,3	1/33,3
<i>E. cloacae</i>	2/0,3	-	1/5-	-	-	1/50
<i>E. aerogenes</i>	2/0,3	1/50	-	1/50	-	-
<i>C. xerosis</i>	2/0,3	1/50	1/50	-	-	-
<i>Candida spp.</i>	231/37,4	70/30,3	106/45,9	44/19,0	9/3,9	2/0,9

Таблиця 2 – Екологічна характеристика мікрофлори, виділеної із клінічного матеріалу при пневмоніях

Мікроорганізм	Індекс постійності, %	Індекс домінування Бергера-Паркера	Колонізаційний рівень, Іг КУО/г (M±m)
<i>Streptococcus</i> групи <i>viridans</i>	22,5	1,7	5,2 ± 0,5
<i>K. pneumoniae</i>	13,6	2,8	5,0 ± 0,5
<i>S. aureus</i>	6,3	5,9	3,8 ± 0,3
<i>P. aeruginosa</i>	6,2	6,1	5,2 ± 0,4
<i>S. anhaemolyticus</i>	2,6	14,4	5,0 ± 0,5
<i>E. faecium</i>	2,4	15,4	5,9 ± 0,6
<i>E. faecalis</i>	1,9	19,3	5,0 ± 0,4
<i>S. epidermidis</i>	1,6	23,1	6,7 ± 0,5
<i>P. mirabilis</i>	1,1	33,0	6,0 ± 0,5
<i>E. coli</i>	1	38,5	5,3 ± 0,5
<i>S. pyogenes</i>	0,6	57,8	6,7 ± 0,6
<i>A. baumannii</i>	0,6	57,8	4,0 ± 0,4
<i>S. pneumoniae</i>	0,5	77,0	8,0 ± 0,6
<i>P. vulgaris</i>	0,5	77,0	5,8 ± 0,5
<i>E. cloacae</i>	0,3	115,5	6,0 ± 0,4
<i>E. aerogenes</i>	0,3	115,5	9,0 ± 0,6
<i>C. xerosis</i>	0,3	115,5	8,0 ± 0,6
<i>Candida spp.</i>	37,4	1,0	3,7 ± 0,4

Аналіз мікроекологічних показників мікрофлори продемонстрував, що за індексами постійності і домінування, представники нормальної мікрофлори носоглотки стрептококи групи *viridans* переважали у дослідженому мікробіоценозі (індекс Бергера-Паркера становив 1,7, колонізаційний рівень – 5,2 Іг КУО/г) (табл. 2). Дещо поступався їм за значеннями *S. aureus* (індекс Бергера-Паркера становив 5,9, колонізаційний рівень – 3,8 Іг КУО/г).

Бактеріологічне дослідження складу мікрофлори показало, що мікрофлора була представлена великою кількістю асоціацій мікроорганізмів, які висівалися у 187 хворих (56,7 %) (табл. 3). Усі виділені мікроорганізми частіше за все висівалися в асоціаціях, ніж у монокультури. Монокультура була виділена з клінічного матеріалу 149 хворих (43,3 %). Найчастіше виявлялися гриби роду *Candida* (у 70 хворих або 30,3 %), *P. aeruginosa* (у 11 хворих або 28,9 %), стрептококи групи *viridans* (у 39 хворих або 28,1 %) (табл. 1). Ступінь колонізації для них становив 3,7 Іг КУО/г для грибів роду *Candida* та 5,2 Іг КУО/г для бактерій (табл. 2). У 136 хворих

(40,5 %) це були двокомпонентні асоціації, до яких належала більшість виділених бактерій (264 штами або 40,5 %). У 158 хворих (12,2 %) висівалися трикомпонентні асоціації, у 36 хворих (2,4 %) – чотирикомпонентні, а у 10 хворих (0,6 %) було виділено 5 видів мікроорганізмів. Найпоширенішими були комбінації бактерій і грибів роду *Candida*, які реєструвалися у 151 випадках (80,7 %) (табл. 4). Наступними за частотою виділення були поєднання грампозитивних і грамнегативних бактерій (21 хворий або 11,3 %). До складу таких асоціацій належали частіше за все *K. pneumoniae* (17 хворих або 81 %), стрептококи групи *viridans* (6 хворих або 28,6 %) та *E. faecalis* і *E. faecium* (по 5 хворих або 24,0 %). Ступінь обсіменіння становив від 5,0 до 5,9 Іг КУО/г. Асоціації грампозитивних бактерій реєструвалися у 9 хворих (4,8 %), а грамнегативних – у 6 хворих (3,2 %). У складі асоціацій грампозитивних бактерій переважали *S. aureus* та стрептококи групи *viridans*, а *K. pneumoniae* виділялася у складі всіх асоціацій грамнегативних бактерій.

