

Министерство здравоохранения Украины
Киевский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и инфекционных болезней
им. Л.В. Громашевского

На правах рукописи

АБДО Саид Саад

УДК 576.851.214:611.2-018.73:612.654

**КОНТАМИНАЦИЯ ПНЕВМОКОККОМ
СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ВЕРХНИХ
ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У ДЕТЕЙ
ДОШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА**

(03.00.07. - Микробиология)

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Киев - 1996



579

Работа выполнена во Львовском государственном университете им. И. Франка и Львовском институте вирусологии и иммунологии МЗ Украины.

Научные руководители: доктор медицинских наук,
проф. Колотилова Л.В.,
кандидат биологических наук
доц. Гудзь С.П.

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук,
Шапиро А.В.
доктор биологических наук,
проф. Федоровская Е.А.

Ведущая организация: Киевский институт усовершенствования
врачей МЗ Украины.

Защита состоится "14" мая 1996 г. в ___ часов
на заседании Специализированного Совета D502202 при Киевском научно-исследовательском институте эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В.Громашевского по адресу:
252038 г.Киев-38, Спуск Протасив Яр, 4

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке института.

Автореферат разослан "13" 04

1996
ЛНБ ім. В. Стефаника
АН України

Ученый секретарь
Специализированного Совета,
кандидат медицинских наук

Л.С. КРАСЮК

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ. Для понимания особенностей пневмококковой инфекции и разработке мер по ее профилактике решающее значение имеет принцип экологического подхода. В этой связи оправдан повышенный интерес многих исследователей к проблеме взаимоотношения микро- и макроорганизма. За последнее время микробиологической наукой накоплен достаточно обширный материал, позволяющий считать пневмококк ответственным за возникновение таких заболеваний, как острые и хронические респираторные заболевания, синуситы, конъюнктивиты, отиты, менингиты, целлюлиты, эндокардиты, остеомиелиты, перитониты, бактериемия и абсцессы различных локализаций.

Поскольку инфекционное заболевание является конечным результатом взаимоотношения возбудителя и макроорганизма, весьма важное значение имеет всестороннее изучение характера этого взаимодействия, начиная с момента первичной встречи микро- и макроорганизма. Определенную роль при развитии заболевания или формировании носительства имеют биологические особенности патогена, в том числе способность к выживанию и размножению в макроорганизме. Без детального изучения культуральных, морфологических и физиологических свойств микроорганизма, определения степени патогенности и чувствительности к антибиотикам весьма затруднительна оценка его этиологической и эпидемиологической роли.

Между тем, вопросы экологии пневмококка продолжают оставаться актуальными и недостаточно исследованными. Мало изучены особенности колонизации пневмококком слизистой оболочки верхних дыхательных путей детей дошкольного возраста, проживающих в различных экологических условиях. Недостаточ-

но полно проведены наблюдения за интенсивностью, продолжительностью и сезонностью персистенции этого микроба.

Важным звеном в цепи мероприятий по профилактике заболеваний верхних дыхательных путей пневмококковой этиологии, на наш взгляд, является санация носоглотки носителей этого микроорганизма, однако до настоящего времени этот вопрос недостаточно изучен. Несмотря на положительные результаты вакцинопрофилактики, широкое внедрение вакцин не всегда целесообразно. Это объясняется широким спектром циркулирующих штаммов пневмококка, временной и территориальной вариабельностью серологического пейзажа этого возбудителя. Поэтому важным представлялось изыскать новые методы, направленные на элиминацию возбудителя из макроорганизма.

Цель работы: разработать новый метод санации бактерионосителей пневмококка на основании изучения особенностей микророзколки возбудителя и его биологических свойств.

Для реализации этой цели в работе были поставлены следующие задачи:

- изучить особенности колонизации пневмококком слизистой оболочки верхних дыхательных путей детей, больных хроническими респираторными заболеваниями;
- определить частоту, ареал и интенсивность контаминации пневмококком слизистой оболочки верхних дыхательных путей у здоровых детей;
- проследить продолжительность контаминации пневмококком слизистой оболочки верхних дыхательных путей у здоровых детей;
- изучить биологические свойства выделенных штаммов;
- разработать и провести апробацию нового метода санации бактерионосителей.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА

1. В результате проведенных исследований получены новые данные по экологии пневмококка в зависимости от условий окружающей среды.
2. Установлена роль пневмококка в поддержании хронического патологического процесса на слизистой оболочке респираторного тракта у детей (ринит, назофарингит, фарингит, тонзиллит).
3. Получены новые данные о взаимосвязи ареала и интенсивности контаминации пневмококком слизистой оболочки верхних дыхательных путей с клинической формой заболевания. Широкий ареал с микробным обсеменением слизистой оболочки носа и глотки чаще наблюдался при хронических фарингитах и назофарингитах. У больных хроническим ринитом и тонзиллитом преобладала локальная микробная колонизация.
4. Впервые установлена прямая зависимость частоты носительства пневмококка от экологических условий окружающей среды в местах проживания детей.
5. Получены новые данные о способности пневмококка усиливать бетагемолиз золотистого стафилококка (САМР-феномен).
6. Впервые показана прямая корреляция между колонизационной активностью пневмококка и его резистентностью к бактериоцинам.
7. Разработан, апробирован и одобрен Фармакологическим комитетом метод санации носителей пневмококка.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РАБОТЫ

