

Дисбиотические нарушения микробиоценоза слизистых оболочек ротоглотки и их роль в этиопатогенезе инфекционного мононуклеоза

П.С.Адеишвили¹, О.В.Шамшева², И.В.Полеско³, Г.А.Осипов⁴

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра инфекционных болезней у детей № 1 педиатрического факультета, Москва (зав. кафедрой — акад. РАМН, проф. В.Ф.Учайкин);

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра инфекционных болезней у детей № 2 педиатрического факультета, Москва (зав. кафедрой — проф. О.В.Шамшева);

³Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра кожных болезней и косметологии факультета усовершенствования врачей, Москва (зав. кафедрой — проф. Н.Н.Потекаев);

⁴Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В.Склифосовского, отдел лабораторной диагностики, Москва (зав. отделом — проф. М.А.Годков)

Методом масс-спектрометрии микробных маркеров изучен микробный пейзаж ротоглотки у 22 детей с инфекционным мононуклеозом в возрасте от 3 до 14 лет. Группу сравнения составили 10 детей без клинических признаков инфекционного мононуклеоза, а также острой респираторной вирусной инфекции, включая гиперемию слизистой ротоглотки и миндалин. Полученные данные позволили верифицировать и количественно определить состав микробного сообщества в ротоглотке при инфекционном мононуклеозе и рассматривать ангину при инфекционном мононуклеозе как заболевание, обусловленное ассоциацией различных условно-патогенных микроорганизмов, концентрация которых превышает численность микробов у здоровых детей минимум на 2 порядка.

Ключевые слова: инфекционный мононуклеоз, микробиоценоз, масс-спектрометрия, микробные маркеры, слизистые оболочки ротоглотки

Disbiotic Disturbance of Biocenosis in Oropharynx and its Role in Etiopathogenesis of Infectious Mononucleosis

P.S.Adeishvili¹, O.V.Shamsheva², I.V.Polesko³, G.A.Osipov⁴

¹Pirogov Russian National Research Medical University, Department of Infectious Diseases in Children № 1 of Pediatric Faculty, Moscow (Head of the Department — Acad. of RAMS, Prof. V.F.Uchaikin);

²Pirogov Russian National Research Medical University, Department of Infectious Diseases in Children № 2 of Pediatric Faculty, Moscow (Head of the Department — Prof. O.V.Shamsheva);

³Pirogov Russian National Research Medical University, Department of Skin Diseases and Cosmetology of Doctors' Improvement Faculty, Moscow (Head of the Department — Prof. N.N.Potekaev);

⁴N.V.Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, Department of Laboratory Diagnostics, Moscow (Head of the Department — Prof. M.A.Godkov)

Mass spectrometry of microbial markers was used to study the microbial landscape of the oropharynx in 22 children with infectious mononucleosis aged from 3 to 14 years. The comparison group consisted of 10 children without clinical signs of infectious mononucleosis and acute respiratory viral infections including mucosal and tonsils hyperemia. The data obtained helped to verify and quantify the composition of the microbial community in the oropharynx in infectious mononucleosis and treat angina in infectious mononucleosis as a disease with the association of various opportunistic pathogens that exceeded the number of microbes in healthy children at least more than twice.

Key words: infectious mononucleosis, microbiocenosis, mass spectrometry, microbial markers, mucous membranes of oropharynx

Инфекционный мононуклеоз — полиэтиологическое заболевание, вызываемое вирусом Эпштейна–Барр, цитомегаловирусом, вирусом герпеса 6 типа. Доказано, что клиническая картина болезни мало зависит от этиологии мононуклеоза [1]. В то же время появились данные о зависимости клинической картины заболевания от места проникновения инфекционного фактора [2]. При парентеральном инфицировании возникает висцеральный синдром в виде герпетического гепатита или другой висцеральной патологии. При проникновении инфекции воздушно-капельным путем реализуется типичный для инфекционного мононуклеоза синдромокомплекс, включающий в себя лихорадку, ангину, полиадению, увеличение печени и селезенки, появление атипичных мононуклеаров в периферической крови. Такие представления многое объясняют в клинике заболевания, тем не менее по-прежнему остаются дискуссионными некоторые вопросы, в том числе этиология и патогенез ангины. Одни исследователи считают, что в механизме возникновения экссудативного выпота при инфекционном мононуклеозе ведущее значение принадлежит бактериальной инфекции, другие — стрептококковой и грибковой флоре [3], третьи — вирусам [4, 5] или сочетанию вирусов и бактерий [5, 6]. Противоречивые представления об этиопатогенезе ангины при инфекционном мононуклеозе нашли отражение в рекомендованных схемах лечения — от обязательного назначения антибактериальных средств [7, 8] до полного их исключения [9]. Однако применяемые на сегодняшний день в клинической практике методы диагностики имеют определенные ограничения и недостатки. Так, при классическом бактериологическом исследовании не представляется возможным оценить роль некультивируемых микроорганизмов в инфекционном процессе. Трудности в диагностике хронических и латентных инфекций могут возникать и при использовании молекулярно-биологических методов, при которых частота ложноположительных результатов и невозможность адекватной количественной оценки резко возрастает [10]. Соответственно, для решения задачи требуется подключение специализированных лабораторий с арсеналом культуральных и некультуральных методов, позволяющих обеспечить количественный анализ полимикробной инфекции в каждом конкретном случае. Таким методом можно считать метод масс-спектрометрии микробных маркеров (МСММ), позволяющий в ускоренном режиме, минуя стадию культивирования и тестовых ферментаций, определить спектр доминирующих микроорганизмов (более 10^4 клеток в пробе) по молекулярным маркерам — клеточным высшим жирным кисло-

