

Н.Д. Хасиев¹, Е.Б. Шапошникова¹, М.А. Журкин¹,
Н.И. Шевчук², Р.Р. Садыков¹

Нарушения колониальной резистентности микробиоты кожи у больных, страдающих заболеваниями уха, горла и носа на фоне сахарного диабета

¹Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

²Балтийский федеральный университет им. Иммануила Канта, Калининград

Резюме. Рассматриваются нарушения колониальной резистентности микробиоты кожи у пожилых лиц, страдающих заболеваниями уха, горла и носа (отит, тонзиллит, синусит и др.) на фоне сахарного диабета. Для исследования изменений количественных и видовых показателей глубокой микробиоты кожи использовали методику агаровых отпечатков. Установлено, что показатели количественных изменений связаны с нарушением метаболизма и могут являться факторами, предрасполагающими к развитию других заболеваний на фоне сахарного диабета. Выявленные изменения показателей колониальной резистентности у больных с сахарным диабетом представляют интерес в качестве адаптационных характеристик организма при заболеваниях уха, горла и носа различной этиологии, а также служат предвестником отклонений в клинко-физиологическом статусе больных сахарным диабетом. Так, у больных сахарным диабетом состав микробиоты кожи соответствует показателю здоровых лиц того же возраста. Независимо от типа и стадии сахарного диабета у них выявлено увеличение количества колониеобразующих единиц глубоких слоев кожи предплечья, что соответствует дисбактериозу кожных покровов III степени. В структуре биоценозов у больных отоларингологического профиля на фоне сахарного диабета выявлены изменения, которые соответствуют дисбактериозу кожных покровов IV степени. У данной категории больных имеется выраженный вторичный иммунодефицит, который проявляется угнетением исследуемых неспецифических показателей иммунитета, что является предрасполагающим фактором к возникновению и развитию гнойной инфекции. Показано, что дисбиоз может проявить себя клиническими местными симптомами, а затем и общими нарушениями, которые отягощают течение основного заболевания и затрудняют лечение. Комплексный подход к данной проблеме может использоваться для более дифференцированной оценки прогноза развития осложнений у больных отоларингологического профиля на фоне сахарного диабета и повышения эффективности лечебно-профилактической помощи.

Ключевые слова: кожная микрофлора, дисбиоз, колониальная резистентность, диабет, заболевания уха, горла и носа, стафилококки, методика агаровых отпечатков, видовое соотношение.

Введение. Нарушения колониальной резистентности (КР) микробиоты кожи у пациентов, страдающих сахарным диабетом (СД), и практически здоровых лиц не выражены. СД рассматривается в качестве фактора, предрасполагающего к развитию различных инфекций. На фоне СД заболевания отоларингологического профиля (ЛОП-заболевания – отит, тонзиллит, синусит и др.) характеризуются достоверно более длительным течением, в среднем в 1,5 раза, по сравнению с больными, не страдающими СД, а также развитием в 13% случаев гнойных осложнений на фоне нерациональной антибактериальной и сахароснижающей терапии [1, 4].

Больные СД склонны к развитию кожных инфекционных заболеваний, особенно при неудовлетворительном контроле гликемии. На поверхности кожи больных СД выявляют в 2,5 раза больше микроорганизмов, чем у здоровых лиц, а бактерицидная активность кожи у больных СД ниже в среднем на 20%. Это снижение прямо коррелирует с тяжестью течения СД [6, 7]. Микробиота определенных биотопов макроорганизма у практически здоровых лиц характеризуется относительным постоянством. Биоценоз находится в состоянии динамического равновесия, он опреде-

ляется физиологическими и иммунологическими особенностями макроорганизма, характеризуется видовым и количественным составом ассоциаций. Нарушения в биотопе определяются как дисбиоз, возникающий под воздействием разнообразных факторов: возраста, условий внешней среды, стрессовых ситуаций, наличия хронических заболеваний, проведения гормональной, антибактериальной терапии и др. Также с возрастом изменяется и КР микробиоты кожи. Наблюдается возрастание степени проницаемости, которое сопровождается нарушениями барьерной функции эпидермиса. В связи с этим характеристики биоценоза также могут меняться [3, 5].

Цель исследования. Выявление и определение нарушений КР микробиоты кожи у пожилых лиц, страдающих ЛОП-заболеваниями (отит, тонзиллит, синусит и др.) на фоне СД.

