

Мікробіологія

УДК: 616.31-002:615.242+615.282

**ЧУТЛИВІСТЬ ДО ПРОТИМІКРОБНИХ ЗАСОБІВ БАКТЕРІЙ,
ЩО ПРИЙМАЮТЬ УЧАСТЬ
У РОЗВИТКУ АФТОЗНИХ СТОМАТИТІВ****Сукманська Г.Д.***Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, Вінниця, Україна*

У розвитку афтозних стоматитів велику роль відіграє мікрофлора порожнини рота. Тому схеми комплексного лікування таких хворих обов'язково включають протимікробні засоби. Низька ефективність лікування хворих на афтозні стоматити може бути обумовлена помилками у виборі препарату в умовах відсутності інформації щодо чутливості етіологічно значимих бактерій до протимікробних засобів. Метою роботи було дослідження чутливості до протимікробних препаратів мікроорганізмів, виділених із вмісту афт хворих на афтозні стоматити. Визначення проведено з використанням диско-дифузійного методу та методу послідовних двократних розведень препаратів у рідкому поживному середовищі. Стрептококи, які найчастіше виділялись із вмісту афт, виявляли чутливість до переважної більшості досліджених препаратів в межах видових особливостей цієї характеристики. Не виявлено полірезистентних до антибіотиків і серед виділених штамів золотистих стафілококів. Виділені штами ентеробактерій найвищий (92,9 %) рівень чутливості виявили до препарату з ряду аміноглікозидів амікацину. 85,7 % виділених штамів були чутливими до захищеного клавулановою кислотою амоксациліну. Тоді як до незахищеного амоксациліну чутливими були лише 21,4 % штамів ентеробактерій. Високий рівень чутливості дослідженні штамами мікроорганізмів виявили до поверхнево-активних антисептиків біглюконату хлоргексидину, бензалконію хлориду і декаметоксину. Особливу увагу привернула висока протимікробна активність щодо мікроорганізмів, які приймають участь у розвитку афтозних стоматитів, антисептика з ряду четвертинних амонієвих сполук декаметоксину. Необхідна розробка нової лікарської форми препарату, яка б забезпечувала тривале перебування антисептика на слизовій оболонці, що постійно і рясно омивається ротовим секретом.

Ключові слова: умовно-патогенні бактерії, резистентність до антибіотиків та антисептиків, мікрофлора вмісту афт.



Цитуйте українською: Сукманська Г.Д. Чутливість до протимікробних засобів бактерій, що приймають участь у розвитку афтозних стоматитів. Медицина сьогодні і завтра. 2021;90(4):48-55. <https://doi.org/10.35339/msz.2021.90.4.sgd>

Cite in English: Sukmanska GD. Sensitivity to antimicrobial agents of bacteria involved into the development of aphthous stomatitis. Medicine Today and Tomorrow. 2021;90(4):48-55. <https://doi.org/10.35339/msz.2021.90.4.sgd> [in Ukrainian].

Вступ

Всесвітня федерація стоматологів наголошує, що хвороби ротової порожнини залишаються найпоширенішими захворюваннями у всьому світі – 98 % населення Землі потерпають від них. Значну частку уражень слизової оболонки порожнини рота і губ, з якими стоматолог щоденно має справу, складають афтозні стоматити. За даними різних авторів частота захворюваності на афтозні стоматити становить від 5 % до 20 % усіх захворювань слизової оболонки порожнини рота. На афтозний стоматит припадає 25 % рецидивних оральних виразок у дорослих та 40 % у дітей [1; 2].

Первинні зміни слизової оболонки порожнини рота (СОПР) в процесі розвитку афтозних стоматитів виникають під впливом негативних зовнішніх та внутрішніх чинників, таких як механічні, фізичні, хімічні травмування, аутоімунна агресія тощо. Розвиток симптоматичного стоматиту часто пов'язаний із загальними хворобами, такими як ураження травного тракту, гематологічними, ендокринними захворюваннями, гіпо- чи авітамінозами. Однак, провідну роль у розвитку афтозних стоматитів відіграє мікробний чинник. Порушення цілісності слизової оболонки будь-якого генезу створює умови для інвазії мікроорганізмів, а подальша їх життєдіяльність сприяє утворенню глибоких дефектів. У розвитку афтозних стоматитів можуть приймати участь представники як автохтонної, так і алохтонної мікрофлори. При цьому, не встановлено будь-яких ознак специфічності мікробного ураження [3].