1. Установлен высокий $/30,0 \pm 2,0\%$ уровень носительства пневмококка с массивной микробной контаминацией 5,1-6,3 Ig/мл у детей, проживающих в районах добычи и переработки серы.
2. Получены новые данные о роли пневмококка при хронических воспалительных процессах на слизистых оболочках верхних дыхательных путей.
3. Впервые установлена зависимость продолжительности носительства пневмококка от его ареала контаминации.
4. Установлена тенденция повышения резистентности пневмококка к антибиотикам.
5. Усовершенствован метод определения лизоцимной активности пневмококка.
6. Разработан и апробирован новый метод санации носителей пневмококка лактобактерином. Санлирующий эффект при фарингеальном носительстве составлял 100,0 %.

ПУБЛИКАЦИИ: по теме диссертации опубликовано 6 научных работ в научных журналах и сборниках, МОЗ Украины 03.11.1995 года утверждено нововведение "Способ санации лактобактерином носоглотки бактерионосителей", № 6.04-03/146.

АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ. Материалы диссертации доложены на международной научной конференции, посвященной 150-летию со дня рождения И.Мечникова "Идеи И.Мечникова в развитии современного естествознания." (Харьков, 1995); заседании Львовского отделения Украинского микробиологического общества (Львов, 1995); съезде гигиенистов Украины (Киев, 1996).

СТРУКТУРА И ОБЪЕМ РАБОТЫ. Диссертация состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка используемой литературы. Работа изложена на 120 страницах машинописи, иллюстрирована 31 таблицами и 3 рисунками. Список литературы содержит 211 источников.

**ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ ДИССЕРТАЦИИ, КОТОРЫЕ
ВЫНОСЯТСЯ НА ЗАЩИТУ:**

1. Роль пневмококка в развитии воспалительного процесса при респираторной патологии у детей дошкольного возраста.
2. Зависимость частоты, ареала и интенсивности контаминации пневмококком слизистой оболочки верхних дыхательных путей здоровых детей от экологических условий окружающей среды.
3. Наличие сезонных особенностей в частоте и интенсивности контаминации пневмококком слизистой оболочки верхних дыхательных путей.
4. Продолжительность бактерионосительства пневмококка у детей дошкольного возраста.
5. Взаимосвязь ареала и интенсивности контаминации пневмококком с клинической формой заболевания.
6. Зависимость интенсивности контаминации слизистой респираторного тракта пневмококком от его адгезивных свойств.
7. Новый метод санации глотки детей - носителей пневмококка лактобактерином.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для решения поставленных задач было проведено бактериологическое исследование отделяемого глотки и носа здоровых детей и больных с хронической респираторной патологией верхнего дыхательного тракта. Обследовались дети в возрасте 4-7 лет, посещающие детские дошкольные учреждения городов и районов Львовской области.

На протяжении 1992-1995 гг. в течении всех сезонов нами обследованы 1297 детей, 776 из которых были практически здоровы, а 521 страдали различными хроническими респираторными заболеваниями. В результате бактериологических исследований, проведенных нами в 1992-1995 гг., было выделено 395 штаммов пневмококка, из них 264 штамма от здоровых и 134 от больных хроническими заболеваниями.

Материал для первичных посевов забирали отдельно со слизистой оболочки носа и задней стенки глотки, включая область миндалин, стерильным ватным тампоном платоцак или через 3-4 часа после еды. Содержимое тампона тщательно отмывали в 5 мл физраствора и получали исходное разведение слизи 10^{-1} . С целью определения числа микробных клеток в 1 мл слизи из полученной взвеси петлей производили посев на чашке Петри с 5,0% кровяным агаром согласно методике, разработанной А.В. Шапиро (1984). Посевы инкубировали 24 - 48 часов при 37 °С. Число колониобразующих единиц (КОЕ) выражали в lg/мл назофарингеальной слизи. Метод позволяет не только определять интенсивность контаминации, но и выделять возбудитель в чистой культуре.

Дифференциацию пневмококка от других видов альфа-гемолитических стрептококков проводили на основании изучения

морфологии колоний и бактериальных клеток, выявления САМР-феномена, характерного роста на среде для контроля стерильности, лизиса клеток 10% желчью и наличия капсул. Эти исследования проводили по общепринятым микробиологическим методам.

Наличие капсул у штаммов пневмококка выявляли при помощи окраски тушью методом Гинса-Бури. Выявление САМР-феномена проводили по методу, разработанному Л.В.Колотиловой (1992). Адгезивную активность изучали на эпителиальных (буккальных) клетках человека по методу R.I.Gibbons, Van Houte (1975). Чувствительность пневмококка к бактериоцинам стафилококка изучали по методу Д.Т.Кудлай (1966) в модификации В.Б.Ломницкой, Т.С.Луцк (1987).

Чувствительность пневмококка к 10-ти антибиотикам определяли по общепринятым методам диффузии в агаре на среде АГВ с добавлением 5,0% крови при помощи стандартных дисков с антибиотиками.