Материалы и методы. Обследованы 72 мужчины в возрасте от 60 до 72 лет. Для оценки характера возможных изменений исследуемых показателей было сформировано четыре группы. Первую (контрольную) группу (КГ) составили 20 обследуемых, которые не страдали патологиями, связанными с нарушением системы

кровообращения и нарушением обмена веществ, что могло бы вызвать сдвиг микробиоты кожи от нормального значения. Во 2-ю группу вошли 18 больных СД. Третью группу составили 20 больных, страдающих ЛОР-заболеваниями различной этиологии. В четвертую группу вошли 14 больных, страдающих ЛОР-заболеваниями на фоне СД. Все обследованные пациенты проходили стационарное лечение в клинике оториноларингологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова.

Для реализации задачи по изучению изменений количественных и видовых показателей глубокой микробиоты кожи была использована методика агаровых отпечатков, предложенная Н.Н. Клемпарской и Г.А. Шальной в модификации Э.А. Ахматовой [2]. Методика агаровых отпечатков не инвазивна, поэтому атравматична и безвредна. Контакт с кожей является очень быстрым и не вызывает при этом никакого раздражения у обследуемого. В ходе исследования применялись бакпечатки одноразового применения, представляющие собой стерильный контейнер с крышкой. Внутренняя поверхность крышки используется в качестве рабочей поверхности бакпечатки, куда заливается стерильная среда. В наших исследованиях был использован 5% кровяной агар. Взятие пробы проходило после обработки кожи ватным тампоном, пропитанным стерильным 0,25% раствором нашатырного спирта, и минутной экспозиции. Материал забирали с кожного покрова внутренней поверхности предплечья с помощью отпечатков на агар, затем бакпечатки ставили в термостат при температуре +37°C на 24 ч. Бактерицидную активность кожи определяли путем расчета индекса бактерицидности (ИБ), отражающего степень элиминации суточной культуры *E. coli* (штамм М-15) при ее экспозиции на коже обследуемого в течение 15 мин, по методике Н.Н. Клемпарской. Нормальные показатели ИБ кожи здоровых людей находятся в пределах 90–100% [2].

Вследствие разнообразия видового состава глубокой микробиоты кожи были использованы различные питательные среды, основной из которых был 5% кровяной агар.

Статистическую обработку данных проводили на персональном компьютере с операционной системой Windows 7 с использованием программы Statistica 10.0.

Результаты и их обсуждение. У лиц КГ в возрасте 60 лет и старше выделялось $7,2 \pm 0,2$ колониеобразующих единиц (КОЕ) на 1 см^2 поверхности бакпечатки. Частота встречаемости и количество КОЕ, выделенное на 1 см^2 глубоких слоев кожи предплечья, для *S. saprophyticus* составило $38,4 \pm 5,2\%$ и $0,50 \pm 0,04 \text{ ед/см}^2$, для *S. epidermidis* – $97,3 \pm 7,2\%$ и $2,4 \pm 0,2 \text{ ед/см}^2$, для *Corynebacterium spp.* – $97,3 \pm 7,2\%$ и $2,2 \pm 0,04 \text{ ед/см}^2$, для *Micrococcus spp.* – $54,2 \pm 5,7\%$ и $1,9 \pm 0,3 \text{ ед/см}^2$, *Bacillus spp.* – $5 \pm 0\%$ и $0,2 \pm 0,0 \text{ ед/см}^2$ соответственно ($p < 0,05$). ИБ в КГ соответствовал нормативным показателям и составил $91,8 \pm 10,7\%$.

Количественные показатели глубокой микробиоты кожи во 2-й группе значительно отличались от показателей обследуемых КГ. Так, у них количественные и

видовые показатели соответствовали дисбактериозу кожных покровов III степени. На 1 см^2 глубоких слоев кожи предплечья у них было выявлено $18,4 \pm 4,2$ КОЕ, что в 2,6 раз больше, чем в КГ ($p < 0,05$). Изменения отмечались также за счет возрастания удельного веса *Staphylococcus spp.*, в частности *S. epidermidis* ($100 \pm 0,0\%$, КОЕ – $5,0 \pm 0,4 \text{ ед/см}^2$) и *S. saprophyticus* ($98,5 \pm 7,2\%$, КОЕ – $0,7 \pm 0,1 \text{ ед/см}^2$). Также наблюдалось увеличение количества КОЕ и возрастание удельного веса *Corynebacterium spp.* ($83,2 \pm 0,4\%$, КОЕ – $7,7 \pm 0,7 \text{ ед/см}^2$) и *Bacillus spp.* ($33,3 \pm 3,7\%$, КОЕ – $0,7 \pm 0,2 \text{ ед/см}^2$). Изменения отмечались за счет уменьшения частоты встречаемости *Micrococcus spp.* ($33,3 \pm 3,7\%$) при увеличении количества его КОЕ в 2,2 раза на 1 см^2 глубоких слоев кожи предплечья, что составило $4 \pm 0,4 \text{ ед/см}^2$ ($p < 0,05$). Кроме того, ИБ кожи снизился до $74,2 \pm 9,8\%$.