там, альдегидам и стеринам. Внедрение метода МСММ позволяет сократить время и стоимость исследования, минуя стадии повторных пересевов первичных колоний и тестовых ферментаций, которые особенно сложны, трудоемки и длительны для анаэробов. Используемый в методе математический аппарат количественного реконструирования микроорганизмов в очаге воспаления по составу их маркеров в биопrobe позволяет контролировать инфекцию в динамике заболевания, а также эффективность лечения.

В связи с вышеизложенным целью исследования стало изучение роли бактериальной инфекции в поражении ротоглотки у детей с инфекционным мононуклеозом.

Пациенты и методы

Под нашим наблюдением находились 22 ребенка с диагнозом «инфекционный мононуклеоз» в возрасте от 3 до 14 лет. Группу сравнения составили 10 детей без клинических признаков инфекционного мононуклеоза, а также острой респираторной вирусной инфекции (включая гиперемию слизистой ротоглотки и миндалин), которые находились на лечении в офтальмологическом отделении Морозовской детской городской клинической больницы г. Москвы с диагнозами: миопия, травма глаза, увеит, помутнение роговицы, перелом орбиты. В период разгара заболевания всем пациентам проводили взятие пробы с миндалин бактериологическими тампонами, которые хранили в замороженном состоянии (при $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$). У всех детей с инфекционным мононуклеозом состояние было средней тяжести с типичными клиническими проявлениями: лихорадка, наложения на миндалины, болезненность при глотании, увеличение размеров лимфатических узлов, гепатоспленомегалия, количественные и качественные изменения мононуклеаров, положительный ЛА-ИМ-тест. У 19 (86,4%) детей начало заболевания было острым, у остальных (13,6%) отмечалось постепенное нарастание симптомов интоксикации.

Результаты исследования и их обсуждение

При использовании метода МСММ оказалось возможным установить в ротоглотке наличие микроорганизмов, принадлежащих к 56 таксонам (таблица).

Результаты сравнительного анализа микробного сообщества в смывах с миндалин у детей с инфекционным мононуклеозом ($n = 22$) показали систематическое клинически значимое увеличение численности бактерий 21 таксона по сравнению с детьми без поражения ротоглотки ($n = 10$). К ним относились следующие виды микроорганизмов: *Moraxella*, *Fusobacterium*, *Streptococcus* (оральные и анаэробные *S. mutans*), *Prevotella*, *Propionibacterium* (*P. acnes*, *P. jensenii*, *P. freudenreichii*), *Eubacterium*/*Clostridium*, актинобактерии *Streptomyces*, *Actinomyces*, *Bacteroides fragilis*, *Peptostreptococcus anaerobius*, вирусы герпеса и др.

Наибольшая кратность увеличения концентрации маркеров микроорганизмов в мазке у детей с инфекционным мононуклеозом (на два порядка и более выше концен-

Для корреспонденции:

Шамшева Ольга Васильевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой инфекционных болезней у детей № 2 педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117049, Москва, 4-й Добрынинский пер., 1

Телефон: (495) 236-0155

E-mail: ch-infection@mail.ru

Статья поступила 20.03.2013, принята к печати 04.09.2013

Таблица. Усредненный состав и количество микроорганизмов в мазке из ротоглотки у детей с инфекционным мононуклеозом и детей из группы сравнения

