



ИЗМЕНЧИВОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ И ЕЁ РОЛЬ В ХРОНИЗАЦИИ ГНОЙНЫХ ОТИТОВ СРЕДНЕГО УХО У ДЕТЕЙ

¹Мирзаева М.А., ²Эсамуратов А.И., ¹Атаходжаева Д.Р.

¹Ташкентский педиатрический медицинский институт,
²Ургенчский филиал Ташкентской Медицинской Академии

✓ Резюме

Течения острого и хронического отита среднего уха у детей в виде этиологического фактора выделена 94,2% различные микроорганизмы. Среди выделенных культур 27 штаммы оказались атипичными, так-как у них были изменены культурально - биологические свойства в сравнении стандартными штаммами. Таким образом установлена, что такие атипичные бактерии могут привести к неправильным диагнозом.

Ключевые слова: острый средний отит, атипичные, изменчивость, устойчивость, реверсия, антибиотики.

БОЛАЛАРДА ЎРТА ҚУЛОҚДА КЕЧАДИГАН ЎТКИР ВА СУРУНКАЛИ ОТИТЛАРДА ЭТИОЛОГИК ФАКТОР СИФАТИДА ТУРЛИ МИКРООРГАНИЗМЛАРИ ЎЗГАРУВЧАНЛИГИ

¹Мирзаева М.А., ²Эсамуратов А.И., ¹Атаходжаева Д.Р.

¹Ташкент педиатрия тиббиёт институти,
²Ташкент тиббиёт академияси Ургенч филиали

✓ Резюме

Болаларда ўрта қулоқда кечадиган ўткир ва сурункали отитларда этиологик фактор сифатида 94,2% ҳолатда турли микроорганизмлари ажратиб олинди. Ажратилган культураларнинг 27 штаммларнинг атипик ҳолатда эканлиги, яъни уларда стандарт штаммларга нисбатан культурал-биологик ҳоссаларнинг ўзгарганлиги аниқланди. Ўзгарувчанликка учраган бактериялар ташиқис қўйишида янгилишларга олиб келиши исботланди.

Калит сўзлар: ўткир ўрта қулоқ отити, атипик, ўзгарувчанлик, қаршилиқ, реверсия, антибиотиклар.

VARIABILITY OF MICROORGANISMS AND ITS ROLE IN CHRONICIZATION OF PURULENT OTITIS OF THE MIDDLE EAR IN CHILDREN

¹Mirzaeva M.A., ²Esamuratov A.I., ¹Atakhodzhaeva D.R.

¹Tashkent Pediatric Medical Institute,
²Urgen branch of the Tashkent Medical Academy

✓ Resume

In the course of acute and chronic otitis media in children, 94.2% of various microorganisms were identified as an etiological factor. Among the isolated cultures, 27 strains turned out to be atypical, since their cultural and biological properties were changed in comparison with standard strains. Thus, it is established that such atypical bacteria can lead to misdiagnosis.

Key words: acute otitis media, atypical, variability, resistance, reversion, antibiotics.

Актуальность

Последние время все больше появляются болезни, вызываемые неизвестными ранее возбудителями бактериальной и вирусной природы. Резко возросла число вялотекущих, стертых и бессимптомных форм заболеваний, обусловленных условно-патогенными микробами, а также измененными (атипичными) лекарственно-устойчивыми микроорганизмами [1, 12, 16, 17].

Одной из причин, лежащей в основе изменения клинического течения воспалительные заболевания вызывающие микробами, наблюдающегося в последние годы является изменчивость микроорганизмов, поскольку бактерии и вирусы эволюционируют как и вся живая природа, только более стремительными темпами [2, 3, 10, 12,]. Под действием техногенных факторов меняется характер взаимодействия микроорганизмов с организмом человека, что выражается вовлечением в круг патогенов все новых представителей мира микробов [6, 7, 8, 21]. Это выражается не только в появлении известных возбудителей МВЗ с новыми свойствами, в первую очередь условно-патогенных микроорганизмов, но и в массовом распространении среди них устойчивости к лекарственным препаратам. Чаще встречается длительная персистенция патогенов, обуславливающая стертые, мало-симптомные формы МВЗ, уровень которых значительно превышает острые формы заболевания [4, 14, 15]. Появление микроорганизмов с измененными свойствами, как правило, приводит к распространению или «возвращению» инфекции, в связи с чем, возникают затруднение в диагностике, лечении и профилактике, что неминуемо приводит к росту заболеваемости и летальности. Клинически новая или возвращающаяся инфекция часто проявляет себя атипично, при этом патологический процесс может протекать как мало - манифестно, так и чрезвычайно остро с развитием осложнений, угрожающих жизни.

