

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
"УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ"
МЕДИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

кафедра мікробіології, вірусології та епідеміології з курсом інфекційних хвороб

ГЕЛЕШ АЛІНА ЄВГЕНІВНА

**ВПЛИВ БАКТЕРІЙ РОДУ *BACILLUS SPP* НА ПАТОГЕННІ ІЗОЛЯТИ
МІКРОБІОМУ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ СТУДЕНТІВ-МЕДИКІВ**

Спеціальність 226 Фармація, промислова фармація

Спеціалізація 226.01 Фармація

Освітня програма «Фармація»

Кваліфікаційна робота на здобуття освітнього ступеня
магістр

Кваліфікаційна робота містить
результати власних досліджень.
Використання чужих ідей, результатів
і текстів мають посилання на
відповідне джерело

_____Гелеш А.Є.____

(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Науковий керівник:

Коваль Галина Миколаївна

завідувач кафедри
мікробіології, вірусології та
епідеміології з курсом
інфекційних хвороб, доктор
медичних наук, професор

Ужгород 2024

АНОТАЦІЯ

Про значення окремих бактерій та мікробіому загалом для збереження здоров'я людини стало відомим не так давно, проте останнім часом ця тема знаходиться в центрі уваги. Згідно з даними на 2024 рік, більше 6800 публікацій у базі даних PubMed присвячені дослідженню мікробіому різних відділів ротової порожнини.

Більшість сучасних знань про мікробіологію верхніх дихальних шляхів (ВДШ) отримано з культуральних досліджень, які зазвичай відображають лише невелику частку бактерій, присутніх на поверхні слизової оболонки ротоглотки. Незважаючи на те, що патогенетична роль бактеріальної інфекції у розвитку хронічних запальних процесів ВДШ не доведена, існує гіпотеза, що мікробіом ротоглотки відіграє значну роль у розвитку хронічних захворювань в цілому.

Як відомо, усі живі мікроорганізми, які населяють певну анатомічну нішу (віруси, бактерії, гриби тощо), називаються «мікробіотою». Цей термін включає як комменсалів (сапрофітів), так і патогенів. «Мікробіом» означає сукупність усіх генів усіх мікроорганізмів, які населяють досліджувану територію. Порушення мікробіому – зміна кількісного та якісного складу мікроорганізмів – має важливе значення у розвитку запальних захворювань, особливо в епоху надмірного використання антибіотиків при захворюваннях ВДШ.

Протягом останніх років мікробіому ротоглотки приділяється все більше уваги, вважаючи, що це місце між верхніми і нижніми дихальними шляхами є важливим, як з анатомічної точки зору, так і з точки зору її колонізації. В нормі між мікрофлорою, що потрапляє до ротоглотки, та факторами імунного захисту існує баланс, порушення якого може спровокувати розвиток запальних захворювань.

Теоретичне значення отриманих результатів

У роботі вивчено стан мікрофлори студентів - медиків різних вікових груп, з різним станом здоров'я ротової порожнини. Мікробіом характеризується різким зменшенням різноманіття сапрофітної мікрофлори та стовідсотковим

переважанням патогенної мікрофлори при карієсі, стоматиті, гаймориті та наявності імплантів.

Практичне значення отриманих результатів

Результати проведеної роботи можна враховувати та використовувати для профілактики загострень, просвітньої роботи та лікування пацієнтів з різною патологією слизових оболонок ротової порожнини. Визначення складу мікробіому дає надзвичайно цінну інформацію для індивідуального підходу в діагностиці та розуміння основних етапів патологічного процесу при можливих хворобах, а надалі і у лікуванні таких пацієнтів.

Особистий внесок здобувача

Автором самостійно обґрунтовано мету та завдання роботи, здійснено огляд літератури, відібрано матеріал від досліджених осіб, вивчено методику мікробіологічного дослідження мікробіому та проведено експеримент в лабораторних умовах під контролем сертифікованих фахівців, проаналізовано та узагальнено отримані результати, сформульовано висновки та практичні рекомендації.

Ключові слова: мікробіом, ротова порожнина, мікробіоценоз, пробіотики.

ABSTRACT

The importance of individual bacteria and the microbiome as a whole for human health has become known not so long ago, but recently this topic has been in the spotlight. According to data for 2024, more than 6800 publications in the PubMed database are devoted to the study of the microbiome of various parts of the oral cavity.

Most of the current knowledge about the microbiology of the upper respiratory tract (URT) is derived from culture studies, which usually reflect only a small proportion of bacteria present on the surface of the oropharyngeal mucosa. Even though the pathogenetic role of bacterial infection in the development of chronic URT inflammation has not been proven, it is hypothesized that the oropharyngeal microbiome plays a significant role in the development of chronic diseases in general.

It is well known that all living microorganisms that inhabit a specific anatomical niche (viruses, bacteria, fungi, etc.) are called "microbiota". This term includes both commensals (saprophytes) and pathogens. "Microbiome" means the totality of all genes of all microorganisms inhabiting the area under study. Microbiome disruption - a change in the quantitative and qualitative composition of microorganisms - is important in the development of inflammatory pathology, especially in the era of excessive use of antibiotics in diseases of the URT.

In recent years, the oropharyngeal microbiome has received increasing attention, as this area between the upper and lower respiratory tract is considered to be important both from an anatomical point of view and in terms of its colonization. Normally, there is a balance between the microflora entering the oropharynx and immune defense factors, and its violation can provoke the development of inflammatory diseases.

Theoretical significance of the results obtained

The study examined the state of microflora of medical students of different age groups with different oral health status. The microbiome is characterized by a sharp decrease in the diversity of saprophytic microflora and an absolute predominance of pathogenic microflora in caries, stomatitis, sinusitis and in the presence of implants.

Practical significance of the results obtained

The results of the work done can be taken into account and used for the

prevention of exacerbations, educational work and treatment of patients with various pathologies of the oral mucosa. Determining the composition of the microbiome provides extremely valuable information for an individualized approach to diagnosing and understanding the main stages of the pathological process in possible diseases, and subsequently in the treatment of such patients.

Personal contribution of the applicant

The author independently substantiated the purpose and objectives of the work, conducted a literature review, selected material from the subjects, studied the methodology of microbiological research of the microbiome and conducted an experiment in the laboratory under the supervision of certified specialists, analyzed and summarized the results, and drew up conclusions and practical recommendations.

Key words: microbiome, oral cavity, microbiocenosis, probiotics.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	7
ВСТУП	8
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ	10
1.1 Мікрофлора верхніх дихальних шляхів людини.....	10
1.2 Потенціал бактерій роду <i>Bacillus</i> як пробіотиків.....	15
1.3 Штучний інтелект про корекцію мікробіому ротоглотки.....	18
1.4 Загальна характеристика пробіотиків з бацил.....	19
РОЗДІЛ 2. ОРГАНІЗАЦІЯ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	24
2.1 Методи дослідження та методика його проведення.....	24
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ	26
3.1 Збір, аналіз та результати проведеного дослідження.....	26
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	35
ДОДАТКИ.....	40

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ВДШ – верхні дихальні шляхи

CSTs – community state types

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я

КУО – колонієутворюючі одиниці

ГРВІ – гостра респіраторна вірусна інфекція

ШКТ – шлунково-кишковий тракт

РА-LF – захисний антиген-летальний фактор

РА-EF – фактор набряку

КЛЖК – коротколанцюгові жирні кислоти

ГАМК – γ -аміномасляна кислота

МПА – м'ясо-пептонний агар

ЖСА – жовтково-сольовий агар

КА – кров'яний агар

ВСТУП

Актуальність теми. Ознайомлення з мікрофлорою людського тіла має дуже велике значення, оскільки порушення санітарно-гігієнічного режиму праці, під час навчання і в побуті нерідко є причиною різних захворювань. Вивчення мікрофлори ротової порожнини має велике практичне та медичне значення і в найближчому майбутньому спонукає до перегляду її ролі в патогенезі багатьох хвороб.

