

# **Изучение микробного сообщества зева детей с инфекционным мононуклеозом в сочетании с ангинами методом масс-спектрометрии микробных маркеров**

. По материалам диссертации П.С. Адеишвили (канд. мед. наук) РГМУ г.Москва и статьи в журнале «Детские инфекции», №2 2012, в печати. Используются также данные к.м.н. врача ЛОР И.Андреановой по аденоидитам (Красноярский федеральный университет) и амбулаторные данные Академической группы Аккад РАМН Ю.Ф.Исакова (НЦ ССХ им А.Н.Бакулева, Москва).

## **Введение**

В силу ряда причин исследование микробиоты зева классическими бактериологическими методами в условиях клинической бактериологической лаборатории сильно затруднено или полностью невозможно. Реализация задачи требует подключения специализированных лабораторий с арсеналом культуральных и некультуральных методов, позволяющих обеспечить количественный анализ полимикробной инфекции одного больного. Как правило, это требует значительных материальных и временных затрат, не совместимых со стоимостью и временем пребывания больного в стационаре. Еще более важна несовместимость с темпом развития воспалительного процесса. Возникает необходимость внедрения новых экспресс-методов диагностики инфекционного статуса пациента.

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 кислотам, альдегидам и стеринам [Осипов, 2010].

Суть анализа состоит в прямом извлечении с помощью химической процедуры высших жирных кислот из подлежащего исследованию образца, их разделении на газовом хроматографе в капиллярной колонке высокого разрешения и анализа состава в динамическом режиме на масс-спектрометре. Хроматограф соединен в едином приборе с масс-спектрометром и снабжен компьютером с соответствующими программами автоматического анализа и обработки данных, сам процесс анализа занимает 30 мин, а с учетом времени пробоподготовки и расчета данных - не более 2,5 часов.

Внедрение МСММ позволяет сократить время и стоимость исследования, минуя стадии повторных пересевов первичных колоний и тестовых ферментаций, которые особенно сложны, трудоемки и длительны для анаэробов. В этом методе применен

математический аппарат количественного реконструирования состава микроорганизмов в очаге воспаления по составу их маркеров в биопробе, что позволяет контролировать инфекцию в динамике заболевания, а также эффективность лечения.

В период разгара заболевания всем пациентам проводили забор пробы с миндалин бактериологическими тампонами, которые хранили в замороженном состоянии (при  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Для ГХ-МС анализа вату с тампона переносили в реакционный сосуд (виал) и подвергали кислоте метанолизу в 0,4 мл 1 М HCl в метаноле в течение 45 мин при  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Полученные в результате реакции метанолиза микробных липидов жирные кислоты в виде метиловых эфиров двукратно экстрагировали 200 мкл гексана, высушивали и обрабатывали в 20 мкл N,O-бис(триметилсилил)-трифторацетамида в течение 15 мин при  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$  для получения триметилсилильных эфиров гидрокси-кислот и стеролов. В реакционный сосуд добавляли 40 мкл гексана и 2 мкл смеси вводили в инжектор ГХ-МС системы 5850/5973 Agilent Technologies (США). Для управления и обработки данных использовали штатные программы прибора. Хроматографическое разделение пробы осуществляли на капиллярной колонке с метилсиликоновой привитой фазой HP-5MS Agilent.

Анализ и обоснование принадлежности маркеров конкретным микроорганизмам осуществляли по технологии «Оценка микрoэкологического статуса человека методом хромато-масс-спектрометрии» (разрешение Росздравнадзора ФС 2010/038 от 24.02.2010). Таким способом определяют эффективную (то есть соответствующую измеренной в данный момент концентрации маркера) численность микроорганизмов разных таксонов, в том числе анаэробов, актинобактерий, дрожжей, грибов и вирусов – всего 170 таксонов, введенных в программу скрининга маркеров. В число определяемых по маркерам микроорганизмов входят не только те, что находятся в момент отбора пробы на поверхности очага воспаления, но и находящиеся внутри слоя ткани, из которого химические вещества отмирающих микроорганизмов могут поступать с экссудатом.

Начиная с 60-х годов XX века считалось, что поражение ротоглотки при ИМ имеет вирусно-бактериальное происхождение, причем роль микробной инфекции является определяющей, что определяло назначение антибактериальной терапии при ИМ. Однако частое использование антибиотиков при лечении ангина привело к возросшему числу сыпей у детей, в том числе к токсикоаллергическим. Нерациональное употребление антибиотиков, назначаемых по данным культурального теста на чувствительность, приводит к увеличению антибиотикорезистентных микробных штаммов, а также губительно действует на нормальную микрофлору

организма. С другой стороны, одностороннее назначение антибиотиков, нацеленных на культивируемые микроорганизмы, дает приоритет некультивируемым в условиях клинических бактериологических лабораторий микроорганизмам – анаэробам, аэробным актинобактериям, грибам и вирусам. Более того, многочисленные данные показывают, что колонизация слизистых оболочек является полимикробной в норме [Wilson, 2008] а любая инфекция является полиэтиологичной [Бутов, 2011; Osipov, 2011]. В том числе и при ангине [Brook, 1997; 1999; Chole, 2003]. В этой ситуации тактика антибиотикотерапии должна учитывать качественную и количественную приоритетность отдельных видов в совокупном инфекционном сообществе. Для реализации такого подхода необходимо применение некультуральных молекулярных методов, которые получили развитие в конце прошлого века.

## 2. Результаты исследования

Используя метод масс-спектрометрии микробных маркеров оказалось возможным установить по мазкам из зева наличие микроорганизмов, принадлежащих к 51 таксону (таблица 1). По результатам анализа микробного сообщества пациентов (n=25) по сравнению со здоровыми донорами (n=10) обнаружено систематическое клинически значимое (более чем вдвое по сравнению с нормой [Beloborodova, 2000]) увеличение численности бактерий 21 таксона, а именно видов *Moraxella*, *Fusobacterium*, *Streptococcus* (оральные и анаэробные *S. mutans*), *Prevotella*, *Propionibacterium* (*P. acnes*, *P. jensenii*, *P. freudenreichii*), *Eubacterium/Clostridium*, актинобактерий *Streptomyces*, *Actinomyces* *Bacteroides fragilis*, *Peptostreptococcus anaerobius*, вирусов герпеса и других микроорганизмов.

Это означает, что у детей с ИМ имеет место полимикробная инфекция ротоглотки, что проявляется клинически значимым увеличением численности бактерий (на два порядка и более) 27 видов аэробов, анаэробов, актинобактерий грибов и вирусов из исследуемых 56 таксонов, по сравнению с детьми без поражения ротоглотки, а также обнаружено участие нормофлоры в возникновении ангины. Данный факт патогенетически обосновывает назначение лекарственных средств для восстановления мукозального иммунитета и нормализации микробиоты. В том числе дает информацию для этиотропной антибиотикотерапии.

### Таблица 1

**Усредненный состав и количество микроорганизмов в мазке у детей с ИМ в разные периоды заболевания (n=22)**

Микроорганизмы	Группа сравнения (n=10)	Период разгара	Период реконвалесценции (n=12)
		(n=10)	
	Контроль	Разгар	Рекон
Streptococcus sp.	2304	2469	3419
Bacillus cereus	112	124	163
Peptostreptococcus anaerobius	72	4153	2580
Str. pneumonia	25	37	67
Nocardia, 14:1d11	570	2090	1124
Moraxella/Neisseria	51	341	217
Pseudomonas aeruginosa	10	8	11
Propionibacterium	16	583	440
Bacillus megaterium	10	76	56
Clostridium propionicum	47	233	186
Stenotrophomonas maltophilia	0	0	0
Selenomonas	20	110	282
АКТИНОМИЦЕТЫ	111	118	446
Pseudonocardia	100	81	105
Streptomyces	28	559	418
Clostridium ramosum	6276	11875	10572
Fusobacterium/Haemophilus	16	376	437
Alcaligenes	43	63	78
Репер	0	0	0
Flavobacterium	2	6	0
Rhodococcus	267	221	284
Staphylococcus intermedius	97	210	402
Porphyromonas	3	155	107
Corineform CDC-group XX	321	310	300
Lactobacillus	9867	11772	10906
Campylobacter mucosalis	227	254	538
Mycobacterium/Candida	882	1083	1356
E.coli	9	11	229
<b>Eubacterium moniliforme sbsp</b>	17	442	116
Cl.difficile	226	411	338
Actinomadura	0	0	0
Prevotella	127	365	552
Eubacterium/Cl. coccoides	1390	8866	6515
Bacteroides fragilis	31	665	510
Staphylococcus	261	219	190
<b>Bifidobacterium</b>	100	933	180
Helicobacter pylori, h18	185	196	253
Clostridium perfringens	285	292	435
Enterococcus	604	632	576
Eubacterium	12	0	85
<b>Propionibacterium/Cl. subterminale</b>	813	4057	1824
Streptococcus mutans	682	1043	1326
Herpes	43	413	223

Nocardia asteroides	126	359	155
<b>Цитомегаловирус</b>	221	2230	611
Propionibacterium acnes	235	1519	798
Ruminicoccus	6	22	0
Actinomycetes 10Me14	385	364	407
Blautia coccoides	676	812	477
Enterococcus	0	0	0
Actinomyces viscosus	467	1610	1552
Propionibacterium jensenii	28	422	419
Afipia, Helicobacter mustelae	0	0	0
<b>Сумма</b>	<b>28406</b>	<b>63190</b>	<b>52265</b>
Микр грибы, кампестерол	1961	774	900
Микр грибы, ситостерол	27710	984	11788

- - численность микроорганизмов в ячейках указана для удобства сопоставления, уменьшенными на пять порядков. Таким образом, напр., численность Streptococcus sp. в группе сравнения составляет  $2304 \times 10^5$