Микроорганизм (таксон)	Группа сравнения (n = 10)	Инфекционный мононуклеоз (n = 22)
<i>Streptococcus sp.</i>	2304	2851
<i>Eubacterium lentum</i> (группа А)	132	335
<i>Bacillus cereus</i>	112	131
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	72	3004
<i>Str. pneumonia</i>	25	58
<i>Nocardia, 14:1d11</i>	570	1800
<i>Moraxella/Neisseria</i>	51	258
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	11
<i>Propionibacterium</i>	16	396
<i>Bacillus megaterium</i>	0	82
<i>Clostridium propionicum</i>	47	217
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0	2
<i>Selenomonas</i>	20	189
Актиномицеты	111	274
<i>Pseudonocardia</i>	100	92
<i>Streptomyces</i>	28	549
<i>Clostridium ramosum</i>	6276	11083
<i>Fusobacterium/Haemophilus</i>	16	392
<i>Alcaligenes</i>	43	71
Пепер	0	0
<i>Flavobacterium</i>	0	6
<i>Rhodococcus</i>	267	251
<i>Staphylococcus intermedius</i>	97	340
<i>Porphyromonas</i>	3	120
<i>Corineform CDC-group XX</i>	321	323
<i>Streptococcus A/Lactobacillus</i>	9867	11348
<i>Campylobacter mucosalis</i>	227	643
<i>Mycobacterium/Candida</i>	882	1218
<i>E.coli</i>	0	115
<i>Eubacterium moniliforme sbsp</i>	0	233
<i>Cl. difficile</i>	226	368
<i>Actinomadura</i>	0	0
<i>Prevotella</i>	127	450
<i>Eubacterium/Cl. coccoides</i>	1390	7401
<i>Bacteroides fragilis</i>	31	536
<i>Staphylococcus</i>	261	206
<i>Bifidobacterium</i>	100	466
<i>Helicobacter pylori, h18</i>	185	222
<i>Clostridium perfringens</i>	285	356
<i>Enterococcus</i>	604	594
<i>Eubacterium</i>	0	41
<i>Propionibacterium/Cl. subterminale</i>	813	2777
<i>Streptococcus mutans</i>	682	1123
<i>Herpes</i>	43	342
Микр. грибы, кампестерол	1961	882
<i>Nocardia asteroides</i>	126	233
Цитомегаловирус	221	1245
Микр. грибы, ситостерол	27710	11403
<i>Propionibacterium acnes</i>	235	1539
<i>Ruminococcus</i>	0	9
<i>Actinomycetes 10Me14</i>	385	394
<i>Blautia coccoides</i>	676	625
<i>Enterococcus</i>	0	0
<i>Actinomyces viscosus</i>	467	1548
<i>Propionibacterium jensenii</i>	28	643
<i>Atipia, Helicobacter mustelae</i>	0	0
Среднее количество микробов	1020	1229

Численность микроорганизмов в ячейках указана для удобства сопоставления уменьшенной на 5 порядков. Например, численность *Streptococcus sp.* в группе сравнения составляет 2304×10^5 . Жирным шрифтом выделены значения, более чем вдвое превышающие соответствующие значения в группе сравнения

трации маркеров в группе сравнения) отмечена для фузобактерий, бактериоидов, стрептомицетов, анаэробного пептострептококка. До 30 раз увеличилась численность моракселл и пропионобактерий, на порядок возросла численность бактерий группы *Eubacterium/Clostridium*, а также стрептококков, нокардий, превотелл, актиномицетов. Концентрация маркеров других микроорганизмов не превышала в среднем уровень колонизации слизистой зева у детей группы сравнения. К ним относились представители родов *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, часть клостридий, *Pseudonocardia*. Микроскопические грибы (не кандиды) — плесневые, дерматофиты и другие — оказались в дефиците у детей с инфекционным мононуклеозом по сравнению с детьми контрольной группы.

Таким образом, результаты наших исследований, полученные методом МСММ, позволили выявить полимикробную инфекцию ротоглотки у детей с инфекционным мононуклеозом за счет более чем двукратного превышения нормальных значений численности бактерий 21 таксона, что мы склонны трактовать как декомпенсированный дисбиоз. При этом не выявлено преобладающей роли какого-либо одного конкретного бактериального патогена. Можно предположить, что в патогенезе ангины при инфекционном мононуклеозе значимую роль играет совокупность многих условно-патогенных представителей микрофлоры, действующих в условиях вирусного поражения лимфоидных образований ротоглотки. По-видимому, синдром инфекционного мононуклеоза возникает при попадании вируса семейства герпес (вирус Эпштейна–Барр, цитомегаловирус, герпес 6 типа) в лимфоидные образования ротоносоглотки (тропный орган), в результате чего запускается лимфопролиферативная линия патогенеза, снижается защитная роль мукозального иммунитета, активизируются колонисты небных миндалин и, как следствие, возникает дисбиоз.

Выводы

Ангина при инфекционном мононуклеозе имеет вирусно-бактериальную природу.

Дисбиоз при ангине на фоне инфекционного мононуклеоза обусловлен более чем двукратным превышением численности бактерий 21 таксона.