В 3-й группе были выявлены количественные изменения, которые соответствовали дисбактериозу кожных покровов II степени. Так, количество КОЕ глубоких слоев кожи предплечья увеличилось в 1,5 раза и составило $10,8 \pm 0,6$ на 1 см^2 ($p < 0,05$).

Выявлено, что на фоне угнетения представителей резидентной микробиоты наблюдалось резкое увеличение частоты встречаемости *Staphylococcus spp.* в основном за счет *S. haemolyticus* ($87,8 \pm 9,2\%$, КОЕ – $6,3 \pm 0,3 \text{ ед/см}^2$) и *S. saprophyticus* ($82,4 \pm 10,9\%$, КОЕ – $3,6 \pm 0,2 \text{ ед/см}^2$), а также незначительно за счёт *Corynebacterium spp.* ($77,4 \pm 8,7\%$), при снижении КОЕ до $0,9 \pm 0,06 \text{ ед/см}^2$ ($p < 0,05$). ИБ кожи в 3-й группе снизился до $79,1 \pm 9,7\%$.

В 4-й группе количественные и видовые показатели соответствовали дисбактериозу кожных покровов IV степени. В этой группе резко увеличилось количество КОЕ глубоких слоев кожи предплечья ($26,1 \pm 5,2 \text{ ед/см}^2$), что в 3,7 раз больше ($p < 0,05$), в сравнении с КГ. Кроме того, увеличился удельный вес *Staphylococcus spp.*, в частности *S. epidermidis* ($100 \pm 0,0\%$, КОЕ – $6,0 \pm 0,4 \text{ ед/см}^2$), *S. saprophyticus* ($94,5 \pm 7,2\%$, КОЕ – $2,3 \pm 0,1 \text{ ед/см}^2$) и *S. haemolyticus* ($92,1 \pm 9,1\%$, КОЕ – $4,9 \pm 0,4 \text{ ед/см}^2$). Наблюдалось также увеличение удельного веса и количества КОЕ *Corynebacterium spp.* ($80 \pm 0,4\%$ и $6,3 \pm 0,8 \text{ ед/см}^2$), *Micrococcus spp.* – $70,8 \pm 5,7\%$ и $5,8 \pm 0,5 \text{ ед/см}^2$, *Bacillus spp.* – $33,3 \pm 3,7\%$ и $0,8 \pm 0,2 \text{ ед/см}^2$. ИБ кожи снизился до $70,1 \pm 9,7\%$.

Полученные результаты дали основание представить основные закономерности нарушений колониальной резистентности биоценоза кожи у лиц пожилого возраста с диагнозом СД. Наблюдаемые отклонения связаны с уровнем неспецифической резистентности организма, при этом у лиц пожилого возраста они могут считаться физиологически обусловленными.

Показатели количественных изменений, возможно, связаны с нарушением метаболизма и могут являться факторами, предрасполагающими к развитию других заболеваний на фоне СД. ИБ во 2-й группе был незначительно снижен. Следовательно, выявленные изменения в исследуемом биоценозе кожи могут служить предвестником отклонений в клинко-физиологическом статусе больных СД. Со временем

дисбиоз может проявить себя клиническими местными симптомами, а затем и общими нарушениями, которые отягощают течение основного заболевания и затрудняют лечение. Полученные данные представляют интерес в плане выявленных изменений количественных и видовых показателей микробиоты кожи у данной категории больных.

Выводы

1. У обследуемых КГ видовой состав глубоких слоев кожи предплечья не изменяется, а количество КОЕ увеличивается, что соответствует дисбиозу кожи I степени.

2. У обследованных больных СД состав микробиоты кожи соответствует показателю здоровых лиц того же возраста. Независимо от типа и стадии СД у них выявлено увеличение количества КОЕ глубоких слоев кожи предплечья, что соответствует дисбактериозу кожных покровов III степени.

3. У больных, страдающих заболеваниями ЛОР-органов (отит, тонзиллит, синусит и др.), выявлены нарушения колонизационной резистентности микробиоты кожи. У них доминирующее положение в микробиоте кожи занимают представители *Staphylococcus spp.* как по частоте встречаемости, так и по количественному показателю. Выявленные изменения достоверно ($p < 0,05$) соответствуют дисбактериозу кожных покровов II степени. Выявленные нарушения микробных ассоциаций проявляются в расширении спектра видового состава, что характеризуется появлением в микробиоте кожи предплечья микроорганизмов, не встречающихся у практически здоровых лиц, в частности гемолитической микрофлоры наличие *S. haemolyticus* – 77,8±6,2%, которая имеет определенное значение в формировании предрасположенности к ЛОР-заболеваниям.