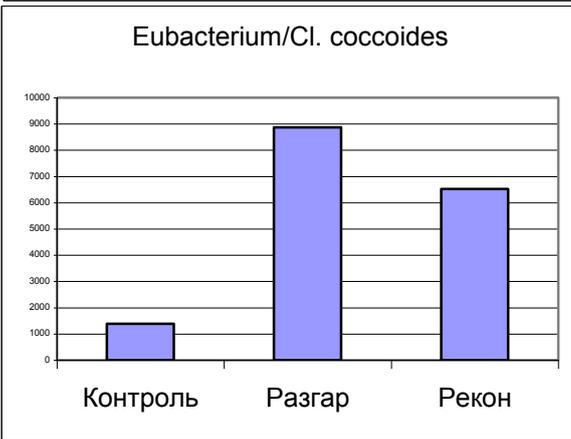
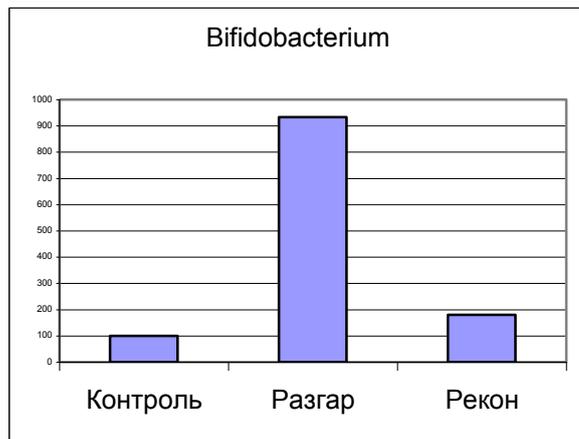
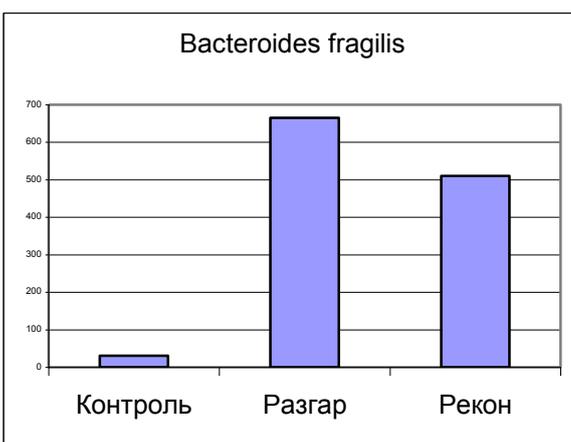
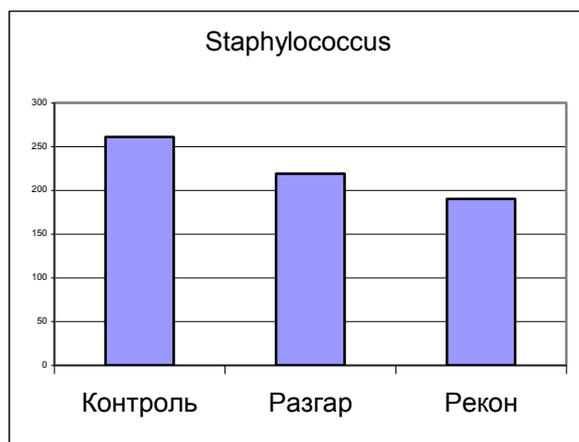
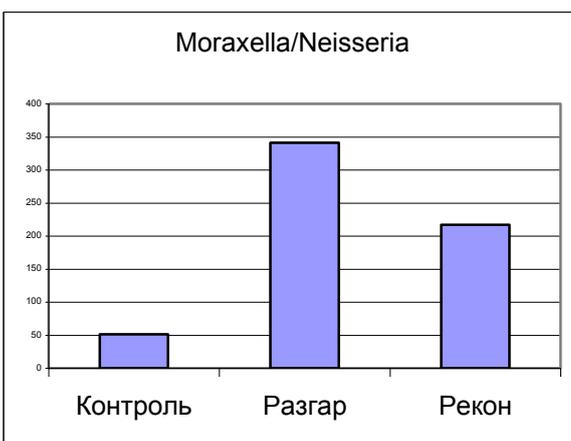
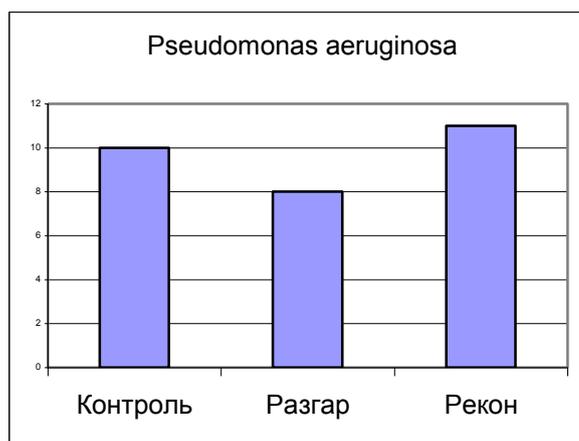
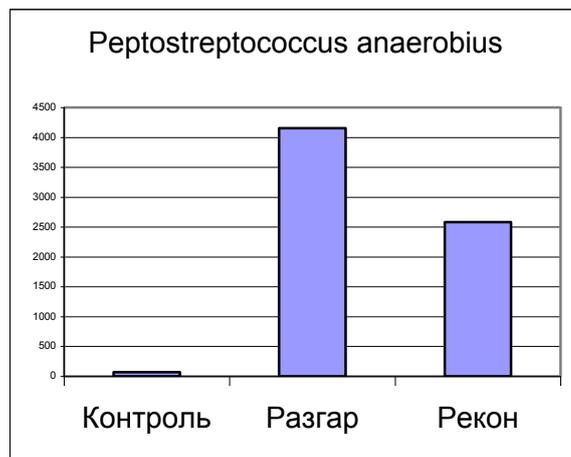
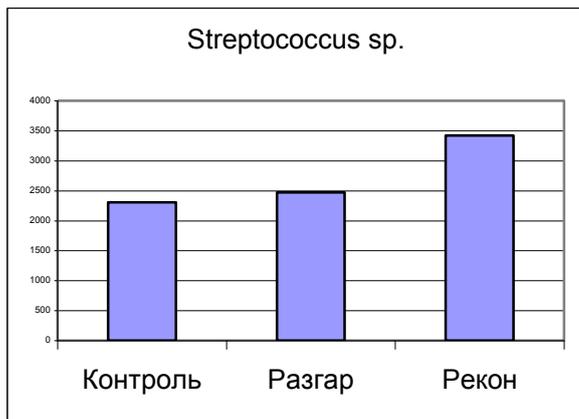


Рис 1. Диаграммы, построенные по данным таблицы 1 графически в динамике

подтверждают активное участие *Peptostreptococcus anaerobius*, *Bacteroides fragilis*, видов *Moraxella/Neisseria*, *Eubacterium/Cl. coccoides* и *Bifidobacterium* в инфекционном процессе от минимума в норме, достигая максимума в разгаре и снижаясь в период реконвалесценции.

Концентрация маркеров другой группы микроорганизмов не превышает в среднем уровень колонизации слизистой зева у доноров. К ним относятся представители родов *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, коринебактерии, *Pseudonocardia*, *Stenothrophomonas* и другие. Микроскопические грибы (не кандиды) - плесневые, дерматофиты и другие оказываются в дефиците у пациентов.

Следует отметить, что концентрация маркеров части микроорганизмов в слизистой зева доноров больше чем в среднем в крови здоровых людей, что означает повышенную колонизацию зева этими микробами в норме. К ним относятся клостридии группы *C. ramosum*, *Helicobacter*, *C. perfringens*, *Prevotella*, *Bacteroides fragilis* и микроскопические грибы (не кандиды).

У некоторых доноров можно усмотреть начало инфекции – там, где превышение нормы наблюдается только в отдельных случаях. Ранняя диагностика?

Однако здесь не уместны усреднения. Каждый пациент индивидуален в проявлении инфекции. Поэтому, в ряде случаев за счет усреднения сглаживается участие отдельных представителей – например, стрептококков и псевдомонад. Как видно из гистограмм, приведенных ниже, их активность многократно возрастает у отдельных детей и должна индивидуально учитываться при лечении.

Наибольшая кратность увеличения концентрации маркеров микроорганизмов в мазке отмечена для фузобактерий, бактериоидов, стрептомицетов, анаэробного пептострептококка – на два порядка и более по сравнению с нормой. До 30 раз увеличивается численность моракселл и пропионобактерий, на порядок возрастает численность бактерий группы *Eubacterium/Clostridium*, а также стрептококков, нокардий, превотел, актиномицетов.

Метод МСММ дает возможность определить концентрацию липополисахарида (ЛПС) – эндотоксина грамотрицательных бактерий пересчетом суммы гидроксикислот из состава его липида-А, по которым детектируются конкретные бактерии этого типа – псевдомонады, моракселлы, бактериоиды и другие. Его концентрация составляет 0,1 – 3 наномоля в тампоне и превышают норму до 30 раз у пациентов по сравнению с группой

доноров.

Начиная с 60-шестидесятых годов XX века превалировало мнение о вирусно-бактериальном происхождении ангины при ИМ, причем роль микробной флоры являлась определяющей. Данный факт обосновывал назначение антибактериальной терапии при ИМ. Некоторые авторы указывали на ведущую роль вируса в формировании патологических изменений в зеве и роль патогенных микроорганизмов в возникновении ангины считали минимальным. Однако сегодня ряд авторов говорят о бактериальном генезе наложений при ИМ, но при этом подчеркивают, что антибактериальная терапия неэффективна. Неэффективность антибиотиков объясняется, с одной стороны, отсутствием чувствительности основного возбудителя к терапии, с другой - присутствием грибковой флоры в ротоглотке.

Применение метода масс-спектрометрии микробных маркеров объясняет этот кажущийся парадокс. Ведь антибиотики выбирали исходя из данных посева на питательные среды, которые определяли стрептококки, стафилококки и непатогенные нейссерии. Количественные данные метода МСММ показывают, что эти микробы действительно присутствуют в клиническом материале (табл 1), но их количество в основной и контрольной группах одинаково. Это означает, что это нормальная составляющая микробиоты и бороться с ней не надо – только вредить организму, что и подтверждают полученные экспериментальные данные. На самом деле истинными инфекционными агентами являются те, которые обнаруживают наибольшую кратность увеличения численности у больных по сравнению с контролем. Как показано выше (табл 1), наибольшая кратность увеличения концентрации маркеров микроорганизмов отмечена у анаэробного пептострептококка и *Porphyromonas spp* (в 40 раз), фузобактерий (в 24 раза), *Bacteroides fragilis* (17 раз) , стрептомицетов (20 раз). До 30 раз увеличивалась численность моракселл и пропионобактерий, на порядок возрастала численность бактерий группы *Eubacterium/Clostridium*, а также нокардий, превотел и актиномицетов. Из этого следует, что эффект антибиотикотерапии будет положительным, если она будет адекватной истинным возбудителям.