По мере адаптации микробов к антибиотикам меняется антигенная структура циркулирующих штаммов, возникают принципиально новые формы и мутантные штаммы микробов (Л-формы, сферопласты и протопласты) с неполным набором белков и ферментов. Кроме того, рост так называемых «возвращающихся» инфекций и изменение клинического течения ряда МВЗ в значительной степени обусловлен появлением большого количества микробов, резистентным к существующим антибиотикам [5, 9, 11, 18, 19].

В результате эволюции патогенов происходят следующие важнейшие события: 1. Адаптация патогенов к меняющимся условиям окружающей среды; 2. Формирование высоковирулентных штаммов; 3. Формирование лекарственной устойчивости патогенов; 4. Изменение патогенных свойств и диагностических значимых признаков у возбудителей бактериальных и вирусных инфекции; 5. Указанные и другие эволюционные события определяет большое генетическое разнообразие возбудителей.

Атипичные возбудители обнаруживаются практически у 40,0-60,0 % больных с ВП (воспалительными процессами), в том числе и у госпитализированных; смешанные инфекции встречаются у 48,0% пациентов. Частота встречаемости атипичных возбудителей следующая: Хламидийная пневмония— 17,0% случаев, Легионеллезная— в 0,7-13,0% случаев, наиболее часто встречающейся патогенная— Микоплазменная пневмония —13,0%-37,0%. Идентифицировать инфекционный агент, вызвавший ВП, можно лишь в 40,0-50,0% случаев. Инфекция, вызванная атипичными возбудителями, выявлена у 190 пациентов (54,0%) и у 8 детей контрольной группы (3,8% , р 0,0001). При этом в группе детей старше 3 лет атипичные инфекции наблюдались чаще (61,9%) по сравнению с детьми более раннего возраста (43,9%, р<0,0001) [9,45,49,иностр-5,74 ин.].

Таким образом, вышеперечисленные данные свидетельствует об актуальности проблемы изучения атипичных штаммов возбудителей при различных гнойно-воспалительных процессах, особенно среди детей в разных возрастах.

С учетом выше изложенного **нашей целью** являлось изучить измененных (атипичных) штаммов, выделенных при гнойных средних отитах у детей.

Материал и методы

Объектами исследования являлись 275 больных детей, госпитализированных в отделении ЛОР заболевании клиники Ташкентского педиатрического медицинского института и

Ургенчского филиала ТМА с диагнозом острого и хронического среднего отита (ОГСО и ХГСО). Работа выполнялась в бактериологической лаборатории клиники и в кафедре микробиологии институтов. При воспалительных заболеваниях среднего уха исследовали гнойное, или серозное отделяемое.

Применяли бактериоскопические, бактериологические методы исследования. При бактериоскопическом методе из патологического материала и из выделенных культур приготовили мазки, окрашивали по Грамму и изучали в микроскопе. При бактериологическом исследовании исследуемый материал засеивали на питательные среды. Так как, острые и хронические гнойные отиты вызываются разными микроорганизмами, посев патологического материала производили на различные питательные среды с учетом разновидностей бактерий.

Посева проводили в термостате при 37°C градусах в течение 24 часов. В 5% ном кровяном агаре инкубировали в атмосфере CO₂—в эксикаторе со свечой. Посев на среду Сабуро выдерживали при 22-25⁰С не менее 5 суток. На следующий день просматривали сделанные накануне посева. При появлении роста на плотных питательных средах изучали выросшие колонии, проводили качественную и количественную оценку бактериального роста, выделяли чистую культуру предполагаемого возбудителя и идентифицировали их.