Лизоцимную активность определяли по методу О.В.Бухарина (1981) в собственной модификации (рац.предложение № 62 от 01.02.1995 г, выдано Львовским НИИЭГ). В 5мл остуженного полужидкого 0,7% агара вносили 0,1 мл взвеси суточной культуры *Micrococcus Lyzodecticus* (10 единиц по стандарту мутности), смесь тщательно перемешивали и наслаивали на чашку Петри с питательным агаром. На застывшую и подсушенную поверхность каплями наносили суточную культуру пневмококка из среды для контроля стерильности. На одну чашку помещали 8-10 штаммов пневмококка, посеы культивировали 24 часа при 37 °С. Результаты оценивали по величине зоны лизиса микрококка вокруг места нанесения культуры пневмококка.

Статистический анализ полученных результатов проведен по общепринятым методикам (Г.Б.Пастнова, 1972; М.П.Деркач с соавт. 1977; Г.Ф.Лакин 1980).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Контаминация пневмококком слизистой оболочки верхних дыхательных путей больных хроническими респираторными заболеваниями

Бактериологически был обследован 521 ребенок в период обострения хронического респираторного заболевания. Из числа обследованных пневмококк был выделен у $21 \pm 2,0\%$ детей. Установлена четкая зависимость между высеваемостью указанного возбудителя и клинической формой заболевания. Максимальная высеваемость пневмококка отмечена у больных хроническим фарингитом, минимальная - при хроническом назофарингите. Частота положительных результатов колебалась от $6,0 \pm 2,0\%$ до $58,0 \pm 5,0\%$.

Результаты раздельного исследования слизи глотки и носа позволили определить ареал пневмококковой контаминации. У $12,0 \pm 1,0\%$ больных возбудитель высевался со слизистой глотки, у $4,0 \pm 1,0\%$ - со слизистой носа. Более широкий ареал контаминации, когда пневмококк обнаруживался в слизи глотки и носа одновременно, наблюдался у $5,0 \pm 1,0\%$ больных хроническими респираторными заболеваниями.

Изучение интенсивности контаминации пневмококком при различных клинических формах респираторной патологии у наблюдаемых больных показали четкую взаимосвязь интенсивности микробной колонизации и локализации воспалительного очага.

При обострении воспалительного процесса на слизистой глотки отмечался максимальный уровень пневмококковой контаминации, который был равен $6,2 \pm 0,2$ lg КОЕ/мл фарингеальной слизи. Обострение хронического тонзиллита сопровождалось выделением патогена в количестве $5,1 \pm 0,2$ lg.

Проведенные бактериологические исследования слизистого отделяемого из носа этих больных выявили, что количество изолированных пневмококков не превышало $4,1 \pm 0,3$ и $4,3 \pm 0,2$ lg, то есть было значительно ниже, чем на слизистой ротоглотки - в очаге воспаления.

У больных назофарингитом количество выделяемых пневмококков было значительным как в глоточной, так и в носовой слизи, и составляло $5,6 \pm 0,2$ и $5,2 \pm 0,3$ lg КОЕ/мл соответственно.

При обострении хронического ринита интенсивность контаминации пневмококком достигала $6,0 \pm 0,3$ lg КОЕ/мл назальной слизи (табл. 1).

Контаминация пневмококком слизистой оболочки верхних дыхательных путей здоровых детей дошкольного возраста

Для получения достоверных данных о распространении пневмококкового носительства были обследованы 776 детей, посещавших дошкольные учреждения 5 городов Львовской области с различными экологическими условиями окружающей среды. Носительство пневмококка выявлено у 198 детей, что составляет $26,0 \pm 2,0\%$.

Вместе с тем, было обнаружено далеко неравномерное распределение носителей среди детей, проживающих в различных экологических зонах. Так, в зонах добычи и переработки серы количество носителей оказалось наивысшим и составляло $35,0 \pm 5,0\%$ в Немироде и по $28,0 \pm 4,0\%$ в Новояворовске и Яворо-

ве (зоны добычи и переработки серы). Среди детей из сельскохозяйственной зоны (с. Рудки) и крупного промышленного города (г. Львов) этот показатель был намного ниже и составлял $20,0 \pm 4,0\%$ и $22,0 \pm 2,0\%$ соответственно ($P=0,05$).

Таблица 1

Частота, ареал и интенсивность контаминации пневмококком слизистой оболочки верхних дыхательных путей больных хроническими респираторными заболеваниями

Диагноз заболевания	Частота контаминации (%±m)	Ареал контаминации (%±m)			Интенсивность контаминации (lg КОЕ/мл)	
		глотка	глотка+нос	нос	глотка	нос
Хронический фарингит	$58,0 \pm 5,0$	$40,0 \pm 5,0$	$17,0 \pm 4,0$	$1,0 \pm 1,0$	$6,2 \pm 0,2$	$4,3 \pm 0,2$
Хронический тонзиллит	$24,0 \pm 3,0$	$18,0 \pm 3,0$	$2,0 \pm 1,0$	$4,0 \pm 1,0$	$5,1 \pm 0,2$	$4,1 \pm 0,3$
Хронический назофарингит	$6,0 \pm 3,0$	0,0	$5,0 \pm 2,0$	$1,0 \pm 1,0$	$5,6 \pm 0,2$	$5,2 \pm 0,3$
Хронический ринит	$11,0 \pm 3,0$	0,0	$1,0 \pm 1,0$	$10,0 \pm 1,0$	$5,0 \pm 0,0$	$6,0 \pm 0,3$
Средний показатель	$21,0 \pm 2,0$	$12,0 \pm 1,0$	$5,0 \pm 1,0$	$4,0 \pm 1,0$	$5,8 \pm 0,1$	$4,9 \pm 0,1$