Учитывая данные МСММ, полученные в этой работе, можно предположить, что доминанты инфекции – пептострептококк, клостридии, зубактерии, другие анаэробы, а также актинобактерии оказались невосприимчивыми к назначенным препаратам. Напротив, угнетение минорной составляющей инфекции - стафилококки, стрептококки, непатогенные нейссерии – стимулировало конкурентное развитие некультивируемой, основной группы микробных агентов.

Результаты исследования состава микробных маркеров в мазке из зева методом газовой хроматографии - масс-спектрометрии.

**Ze-1124 Вренева М., больна, 6 лет иб 20852 проба от 29.09.11**

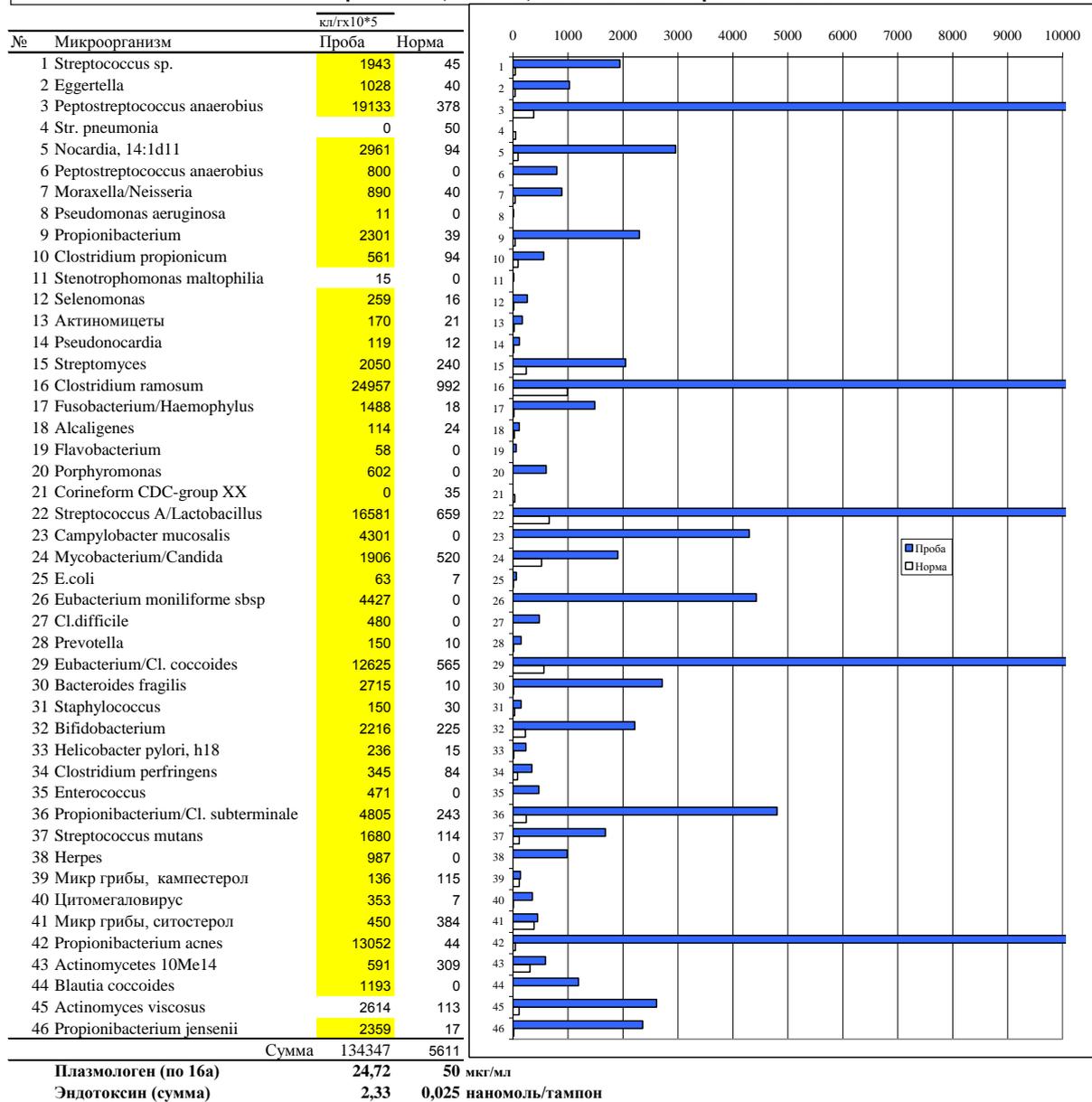


Рис. 2. Реконструкция полимикробной инфекции по методу МСММ в мазке девочки, у которой максимально инфицировано лимфоидно-глоточное кольцо. В колонке «проба» расчетная численность микроорганизмов в клетках на грамм мазка с домножением на 10<sup>5</sup> степени.

**Сибирский Федеральный Университет**  
**Центр коллективного приборопользования**  
 Результаты исследования состава микробных маркеров методом газовой хроматографии - масс-спектрометрии.  
**Проба 16**

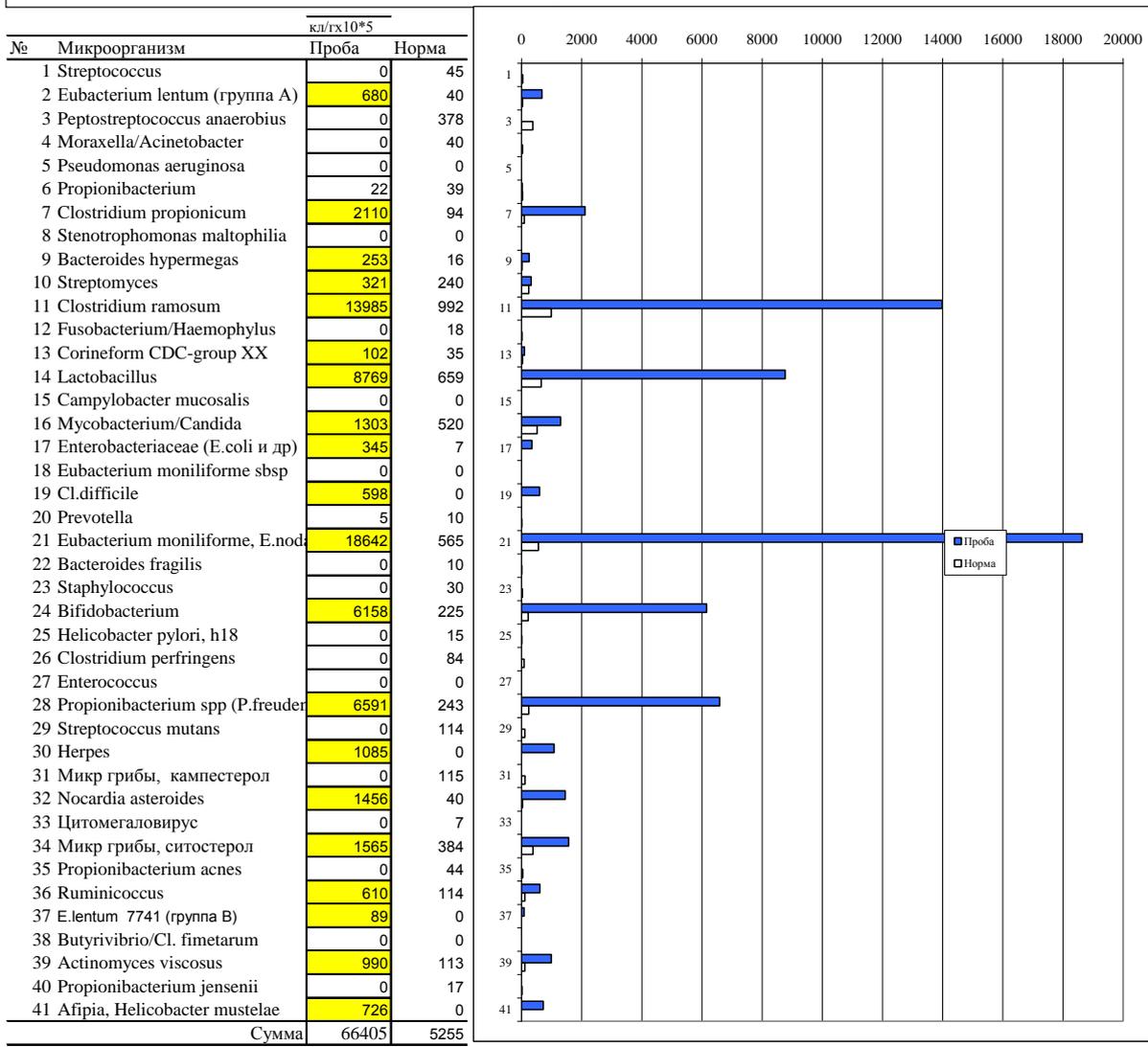


Рис. 3. Реконструкция полимикробной инфекции по методу МСММ в мазке с миндалин ребенка с хроническим аденоидитом. В колонке «проба» расчетная численность микроорганизмов в клетках на грамм мазка с домножением на 10<sup>5</sup> степени. Данные врача ЛОР И.Андриановой ( не опубликованы).