Мета дослідження. Дослідити нормальну та патогенну мікрофлору зів студентів різних вікових груп, довести їх родову, видову належність та вивчити вплив бацил коменсалів на виділені ізоляти.

Завдання дослідження.

1. Проаналізувати і встановити актуальність досліджень у наукових публікаціях.
2. Дослідити мікробіоценоз верхніх дихальних шляхів (зів) у студентів-медиків різних вікових груп.
3. Вивчити антагоністичну дію мікробіоценозу по відношенню до бактерій роду *Bacillus*.

Об'єкт дослідження. Дослідження проводилося на базі кафедри мікробіології, вірусології, епідеміології з курсом інфекційних хвороб медичного факультету УжНУ.

Предмет дослідження. 91 студент медичного факультету УжНУ.

Методи дослідження. Матеріалом для мікробіологічних досліджень був клінічний матеріал, вилучений зі слизової ротоглотки. Забір проводився за стандартними методиками описаними в навчальному посібнику «Практична мікробіологія» за редакцією В.П. Широбокова.

Матеріал забирали стерильним ватним тампоном із зіву з подальшим висіванням на кров'яний агар, жовтково-сольовий агар, середовища Сабура та Ендо та уріселект агар. Культивували чашки з посівами при температурі 36⁰ С протягом 24 годин. Ідентифікацію виділених культур бактерій здійснювали за стандартними критеріями: колонії фарбували за методом Грама, вивчали їх

морфологічні, тинкторіальні, культуральні, біохімічні властивості та рівень факторів патогенності.

Отримані результати підлягали статистичній обробці загальноприйнятними методами описової статистики з використанням значень середнього арифметичного (M).

Апробація матеріалів роботи. За результатами роботи опубліковані тези в збірнику XXI міжнародної науково-практичної конференції «Uzhorod medical student's conference», яка проходила на базі медичного факультету Ужгородського національного університету 17-19 квітня 2024 року [Див. Додаток А].

Елементи наукової новизни. Автором досить коректно використано відомі наукові методи обґрунтування отриманих результатів, виділені *Bacillus spp.* при подальшому детальному вивченні, ідентифікації до виду можна рекомендувати, як ще один із перспективних кандидатів бацил для корекції мікрофлори ротової порожнини в пробіотичних препаратах.

Структура та об'єм кваліфікаційної роботи. Магістерська робота складається зі вступу, розділу огляду літератури, розділу організації та методів дослідження, розділу власних досліджень, висновків, списку використаних літературних джерел із 42 найменувань, з яких 25 написано кирилицею, 17 латиницею та додатку. Робота викладена на 38 сторінках, ілюстрована 11 рисунками, 2 таблицями.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1.1 Мікрофлора верхніх дихальних шляхів людини

Виділяють верхні та нижні дихальні шляхи. Система верхніх дихальних шляхів включає порожнину носа (лат. *cavitas nasi*), носоглотку (лат. *pars nasalis pharyngis*) і ротоглотку (лат. *pars oralis pharyngis*), а також частково порожнину рота, оскільки повітря до гортані проникає не лише через ніс, а й може входити через рот і глотку. Система нижніх дихальних шляхів включає гортань (лат. *larynx*), трахею (лат. *trachea*), бронхи (лат. *bronchi*) і легені (лат. *pulmones*) [1].

У верхніх дихальних шляхах присутні деякі стійкі види бактерій, такі як пептококи, стафілококи, непатогенні коринебактерії, стрептококи та інші. У нормі лише верхні відділи дихальної системи заселені мікроорганізмами, а нижні повинні залишатися стерильними [2].

Мікробіом ротової порожнини - це друге за величиною мікробне співтовариство людини після кишечника. У ротовій порожнині є два типи поверхонь, які можуть бути колонізовані бактеріями: тверді та м'які тканини зубів і слизова оболонка порожнини рота відповідно. Зуби, язик, щоки, ясенна борозна, мигдалики, тверде та м'яке піднебіння створюють сприятливе середовище для розвитку мікроорганізмів. Поверхні ротової порожнини покриті великою кількістю бактерій, які утворюють бактеріальну біоплівку [3].

Мікрофлора порожнини рота (син. мікробіоценоз порожнини рота) – сукупність представників різних таксономічних груп мікроорганізмів, що населяють порожнину рота як своєрідну екологічну нішу організму людини, що вступають у біохімічні, імунологічні та інші взаємовідносини з макроорганізмом і один з одним [4].

Ротова порожнина та прилеглі до неї області носоглотки створюють ідеальні умови для росту мікроорганізмів. Середня температура в порожнині рота складає близько 37 °C і залишається стабільною, що забезпечує стійке середовище для життя бактерій. Слина має також стійкий pH у межах 6,5–7, що є сприятливим для більшості видів бактерій. Цей pH забезпечує гідратацію

бактерій і служить середовищем для транспортування поживних речовин до мікроорганізмів [5].

Мікроорганізми, які зустрічаються в порожнині рота, можна розділити на дві категорії:

- ті, які постійно проживають у певній біологічній ніші, характерній саме для них (інші назви: автохтонна, резидентна, індігенна мікрофлора, характеристичні види);
- ті, що перебувають у ротовому біотопі лише тимчасово, «імігранти» з інших біотопів (інші назви: алохтонна мікрофлора, транзиторні, додаткові, випадкові види), чи із зовнішнього середовища (заносна мікрофлора) [6].

Резидентна мікрофлора складається з відносно постійних видів бактерій, які характерні для певного біотопу та віку організму. Вона може швидко відновлюватися у випадку її порушення. Хоча кількість видів у цій групі невелика, але їх загальна чисельність становить більше 95% усіх мікробних клітин. До складу індігенної мікрофлори ротового біотопу переважно входять цукролітичні аспорогенні анаеробні бактерії, серед яких грампозитивні бактерії родів *Bifidobacterium* і *Lactobacillus* займають значне місце. Також, до них відносяться багато видів мікрофлори, представниками яких є роди *Propionibacterium*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*. На жаль, у цих родин є види мікроорганізмів, які виступають іноді в ролі етіологічних чинників розвитку інфекційних хвороб, і тому їх нерідко відносять до умовно-патогенної мікрофлори. Автохтонну мікрофлору можна розділити на облігатну, що постійно присутня в порожнині рота, і факультативну, до складу якої частіше входять умовно-патогенні бактерії. До представників факультативної мікрофлори здорової людини відносяться види родів *Clostridium*, *Actinomyces*, *Veillonella*, *Escherichia*, *Enterococcus* [4,7]. (табл. 1.1.)

Таблиця 1.1.

Основні групи бактеріальної мікрофлори ВДШ [4]

Тип дихання	Морфологія	Рід
Облігатні анаероби	Грамнегативні коки	<i>Veillonella</i>
	Грампозитивні коки	<i>Peptococcus</i> <i>Peptostreptococcus</i>
	Грамнегативні паличкоподібні бактерії	<i>Leptotrichia</i> <i>Bacteroides</i> <i>Fusobacterium</i> <i>Porphyromonas</i> <i>Prevotella</i>
	Грампозитивні паличкоподібні бактерії	<i>Bifidobacterium</i> <i>Propionibacterium</i>
	Спірохети	<i>Treponema</i> <i>Borrelia</i>
Аероби і факультативні анаероби	Грамнегативні коки	<i>Neisseria</i>
	Грампозитивні коки	<i>Staphylococcus</i> <i>Streptococcus</i>
	Грампозитивні паличкоподібні бактерії	<i>Corynebacterium</i> <i>Lactobacillus</i>
	Розгалужені	<i>Actinomyces</i>
	Спірохети	<i>Leptospira</i>

Транзиторна мікрофлора складається з непатогенних або умовно-патогенних мікроорганізмів, які тимчасово заселяють порожнину рота та не провокують розвиток захворювань. Проте, при порушенні або втраті резидентної мікрофлори, представники транзиторної мікрофлори можуть зайняти вільне місце в конкретному біотопі, що в подальшому може сприяти розвитку патології.