Враховуючи домінуючу роль у патогенезі афтозних стоматитів мікроорганізмів, комплексні схеми лікування хворих обов'язково включають протимікробні засоби для топічного застосування, рідше – для системного. При цьому вибір протимікробного препарату

майже завжди носить емпіричний характер. Однак, в сучасності важким тягарем на практиці лікування захворювань бактеріальної природи лежить явище полірезистентності умовно-патогенних мікроорганізмів до протимікробних засобів. За оцінками ВООЗ саме полірезистентні до антибіотиків бактерії стають причиною близько 700 тис. смертей щорічно [4; 5]. В таких умовах низька ефективність лікування хворих на афтозні стоматити цілком може бути обумовленою помилками у виборі протимікробного препарату. Якісна терапія будь-якої патології мікробної природи можлива лише на основі знання чутливості збудників до протимікробних препаратів.

Мета роботи дослідження – вивчення чутливості до протимікробних препаратів мікроорганізмів, виділених із вмісту афт хворих на афтозні стоматити.

Матеріали і методи

У дослідженні використані результати бактеріологічного обстеження 114 пацієнтів з діагнозом афтозний стоматит. У 100 % обстежених пацієнтів з досліджуваного матеріалу виділялись представники роду *Streptococcus*, які за комплексом морфологічних і культуральних ознак могли належати до видів *S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. mutans*, *S. sobrinus*. Для визначення чутливості до протимікробних засобів довільно було обрано 20 штамів мікроорганізмів цього роду, а саме: *S. Salivarius* – 6, *S. sanguis* – 4, *S. mutans* – 7, *S. mitis* – 3. В процесі бактеріологічних досліджень, крім того, було виділено 27 штамів умовно-патогенних бактерій, з числа яких 7 штамів належало до біологічного виду *S. aureus*, 2 – *E. faecalis*, 2 – *A. baumannii*, 2 – *P. aeruginosa* і 14 штамів до родини *Enterobacteriaceae*. Серед представників цієї родини виділялись *E. coli*, *K. pneumonia*, *K. oxytoca*, *E. aerogenes*, *S. marcescens*.

Вивчення чутливості виділених штамів бактерій до найчастіше вживаних у медичній практиці антибіотиків проводили диско-дифузійним методом (ДДМ) з використанням стандартних дисків виробництва ТОВ «Фармактив» (Україна).

Чутливість мікроорганізмів визначали до поверхнево-активних антисептиків біглюконату хлоргексидину та бензалконію хлориду методом подвійних серійних розведень препаратів у рідкому поживному середовищі. Середню величину мінімальної бактерицидної концентрації (МБЦК) вираховували при кількості штамів не більше 2-х з результатів визначення у трьох повтореннях для кожного штаму [6].

Результати та їх обговорення

В умовах сучасного стану резистентності мікроорганізмів до протимікробних засобів результати лабораторних досліджень клінічних штамів бактерій, зазвичай, вражають показниками низького рівня чутливості до переважної більшості існуючих антибіотиків [7]. Результати наших досліджень, проведені з використанням ДДМ, не підтвердили цієї сучасної тенденції, оскільки стрептококи, які найчастіше виділялись із вмісту афт, виявляли чутливість до переважної більшості досліджених препаратів в межах видових особливостей цієї характеристики. Досліджені штамми цього виду бактерій були чутливими до препаратів β -лактамною структури, макролідів, амфеніколів, триметоприму, виявляли стійкість до препаратів фторхінолонового ряду і, в окремих випадках, до аміноглікозидів і лінкозамідів.

Не було полірезистентних до антибіотиків і серед виділених штамів золотистих стафілококів. Чотири з семи виділених штамів виявляли стійкість до амінопеніцилінів. Однак, їх стійкість до оксациліну була обумовлена продукцією β -лактамаз, оскільки вони виявля-

ли чутливість до захищеного клавулановою кислотою амоксациліну. Усі досліджені штамми стафілококів були чутливими до препаратів цефалоспоринового ряду, аміноглікозидів, лінкозамідів, макролідів та фторхінолонів.

Обидва виділені штамми іншого виду грампозитивних коків, *E. faecalis*, були стійкими до оксациліну і цефазоліну, однак зберігали чутливість до амоксациліну/клавуланату, цефтриаксону та інших цефалоспоринових III покоління, ванкоміцину. Навіть до амікацину, до якого ентерококи за звичай не чутливі, виділені штамми виявляли помірну чутливість.