Обсуждения полученных результатов от обследованных больных было выделено 259 штаммов различных микроорганизмов, что составляло 4,2%. При этом от 179 больных с ОГСО было выделено 175 (97,8%) и от 96 больных с ХГСО 90 (93,7%) штаммов.

Из числа выделенных культур при ОГСО и ХГСО 27 штамма оказались атипичными, так как основные культуральные, биохимические, антигенные свойства этих культур отличались от основных свойств стандартных бактерий кишечной и других микроорганизмов.

Все выделенные атипичные штаммы проявляли устойчивость одновременно к нескольким антибиотикам и у них был изменен ряд культурально-биологические свойства. Так, изменился характер роста на питательных средах, отмечалась замедленность роста с вращением в толщу агара, микробная масса с трудом снималась с поверхности агара, плохо эмульгировалась в физиологическом растворе.

Морфология культуры была гетероморфна: у 17 штаммов в окрашенном препарате находились клетки в виде крупных и мелких шаровидных форм, диаметром 6,0-8,0 мкм и 0,2-0,4 мкм соответственно.

Из указанных 17 культур 9 штаммов росли в аэробных условиях на агаре с добавлением 10% растворе NaCl и яичного желтка (ЖСА) диаметр колонии составляла 6-10 мм, на рассеянном свете колонии окрашивались в слабо золотисто-желтый цвет. В окрашенном препарате обнаружили крупные, Грамм положительные шаровидные клетки (протопласты, сферопласты), диаметром 6,0-8,0 мкм. У всех выделенных культур изучали чувствительность к антибиотикам диско-диффузным методом. При изучении некоторых биологических свойств установили, что они не разжижали желатин и плазму крови. Все культуры были антибиотико-устойчивыми.

С учетом возможной устойчивости бактерии под воздействием различных факторов, в том числе антибиотиков, мы проводили неоднократный (29) пассаж этих культур на молочно-солевом, желточно-солевом, мясопептонном, кровяном и сывороточном агарах. При каждом пассаже изучали морфологию и другие свойства культур.

Через 11 пассажей заметили некоторые изменения в морфологии клеток. Появлялись отдельные клетки с меньшими размерами в диаметре. Через 22 пассажей диаметр колонии уменьшался до 5-6 мм, а размеры клеток уменьшались до 3,0-5,0 мкм в диаметре. Колонии стали окрашиваться более заметно в золотисто-желтый цвет.

Культуры слабо расщепляли углеводов. Через 29 пассажей культуры (кроме одного штамма) полностью реверсировали в исходное положение.

У реверсированных культур восстанавливались основные культурально-биологические свойства: росли на солевых агарах в аэробных условиях, при 37⁰ С образовывали колонии диаметром 4-5 мм, с компактным центром и нежным валиком, легко снимающимися с поверхности среды.

На рассеянном свете колонии интенсивно окрашивались в золотисто желтый цвет.

В окрашенном препарате находились грамположительные клетки сферической формы, диаметром 0,5-1,6 мкм, которые располагались одиночно и виде скопление в группах,

неправильной форма, напоминающие виноградные грозди, неподвижные, спор не образовали. Культуры были каталаза положительными, но оксидаза отрицательными, содержали цитохром. Восстанавливали нитраты в нитриты. Коагулозный тест был положительным— на кровяном агаре вокруг колонии образовали зону гемолиза.

Таким образом, на основании полученных данных, изученные 9 штаммов расценивались как *S.aureus* рода *Staphylococcus*.

У одной культуры видимо, возникла более глубокая изменчивость. Хотя в морфологии наблюдали клетки с уменьшенными размерами в диаметре (4-5 мкм), но оставшимися каталаз и коагулоза отрицательными. У других штаммов при росте на МПА и солевых агаров при 37⁰ в аэробных и анаэробных условиях диаметр колонии составлял 7-8 мм и были шероховатыми, бесцветными с большим трудом снимались с поверхности агара. В окрашенном препарате обнаруживали грамположительные шаровидные формы клетки, диаметром 6-7 мкм, расположенные одиночно, попарно или в группах. Это культура при пассировании на МПА и солевых средах даже через 27 пассажей не меняло свои культуральные и биологические свойства, и мы не могли его отнести, к какому-либо виду культур.