Ця мікрофлора включає умовно-патогенні бактерії родів *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Bacillus*, а також дріжджоподібні гриби роду *Candida* та інші [4,7].

Також, в залежності від наявності патологічних процесів у ротовій порожнині, в ній можуть зустрічатися різні види мікроорганізмів. Так, при карієсі зубів переважають *Str. mutans* та лактобактерії; при хронічному катаральному гінгівіті частіше зустрічаються *S. aureus*, *Enterococcus*, *Candida albicans* та *Klebsiella spp.* Висока частота виявлення грибів *Candida albicans* у хворих на гінгівіт припускає їх участь разом з іншими мікроорганізмами у розвитку запального процесу в тканинах пародонту. Тоді як в осіб без стоматологічних захворювань в ротовій порожнині найчастіше трапляється *Str. Mutans*, *Str. Viridans* та *Lactobacillus* [8].

Слизова оболонка носа, порівняно з іншими органами та системами, які знаходяться у контакті з зовнішнім середовищем, містить невелику кількість різноманітних поживних речовин (малі концентрації глюкози, амінокислот тощо), і ще менше з цих речовин знаходиться у слизі. Тому, мікробіота порожнини носа повинна бути стійкою до таких умов або здатною швидко активувати свої адаптаційні реакції. Згідно з джерелами, у порожнині носа частіше зустрічаються такі види бактерій, як *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Finogoldia magna*, *Propionibacterium acnes* та *Streptococcus pyogenes*. Для класифікації населення носової порожнини виділяють 7 типів "суспільства бактерій" (community state types - CSTs). Найчисленніші з них CST 4 (*Propionibacterium spp.*, наприклад, *P. acnes*), CST 3 (*S. epidermidis*) та CST 1 (*S. aureus*). Вони є умовно-патогенними або сапрофітними мікроорганізмами і можуть спричиняти захворювання за умови зниження місцевого імунітету, хоча *S. aureus* у різних дослідженнях вважається патогенною бактерією. Щодо інших бактерій, їх вважають тимчасовими. Такі «тимчасові» бактерії з великою вірогідністю можуть з'являтися, наприклад, під час гострих респіраторних вірусних інфекцій (ГРВІ), коли відбувається вірусне навантаження на слизову оболонку ВДШ [9].

Рід *Streptococcus*. Стрептококи мають кулясту або овальну форму, діаметр яких становить від 0,5 до 2 мкм. У мазках вони можуть бути розташовані у вигляді ланцюжків різної довжини або у вигляді диплококів, тобто по дві бактерії разом. Спор і капсул не утворюють, нерухомі, грампозитивні. Стосовно типу дихання, стрептококи є факультативними анаеробами, хоча деякі види із сильним анаеробізом. Вірулентність стрептококів обумовлена адгезією, колонізацією, інвазією, капсульними полісахаридами, що пригнічують фагоцитоз, токсиноутворенням і секрецією ферментів агресії, таких як: гіалуронідаза, желатиназа, колагеназа, ДНКаза, РНКаза. Стрептококи ротової порожнини належать до особливої екологічної групи, яка отримала назву "оральних". До них відносяться види, такі як *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. oralis*. При фарбуванні за Грамом вони забарвлюються у фіолетовий колір [4,10,11].

Рід *Staphylococcus*. Стафілококи мають правильну геометричну кулясту форму клітини з діаметром від 0,5 до 1,5 мкм, не утворюють спор, хоча деякі види можуть утворювати капсулу. Вони є нерухливими та грам-позитивними. Клітинна стінка містить пептидоглікан (муреїн) і тейхоеві кислоти. У мазках вони зазвичай розміщуються безладно або у вигляді грона винограду. Стафілококи входять до складу нормальної мікрофлори тіла людини, де вони зазвичай проживають у носоглотці, ротоглотці та на шкірі. На зубному нальоті та яснах здорових людей переважає *S. epidermidis*. У деяких людей у порожнині рота може бути присутнім також *S. aureus* (найбільш патогенний вид) [4,12].

Рід *Lactobacillus*. Лактобацили - це грампозитивні бактерії, які не утворюють спор і дуже різноманітні за формою та розмірами. Вони можуть мати форму від коротких до довгих ниткоподібних паличок, які розташовуються поодинокі, у парах або коротких ланцюжках. Лактобацили є облігатними або факультативними анаеробами з високою ферментативною активністю. Зазвичай їх розділяють на три групи в залежності від шляхів ферментації вуглеводів: облігатні гомоферментативні, факультативні гетероферментативні та облігатні гетероферментативні. Ці бактерії переважно є непатогенними. У людини вони

постійно присутні у вагінальній мікрофлорі та травному тракті, де вони є симбіонтами і становлять значну частину кишкової флори. У ротовій порожнині найпоширенішими видами є *Lactobacillus acidophilus*, *L. fermentum*, *L. brevis*, *L. casei*. Їхнє виробництво молочної кислоти створює кисле середовище, що заважає росту шкідливих бактерій [13,14].

Рід *Corynebacterium*. Коринебактерії - це прямі або слабо вигнуті палички, зазвичай короткі або середньої довжини. Часто можна помітити форми, схожі на булаву, іноді - еліпсоїдні, яйцеподібні або тонкі палички з опуклістю, наприклад, у *Corynebacterium sundsvallense*. Вони розташовані або поодинокі, або у парах, утворюючи конфігурацію у вигляді букви «V» або стопки з декількох паралельно розташованих клітин. Усі вони грампозитивні і не утворюють спори. Більшість видів є малорухливими і можуть бути факультативними анаеробами, а деякі - аеробами. Вони є хемоорганотрофами [15].

Родина *Spirochaetaceae*. Рід *Borrelia* включає такі види, як *B. buccalis* та *B. vincentii*, які можна знайти у порожнині рота. Борелії представлені товстими, звитими короткими нитками з 2–6 несиметричними витками. Вони не утворюють спор і капсул. За методом фарбування Романовського–Гімзона вони забарвлюються в синьо-фіолетовий колір. Ці бактерії є облігатними анаеробами і можуть виявлятися у складках слизової оболонки і ясенних кишнях [4].

Гриби порожнини рота. Близько 40-60% здорових дорослих людей мають *Candida albicans* у шлунково-кишковому тракті та ротовій порожнині. Як правило, вона існує як нешкідливий комменсал організму, але у випадку ослабленої імунної системи може стати патогенною. *Candida albicans* може знаходитися в ротовій порожнині, включаючи язик, ясна та задню частину глотки. Гриби роду *Candida* представлені одноклітинними еукаріотичними мікроорганізмами, які мають круглу, овальну або еліпсоїдну форму з розмірами від 8 до 20 мкм. Клітини складаються з оболонки, протоплазми, ядра, вакуолей та включень і розмножуються брунькуванням, не утворюючи аскоспор [16].

1.2 Потенціал бактерій роду *Bacillus* як пробіотиків

Термін «probiotic» був вперше вжитий у 1965 році американськими

ветеринарами D.M. Lilly та R.H. Stillwell для опису речовин, що виділяються одним організмом і сприяють активності іншого. Використання еубіотиків для корекції дисбіотичних порушень розпочалося на початку 70-х років XX століття. За визначенням Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), пробіотики - це живі непатогенні та нетоксичні для людини мікроорганізми, які у відповідній кількості корисні для здоров'я людини, здатні відновлювати нормальну мікрофлору організму та негативно впливати на патогенні та умовно-патогенні бактерії [17].

Як пробіотики найчастіше використовуються види *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.*, рідше – дріжджі *Saccharomyces boulardii* та деякі види *E. coli* або *Bacillus*, в окремих випадках – *Clostridium butyricum* [18].