Грамотрикативні палички родини *Enterobacteriaceae* здатні приймати участь у розвитку запальних процесів різноманітної локалізації і у наших дослідженнях вони склали більше половини штамів усіх виділених із вмісту афт умовно-патогенних бактерій. Враховуючи спільність багатьох біологічних характеристик бактерій цієї родини ми узагальнили рівень чутливості виділених штамів до антибіотиків без урахування видової належності на *рис. 1*.

Найвищий (92,9 %) рівень чутливості виділені штамми ентеробактерій виявили до препарату з ряду аміноглікозидів амікацину. 85,7 % виділених штамів були чутливими до захищеного клавулановою кислотою амоксациліну. Тоді як до незахищеного амоксациліну чутливими були лише 21,4 % штамів ентеробактерій. Це свідчить про здатність більшості виділених штамів продукувати β -лактамази, що є загальновідомою характеристикою біологічних властивостей цієї групи бактерій. До ще одного антибіотика β -лактамною структури цефтриаксону виявили чутливість 64,2 % досліджених штамів.

Достатньо високою (71,4 %) у цієї групи умовно-патогенних бактерій виявилась чутливість до антимікробного препарату з групи фторхінолонів ципро-

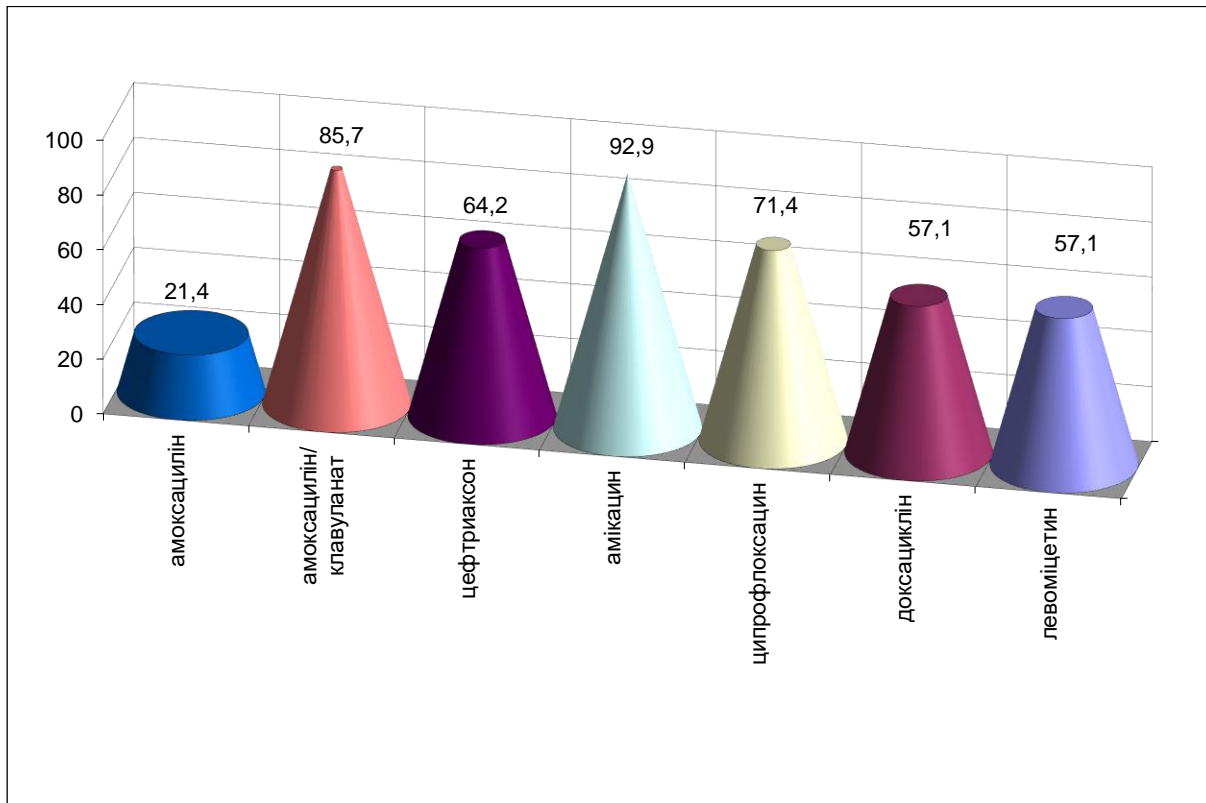


Рис. Характеристика чутливості виділених штамів родини *Enterobacteriaceae* до антибіотиків (% чутливих штамів).