Ниже приведены гистограммы, на которых в виде столбиков отложена численность бактерий, колонизирующих нос и зев при ИМН, ангинах и тонзиллитах в сравнении с нормой и другими патологиями. Слева показана норма крови и зева (у здоровых людей). Далее:

Здоровый 1-10 – группа детей без респираторных заболеваний

ИМН-ангина – 1-19 – группа детей (n=19) с инфекционным мононуклеозом с ангинами

Нос-контроль 1-5 – здоровые дети

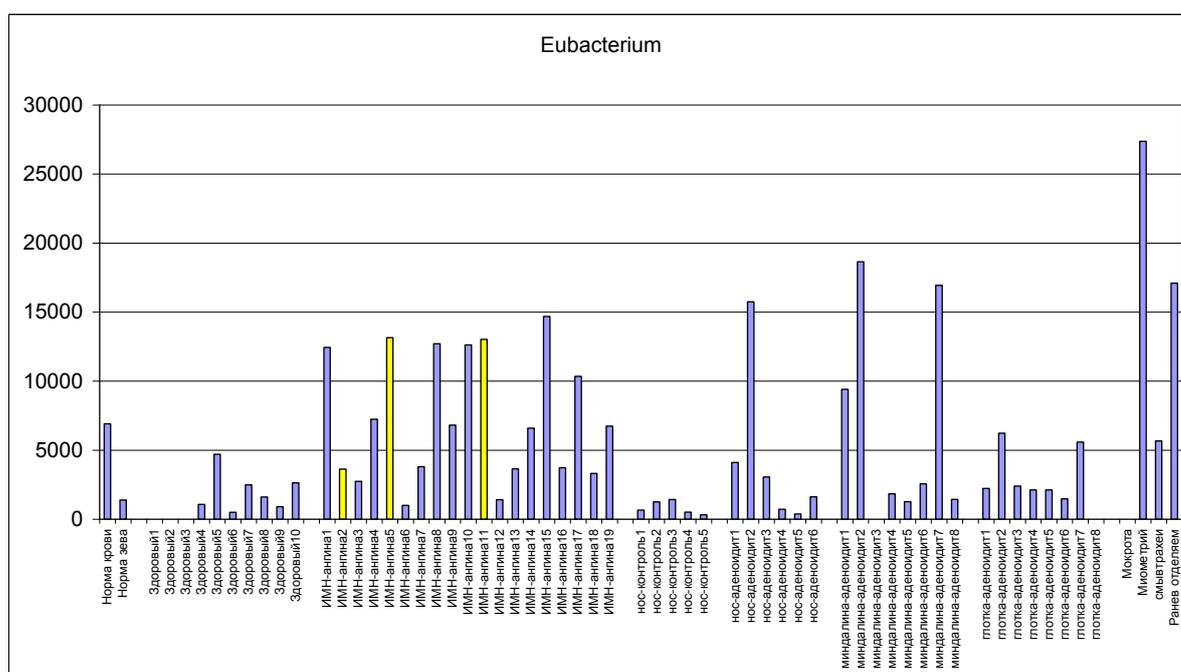
Нос-аденоидит 1-6 – мазок из носа больных с аденоидитом

Миндалина-аденоидит 1-8 – мазок с миндалин

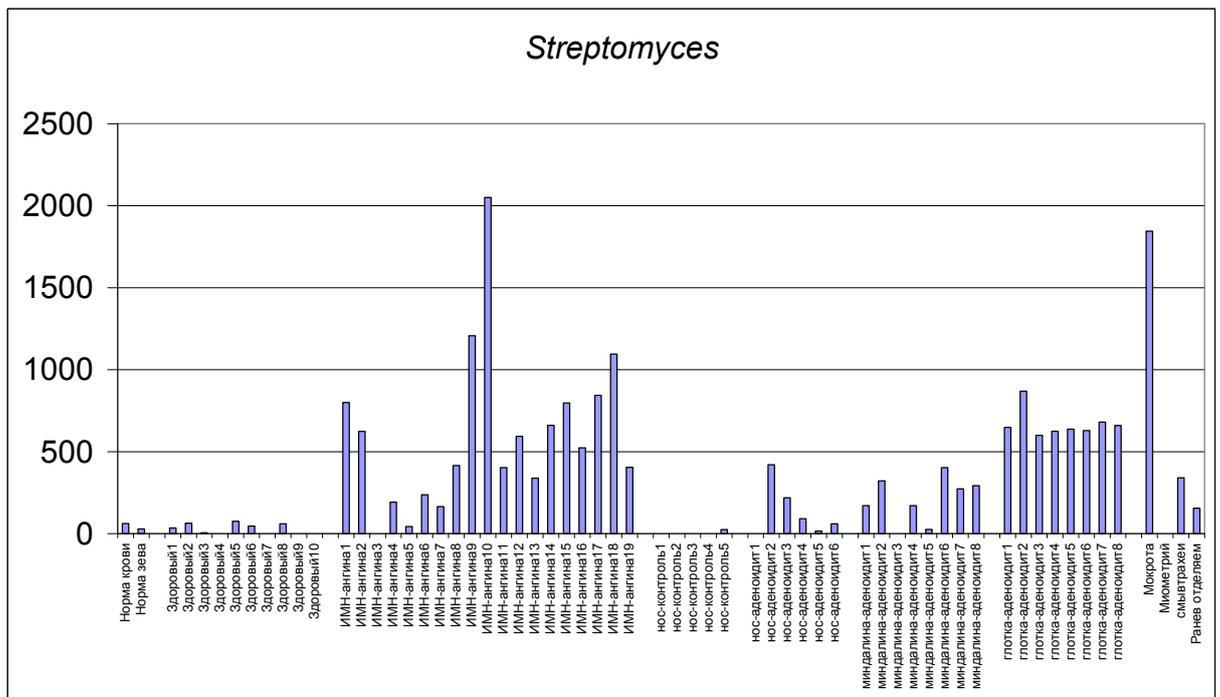
Глотка-аденоидит 1-8 – мазок с задней стенки глотки

Группа данных в правой части гистограммы представляет численность тех же микроорганизмов в мокроте, миометрии матки, смыве трахеи и раневом отделяемом для сравнения.

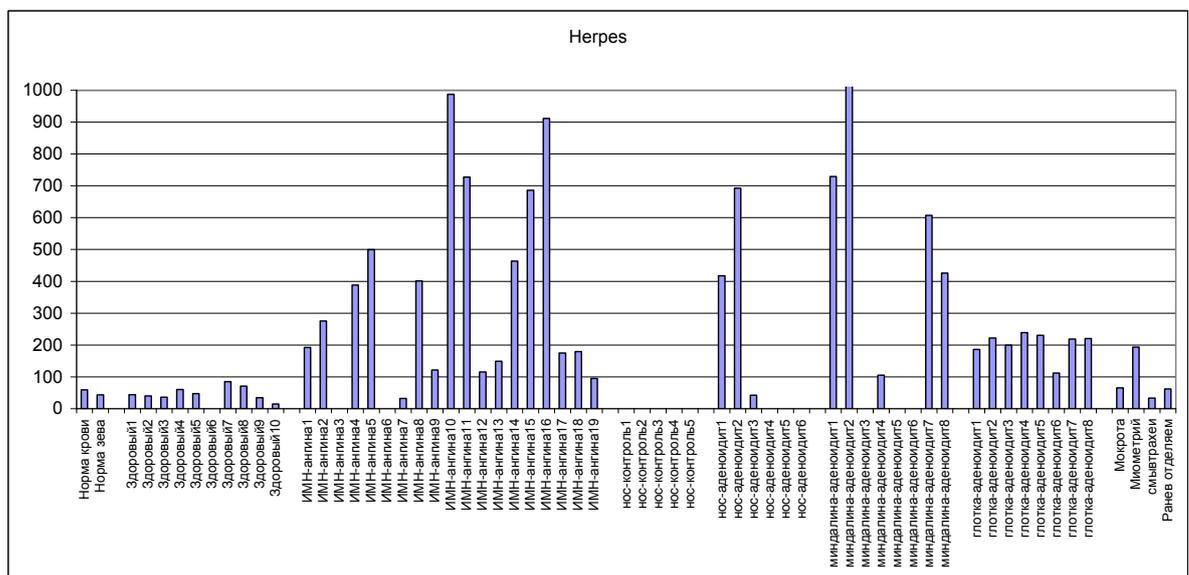
По оси ординат отложена расчетная численность микроорганизмов по их маркерам в клетках на грамм материала в мазке. Числа на оси надо домножить на коэффициент  $10^5$  степени. Например, число 30000 на следующей за текстом диаграмме соответствует  $30000 \times 10^5$  клеток/г, или  $3 \times 10^9$  клеток/г.



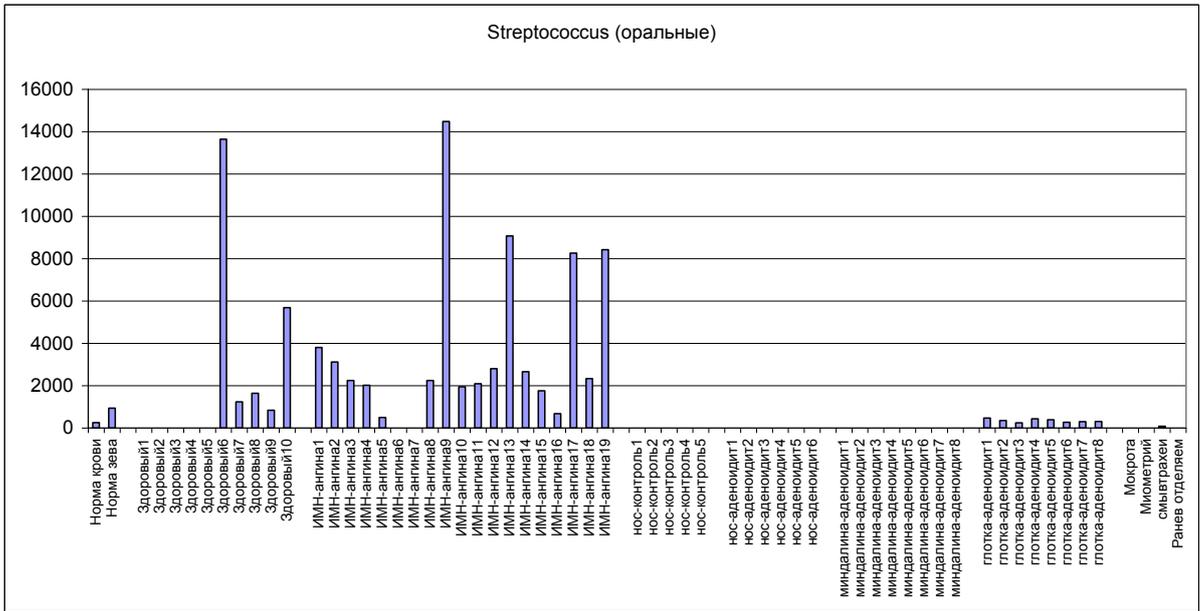
Как видно, нет системы в участии эубактерий в заболеваниях ЛОР-органов.