Литература

- Новосад Е.В. Инфекционный мононуклеоз, ассоциированный с вирусом герпеса человека 6 типа, у детей: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2010. 24 с.
- Учайкин В.Ф. Эволюция патогенеза инфекционных болезней // Дет. инфек. 2012. Т.11. №4. С.4–8.
- Белова Е.Г. Клинико-лабораторная характеристика, состояние ротоглотки и факторов местного иммунитета у больных Эпштейна–Барр вирусным инфекционным мононуклеозом: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2000. 24 с.
- Квиташвили А.А. Вопросы клиники и патогенеза инфекционного мононуклеоза (болезни Филатова): Автореф. дис. ... докт. мед. наук. Тбилиси, 1975. 48 с.

5. Чирешкина Н.М. Инфекционный мононуклеоз у детей. М.: Медицина, 1973. 172 с.
6. Нисевич Н.И., Казарин В.С., Гаспарян М.О. Инфекционный мононуклеоз у детей. М.: Медицина, 1975. 176 с.
7. Учайкин В.Ф. Руководство по инфекционным болезням у детей. М.: Гэотар Медицина, 1998. С. 252–274.
8. Fota-Markowska H., Rolla-Szcхepanska R., Chudnicka A. et al. Candidosis of the pharyngeal mucosa in patients with infectious mononucleosis // Ann Univ Mariae Curie Sklodowska Med. 2004. V.59. №1. P.200–203.
9. Пахроменко В.П. Инфекционный мононуклеоз у детей (фазовая динамика клинической картины, показателей обменных процессов, лечебных мероприятий, особенности ранней диагностики и диспансеризации): Автореф. дис. ... докт. мед. наук. Смоленск, 2006. 45 с.
10. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: Учебн. пособие / Под ред. А.А.Воробьева. М.: Медицинское информационное агентство, 2004. 691 с.
11. Поздеев О.К. Медицинская микробиология: Учебн. пособие / Под ред. В.И.Покровского. 4-е изд., испр. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 768 с.
12. Михайлова Д.О., Бобылева З.Д., Базарный В.В., Амон Е.П. и др. Диагностическое значение различных иммунологических методов лабораторной диагностики легионеллеза // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2008. №2. С.51–54.

Информация об авторах:

Адеишвили Пикрия Соломоновна, ассистент кафедры инфекционных болезней у детей № 1 педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
 Адрес: 119049, Москва, 4-й Добрынинский пер., 1
 Телефон: (499) 236-2551
 E-mail: ch-infection@mail.ru

Шамшева Ольга Васильевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой инфекционных болезней у детей № 2 педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
 Адрес: 119049, Москва, 4-й Добрынинский пер., 1
 Телефон: (499) 236- 2551
 E-mail: ch-infection@mail.ru

Полеско Ирина Васильевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры кожных болезней и косметологии факультета усовершенствования врачей Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
 Адрес: 117556, Москва, Варшавское ш., 85, корп. 1
 Телефон: (495) 615-2959
 E-mail: polesko@list.ru

Осипов Георгий Андреевич, доктор биологических наук, профессор, сотрудник отдела лабораторной диагностики Научно-исследовательского института скорой помощи им. Н.В.Склифосовского
 Адрес: Москва, Сухаревская пл., 3, корп. 1
 Телефон: (495) 628-9156
 E-mail: osipovga@mail.ru

СТРАНИЧКА УЧЕНОГО СОВЕТА РНИМУ им. Н.И.ПИРОГОВА

Информация о защитах диссертаций на соискание ученой степени доктора наук в ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава России

Автор	Тема	Специальность
Терещенко Сурен Александрович	Выбор методов хирургического лечения и реабилитации мультифокального атеросклероза у больных пожилого и старческого возраста	14.01.26 — сердечно-сосудистая хирургия
<i>Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Научный консультант — д.м.н., проф. М.Д.Дибиров. Защита состоится 21.10.2013 на заседании диссертационного совета Д 208.072.03 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: (495) 434-8464).</i>		
Гарбузов Роман Вячеславович	Заболевания вен таза у детей. Клинические проявления, диагностика и лечение	14.02.19 — детская хирургия
<i>Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Научный консультант — д.м.н., проф. Ю.А.Поляев. Защита состоится 21.10.2013 на заседании диссертационного совета Д 208.072.02 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: (495) 434-8464).</i>		
Рачков Виктор Евгеньевич	Диагностика и хирургическое лечение портальной гипертензии у детей	14.02.19 — детская хирургия
<i>Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Научный консультант — д.м.н., проф. А.Ю.Разумовский. Защита состоится 21.10.2013 на заседании диссертационного совета Д 208.072.02 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: (495) 434-8464).</i>		
Баранова Наталия Сергеевна	Поражение нервной системы при хроническом Лайм-боррелиозе	14.01.11 — нервные болезни
<i>Работа выполнена в ГОУ ВПО «Ярославская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Научный консультант — д.м.н., проф. Н.Н.Спирин. Защита состоится 21.10.2013 на заседании диссертационного совета Д 208.072.09 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: (495) 434-8464).</i>		