Среди изученных 17 культур 6 штаммы росли на сывороточным и кровяном агаре как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Колонии были крупного размера, сухие, вросшие в толщу агара и с трудом снимались с поверхности среды. В окрашенном препарате находились крупные шары, как сферопласты диаметром 4,0-6,0 мкм, расположенные в парах короткими цепочками.

Через 7 пассажей на кровяном и сывороточном агаре колонии этих культур стали нежными, влажными, легко снимались с поверхности среды. Культуры обладали В-гемолизином, так как в кровяном агаре вокруг колонии образовали зону гемолиза. На среде Гисса расщепляли лактозу с салицин с образованием кислоты, образовали щелочную фосфатазу. На основании результатов изучения культуры расценивали как *S.Pyogenes*.

Из числа выделенных 17 культур, 5 штамма культивировались на агаре с добавлением NaCl (10,0) при 37-42⁰ С. Колонии культур в размере 3-5 мм были сухими, вросшими в толщу агара и с трудом снимались с поверхности среды. Пигмент не образовали. Были факультативными анаэробами.

Указанные 5 штамма после 27 пассажей росли при аэробных условиях на среде в присутствии NaCl (10%) при 37⁰ С, образовав не прозрачные, бесцветные колонии, диаметром 4-5 мм, легко снимались с поверхности агара. В окрашенном препарате, приготовленных из колонии этих культур, клетки имели сферическую форму; диаметром 0,4-0,7 мм расположенными группами. Были неподвижными, споры не образовывали. На основании полученных результатов культуры расценивали как *S.epidermidis*.

На плотных питательных средах, на рассеянном свете колонии всех указанных 6 культур окрашивались в различные цвета (золотисто-желтые, белые), а некоторые были бесцветные. В кровяном агаре вокруг колонии образовалась широкая зона гемолиза. Некоторые из этих культур свертывали молоко, разжижали свернутую сыворотку и желатин. Коагулозный тест был положительным у ряд культур (7).

На основании полученных результатов, изученные штаммы расценивались как *S.aureus* (8 штаммов), *S.epidermidis* (5 штаммов) и *Micrococcus* (3 штаммов), а одна культура не дифференцирована. У остальных 11 штаммов в препарате мазка наблюдали палочковидные и различного размера шаровидные формы. При посеве на дифференциальные среды Гисса расщепляли только глюкозу с образованием кислоты без газа, в мазках окрашивались плохо. На МПА и в среде Эндо росли с образованием шероховатой R-колонии. С агглютинирующий O сывороткой типа *E.Coli* и *Enterobacter* не агглютинировались, индола и H₂S не образовали. К антибиотикам широкого спектра действия проявляли высокую устойчивость.

Мы также их пассировали на среде Эндо, Плоскирева, МПА и солевых средах. Постепенно рост культур стал более нежным; чем больше пассажей, тем легко колонии снимались с поверхности агара. Культуры стали расщеплять кроме глюкозы и мальтозу - маннозу, лактозу и начали давать слабую агглютинацию с положительными O – сыворотками *E.Coli* и *Enterobacter*. Через 23 пассажа культура полностью реверсировали в исходную форму. Из указанных 11 культур, 7 штаммов при росте на среде Эндо росли с образованием гладких S-

колоний красного цвета с металлическим блеском, на среде Плоскирёва — образовывали бесцветные, гладкие S - колонии. Колонии легко снимались с поверхности агара, эмульгировались на физиологическом растворе, образовывали равномерную мутную взвесь. Агглютинировались с положительной сывороткой серовари О-111 E.Coli. На среде Гисса росли с образованием кислоты и газа. На МПБ росли с образованием равномерного помутнения, продуцировали индол и сероводород. На лакмусовом молоке цвет порозовел, а молоко коагулировалось. Желатин не разжижали, на цитратной среде не росли. В мазках обнаружили Грамм отрицательные палочки с округленными концами, среднего размера (0,3-0,6 мкм в ширину, 0,8-1,4 мкм в длину приблизительно).