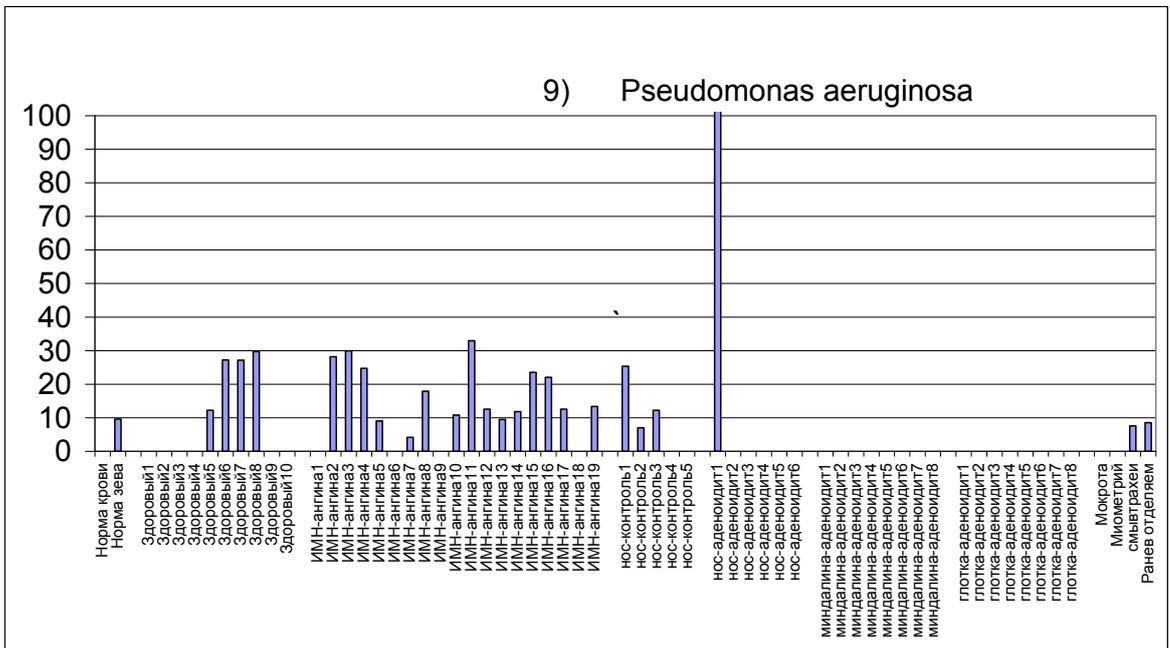
Стрептомицеты чаще инфицируют глотку.



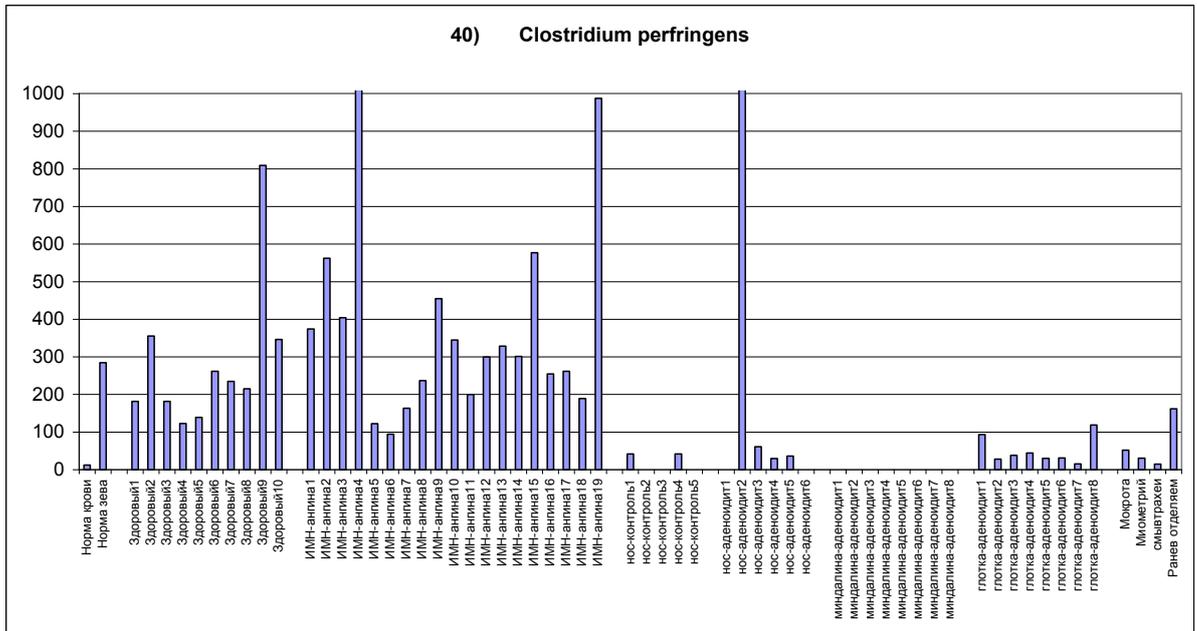
Вирус герпеса участвует гораздо активнее при ЛОР-инфекциях, по сравнению с другими патологиями (четыре столбика справа)



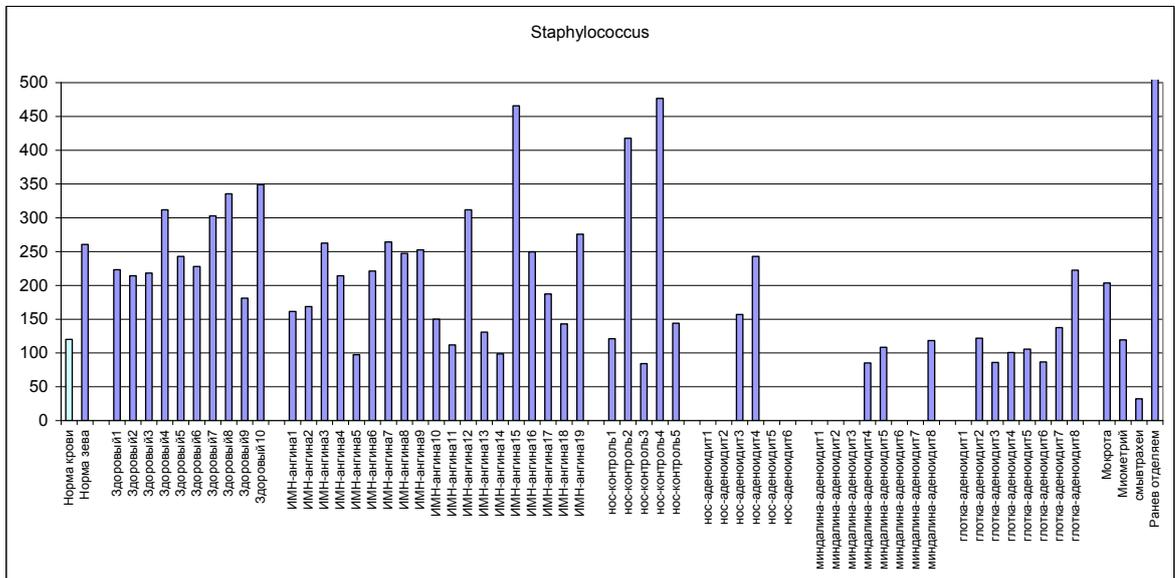
Стрептококки явные спутники ангины. И у здоровых тоже – начало инфекции?



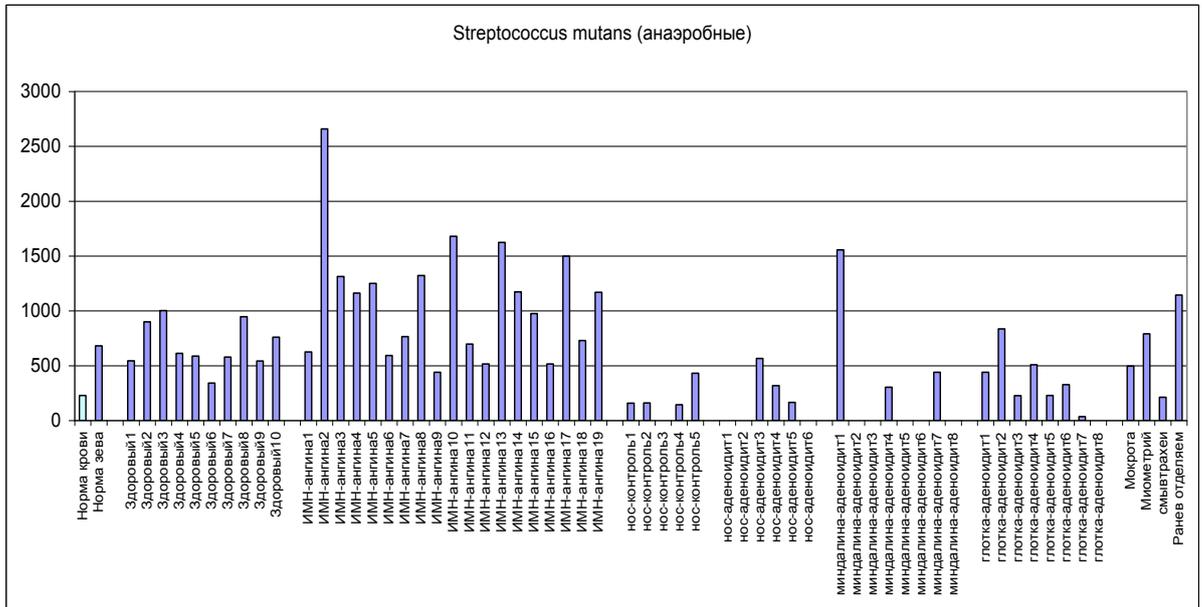
Синегнойная палочка часто проявляет активность при ангинах