При оценке эпидемиологической значимости носительства существенное значение имеет ареал микробной контаминации. Результаты отдельных исследований слизи глотки и носа показали, что у $7,0 \pm 1,0\%$ носителей пневмококк высевался только со слизистой глотки. Значительно чаще, в $14,0 \pm 1,0\%$, этот возбудитель обнаруживался на слизистой оболочке носа. Более широкий ареал контаминации, когда пневмококк одновременно высевался со слизистой глотки и носа, наблюдался у $5,0 \pm 1,0\%$ носителей.

Представлялось важным сопоставить частоту отдельных типов носительства пневмококка у детей, проживающих в различных экологических условиях окружающей среды. Установлено, что в крупном промышленном городе (Львов) удельный вес фа-

рингеальной локализации очага составлял 32,0% от числа носителей, фарингеально-назальной - 32,0%. Среди детей сельской местности преобладали назальный (47,0%) и назально-фарингеальный (33,0%) типы носительства. В зоне добычи и переработки серы отмечался высокий удельный вес носителей, у которых пневмококк высевался только со слизистой оболочки носа. Так, в гг. Немирове и Новояворовске назальная контаминация установлена у 74,0-70,0% от числа выявленных носителей пневмококка (рис. 1).

Суммируя результаты бактериологического исследования назальной и фарингеальной слизи, можно отметить более частое выделение пневмококка со слизистой оболочки носа (в $19,0 \pm 1,0\%$). На слизистой глотки этот возбудитель обнаруживался у $12,0 \pm 1,0\%$ детей ($P=0,001$).

Интенсивность колонизации пневмококком имела выраженную зависимость от места проживания детей. Максимальное количество вегетирующих на слизистой верхних дыхательных путей пневмококков отмечалось у детей из зоны добычи и переработки серы. Интенсивность контаминации слизистой глотки этих детей была в пределах $6,0 \pm 0,1$ - $6,5 \pm 0,2$ lg КОЕ/мл. Количество изучаемых микробов у детей из сельскохозяйственного региона составляло $5,7 \pm 0,2$ lg КОЕ/мл фарингеальной слизи. Более низкие показатели отмечались у детей, проживающих во Львове - $5,1 \pm 0,2$ lg.

Такая же тенденция наблюдалась при изучении интенсивности контаминации пневмококком слизистой носа. У детей сероносных геопровинций средние показатели колебались от $4,7 \pm 0,2$ до $5,4 \pm 0,2$ lg КОЕ/мл слизи, у носителей г. Львова они составляли $4,9 \pm 0,1$ lg, а у сельских детей они были наименьшими - $4,0 \pm 0,1$ lg КОЕ/мл ($P=0,001$) (табл. 2).

Представлялось важным изучить сезонное распространение пневмококка среди детей дошкольных учреждений. Установлен рост носительства в зимне-весенний периоды года, когда количество выявленных носителей достигало $36,0 \pm 3,0$ и $38,0 \pm 3,0\%$. Этот показатель снижался до $26,0 \pm 3,0\%$ в летний и до $21,0 \pm 3,0\%$ в осенний сезоны. Причем такая тенденция характерна для всех наблюдаемых регионов области. Интенсивность контаминации также имела сезонные колебания, особенно при выделении пневмококка со слизистой глотки. В период зимне-весеннего роста носительства повышалась степень микробного обсеменения до $5,6 \pm 0,1$ - $5,8 \pm 0,2$ lg против $4,9 \pm 0,2$ - $5,0 \pm 0,1$ lg КОЕ/мл глоточной слизи в летне-осенний период года. Интенсивность контаминации слизистой оболочки носа существенно не изменялась и составляла $4,3 \pm 0,1$ - $4,5 \pm 0,2$ lg, за исключением летнего сезона, когда среднее количество выделяемых микробных клеток возрастало до $5,4 \pm 0,2$ lg КОЕ/мл назальной слизи.

Обращает на себя внимание интенсивная контаминация пневмококком слизистой носа в летний сезон, когда средний показатель микробного обсеменения составлял до $5,4 \pm 0,2$ lg КОЕ/мл, что значительно выше его значения в остальные периоды года ($P=0,001$).

Как отмечалось, вопрос о продолжительности персистенции пневмококка изучен недостаточно. В результате наших исследований установлено, что максимальный период контаминации пневмококком слизистой глотки составлял 9 месяцев, средний - $4,2 \pm 0,2$ месяца.

Результаты исследований назальной слизи в динамике наблюдения показали, что максимальный период бактериовыделения не превышал 2 месяца, а средний - 25 ± 1 дней.