Анализируя полученные данные и сопоставляя с результатами культуральные свойства стандартного штамма E.Coli, наши изученные 7 культур мы расценивали E.Coli серовар О-111 относящиеся к роду Enterobacteriaceae.

Из остальных 4 штаммов у 2х при росте на МПА обнаружили слизистый колоний в виде налета, среда и колонии окрашивались в синезелённый цвет, рост происходил в диапазоне от 38⁰С до 41⁰С. В висячих и раздавленных каплях бактериальные клетки были подвижными. В мазках — палочки с округленными концами окрашенные грамм отрицательно.

При окраске мазка по методу Гинс - Бурри обнаружили капсулу. На среде Гисса расщепляли углевод с образованием кислоты и газа. При посеве культуры на желатин уколом разжижали желатин по ходу роста. Штаммы были оксидаза и каталаза положительны. Давали агглютинацию на стекле со специфической сывороткой.

По результатам полученных данных эти 2 штаммы мы расценивали как P.aureginosae.

Остальные 2 штамма хорошо стали расти на среде Эндо и МПА, образовывая гладкую S-колонию. У этих культур реакция Фогес - Проскуэро и результаты на среде Симмонса с цитратом были положительными.

Культуры медленно разжижали желатину, сероводород не образовали, углевод расщепляли с образованием кислоты и газа, в мазках окрашивались Грамм отрицательно. Эти культуры были расценены как Enterobacter.

Следует отметить, что в анамнезе, больные, у которых были выделены атипичные штаммы, до обращения к врачебной помощи самовольно, многократно и беспорядочно принимали антибиотики (пенициллин, ампициллин и др.). Видимо, в результате этого появились антибиотико резистентные штаммы, с измененными культурально - биологическими свойствами, то есть атипичные штаммы.

Выводы

1. Установлено, что штаммы, с множественной лекарственной устойчивостью и измененными культурально - биологическими свойствами, является потенциально опасными возбудителями при ОГСО и ХГСО, особенно в хронизации процесса.
2. Каждый штамм, выделенные от больного с ГВЗ среднего уха с отклоненными морфологическими и культуральными свойствами должен быть тщательно изучен для установления правильного диагноза и проведение эффективного лечения.
3. Доказано, что измененные штаммы после многократного пассажа могут реверсироваться в исходные положения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Амонов Ш.Э, Саидов С.Х. Эксудативный средний отит у детей – вопросы этиопатогенеза и диагностики //Новый день в медицине. -2014. - № 2-3. –С. 96-08. 10-12.
2. Саидов С.Х. и др. Совершенствование метода диагностики эксудативного среднего отита //Вестник Казахского Национального медицинского университета. -2014. -№ 2-3. – С. – 96-98.
3. Амонов Ш.Э, Саидов С.Х., Амонов А.Ш. Обоснование патогенетической терапии эксудативного среднего отита у детей //Новый день в медицине. – 2013. - № 4. –С. 10-12.
4. Алешкин А.В. Опыт применения лечебных бактериофагов при гнойно-воспалительных заболеваниях ЛОР – органов Медицинский совет. -№ 16. 2015. –С. 96 – 101.