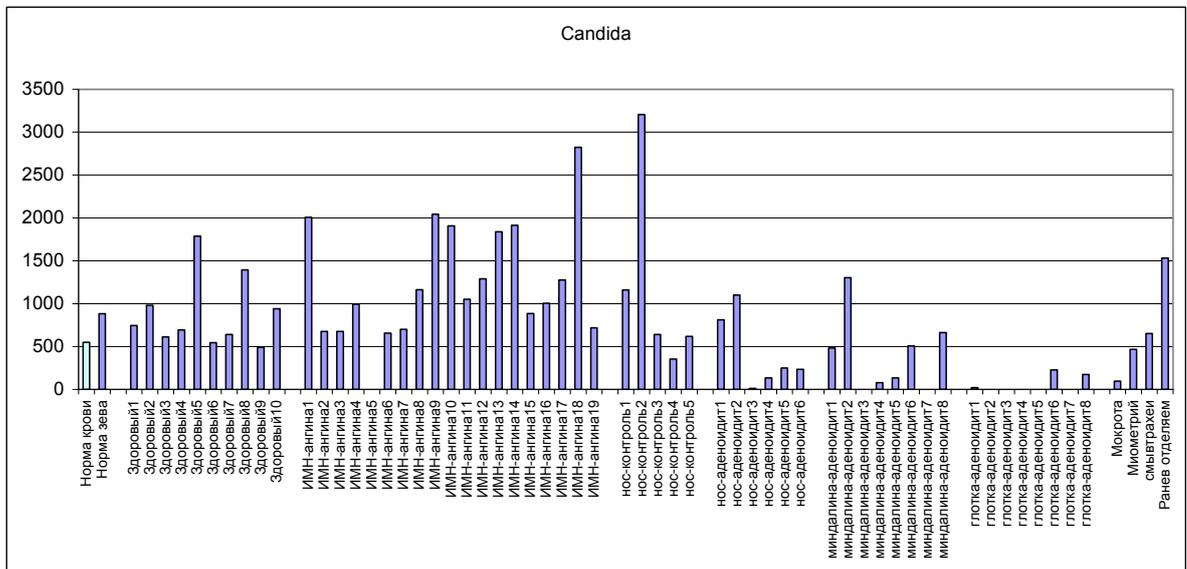
*C. perfringens* колонизирует глотку в норме и представляет опасность вспышек активности.



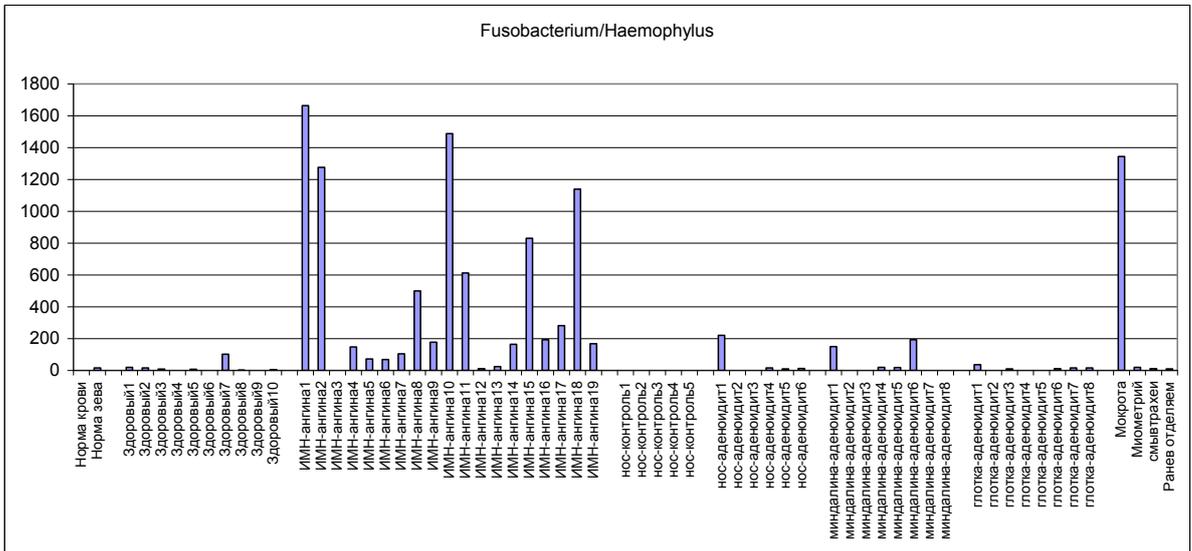
Стафилококки – нормальные обитатели зева. Здесь нет случаев их активности в качестве патогенов, кроме раневого отделяемого. Столбик уходит за пределы шкалы.



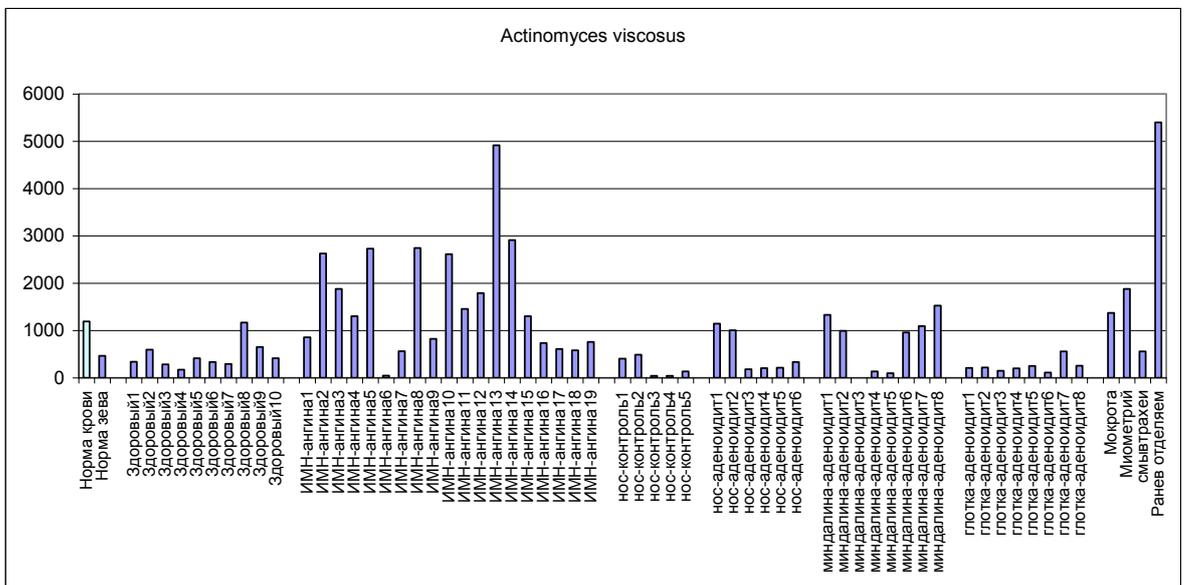
Анаэробные стрептококки есть в норме, иногда проявляют избыточный рост при патологии.



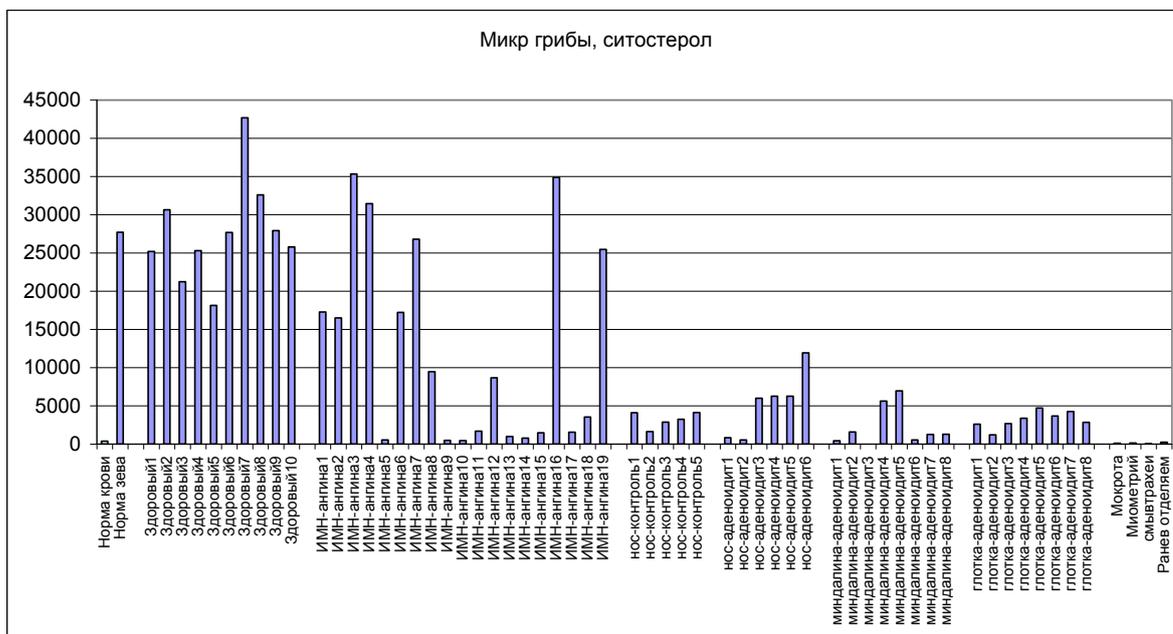
Кандида есть в норме, иногда проявляет избыточный рост при патологии.