Бактерії з роду *Bacillus spp.* є одними з найрозповсюдженіших мікроорганізмів у природі. Вони головним чином є ґрунтоутворюючими і часто персистують в повітрі та воді. Тому, ці бактерії постійно потрапляють у шлунково-кишковий тракт (ШКТ) та дихальні шляхи здорових людей через їжу, воду і повітря. У науковій літературі згадуються випадки виділення *B. subtilis* з ШКТ здорових дорослих і дітей. Кількість цих мікроорганізмів у шлунково-кишковому тракті може сягати 10^7 КУО на 1 грам, що порівнюється з кількістю лактобактерій. Через це дослідники стверджують, що мікроорганізми роду *Bacillus spp.* є одними з домінуючих компонентів кишкової мікрофлори [19].

Бактерії з роду *Bacillus* - це грампозитивні, каталазопозитивні мікроорганізми, клітини яких, як правило, мають паличкоподібну форму. Довжина таких клітин зазвичай становить приблизно 4-10 мікрометрів (мкм), діаметр - від 0,25 до 1,00 мкм, об'єм клітини - $4,6 \cdot 10^{-15}$ л у стаціонарній фазі. Бактерії роду *Bacillus* мають товсту клітинну стінку, яка складається з потовщеного шару пептидоглікану, що дозволяє їм витримувати високий внутрішньоклітинний тиск. У них є багато перитрихіально розташованих джгутиків, що дозволяє їм швидко рухатися у рідинах. *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* і *Bacillus licheniformis* - це сапрофітні спороутворюючі анаEROБИ, які на сьогоднішній день вважаються найкращими кандидатами для створення

пробіотиків [18].

Проте, не всі представники роду *Bacillus* проявляють позитивний вплив на живі організми, зокрема, *B. cereus*, *B. weihenstephanensis*, *B. anthracis* та *B. thuringiensis*, продукують різноманітні токсини, включаючи ентеротоксин (Cereulide), двокомпонентні екзотоксини: захисний антиген-летальний фактор (PA-LF) та фактор набряку (PA-EF). Серед них цереулід, що продукується *B. cereus* та *B. weihenstephanensis*, є основною причиною харчових інтоксикацій; в той час як PA-LF та PA-EF - це токсини, що виробляються *B. anthracis* та пов'язані зі смертельними захворюваннями людей і тварин [20,21].

У світі, пробіотики з сапрофітних бацил, є недооціненими, і більшість створено на основі бактерій родів *Lacto*, *Bifidobacterium*, але спороутворювальні бацили як пробіотики мають ряд переваг. Для них притаманна висока кислотостійкість і краща стабільність під час термічної обробки та зберіганні при низьких температурах. Також, було показано, що вони володіють антиоксидантними, антимікробними та імуномодулюючими властивостями, здатністю до пригнічення патогенів, до ферментації їжі. Крім того, наукові звіти, підкріплені доказовою медициною безпечного використання та тривалої історії споживання, підтримують кандидатуру спороутворювачів як потенційних пробіотиків та функціональних харчових добавок завдяки їх значній здатності виробляти позаклітинні ферменти [20].

Bacillus spp. використовуються для виробництва харчової амілази, глюкоамілази, протеази, пектинази та целюлази в різних харчових продуктах. Різні види *Bacillus spp.* також використовуються для виробництва додаткових нутрієнтів, включаючи вітаміни (наприклад, рибофлавін (вітамін B₂), кобаламін (вітамін B₁₂), інозитол (вітамін B₈)) та каротиноїди для синтезу певних харчових добавок для споживання людиною [20,22].

Вищезазначені факти роблять бактерії роду *Bacillus* перспективними у різних клінічних випадках, окрім відомої їхньої ролі в підтримці здоров'я кишечника та відновленні дисбіотичної кишкової мікробіоти. Також, важливо підкреслити, що активність багатьох представників роду *Bacillus* завжди

виражена і проявляється у відношенні до широкого спектру патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів. Завдяки синтезу різних ферментів та інших речовин вони регулюють і сприяють травленню, мають протиалергенну та антитоксичну дію [23].

1.3 Штучний інтелект про корекцію мікробіому ротоглотки

Подавши запит штучному інтелекту ChatGPT 3.5, для надання рекомендацій щодо корекції мікробіому ротоглотки, отримано наступні результати:

1. Пробіотики та пребіотики: Застосування специфічних видів бактерій (пробіотики) або речовин, які сприяють росту корисних бактерій (пребіотики), може допомагати відновленню балансу мікрофлори.
2. Антимікробні засоби з обережністю: Використання антимікробних засобів може бути необхідним у випадках різкого збільшення патогенних бактерій у організмі людини, але це важливо робити обережно, щоб не порушити нормальну мікрофлору.
3. Дотримання здорового способу життя: Правильне харчування, здоровий режим сну, відмова від тютюну та помірна фізична активність, обов'язкове дотримання гігієнічного догляду за ротовою порожниною можуть впливати на патогенну мікробіоту ротоглотки.
4. Індивідуалізовані стратегії лікування: Врахування індивідуальних особливостей та характеристик мікробіоти для розробки персоналізованих стратегій лікування.
5. Профілактика та контроль інфекцій: Запобігання та вчасне лікування інфекцій може допомагати уникнути дисбалансу мікробіоти.

Необхідно зазначити, що перед будь-якими корекційними заходами важливо консультуватися з медичним фахівцем, який може провести діагностику та розробити індивідуалізований план лікування [24].

Також, можна врахувати такі методи корекції колонізаційної стійкості:

1. Забезпечення оптимального стану мікрофлори різних ділянок порожнини рота шляхом:

- вибору гігієнічних засобів для догляду за порожниною рота (зубної пасти, зубної щітки, ополіскувача тощо) стоматологом чи зубним гігієністом;
- навчання та дотримання правил гігієни порожнини рота;
- ретельного догляду за порожниною рота в особливих випадках, таких як вроджені вади, травми, оперативні втручання, дентальна імплантація, використання ортопедичних та ортодонтичних конструкцій;
- спеціального догляду за конструкціями, які постійно знаходяться у порожнині рота, наприклад, ортодонтичні або ортопедичні апарати.

2. Відновлення та підтримка імунних функцій системи слизових оболонок шляхом:

- специфічної імуномодуляції за допомогою імуномодуляторів бактеріального походження;
- застосування препаратів, що містять фактори неспецифічного імунітету;
- нормалізації показників загального імунітету [6].

1.4 Загальна характеристика пробіотиків з бацил

Комерційними пробіотичними штамами бацил є *B. clausii*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. coagulans*, *B. polyfermenticus*, *B. megaterium*, *B. Pumilus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. pumilus* та *B. cereus*. Ці бактерії володіють стійкістю до літичних ферментів, що обумовлює високу життєздатність під час перебування у шлунково-кишковому тракті. В них спостерігається висока антимікробна та ферментативна активність; здатність синтезувати амінокислоти та вітаміни; позитивний вплив на імунологічний статус організму господаря та зниження рівня холестерину в крові; антимуtagenні властивості. Також, їх спори відзначаються вищою стійкістю до температури та підвищеної кислотності шлункового соку, жовчі [19,25].

Відомо, що пробіотичні препарати, виготовлені на основі бацил є природними антагоністами патогенних мікроорганізмів. Зокрема, вони виявляють високу активність проти мікроорганізмів родів *Staphylococcus* і *Candida*. Також, ефективно впливають на клінічні штами таких таксономічних

груп, як *Campylobacter*, *Yersinia*, ентеропатогенні *E. coli*. Вони є найбільш фізіологічно активними, екологічно чистими, практично безпечними і водночас високоефективними засобами корекції мікробіоценозу. Бацили мають значний вплив на імунну реактивність організму. Вегетативні клітини і спори, які потрапляють в нижні відділи кишечника, стимулюють імунокомпетентні клітини і макрофаги, що призводить до підвищення продукції інтерферонів і цитокінів. Збільшення кількості ендogenous інтерферону в організмі має не лише протівірусну, але й антибактеріальну дію [26].