Ареал контаминации пневмококком слизистой верхних дыхательных путей носителей
1 - Львов; 2 - Новояворовск; 3 - Яворов; 4 - Немиров; 5 - Рудки

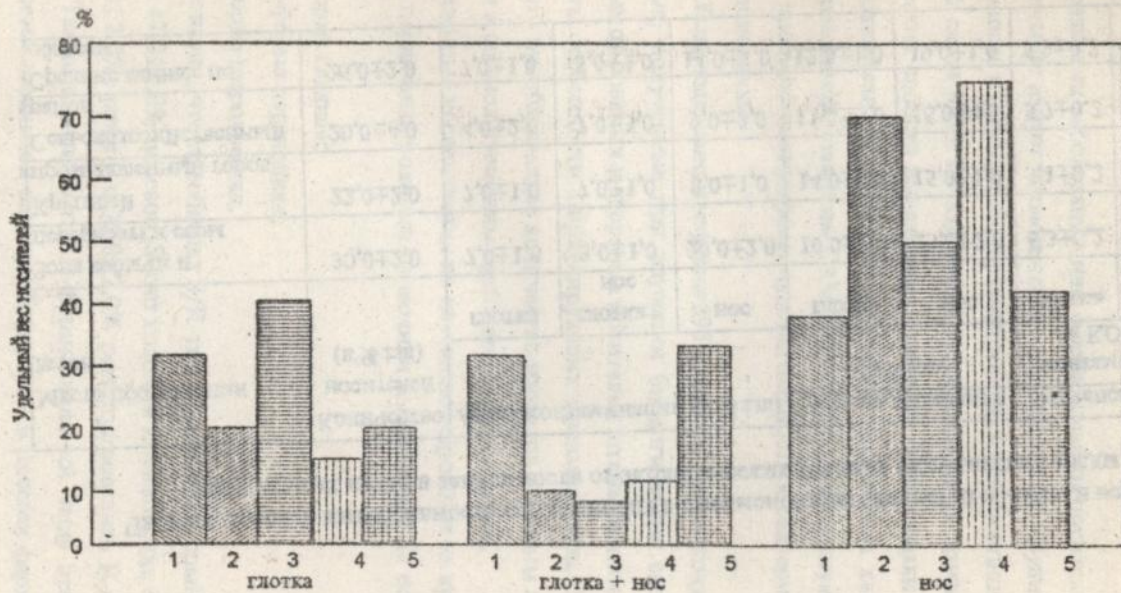


Рис. 1.

Таблица 2

Частота, ареал и интенсивность контаминации пневмококком слизистой оболочки верхних дыхательных путей в зависимости от экологических условий окружающей среды

Место проживания детей	Количество носителей (в %±m)	Ареал контаминации (в %±m)			Частота выделения (в %±m)		Интенсивность контаминации (lg КОЕ/мл)	
		глотка	глотка+нос	нос	глотка	нос	глотка	нос
Зона добычи и переработки серы	30,0±2,0	7,0±1,0	3,0±1,0	20,0±2,0	10,0±2,0	23,0±2,0	6,3±0,2	5,1±0,2
Крупный промышленный город	22,0±2,0	7,0±1,0	7,0±1,0	8,0±1,0	14,0±2,0	15,0±2,0	5,1±0,2	4,9±0,1
Сельскохозяйственный район	20,0±4,0	4,0±2,0	7,0±3,0	9,0±3,0	11,0±3,0	16,0±4,0	5,7±0,2	4,0±0,1
Средние данные по области	26,0±2,0	7,0±1,0	5,0±1,0	14,0±1,0	12,0±1,0	19,0±1,0	5,9±0,2	4,8±0,2

Характеристика выделенных штаммов пневмококка

При развитии заболевания или формировании носительства важное значение имеют биологические особенности возбудителя, его способность к выживанию и размножению в макроорганизме.

В этой связи наши исследования были посвящены изучению биологических свойств выделенных штаммов. Исследовали следующие показатели: морфология колоний и микробных клеток, капсулообразование, наличие CAMP-феномена, адгезивную активность, продукцию лизоцима, чувствительность к бактериоцинам и антибиотикам.

Всего было выделено и изучено 395 штаммов пневмококка.

Данные, полученные при изучении биологических свойств выделенных от больных и здоровых носителей штаммов, позволили выявить особенности циркулирующих пневмококков. Установлено, что преобладающее количество изолятов по своим культуральным и физиологическим свойствам были типичны.

Проведенные исследования по изучению выросших на кровяном агаре первичных колоний позволили выявить три их основных типа:

- S-форма гладкая;
- S/R-форма переходная;
- R-форма шероховатая.

Установлено, что преобладал S/R-тип колоний, который был выявлен в $47,0 \pm 2,0\%$ посевов. S-тип колоний пневмококка отмечен в $28,0 \pm 2,0\%$, реже - в $25,0 \pm 2,0\%$ регистрировались R-типы колоний. Также выявлено, что R-формы колоний чаще отмечались в посевах назальной слизи, а S-формы - в посевах фарингеальной слизи. Переходные S/R-типы обнаруживались с почти

одинаковой частотой при назальной и фарингеальной локализации микробного очага.

Установлено, что $92,0 \pm 1,0\%$ выделенных штаммов пневмококка усиливали бета-гемолиз золотистого стафилококка (САМР-феномен), при этом отмечена большая активность назальных изолятов. Количество назальных штаммов с положительным САМР-тестом составляло $96,0 \pm 1,0\%$, фарингеальных - $89,0 \pm 2,0\%$ ($P=0,001$).