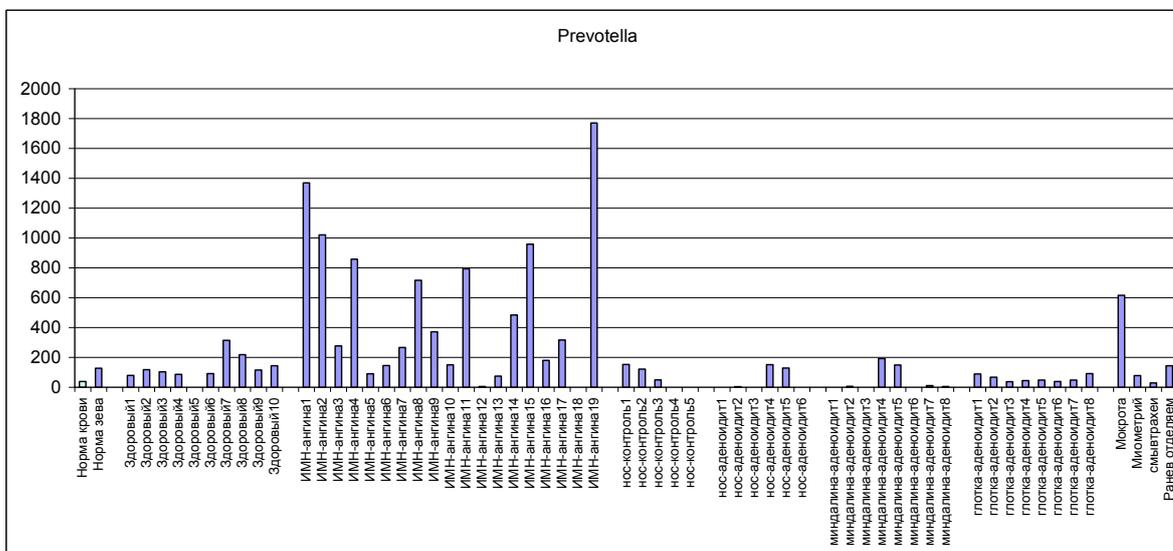
Группа *Fusobacterium/Haemophilus* – активный патоген при ИМН-ангинах



*Actinomyces* – тоже при ИМН-ангинах



### Микроскопические грибы гибнут при ИМН-ангинах



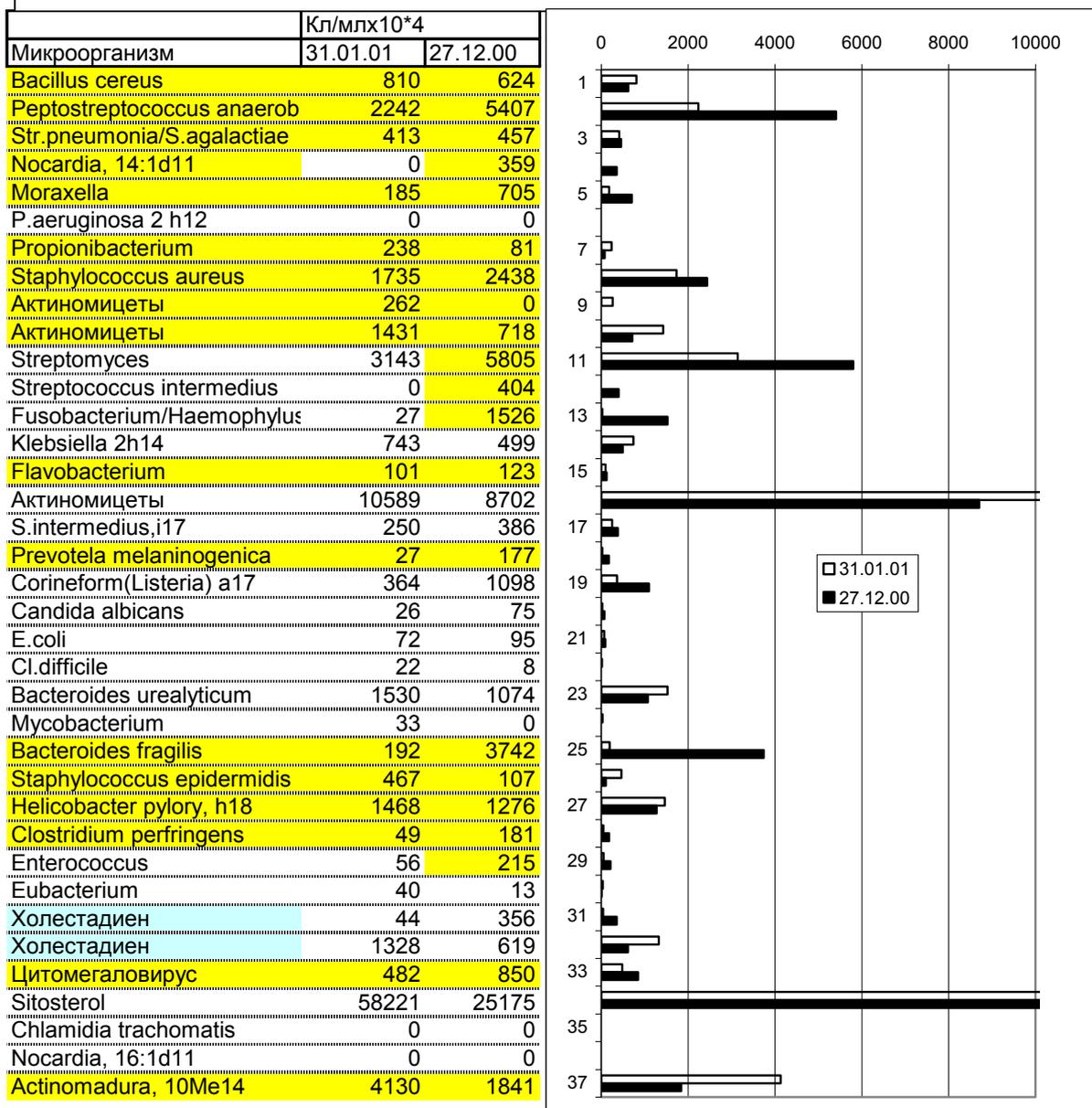
Превотелла - активный патоген при ИМН-ангинах.

Аналогичные гистограммы для других микроорганизмов можно извлечь из прилагаемого файла Zev-stat2011\_ПИС.xls.

### Примеры анализов из амбулаторной практики.

**Пример 1.** CF-270\_254. Карпина, повторный анализ смыва полости рта, в сопоставлении с предыдущим анализом 27.12.2000 (Рис )

Результаты исследования состава маркеров микроорганизмов в смыве полости рта методом газовой хроматографии - масс-спектрометрии.  
 Проба CF-270\_254. Карпина, до и после первого курса лечения.



Ведущими микроорганизмами являются анаэробы Peptostreptococcus anaerobius (стало меньше), Propionibacterium (больше), Bacteroides fragilis (существенно меньше), Fusobacterium (стал в норме), Prevotella (существенно меньше).

Значительную группу микроорганизмов представляют актиномицеты (Streptomyces - пришел в норму, Nocardia - тоже, Actinomadura - растет), в комбинации с кокковыми формами Streptococcus pneumonia (альтернативно, S.agalactiae), Staphylococcus aureus (не изменились), S.epidermidis - вырос. Enterococcus, по сравнению с предыдущим анализом, пришел в норму.

Следует отдельно обратить внимание на маркеры бактерий рода Moraxella (альтернативно, Neisseria) - заметно уменьшились, а также Helicobacter pylori (без

изменений, высокий уровень), который, как показало изучение литературы в связи с этим случаем, известен в патологии изъязвлений языка. Концентрация маркера коринебактерий стала ниже нормы.

Наконец, увеличилась концентрация бета-ситостерола, - стерина, характерного для растений и некоторых микроскопических грибов.

Следовательно, в результате первого курса лечения удалось снизить численность анаэробов и актиномицетов, однако сохраняются или растут концентрации маркеров *H.pylori*, кокковых бактерий и неизвестных микроскопических грибов, связанных с наличием бета-ситостерола и метаболитов холестерина.

**Пример 2.** Попова, тяжелая форма инфекции языка с опуханием, изъязвлениями, сильным затруднением приема пищи и дыхания

CF-2006 Попова, по данным анализа слюны и крови ведущими микроорганизмами являются анаэробы *Peptostreptococcus anaerobius*, *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Clostridium pefringens*, *Selenomonas*, *Propionibacterium*, а также актиномицеты рода *Streptomyces*. Численность грамположительных кокков *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *S.epidermidis*, *Enterococcus* снизилась почти до нормального уровня после лечения.

Сохраняется высокая концентрация маркеров бактерий рода *Moraxella* (альтернативно, *Neisseria*), а также *Helicobacter pylori*, который обнаруживают в изъязвлениях языка.

Поверхность языка сильно повреждена. Можно предположить, что эти повреждения связаны с действием токсина стрептомицетов валиномицина (Andersson, ), который вызывает вспучивание митохондрий, содержащихся в клетках ткани языка.

CF-2069 Попова, Третий анализ

Микст-инфекция при заболевании языка по данным анализа слюны и крови

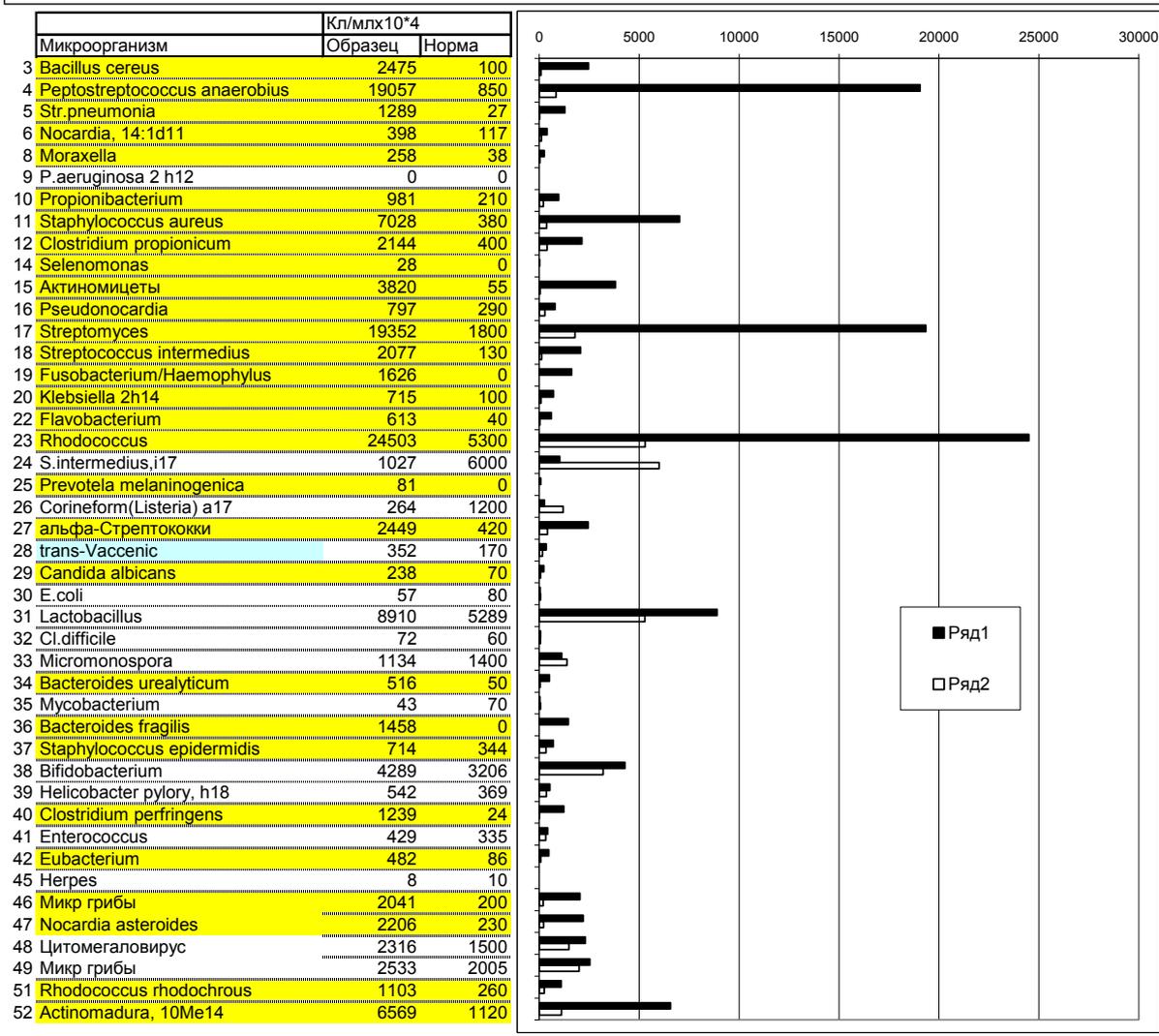
Ведущими микроорганизмами являются анаэробы *Peptostreptococcus anaerobius*, *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium*, *Prevotella*, *Clostridium pefringens*, *Propionibacterium*, а также актиномицеты родов *Streptomyces*, *Rhodococcus*, *Nocardia* и другие. Численность грамположительных кокков *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *S.epidermidis*, *Enterococcus*, которая снизилась почти до нормального уровня после первого курса лечения, снова превышает норму.