Основні механізми дії штамів *Bacillus spp.* як пробіотиків: сприяння колонізації кишечника корисними бактеріями, прямий вплив на патогени та імуностимулююча дія [27].

Колонізація кишечника бактеріями відбувається внаслідок, зниження рН кишечника шляхом виробництва коротколанцюгових жирних кислот (КЛЖК), включаючи лактат. Деякі штами *Bacillus*, включаючи *B. subtilis* можуть сприяти утворенню кишкової біоплівки з виробництвом білків, включаючи TasA, TapA і BslA, а також мінеральної основи, еДНК і екзополісахариду. Ця властивість дозволяє *B. subtilis* прикріплюватися до поверхні кишечника та взаємодіяти з іншими бактеріями та господарем. Також, *B. subtilis* сприяє колонізації кишечника деякими корисними бактеріями, включаючи *Lactobacillus*, *Leucobacter*, *Bifidobacteria*, *Megasphaera*, *Coprococcus* і *Prevotella* [28].

Пробіотики з *Bacillus spp.* можуть мати прямий вплив на патогенні бактерії, що призводить до запобігання, пригнічення або призупинення їх росту та колонізації кишечника. Безпосередній вплив на патогени може бути зумовлений продукцією антимікробних пептидів і метаболітів, у тому числі бактеріоцинів, які мають антагоністичну дію щодо патогенних мікроорганізмів. Бактеріоцини є гетерологічною групою білкових антимікробних речовин, які можуть проявляти свою дію проти конкретних бактерій, але багато з них володіють ширшим спектром активності. Так, штами *B. subtilis* продукують субтилін, субланцин 168, бацилоцин 22 та субтилозин А. *B. licheniformis* може продукувати широкий спектр бактеріоцинів, залежно від штамів, які включають

бактеріоциноподібну інгібіторну речовину, бацилоцин 490 і L8. *B. amyloliquifaciens* може продукувати субтилозин і САМТ2 [27,29].

На додаток до виробництва бактеріоцинів і антимікробних молекул, *Bacillus spp.* пробіотики можуть справляти прямий вплив на патогени шляхом модуляції їхніх вірулентних генів під час процесу, який називається визначенням кворуму (QS). Під час процесу сприйняття кворуму бактерії виробляють сигнальні молекули (аутоіндуктори), які індукують реакцію при високій щільності клітин шляхом активації експресії генів. Серед цих сигнальних молекул N-ацилгомосеринлактон (AHL). Додатковий спосіб прямого пригнічення патогенів *Bacillus spp.* пов'язане з їх здатністю виробляти ферменти, які можуть лізувати клітинну стінку патогенних бактерій, включаючи еластазу та ендонуклеази [30,31].

Імуномодуюча дія, штамів *B. subtilis* (спори *B. subtilis* B10, *B. subtilis* BS02 і *B. subtilis* (*natto*) B4) проявляється стимулюванням активації макрофагів та індукції прозапальних цитокінів. Насправді, спори цих штамів *Bacillus spp.* можуть транслокуватися через мікроскладчасті клітини та переходити в Пейєрові плями, в яких вони можуть активувати дендритні клітини та макрофаги, які, у свою чергу, можуть стимулювати вироблення секреторного імуноглобуліну А В-клітинами. Загалом, імуномодуюча дія покращує цілісність слизового бар'єру, а структура слизової оболонки кишечника збільшує висоту ворсинок [27,32,33].

Щоденне споживання спороутворюючих пробіотиків із *Bacillus spp.* сприяє збільшенню їх колонізації в кишечнику і призводить до різкого збільшення кількості корисних мікробних популяцій та зменшення кількості патогенних штамів. Крім того, SFBP може проліферувати різні імунні клітини для виробництва протизапальних цитокінів для підтримки імунного гомеостазу: DC, дендритні клітини, T-reg, регуляторні Т-клітини, Th, Т-хелперні клітини, IL, інтерлейкін, IFN γ , інтерферон γ , TNF α , фактор некрозу пухлини α [20].

На даний час для медичного застосування в якості пробіотиків досліджені декілька видів бацил - *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B.*

pumilus, *B. clausii*, *B. coagulans*, *B. amyloliquefaciens*. На базі цих штамів були створені препарати для профілактики та лікування розладів мікрофлори кишечника, кишкових інфекцій, діареї, яка виникає в результаті прийому антибіотиків, синдрому подразненого кишечника, а також для корекції імунного статусу [34].

Штами *B. cereus* можуть виживати в ШКТ довше, ніж *B. clausii* і *B. subtilis*, оскільки спори *B. cereus* можуть ефективно прилипати до епітеліальних клітин людини завдяки своїй гідрофобності. Штами *Bacillus clausii* використовуються як пробіотики головним чином через їх імуномодулюючі та антимікробні властивості. Вплив штамів *B. clausii* на імунні відповіді включає полегшення назальних симптомів під час алергічних реакцій, попередження побічних ефектів при терапії *Helicobacter pylori* на основі антибіотиків, і проявляє терапевтичний ефект при інфекціях сечовивідних шляхів. *Bacillus coagulans* може продукувати коагулін, бактеріоцин, який має антимікробну дію проти широкого спектру кишкових мікробів. Штами *Bacillus spp* *licheniformis* в основному використовуються як пробіотики комбінованого типу. Було показано, що ферментована соєва паста *B. licheniformis* має властивості проти ожиріння та діабету, а також зменшує накопичення β -амілоїду в гіпокампі головного мозку [35,36].

Пробіотичні штами *B. subtilis* були досліджені на антимікробну, противірусну та протипухлинну дію. *B. subtilis* P223 пригнічує адгезію *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* і *E. coli* до клітин HT-29. *Bacillus subtilis* може виробляти антибіотики, включаючи амікумацин А та нонамікумацин проти *H. pylori*. Рекombінантний штам *B. subtilis* виявляв противірусну активність проти вірусу грипу, вірусу герпесу та вірусу енцефаломієліту коней у моделях *in vitro*. *B. subtilis* ATCC 6051 має здатність продукувати γ -аміномасляну кислоту (ГАМК). ГАМК має багато добре відомих функцій, включаючи гальмування тривоги, сприяння сну, зниження артеріального тиску та посилення імунної відповіді [35,37].

Культури бактерій *Bacillus clausii* вважаються більш пріоритетними для

використання як пробіотиків, оскільки вони можуть протистояти досить екстремальним умовам зовнішнього середовища і, таким чином, виживають усередині шлунково-кишкового тракту людини. Відомо, що при пероральному прийомі як вегетативних клітин, так і спор, бактерії проходять кілька циклів споруляції та респоруляції, перш ніж починають виводитися з організму. Тому препарати на основі роду *Bacillus spp.* (транзиторна мікробіота), що містять клітини у обох формах - споровій та вегетативній - можуть бути терапевтично ефективними [38].

РОЗДІЛ 2. ОРГАНІЗАЦІЯ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Методи дослідження та методика його проведення

Матеріалом для мікробіологічних досліджень був клінічний матеріал, вилучений зі слизової ротоглотки. Забір проводився за стандартними методиками описаними в навчальному посібнику «Практична мікробіологія» за редакцією В.П. Широбокова. В яких йдеться про те, що бактеріологічне дослідження слід проводити до прийому їжі і не раніше ніж через 4-5 годин після місцевого лікування. Матеріал збирають стерильним ватним тампоном, яким обробляють слизову оболонку щік, ясен, язика та мигдалики. У разі виявлення ясенних кишень або виразок, зразки беруть окремим тампоном або платиновою петлею. Слину збирають з-під язика. Взяття матеріалів для бактеріологічного чи вірусологічного дослідження необхідно проводити з максимальною обережністю, щоб уникнути зараження оточуючих [39].

Дослідження проводились за такою схемою (рис. 2.1.):





Вивчення антагоністичних властивостей бацил.