флоксацину. Більше половини досліджених штамів виявляли чутливість до доксицикліну і левоміцетіну.

Неферментуючі грамнегативні палички родів *Pseudomonas* та *Acinetobacter*, відомі наявністю багатьох механізмів стійкості до антибіотиків, включаючи продукцією карбапенемаз, і часто в сучасності виявляються панрезистентними до антибіотиків. У нашому випадку 4 виділених штами цієї групи бактерій теж були більш стійкими до антибіотиків, у порівнянні з іншими вище описаними представниками умовно-патогенної мікрофлори. Вони не виявляли чутливості до жодного антибіотика β-лактамної структури, окрім карбапенемів, хлорамфеніколу. Однак, були чутливими до антибіотиків-аміноглікозидів, фторхінолонів, меропенему та іміпенему.

В цілому рівень резистентності виділених від хворих на афтозні стоматити штамів умовно-патогенних бактерій до антибіотиків можна вважати цілком помірним, у порівнянні з показниками які дають госпітальні штами бактерій тих же видів. Це пояснюється тим, що у розвитку стоматитів приймає участь резидентна мікрофлора порожнини рота чи транзиторна, яка швидко елімінується в процесі лікування. Період лікування стоматитів відносно короткотривалий, і антибіотики нечасто включають до схем лікування хворих на афтозні стоматити. Таким чином, бактеріальна мікрофлора, що колонізує уражені ділянки СОПР, не піддається селективному тиску антибіотиків.

У сучасних схемах терапії хворих на афтозні стоматити завжди локально застосовуються антисептичні засоби.

Нами проведено кількісне визначення рівня чутливості виділених штамів умовно-патогенних бактерій до антисептика групи бігуанідинів біглюконату хлоргексидину і двох четвертинних амонієвих сполук: хлориду бензалконію і декаметоксину. Одержані результати наведені у таблиці.

Найвищими значеннями МБцК у відношенні усіх видів бактерій, за результатами наших досліджень, характеризується бензалконію хлорид. МБцК препарату для бактерій *P. aeruginosa* більш ніж у двічі вища ($[262,8 \pm 32,6]$ мкг/мл), ніж біглюконату хлоргексидину і декаметоксину. Тим не менше,

Таблиця. Характеристика чутливості бактерій, що приймають участь у розвитку афтозних стоматитів, до антисептиків

Вид бактерій (кількість штамів)	Бензалконію хлорид	Біглюконат хлоргексидину	Декаметоксин
	МБцК (M \pm m, мкг/мл)		
<i>S. aureus</i> (n=7)	14,2 \pm 5,7	10,4 \pm 4,2	2,8 \pm 0,5
<i>Streptococcus</i> spp. (n=5)	4,8 \pm 1,2	3,9 \pm 0,8	1,8 \pm 0,4
<i>E. faecalis</i> (n=2)	23,7 \pm 3,3	17,8 \pm 6,4	7,6 \pm 1,7
<i>Klebsiella</i> spp. (n=6)	44,2 \pm 7,7	42,4 \pm 4,8	36,4 \pm 4,2
<i>E. coli</i> (n=5)	32,6 \pm 8,6	30,1 \pm 7,8	8,25 \pm 1,3
<i>A. baumannii</i> (n=2)	44,6 \pm 3,2	42,7 \pm 5,1	41,6 \pm 1,7
<i>P. aeruginosa</i> (n=2)	262,8 \pm 32,6	112,5 \pm 4,4	116,5 \pm 10,2

Декаметоксин давно відомий широким спектром протимікробної дії і високою лікувальною ефективністю захворювань бактеріальної природи [8]. Однак у стоматологічній практиці цей препарат поки що не має широкого застосування.

Біглюконат хлоргексидину у вигляді розчинів з успіхом використовується у схемах топічної терапії хворих на афтозний стоматит. Одержані нами результати свідчать про ефективну дію цього препарату на усі види умовно-патогенних мікроорганізмів, які виділялись з дна афт. Висока лікувальна ефективність препарату стає зрозумілою, якщо врахувати, що для знищення самого стійкого до антисептиків виду бактерій *P. aeruginosa* достатньою у наших дослідженнях була концентрація (112,5 \pm 4,4) мкг/мл біглюконату хлоргексидину, а у лікувальній практиці використовуються розчини, що утримують 500–1200 мкг/мл препарату.