Таблиця 3 – Асоціації мікроорганізмів, що виявлені у клінічному матеріалі при пневмоніях

	Моно-культура	Асоціації			
		Двокомпонентні	Трикомпонентні	Чотирикомпонентні	П'ятикомпонентні
Кількість пацієнтів = 336	149	136	41	8	2
Відносна кількість асоціацій, %	24,2	42,8	25,6	5,8	1,6
Кількість виділених штамів = 617	149	264	158	36	10

Серед двокомпонентних асоціацій переважали комбінації грибів роду *Candida* зі стрептококами групи *viridans* (62 хвори х або 33,2%), *S. aureus* і *K. pneumoniae* (по 11 хворих або 6,0%), *S. anhaemolyticus* (8 хворих або 4,3%) та *P. aeruginosa* (6 хворих або 3,2%). Усі інші варіанти сумісного виділення мікроорганізмів становили менше 2%. Незважаючи на переважання стрептококів у дослідженому матеріалі, вони не були домінуючими, за індексом постійності, що призводило до більш інтенсивного заселення грамнегативними і грампозитивними бактеріями, не характерними для біотопу носог-

лотки. Такими були *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *C. xerosis* та *A. baumannii*, колонізаційний рівень яких становив від 5,0 до 9,0 lg КУО/г. Крім того, транзиторні види *S. pyogenes*, *S. aureus*, *S. epidermidis* і *S. pneumoniae* також характеризувалися високим рівнем колонізаційної щільності популяції (від 5,0 до 8,0 lg КУО/г). Поширення транзиторних та випадкових мікроорганізмів у дослідженому біотопі свідчить про формування дисбіозу слизової оболонки на фоні ослаблення місцевого імунітету.

Таблиця 4 – Склад асоціацій мікроорганізмів, виявлених у клінічному матеріалі при пневмоніях

Мікроорганізм	Частота виділення асоціацій	
	Абсолютна кількість	Відносна кількість, %
Бактерії + гриби роду <i>Candida</i>	151	80,7
Грампозитивні бактерії + грамнегативні бактерії	21	11,3
Грампозитивні бактерії	9	4,8
Грампозитивні бактерії	6	3,2

Таким чином, проведені дослідження показали, що у хворих на пневмонію відбувається активна колонізація легень представниками мікрофлори носоглотки з певними якісними і кількісними змінами мікробіоценозу. Це проявля-

ється у збільшенні показників колонізаційної щільності, а також у появі транзиторних та випадкових умовно-патогенних мікроорганізмів на фоні зниження домінування автохтонної мікрофлори носоглотки.

Висновки

1. При дослідженні клінічного матеріалу 336 хворих на пневмонію було виявлено, що етіологічний спектр інфекційних чинників при пневмоніях представлений умовно-патогенною мікрофлорою з переважанням грибів роду *Candida* та стрептококів групи *viridans*, які характеризувалися високим колонізаційним рівнем. Наступними за поширеністю були *K. pneumoniae*, *S. aureus* та *P. aeruginosa*. Колонізаційний рівень мікроорганізмів становив 3,7 lg КУО/г для гри-

бів роду *Candida* і 5,0-9,0 lg КУО/г для бактерій.

2. Мікроорганізми висівалися як у монокультурній (43,3% хворих), так і асоціативній формі (56,7% хворих), яка налічувала від двох до п'яти видів бактерій і грибів роду *Candida*. До складу асоціацій входили не лише автохтонні бактерії носоглотки (*S. aureus*, стрептококи групи *viridans*, *S. pyogenes*, *S. anhaemolyticus*), а й нехарактерні для біотопу, такі як *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *C.*

xerosis та *A. baumannii*, колонізаційний рівень яких становив від 5,0 до 9,0 Іг КУО/г.

3. Висівання мікроорганізмів із клінічного матеріалу 56,7 % хворих в асоціативній формі із рівнем колонізаційної щільності від 5,0 до 9,0 Іг КУО/г свідчить про зниження колонізаційної резистентності і розвиток умовно-патогенної

мікрофлори, яка чинить вплив на патогенез захворювання.

4. Виявлені особливості мікробіоценозу у хворих на пневмонію вказують на необхідність застосування схем лікування, які містять засоби широкого спектру протимікробної дії, а також сприяють відновленню нормальної мікрофлори.

References (список літератури)

1. Dzhoraeva SK, Goncharenko VV, Wegoleva EV. [Composition and functions microbiocenosis of different macroorganism biotope and clinical significance of their disturbances]. *Dermatologija ta venerologija*. 2015;2(68):5-19.
2. Rekalova EM. [Opportunistic microflora in nonspecific lungs diseases]. *Ukrains'kij pul'monologichnij zhurnal*. 2003;3:65-69.
3. Shostakovich-Koretskaya LR. [The Problem of antimicrobial resistance in the treatment of acute respiratory infections in children]. *Zhurnal «Zdorov'e rebenka»*. 2011;3(30). Retrieved from: <http://www.mifua.com/archive/article/21925>.
4. On the Unification of microbiological (bacteriological) research methods used in clinical diagnostic laboratories of medical institutions: Ministry of Public Health of USSR Mandate dated 22.04.1985 № 535. 123p.
5. Sytnik SI. [Ecological approach to the assessment of cutaneous microflora]. *Antibiotics and chemotherapy*. 1989;34(6):466-472.
6. Lebedeva NV, Krivoluckij DA, Puzachenko JuG. *Geografija i monitoring bioraznoobrazija [Geography and monitoring of biodiversity]*. Moskva: Izdatel'stvo Nauchnogo i uchebno-metodicheskogo centra Publ., 2002. 432 p.

(received 20.03.2019, published online 25.06.2019)

(одержано 20.03.2019, опубліковано 25.06.2019)