Сохраняется высокая концентрация маркеров бактерий рода *Moraxella* (альтернативно, *Neisseria*)

Обнаружилось пятикратное превышение нормы маркеров Eubacterium.

Результаты исследования состава маркеров микроорганизмов в слюне методом газовой хроматографии - масс-спектрометрии.

Проба CF-2069 Попова Третий анализ



CF-2093 Попова, четвертый анализ

Появился маркер, отвечающий трем возможным микроорганизмам: Commamonas, Balneatrix или Acidivorax (предпочтительно - Commamonas)

Ведущими микроорганизмами являются анаэробы Peptostreptococcus anaerobius, Bacteroides fragilis, Fusobacterium, Prevotella, Clostridium pefringens, Eubacterium.

а также актиномицеты родов Streptomyces, Rhodococcus, Nocardia и другие. Существенно снизилась численность грамположительных кокков Streptococcus intermedius, Streptococcus pneumonia, Staphylococcus aureus, S.epidermidis.

Сохраняется высокая концентрация маркеров бактерий рода Moraxella (альтернативно, Neisseria)

**Пример 3.** Проба MZ-6012 Бе-ер, хронический тонзиллит Микробные маркеры в мазке из зева.

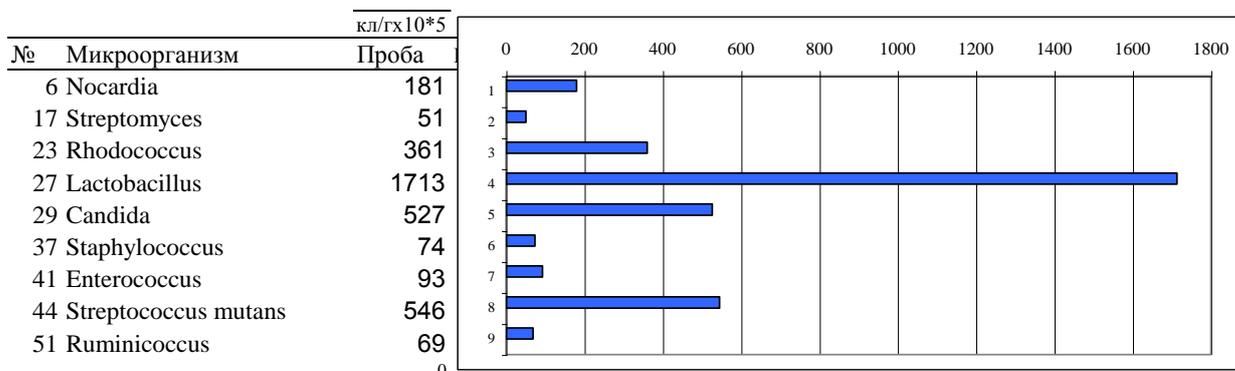
Воспаление вызвано анаэробной клостридиальной инфекцией в составе группы *Clostridium ramosum*, а также *Clostridium propionicum* и *Clostridium perfringens*, с участием актинобактерий *Rhodococcus*, *Nocardia asteroides*, *Pseudonocardia* и других, а также дрожжей кандиды, стафилококков и грамотрицательных микроорганизмов *Moraxella/Acinetobacter*, *Fusobacterium/Haemophilus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Актинобактерии (*Nocardia*, *Streptomyces*, *Rhodococcus*) синергически устойчивы в сочетании со стрептококками. *Streptococcus mutans* - анаэробный стрептококк. Надо воздействовать на актинобактерии. Все изоляты актинобактерий чувствительны к амикацину.

Большинство штаммов родококков чувствительны к гликопептидным антибиотикам, включая ванкомицин и тейкопланин, и к рифампину. Макролиды, такие как эритромицин и кларитромицин также ингибируют рост многих штаммов. Родококки устойчивы к бета-лактамам (за исключением карбапенемов, особенно имипенема) антибиотикам, хотя это свойство не связано с продукцией бета-лактамазы. У имеющих контакт с домашними животными нередко причиной пневмонии и распада легкого является *Rhodococcus equi*. Поскольку это внутриклеточный патоген, антибиотик должен проникать внутрь клеток. В таких случаях длительно применяют комбинацию эритромицина (или других новых макролидов) с рифампицином.

Проба MZ-Plyas П-ва М.А. хронический тонзиллит Микробные маркеры в мазке из зева.

Доминируют лактобациллы, анаэробные стрептококки *Streptococcus mutans*, актинобактерии *Nocardia* sp., *Rhodococcus*, *Streptomyces*, дрожжи кандиды при участии стафилококков и руминококков.



Лактобациллы следует рассматривать как условно-патогенные микроорганизмы. Они чувствительны к эритромицину, клиндамицину, гентамицину, цефотаксиму, амоксициллину, цефтриаксону, ампициллину, ампициллин-сулбактаму, пенициллину-G, но устойчивы к ванкомицину. Отмечается синергический эффект терапии пенициллинами с аминогликозидами. Факторами патогенности лактобацилл считают продуцируемые ими гликозидазы и протеазы. Действительно, по литературным данным они зафиксированы как возбудители при эндокардите, бактериемии, бактериурии, перитонитах, абсцессах и менингитах. Наиболее часто выявляются *L. casei* и *L. rhamnosus* (Cannon, 2005). *Lactobacillus* spp. были изолированы также из нарывов, при пневмонии, бактериемии и конъюнктивитах.

Как воздействовать на кандиду, стафилококки и энтерококки - общеизвестно. Ключевыми микробами, предположительно, здесь являются лактобациллы и актинобактерии+стрептококки.

**Результат лечения: цефтриаксон помог**

Ссылки

Осипов, Г.А. Хромато-масс-спектрометрический анализ микроорганизмов и их сообществ в клинических пробах при инфекциях и дисбиозах. / Химический анализ в медицинской диагностике.- М.: Наука, 2010.- С.293-368.

Beloborodova N.V., Osipov G.A. 2000. Small molecules originating from microbes (SMOM) and their role in microbes-host relationship. *Microb.Ecol.Heal.Dis.*, SCUP, 12: 12-21.

I. Brook, P. A. Foote and J. Slots. Immune response to *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* and other anaerobes in children with acute tonsillitis *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (1997) **39**, 763–769

Brook I., Gober A.E. Interference by Aerobic and Anaerobic Bacteria in Children With Recurrent Group A b-Hemolytic Streptococcal Tonsillitis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.*

1999;125:552-554.

Chole R.A., Faddis B.T. Anatomical Evidence of Microbial Biofilms in Tonsillar Tissues. A Possible Mechanism to Explain Chronicity. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2003;129:634-636

Wilson M. Bacteriology of humans. Blackwell Publishing Ltd, 2008

Бутов Ю.С., Полеско И.В., Осипов Г.А., Учайкин В.Ф. и др. Клиническое значение метода хромато-масс-спектрометрии при дерматитах. Учебно-методическое пособие для системы последиplomного образования врачей. Утверждено ЦКМС с ГОУ ВПО РГМУ Росздрава. Москва 2011. 60с.

Osipov G.A., Verkhovtseva N.V. Study of human microecology by mass spectrometry of microbial markers. Beneficial Microbes. Volume 2, Number 1 / March 2011 p63-78

Jshrn A. Aas,\* Bruce J. Paster, Lauren N. Stokes, Ingar Olsen, and Floyd E. Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity. Dewhirst Journal of Clinical Microbiology, November 2005, p. 5721-5732, Vol. 43, No. 11

HAROLD MARCOTTE AND MARC C. LAVOIE. Oral Microbial Ecology and the Role of Salivary Immunoglobulin A. MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY REVIEWS, Mar. 1998, Vol. 62, No. 1, p. 71–109

**Katherine P. Lemon, Vanja Klepac-Ceraj, Hilary K. Schiffer, et al.**  
**Comparative Analyses of the Bacterial Microbiota of the Human Nostril and Oropharynx . mBio**  
**1(3): e00129-10. doi:10.1128/mBio.00129-10. 2010.**  
<http://mbio.asm.org/content/1/3/e00129-10.full.html>

**25.03.2012**

Осипов Георгий Андреевич  
дбн, вед научн сотр, профессор  
Академическая группа Академика Ю.Ф.Исакова  
при НЦ ССХ им А.Н.Бакулева  
Тел 8-903-558-31-26 моб  
E-mail: osipovga@mail.ru  
Web-site: [www.rusmedserv.com/microbdiaq/](http://www.rusmedserv.com/microbdiaq/)