зарубіжні дослідники характеризують цей препарат як високоефективний антисептик щодо широкого спектру бактерій і вірусів. Рекомендовані для практичного застосування концентрації розчинів бензалконію хлориду у межах від 10000 мкг/мл до 25000 мкг/мл цілком достатні для знищення будь-якого виду умовно-патогенних бактерій [9].

Таким чином, результати дослідження чутливості умовно-патогенних бактерій до протимікробних засобів свідчать про можливість топічного застосування у лікуванні хворих на афтозні стоматити широкого переліку антибіотиків і антисептиків. При цьому, слід надати перевагу антисептикам з числа поверхнево-активних сполук.

Висновки

1. Умовно-патогенні бактерії, що колонізують уражені ділянки СОПР хворих на афтозні стоматити характеризуються помірним рівнем резистентності до антибіотиків, зберігають чутли-

вість до більшості широко вживаних у клінічній практиці препаратів у межах особливостей видових біологічних характеристик.

2. Поверхнево-активні антисептики біглюконат хлоргексидину, бензалконію хлорид і декаметоксин виявляють високий рівень протимікробної активності щодо усіх видів умовно-патогенних бактерій, що колонізують уражені ділянки СОПР хворих на афтозні стоматити, і можуть топічно застосовуватись у комплексному лікуванні хворих з цією патологією.

Перспективність дослідження

Одержані результати будуть використані у створенні нових засобів топічного лікування хворих на афтозні стоматити. Особливу увагу привернула

висока протимікробна активність щодо мікроорганізмів, які приймають участь у розвитку афтозних стоматитів, антисептика з ряду четвертинних амонієвих сполук декаметоксину. Для лікування уражень СОПР використовуються сублінгвальні таблетки септефрил, основною діючою речовиною яких є декаметоксин. Однак, ця лікарська форма забезпечує протимікробний ефект лише протягом короткого періоду розсмоктування таблетки. Необхідна розробка нової лікарської форми препарату, яка б забезпечувала тривале перебування антисептика на слизовій оболонці, що постійно і рясно омивається ротовим секретом.

Конфлікт інтересів відсутній.

Література

1. Мазур ІІ. Всесвітня федерація стоматологів у формуванні стратегії розвитку стоматології. Сучасна стоматологія. 2017;3:100-2. Доступно на: <https://is.gd/jLdcYp>
2. Liu Y, He M, Yin T, Zheng Z, Fang C, Peng S. Prevalence of recurrent aphthous stomatitis, oral submucosal fibrosis and oral leukoplakia in doctor/nurse and police officer population. BMC Oral Health. 2022;22(1):353. DOI: 10.1186/s12903-022-02382-0. PMID: 35974343.
3. Lu M, Xuan S, Wang Z. Oral microbiota: A new view of body health. Food Science and Human Wellness. 2019;8(1):8-15. DOI: 10.1016/j.fshw.2018.12.
4. Bassetti M, Poulakou G, Ruppe E, Bouza E, Van Hal SJ, Brink A. Antimicrobial resistance in the next 30 years, humankind, bugs and drugs: a visionary approach. Intensive Care Med. 2017;43(10):1464-75. DOI: 10.1007/s00134-017-4878-x.
5. Calbo E, Boix-Palop L, Garau J. Clinical and economic impact of bacterial resistance: an approach to infection control and antimicrobial stewardship solutions. Curr Opin Infect Dis. 2020;33(6):458-63. DOI: 10.1097/QCO.0000000000000694.
6. Волянський ЮЛ, Гриценко ІС, Ширококов ВП. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: метод. рекомендації. Київ; 2004. 38 с.
7. Pires D, de Kraker MEA, Tartari E, Abbas M, Pittet D. Fight antibiotic resistance – it's in your hands': call from the World Health Organization for 5th May 2017. Clin Infect Dis. 2017;64(12):1780-83. DOI: 10.1093/cid/cix226.
8. Палій ВГ, Назарчук ОА, Палій ДВ, Яковець КІ. Обґрунтування медичного застосування антимікробних засобів, що містять декаметоксин®. Буков. мед. вісн. 2017;21(1): 100-5. Доступно на: http://nbuv.gov.ua/UJRN/bumv_2018_22_4_22
9. Bondurant SW, Duley CM, Harbell JW. Demonstrating the persistent antibacterial efficacy of a hand sanitizer containing benzalkonium chloride on human skin at 1, 2, and 4 hours after application. Am J Infect Control. 2019;47(8):928-32. DOI: 10.1016/j.ajic.2019.01.004. PMID: 30777389.