Рисунок 2.1. Схема проведення дослідження

Ідентифікацію виділених культур бактерій здійснювали за стандартними критеріями: колонії фарбували за методом Грама, вивчали їх морфологічні, тинкторіальні, культуральні та біохімічні властивості і рівень факторів патогенності – лецитиназу і гемолізін. Чутливість до антибактеріальних препаратів виділених культур вивчалась диско-дифузійним методом Keurby-Bauer з використання стандартних комерційних дисків на середовищі Мюллера-Хінтона (HiMedia, Індія) відповідно до методичних вказівок. В залежності від зон затримки росту мікроорганізмів навколо дисків з антибактеріальними препаратами штами відносили до чутливих - S, помірно чутливих - I, та R-стійких (резистентних) [40].

Антагоністичну активність штамів бацил визначали методом агарових блоків відносно виділених нами патогенних бактеріальних культур.

Отримані результати підлягали статистичній обробці загальноприйнятними методами описової статистики з використанням значень середнього арифметичного (M).

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1 Збір, аналіз та результати проведеного дослідження

Дослідження проводилося на базі кафедри мікробіології, вірусології, епідеміології з курсом інфекційних хвороб медичного факультету УжНУ. Обстежено 91 студента медичного факультету- медики і фармацевти – 70 дівчат і 21 хлопець, у віці від 18 до 22 років (рис. 3.1., 3.2.). Середній вік групи склав $20,5 \pm 1,8$ років.

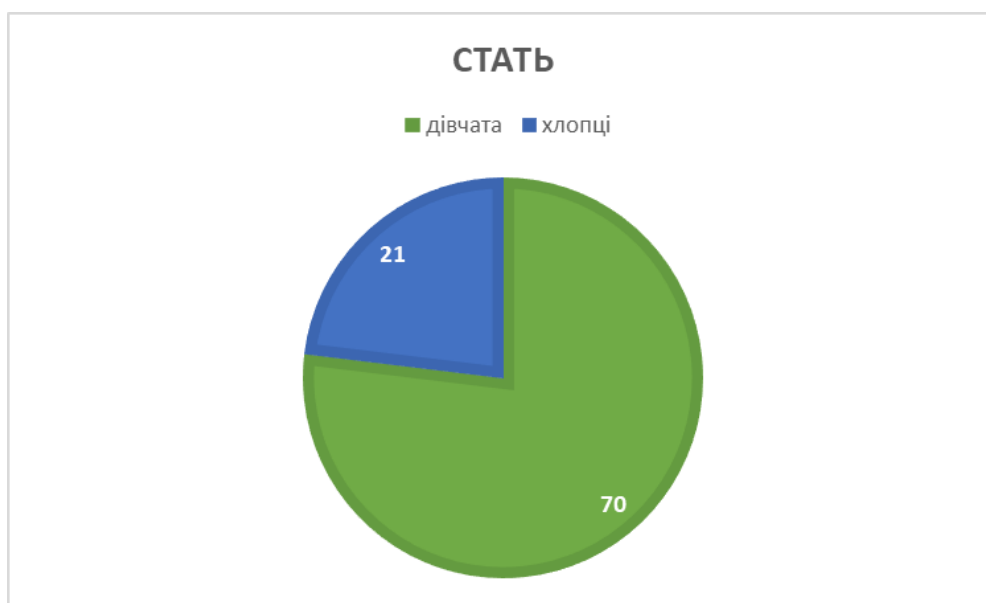


Рисунок 3.1. Розподіл студентів за статтю

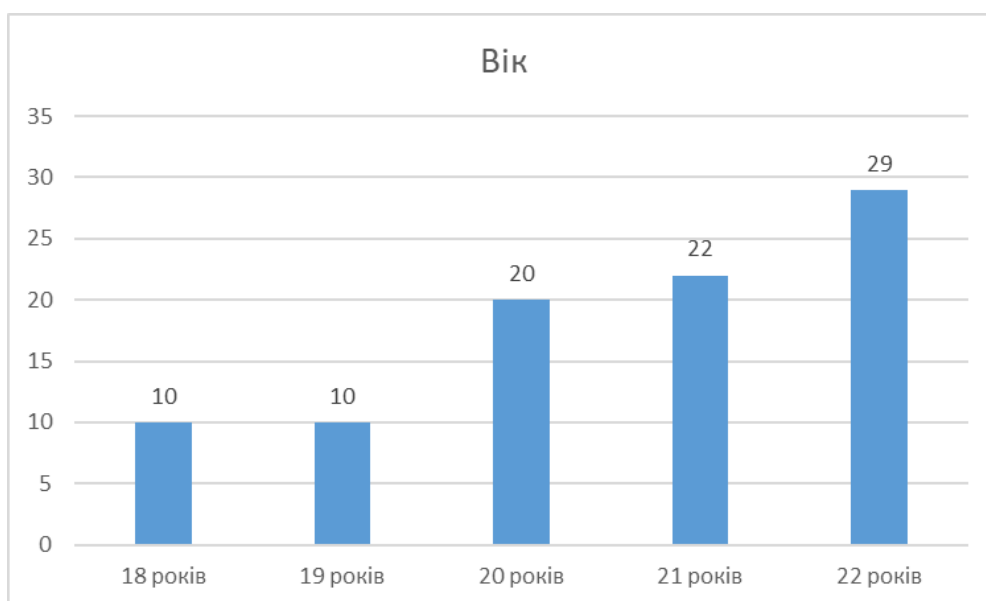


Рисунок 3.2. Вік досліджуваних студентів

Під час аналізу ми виявили аеробну та факультативно-анаеробну мікрофлору зіву, яка включала сапрофітні, патогенні та умовно-патогенні мікроорганізми. Серед них були: *St.aureus*, *Str. β -haemolyticus (gp A)*, *Str. mitis*, *Candida albicans*, *E. coli*, *Kl. pneumoniae*, *St. epidermidis*, *Str. mutans*, *Pr. vulgaris*, *Enterobacter spp.*, *Ps. aeruginosa*. При культивуванні на середовищах проростали в S-формі (гладенькі).

Мікробіологічне дослідження передбачало визначення всіх видів мікроорганізмів, що персистують на слизовій оболонці ротоглотки.

Аналіз частоти виявлення різних мікроорганізмів у всіх досліджених зразках показав перевагу грампозитивних бактерій, зокрема: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Str. mitis* та *Str. mutans*. Грамнегативні палички (*P. vulgaris*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*) складали 13,18% (12 осіб). Також варто відзначити, що гриби роду *Candida*, виділені з ротоглотки, становили 6,59% (6 осіб) від загальної кількості.

Проведене дослідження показало, що спостерігалася висока частота виявлення різних видів та штамів стафілококів – 60,43% (55 осіб), зі значною кількістю стрептококів – 17,58% (16 осіб), ентеробактерій - 13,18% (12 осіб) грибів роду кандіда - 6,59% (6 осіб), а також інших мікроорганізмів у кількості 2,19% (2 особи) (рис. 3.3.).



Рисунок 3.3. Частота виявлення мікроорганізмів з ВДШ

Одержані результати співпадають з наявною інформацією, яка стосується золотистого стафілокока, який вважається одним із найпоширеніших патогенів людини, та який уражає верхні дихальні шляхи. Також відомо, що навіть коагулазонегативні стафілококи, такі як епідермальний стафілокок, стають небезпечнішими. Це через те, що вони є резервуарами генів, що забезпечують стійкість до антибіотиків. Таким чином, лікування ускладнень, спричинених ними, стає все складнішою проблемою [2].

Поміж стрептококів ідентифікували тільки гемолітичні коки, які відносилися до видів *Str. pyogenes* та *Str. viridans*.

Для всіх виділених піогенних коків проводили дослідження наявності факторів патогенності. Згідно даного дослідження, вдалося встановити, що більшість штамів *S. aureus* мали високий патогенний потенціал. Продукцію лецитинази виявлено у всіх виділених штамів, до гемолізу також були здатні всі досліджувані ізоляти (рис. 3.4, 3.5).