Результаты исследования по определению капсулообразования выделенных штаммов пневмококка показали, что $82,0 \pm 2,0\%$ изолятов продуцировали капсулу. Установлена прямая корреляция между характером колоний и капсулообразованием штаммов пневмококка. Так, максимальный процент капсулообразования ($87,0 \pm 3,0\%$ - $73,0 \pm 5,0\%$) отмечался у штаммов, формирующих на питательном агаре S- и S/R-формы колоний. При шероховатых R-колониях изоляты с выраженной капсулой не обнаружены.

Выявлена взаимосвязь интенсивности контаминации слизистой респираторного тракта пневмококком и его капсулообразования. Максимальная степень контаминации, равная $5,6 \pm 0,2$ lg КОЕ/мл назофарингеальной слизи, наблюдалась у штаммов с выраженной капсулой. Этот показатель был ниже у изолятов при отсутствии капсулы и равнялся $4,9 \pm 0,2\%$ lg КОЕ назофарингеальной слизи.

Лизоцимная активность выявлена у $64,0 \pm 0,5\%$ выделенных штаммов пневмококка. При этом существенных различий в лизоцимной активности штаммов, выделенных из глотки и носа, не установлено, также как и зависимости между лизоцимной активностью и интенсивностью колонизации.

Получены новые данные о чувствительности пневмококков к бактериоцинам стафилококков, наиболее распространенным

микроорганизмам респираторного тракта. Показано, что $28,0 \pm 4,0\%$ выделенных штаммов пневмококка были резистентны к стафилококцинам. Установлено, что интенсивность контаминации пневмококком была более выражена у изолятов, резистентных к бактериоцинам стафилококков.

Сравнительная характеристика выделенных штаммов пневмококка представлена в табл. 3.

К числу ведущих факторов, определяющих степень вирулентности, относятся адгезивные свойства микроорганизма, то есть его способность прикрепляться к эпителиальным клеткам макроорганизма.

Таблица 3

Характеристика свойств выделенных штаммов пневмококка

Свойства штаммов	Количество штаммов ($\% \pm m$)		
	Всего	В том числе	
		фарингеальные	назальные
Морфология колоний:			
S - форма	$28,0 \pm 2,0$	$34,0 \pm 4,0$	$22,0 \pm 3,0$
S/R - форма	$47,0 \pm 3,0$	$49,0 \pm 4,0$	$46,0 \pm 4,0$
R - форма	$25,0 \pm 2,0$	$17,0 \pm 3,0$	$32,0 \pm 3,0$
САМР-феномен	$92,0 \pm 1,0$	$89,0 \pm 2,0$	$96,0 \pm 1,0$
Капсулообразование	$82,0 \pm 2,0$	$88,0 \pm 2,0$	$74,0 \pm 3,0$
Продукция лизоцима	$64,0 \pm 5,0$	$69,0 \pm 6,0$	$61,0 \pm 6,0$
Чувствительность к бактериоцинам	$72,0 \pm 4,0$	$70,0 \pm 6,0$	$73,0 \pm 6,0$

Выявлена прямая корреляция между интенсивностью контаминации и адгезивными свойствами изолятов. Результаты проведенных исследований по изучению адгезивных свойств выделенных штаммов пневмококка показали, что среднее адгезивное число колебалось от 17 ± 2 до 35 ± 2 микробных клеток на один эпителиоцит и зависело от ареала вегетации. Адгезивная активность фарингеальных изолятов колебалась в пределах 24 ± 2 до

33 ± 2 микробных клеток, назальных от 17 ± 2 до 35 ± 2 . Установлено, что интенсивность контаминации находилась в прямой зависимости от адгезивных свойств. При контаминации, равной $7-8 \lg$, отмечалась максимальная адгезивная способность пневмококка.

Проведенный сравнительный анализ свойств штаммов пневмококка, выделенных от больных хроническими респираторными заболеваниями и здоровых носителей, позволили отметить сходство и некоторые различия.

Установлено, что в посевах от больных с хронической респираторной патологией преобладали S и S/R-типы колоний, которые отмечались в $51,0 \pm 4,0\%$ и $49,0 \pm 4,0\%$ соответственно. Шероховатые формы колоний на первичном посеве от больных не встречались. У здоровых носителей пневмококка чаще формировались S/R и R-типы колоний и регистрировались в $46,0 \pm 3,0\%$ и $39,0 \pm 3,0\%$ соответственно. Гладкие модификации колоний составляли только $15,0 \pm 2,0\%$. Высокий удельный вес S-колоний пневмококка у больных позволяет подтвердить этиологическую роль этого возбудителя.

При сопоставлении адгезивных свойств штаммов пневмококка, выделенных от здоровых носителей и больных хроническими респираторными заболеваниями, не удалось выявить существенные различия в способности этих изолятов прикрепляться к буккальным клеткам человека.

Изучение антибиотикограммы у выделенных от здоровых носителей штаммов пневмококка показало достаточно высокую их чувствительность к широко применяемым антибиотикам - препаратам пенициллинового ряда, левомицетину, эритромицину, тетрациклину. Среди изолятов от больных отмечается статически достоверное снижение чувствительности к левомицетину, эритро-

мицину, тетрациклину, олеандомицину и гентамицину. Обращает на себя внимание высокая резистентность пневмококка к стрептомицину у обеих групп детей. Среди этих штаммов наблюдался значительный удельный вес (38,0%) полирезистентных, у которых были выявлены 3 и более детерминант резистентности.