Сукманская А.Д.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ПРОТИВОМИКРОБНЫМ СРЕДСТВАМ БАКТЕРИЙ, ПРИНИМАЮЩИХ УЧАСТИЕ В РАЗВИТИИ АФТОЗНЫХ СТОМАТИТОВ

В развитии афтозных стоматитов огромную роль играет микрофлора полости рта. Поэтому схемы комплексного лечения таких больных обязательно включают в себя противомикробные средства. Низкая эффективность лечения больных афтозными стоматитами может быть обусловлена ошибками в выборе препарата в условиях отсутствия информации относительно чувствительности этиологически значимых бактерий к противомикробным средствам. Целью работы было исследование чувствительности к противомикробным препаратам микроорганизмов, выделенных из содержания афт больных афтозными стоматитами. Определение проведено с использованием диско-диффузионного метода и последовательных двукратных разведений препаратов в жидкой питательной среде. Стрептококки, наиболее часто выделявшиеся из содержания афт, проявляли чувствительность к подавляющему большинству исследованных препаратов в пределах видовых особенностей этой характеристики. Не выявлено полирезистентных к антибиотикам и среди выделенных штаммов золотистых стафилококков. Выделенные штаммы энтеробактерий имели самый высокий (92,9 %) уровень чувствительности к препарату из ряда аминогликозидов амикацину. 85,7 % выделенных штаммов были чувствительны к защищенному клавулановой кислотой амоксициллину. В то время как к незащищенному амоксициллину чувствительными были только 21,4 % штаммов энтеробактерий. Высокий уровень чувствительности у штаммов микроорганизмов обнаружили к поверхностно-активным антисептикам биглюконата хлоргексидина, бензалконию хлорида и декаметоксину. Особое внимание привлекла высокая противомикробная активность в отношении микроорганизмов, участвующих в развитии афтозных стоматитов, антисептика из ряда четвертичных аммониевых соединений декаметоксина. Необходимо разработка новой лекарственной формы препарата, которая обеспечивала бы длительное пребывание антисептика на слизистой, которая постоянно и обильно омывается ротовым секретом.

Ключевые слова: условно-патогенные бактерии, резистентность к антибиотикам и антисептикам, микрофлора содержания афт.

Sukmanska G.D.

SENSITIVITY TO ANTIMICROBIAL AGENTS OF BACTERIA INVOLVED INTO THE DEVELOPMENT OF APHTHOUS STOMATITIS

The microflora of the oral cavity plays a major role in the development of aphthous stomatitis. Therefore, the schemes of complex treatment of such patients necessarily include antimicrobial agents. The low effectiveness of the treatment of patients with aphthous stomatitis can be due to errors in the choice of the drug in the absence of information on the sensitivity of etiologically significant bacteria to antimicrobial agents. The aim of the work was to study the sensitivity of microorganisms isolated from the aphthae of patients with aphthous stomatitis to antimicrobial drugs. The determination was carried out using the disk-diffusion and serial dilutions of drugs in a liquid nutrient medium methods. *Streptococci*, which were most often isolated from the contents of aphthae, were sensitive to the vast majority of the studied drugs. Polyresistant to antibiotics were not found among the isolated strains of *Staphylococcus aureus*. The isolated strains of enterobacteria showed the highest (92.9%) level of sensitivity to the drug from a number of aminoglycosides, amikacin. 85.7% of the isolated strains were sensitive to

amoxicillin protected by clavulanic acid. While only 21.4% of enterobacteria strains were sensitive to unprotected amoxicillin. A high level of sensitivity of the research strains of microorganisms to surface-active antiseptics chlorhexidine bigluconate, benzalkonium chloride and decamethoxine was found. Special attention was drawn to the high antimicrobial activity against microorganisms that take part in the development of aphthous stomatitis, an antiseptic from a number of quaternary ammonium compounds of decamethoxine. It is necessary to develop a new dosage form of the drug that would ensure a long-term stay of the antiseptic on the mucous membrane, which is constantly and abundantly washed with oral secretions.

Keywords: *opportunistic bacteria, resistance to antibiotics and antiseptics, microflora of aphthous content.*

Надійшла до редакції 24.11.2021

Відомості про авторів

Сукманська Ганна Дмитрівна – аспірант кафедри мікробіології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова.

Адреса: Україна, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.

E-mail: anny_dent@ukr.net

ORCID: 0000-0002-0052-3042.