Рисунок 3.4. Ріст на КА гемолітичних ізолятів стафілококів, стрептококів та ентеробактерій



Рисунок 3.5. Ріст патогенних стафілококів на ЖСА та хромогенному агарі (лецитиназна активність)

Проведене дослідження виявило, що мікрофлора зустрічалася як у формі монокультур, так і в асоціаціях, які, переважно, склалися з 2-3 мікроорганізмів.

Спектр мікрофлори слизових оболонок ВДШ у студентів 2-го курсу (фармація) - медичного факультету був представлений в основному представниками нормальної мікрофлори – *S. mutans*, *Peptostreptococcus spp.*, *Leptotrichia spp.*, *Bacteroides spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Actinomyces spp.*, *Leptospira spp.* (рис. 3.6.).

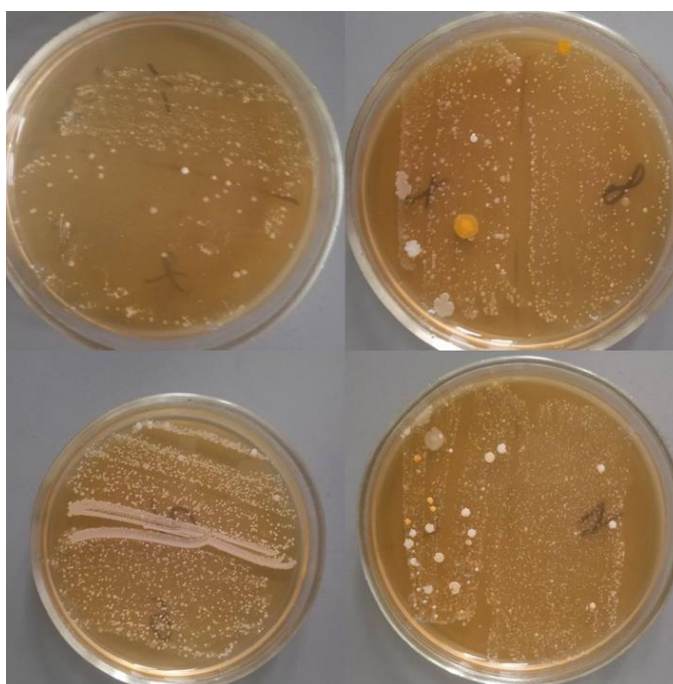


Рисунок 3.6. Посів горла студентів фармацевтів

Спектр мікрофлори слизових оболонок ВДШ у студентів 3-го та 5-го курсу медичного факультету (рис. 3.7.) суттєво відрізнявся і нами виділялися як сапрофітні, так і умовно патогенні бактерії – *St. mutans*, *St. epidermidis*, *Candida spp.*, *Enterobacter spp.*, *P. aeruginosa*, *St. aureus*, *Str. pneumonia*, *Str. pyogenes*, *Haemophilus influenza*, *Klebsiella spp.*

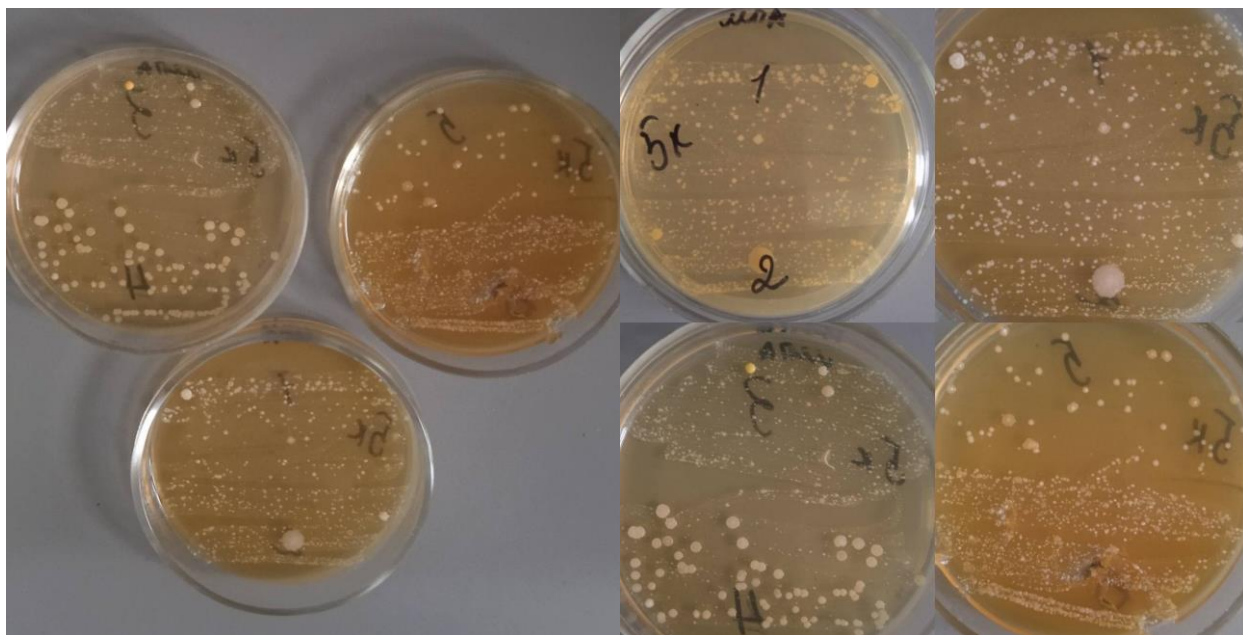


Рисунок 3.7. Спектр мікрофлори слизових оболонок верхніх дихальних шляхів у студентів 3-го і 5 курсу медичного факультету

Умовно-патогенні мікроорганізми виявлялися у помірній кількості, і їхня концентрація не перевищувала діагностичний рівень 10^3 КУО/мл. (КУО - колонієутворюючі одиниці - це кількість колоній, які з'являються на поживному середовищі після посіву 1 г або 1 мл досліджуваного матеріалу. При визначенні концентрації мікроорганізмів враховується, що кожна жива бактеріальна клітина формує колонію [41]). Однак, збільшення кількості *S. aureus* було помітним 10^3 – 10^6 КУО/мл, що є нехарактерним для здорових людей і не може вважатися нормою. Наші результати співпадають з даними, які представлені в літературних джерелах [42].

Також, необхідно відмітити, що у ротовій порожнині в чоловічої статті не було виявлено таких культур, як *S. Epidermidis*, *Candida spp.* та *Kl. pneumoniae*. А ось в дівчат частіше, ніж у хлопців, виявлялися *S. aureus* та *Str. β -haemolyticus*

(група А), що є одним з головних чинників розвитку ревматизму.

В умовах наших досліджень, у двох одружених студентів Б. 5 курсу було ідентифіковано з ротової порожнини *Bacillus spp.*, які культивували на МПА і спостерігали ріст в R-формі (зморшкуваті) та практично здорову ротову порожнину. Нашу увагу привернули ці ізоляти (рис. 3.8.).