Разработка и апробация метода санации бактерионосителей лактобактерином

Санацию осуществляли путем двукратного в течении 10 дней орошения слизистой глотки лактобактерином из расчета 0,2 дозы на одно орошение. Детям контрольной группы слизистую глотки орошали физиологическим раствором.

Результаты клинического испытания лактобактерина в ограниченном опыте показали целесообразность его применения для санации горла при носительстве пневмококка. Санирующий эффект наблюдался у $83,0 \pm 11,0\%$ носителей при 5-ти дневном курсе, однако оптимальной схемой выявилось двукратное орошение глотки раствором лактобактерина на протяжении 10 дней, при котором освобождение от носительства наблюдалось у 100,0% детей. В контрольной группе от носительства не освободился ни один ребенок. Контрольные микробиологические исследования назофарингеальной слизи осуществлялись после завершения курса санации и через 1-2 месяца.

Апробация разработанного нами метода показала выраженный санирующий эффект лактобактерина при фарингеальном типе носительства пневмококка. Причем, благоприятное влияние этого препарата заключалось в отрицательном воздействии на жизнеспособность пневмококка и стимулирующем действии на представителей нормальной микрофлоры глотки. Учитывая, что нормальная микрофлора играет существенную роль в антимик-

робной защите макроорганизма, повышение ее количественных показателей в динамике санации является важным свидетельством положительного действия лактобактерий. В динамике санации значительно улучшалось состояние нормальной стрептококковой флоры и нейссерий.

Вместе с тем, наши исследования показали нецелесообразность применения лактобактерина для санации детей при назальном типе носительства из-за непродолжительности контаминации пневмококком слизистой оболочки носа.

Разработанный метод орошения глотки носителей пневмококка одобрен и рекомендован для широкого использования Фармакологическим комитетом Минздрава Украины, утверждено допущение к наставлению по применению лактобактерина (протокол № 7 от 21.09.1995 г.).

ВЫВОДЫ

1. Получены новые данные по экологии пневмококка. Установлена различная этиологическая роль пневмококка в поддержании воспалительного процесса у больных с хронической респираторной патологией. Выявлена взаимосвязь ареала и интенсивности контаминации пневмококка с клинической формой заболевания. Так, при хронических тонзиллитах и фарингитах пневмококк высевался в 24,0 - 58,0 % случаев, а при хроническом рините и назофарингите - в 6,0 - 11,0 %.
2. Выявлено широкое распространение носительства пневмококка среди практически здоровых детей дошкольного возраста, частота которого зависит от экологических условий окружающей среды в местах проживания детей. Максимальный уровень носительства и интенсивности контаминации пневмококком отмечался в сероносных геопробинциях с наиболее неблагоприят-

ными экологическими условиями - в зонах добычи и переработки серы ($30,0 \pm 2,0$ % при $6,3$ $\mu\text{g}/\text{мл}$).

3. Установлено наличие сезонных колебаний в частоте и интенсивности контаминации пневмококком верхних дыхательных путей здоровых детей. Рост носительства и повышение степени микробного обсеменения зарегистрирован в зимне-весенний период года. Сезонные колебания наиболее характерны для фарингеального типа носительства.
4. Показана продолжительность персистенции пневмококка у носителей. Максимальный период бактериовыделения составлял 9 месяцев при средней продолжительности в $4,2 \pm 0,2$ месяца у детей с фарингеальным типом носительства. Продолжительность бактериовыделения при назальном типе носительства не превышала 2 месяцев, составляла в среднем 25 ± 1 дней.
5. Получены новые данные о способности пневмококка усиливать бета-гемолиз золотистого стафилококка (СAMP-феномен). Установлено, что $92,0 \pm 1,0$ % выделенных штаммов обладали указанным феноменом.
6. Впервые показана прямая корреляция между колонизационной активностью пневмококка и его резистентностью к бактериоцинам. Выявлена прямая зависимость интенсивности контаминации слизистой респираторного тракта пневмококком от его адгезивных и капсулообразующих свойств. Установлена также прямая корреляция между характером колоний и капсулообразованием штаммов пневмококка.
7. Проведенные исследования показали, что $86,0-98,0$ % выделенных штаммов пневмококка были чувствительные к препаратам пенициллинового ряда, рифампицину, левомецетину и эритромицину. Чувствительность к тетрациклину, олеандомицину отмечена в $68,0-69,0$ %, к гентамицину - в $37,0$ %, стрептомицину -