4. В структуре биоценозов у больных, страдающих заболеваниями ЛОР-органов на фоне СД, выявлены изменения, которые соответствуют дисбактериозу кожных покровов IV степени. У данной категории больных имеется выраженный вторичный иммунодефицит, который проявляется угнетением исследуемых неспецифических показателей иммунитета, что является предрасполагающим фактором к возникновению и развитию гнойной инфекции.

Литература

1. Жирнова, А.И. Особенности микробиоценоза полости рта больных сахарным диабетом после протезирования разными видами коронок / А.И. Жирнова, А.С. Щербаков, Ю.В. Червинец // Стоматология. – 2015. – № 1. – С. 45–49.
2. Клемпарская, Н.Н. Аутофлора как индикатор радиационного поражения организма / Н.Н. Клемпарская, Г.А. Шальнова // Медицина. – 1966. – С. 204–205.
3. Круглова, Л.С. Атопический дерматит и нарушения колонизационной резистентности кишечника – взаимосвязь и методы коррекции / Л.С. Круглова // Росс. мед. журн. Болезни органов пищеварения. – 2011. – № 28. – С. 1786–1790.
4. Попов, Н.Н. Клинико-иммунологическая характеристика течения хронического гнойного верхнечелюстного синусита у больных сахарным диабетом / Н.Н. Попов [и др.] // Междунар. мед. журн. – 2007. – № 1. – С. 103–107.
5. Шапошникова, Е.Б. Особенности глубокой микробиоты кожи у лиц пожилого и старческого возраста, страдающих заболеваниями желудочно-кишечного тракта / Е.Б. Шапошникова // Международный науч. конгресс, посвященный 5-летию многопрофильной клиники № 2 «Многопрофильная клиника XXI века. Инновации в медицине-2017». – 2017. – С. 306–307.
6. Штода, Ю.М. Дерматологические проявления сахарного диабета / Ю.М. Штода [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 2. – С. 371.
7. Somerville, D.A. The aerobic cutaneous microflora of diabetic subjects / D.A. Somerville, M. Lancaster-Smith // British Journal of Dermatology. – 1973. – P. 89.

N.D. Khasiev, E.B. Shaposhnikova, M.A. Zhurkin, N.I. Shevchuk, R.R. Sadykov

Infringements of colonial resistance of microbiotic skin in patients suffering diseases of an ear, a throat and a nose on the background of diabetes mellitus

Abstract. *Infringements of colonial resistance of a microbiota of a skin at the elderly, suffering diseases of an ear, a throat and a nose (an otitis, a tonsillitis, a sinusitis, etc.) are considered on a background of a diabetes. To study changes in quantitative and specific indicators of deep microbiota of the skin, the method of agar prints was used. It is established that the indicators of quantitative changes are associated with a metabolic disorder and may be factors predisposing to the development of other diseases against the background of diabetes mellitus. The revealed changes in the indices of colonial resistance in patients with diabetes mellitus are of interest as adaptive characteristics of the organism in diseases of the ear, throat and nose of various etiologies, and serve as a harbinger of deviations in the clinical and physiological status of patients with diabetes mellitus. Thus, in patients with diabetes mellitus, the composition of the microbiota of the skin corresponds to that of healthy individuals of the same age. Regardless of the type and stage of diabetes mellitus, they showed an increase in the number of colony-forming units of the deep layers of the skin of the forearm, which corresponds to the dysbacteriosis of the third-degree skin. In the structure of biocenoses, in patients of the otolaryngological profile, against the background of diabetes mellitus, changes that correspond to the dysbacteriosis of the skin of the IV degree are revealed. In this category of patients, there is a pronounced secondary immunodeficiency, which is manifested by inhibition of the investigated nonspecific immunity indices, which is a predisposing factor for the onset and development of a purulent infection. It is shown that dysbiosis can manifest itself with clinical local symptoms, and then with general disorders that aggravate the course of the underlying disease and complicate treatment. An integrated approach to this problem can be used for a more differentiated assessment of the prognosis of complications in patients with an otorhinolaryngological profile against diabetes mellitus and increasing the effectiveness of therapeutic and preventive care.*

Key words: *cutaneous microflora, dysbiosis, colonial resistance, diabetes, diseases of an ear, a throat and a nose, staphylococci, agar prints technique, species ratio.*

Контактный телефон: 8-911-162-73-09; e-mail: vmeda-nio@mil.ru