5. Баронов К.К., Богомольский М.Р. и Минасян В.С. Современные подходы к диагностике и лечению обострений хронического среднего гнойного отита у детей. Вестник Российского Государственного медицинского университета, -№ 1, 2015, -С. 41-43.
6. Долгов В.А., Аникин М.И., Шевлюк Н.Н., Жеребятъева О.О. и Шкунова С.С. Характеристика показателей микробного биоценоза носа у здоровых лиц, больных острым ринофарингитом и при развитии осложнения заболевания – гнойного среднего отита. //Оренбургский медицинский вестник. Vol. 7 - № 1 (25), 2019, -52-56.
7. Еремина Н.В., Конаков Н.А. Сравнительная оценка микрофлоры полости носа и среднего уха у больных хроническим гнойным средним отитом, проживающих в условиях Севера. //Российская оториноларингология, - №6, 2012, -С. 66-70.
8. Кривошпалов А.А., Фанта. Острый средний отит: эпидемиология, классификация, этиология и лечение. //Медицинский совет, -№4, 2016, - С. 53-55.
9. Крюков А.И., Гаров Е.В., Ивойлов А.Ю., Пакина В.Р., Яновский В.В., Кунельская Н.Л. и Изотова Г.Н. Топическая терапия острого среднего отита в детском возрасте. //Медицинский совет, -№15, 2014, - С. 60-63.
10. Крюков А.И., Гуров А.В., Юшкина М.А., Изотова Г.Н. и Соколов С.С. Особенности антибактериальной терапии гнойно-воспалительной патологии ЛОР – органов. //Медицинский совет, -№18. 2016. –С. 16-22.
11. Крюков А.И., Кунельская Н.Л., Гуров А.В., Изотова Г.Н. и Елчуева З.Г. Оценка эффективности препарата Амписид в терапии наружного бактериального (несинегнойного) и острого среднего отитов. //Медицинский совет, -№15, 2014, - С. 55-59.
12. Кунельская Н.Л., Гуров А.В. и Юшкина М.А. клинико – микробиологическое обследование применения топических антимикробных препаратов при наружном и среднем отите. //Лечебное дело. -№4, 2019, -С. 38-48.
13. Полшкова Л.В., Аникин И.А. Этиопатогенетические и патоморфологические предпосылки формирования холестеатомы и при хроническом гнойном мезотимпаните (обзор литературы). //Российская оториноларингология, -№5, 2011, -С. 170-178.
14. Рязанцев С.В., Дьяков И.М., Коноплёв О.И. Антибактериальная терапия болезни оперированного уха. //Медицинский совет, -№8, 2018, - С. 34-35.
15. Холматов Д.И., Махамадиев А.А. Этиопатогенез и лечение хронического гнойного среднего отита в сенсоневральной тугоухости. //Вестник Авиценны, -№4 (57), 2013, - С. 104-110.
16. Шабалдина Е.В., Тихонюк В.П., Шабалдин А.В. Особенности течения острого среднего отита у детей. //Мат и дитя в Кузбассе. - №2. 2009. –С. 8-12.
17. Шляга И.Д., Медведова Е.П. Неспецифические воспалительные заболевания среднего уха по данным ЛОР отделения Гомельской областной клинической больницы. //Проблемы здоровья и экологии. -№1. 2007. – С. 103 – 109.
18. Leung A.K.C., Wong A.H.C. Acute Otitis Media in Children/ Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov 2017; 11(1): 32-40.
19. Seppanen E.J., Thornton R.B., North H.J., Corscadden K.J., Wiertsema S.P., Vijayasekaran S., Cotes H.L., Jacoby P., Richmond P.C., Kirkham L.S. Bacterial Reservoirs in the Middle Ear of Otitis-prone Children Are Associated With Repeat Ventilation Tube Insertion. //Pediatr Infect Dis J. 2020 Feb;39(2):91-96. doi:10.1097/INF.0000000000002541.PMID:31725550.
20. Ngo C.C., Massa H.M., Thornton R.B., Cripps A.W. Predominant Bacteria Detected from the Middle Ear Fluid of Children Experiencing Otitis Media: A Systematic Review. Plos One. 2016 Mar 8;11(3):e0150949.PMID:26953891; PMCID: PMC4783106.
21. Short K.R., von Kockritz - Blickwede M., Langereis J.D., Chew K.Y., Job E.R., Armitage C.W., Hatcher B., Fujihashi K., Reading P.C., Hermans P.W., Wijburg O.L., Diavatopoulos D.A. Antibodies mediate formation of neutrophil extracellular traps in the middle ear and facilitate secondary pneumococcal otitis media. //Infect Immun. 2014 Jan;82(1):364-70. Doi: 10.1128/IAI.01104-13. Epub 2013 Nov 4. PMID:24191297; PMCID: PMC3911859.

Поступила 09.05.2022