- в 5,0%. Изоляты от больных с хронической респираторной патологией были более резистентными к антибиотикам, чем штаммы, выделенные от бактерионосителей.
8. Усовершенствование метода выявления продукции лизоцима, позволили выявить этот фермент у $69,0 \pm 5,0\%$ выделенных штаммов пневмококка.
9. Разработан и апробирован новый метод санации носителей пневмококка при помощи лактобактерина. Санирующий эффект наблюдался в 100% случаев.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Характеристика бактеріоносійства у дітей дошкільного віку з різних екологічних умов проживання /в співавторстві з Мота В.Є., Колотілова Л.В., Немченко О.О. // Дитячі інфекції.- 1995.- N 23.- С.154-158.
2. Контамінація верхніх дихальних шляхів дітей представниками умовно-патогенної мікрофлори /в співавторстві з Немченко О.О., Мота В.Є. //Український науково-медичний молодіжний журнал.- 1995.- N 1-2.- С.72-74.
3. Особливості контамінації пневмококком верхніх дихальних шляхів здорових та хворих дітей /в співавторстві з Ломницька В.Б., Колотілова Л.В., Немченко О.О., Прунько Т.Д., Луцик Т.С. // Мікробіологічний журнал.-1995.- 57, N 1.- С.59-64.
4. Критерии и характеристика микрoэкологическx нарушений слизистой верхних дыхательных путей /в соавторстве с Колотилова Л.В., Немченко О.О., Акишина Т.М., Ломницькая В.Б., Тарасюк О.О., Шишка Г.В. //Международная научная конференция, посвященная 150 летию со дня рождения Мечникова И.И.

"Идеи И.И. Мечникова в развитии современного естествознания." - Харьков, 1995. - С.129-130.

5. Мікроекологічні зміни у дітей із сірконосних геопровінцій /у співавторстві з Колотілова Л.В., Немченко О.О., Мота Б.Є. // Тези та доповіді 13 з'їзду гігієністів України.- Київ, 1996р.- С. 171.

6. Екологічні аспекти формування стану здоров'я населення в сірконосних геопровінціях /у співавторстві з Шишка Г.В., Безкопильний І.Н., Тарасюк О.О., Йордан А.М. // Тези та доповіді XXIII з'їзду гігієністів України.- Київ, 1996р.- С. 118.

А Н О Т А Ц І Я.

АБДО САІД СААД. КОНТАМІНАЦІЯ ПНЕВМОКОКОМ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ВЕРХНІХ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ У ДІТЕЙ ДОШКІЛЬНОГО ВІКУ.

Дисертація на здобуття вченого ступеня кандидата біологічних наук по спеціальності 03.00.07 - Мікробіологія, Київський НДІ епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В.Громашевського, Київ, 1996 р.

Захищається 6 наукових праць, які містять результати дослідження особливостей контамінації пневмококом верхніх дихальних шляхів у дітей.

В результаті проведених досліджень отримані нові дані по екології пневмокока, показані особливості пневмококової мікрофлори у здорових носіїв і у дітей з хронічною респіраторною патологією. Встановлена залежність пневмококового носійства від стану навколишнього середовища. Максимальна кількість носіїв була зареєстрована в районах видобутку та переробки сірки.

Виявлені особливості контамінації слизової оболонки носоглотки пневмококом в обстежуваних групах. Відмічена різниця в локалізації та інтенсивності колонізації пневмококом верхніх дихальних шляхів між здоровими та хворими дітьми.

Отримані нові дані по біологічних властивостях пневмокока, що сприяють контамінації мікроорганізмів і персистенції їх на слизовій оболонці носоглотки. Підтверджена тенденція останніх років стосовно збереження пневмококом чутливості до основних груп антибіотичних препаратів.

Розроблений та апробований новий метод санації носіїв пневмокока.

Ключові слова: пневмококова мікрофлора, здорові носії, хронічна респіраторна патологія, носоглотка, санація бактеріоносців, рівень контамінації, адгезія, лізоцимна активність, CAMP-феномен, капсулоутворення, антибіотикограма.

A N N O T A T I O N .

ABDO SAID SAAD, PNEUMOCOCCAL CONTAMINATION OF THE UPPER RESPIRATORY TRACTS IN CHILDREN OF PRE-SCHOOL AGE.

Thesis for Cand. Sci. degree on speciality 03.00.07 - Microbiology, Kiev L.V.Gromashevsky Research Institute of epidemiology and infectious diseases, Kiev, 1996.

8 scientific works are defended, which contain the results of scientific researches on peculiarities of pneumococcal contamination of the upper respiratory tracts in children.

New data on the ecology of pneumococcus were obtained; the peculiarities of pneumococcal microflora in healthy carriers and in children with chronic respiratory pathology were detected; the dependance of pneumococcal carrying upon the environmental pollution was established. The maximum quantity of carriers was registered in the regions of extraction and transformation of sulphur.

Particularities of nasopharynx mucosa pneumococcal contamination in the examined groups were discovered. The difference in localization and intensity of pneumococcal upper respiratory tracts colonization between healthy and ill enfants was distinguished.

New information is obtained concerning biological peculiarities of pneumococcus, which enhance contamination of microorganisms and their persistence on nasopharynx mucosa. The tendency of the last years to preserve pneumococcus sensibility towards main groups of antibiotics is confirmed. A new method of pneumococcus carriers treatment is initiated and probed.

The key-words: pneumococcal microflora; healthy carriers; chronic respiratory pathology; nasopharynx; level of contamination; treatment of bacteria carriers; adhesion; lysozyme activity; CAMP - phenomenon; capsule forming; antibiogram.

Подписано к печати 12.04.96. Формат 60x84/16. Бум. тип. №1.
Печ. офсет. Усл. печ. л. 2,0. Усл. кр.-от. 2,0. Уч.-изд. л. 2,2.
Тираж 100. Зак. 79.

Машинно-офсетная лаборатория Львовского госуниверситета
им. И. Франко, 290602; Львов, ул. Университетская, 1.

AB 34.475

AB 34.475