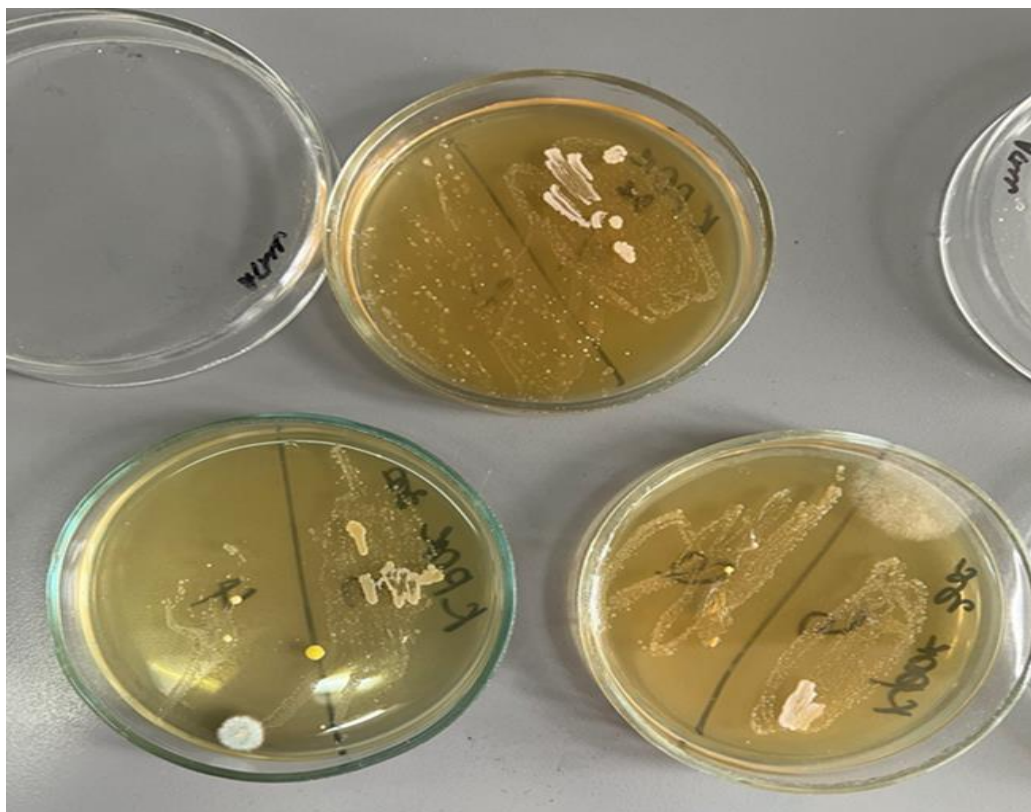


Рисунок 3.8. Ріст на МПА бацил-антагоністів

Антагоністичну активність штамів бацил визначали методом агарових блоків відносно всіх патогенних бактеріальних культур, які ми ідентифікували.

Чисті культури *St. epidermidis.*, *Enterobacter spp.*, *St. aureus*, *Str. pneumonia*, *Str. pyogenes*, *Pr. morganii*, *Klebsiella spp.* культивували з *Bacillus spp.* на агарі методом відстроченого антагонізму. Було виявлено, що культура *Bacillus spp.* здатна значно пригнічувати ріст виділених патогенних штамів під час спільного культивування, повністю або частково затримувати їх ріст. Отримані результати підтверджують пробіотичний потенціал бактерій *Bacillus spp.* та демонструють їх метаболічну перевагу над виділеними патогенними ізолятами (рис. 3.9.).



Рисунок 3.9. Антагоністична активність *Bacillus spp.* стосовно клінічних ізолятів

Klebsiella pneumoniae, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*,
Staphylococcus epidermidis, *Proteus morganii*

Виконане дослідження підтвердило, що при застосуванні бактерій *Bacillus spp.* зменшується бактеріальне навантаження як з боку грампозитивних, так і грамнегативних патогенів та витісняються інші бактерії (табл. 3.1.).

Таблиця 3.1.

**Оцінка антагоністичної активності *Bacillus spp*
до бактеріальних ізолятів**

Бактеріальний ізолят	Зона затримки росту <i>Bacillus subtilis</i> , мм
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>10
<i>Enterobacter cloacae</i>	>16,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	>18,2
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	>17,64
<i>Proteus morganii</i>	>13

Нами експериментально доведено принципову можливість використання деяких коменсалів слизових оболонок як альтернативу антибіотикотерапії стосовно *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus morganii*, які були виділені від досліджуваних студентів. (рис. 3.10.).

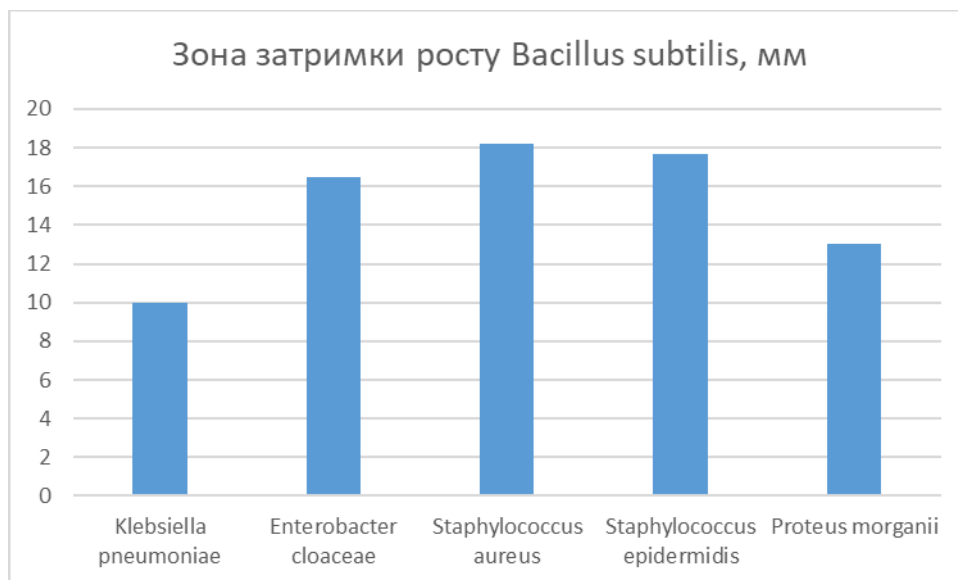


Рисунок 3.10. Оцінка антагоністичної активності *Bacillus spp* до бактеріальних ізолятів

Нами виявлено імунологічну активність бактерій-коменсалів верхніх дихальних шляхів *Bacillus spp* та показано їх здатність затримувати ріст опортуністичних мікроорганізмів. Завдяки нашим дослідженням виділені *Bacillus spp.* при подальшому детальному вивченні та ідентифікації до виду і серотипу можна рекомендувати до депонування, як ще один із перспективних кандидатів бацил для корекції мікрофлори ротової порожнини.

ВИСНОВКИ

У ротовій порожнині студентів-медиків п'ятого курсу було виділено ряд бактерій, серед яких переважали *S. aureus* та *Str. haemolyticus* (група A). Отже, внаслідок проведеного дослідження видового складу мікрофлори ми отримали такі результати, значну частину становили стафілококи – 60,43% (55 осіб), серед яких особливо поширені види *S. aureus* та *S. epidermidis*. В популяції мікроорганізмів стрептококи становили - 17,58% (16 осіб) від загальної кількості, а серед них переважали види *Str. pyogenes* та *Str. viridans*.

Необхідно зауважити, що мікробіом ротової порожнини фармацевтів майже повністю відповідав нормі в зв'язку з тим, що студенти займаються в теоретичному корпусі на відмінно від студентів медиків, які навчають та працюють в лікарні.

Проведений аналіз результатів бактеріологічного дослідження порожнини зіву показав, що крім представників кокової мікрофлори, виявлено значний відсоток ентеробактерій - *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Proteus morganie* та *Candida spp.*

Також, виявлено імунологічну активність бактерій-коменсалів верхніх дихальних шляхів *Bacillus spp.* та показано їх здатність затримувати ріст опортуністичних мікроорганізмів, виділених нами в чистій культурі, які на сьогодні відносяться до представників внутрішньо-лікарняних інфекцій.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Федонюк Я. І., Білик Л.С., Микула Н.Х. Анатомія та фізіологія з патологією: навчальний посібник. Тернопіль, 2001. 680 с.
2. Черних К.А., Зубарева І.М., Жерносекова І. В. Вивчення складу мікрофлори дихальних шляхів людини. *Středoevropský věstník pro vědu a výzkum*. 2018. № 7 (51). С. 8-14.
3. Шилов М.В., Костюк О.В., Дюжикова О.М. Сучасні погляди на викладання теми «Мікрофлора ротової порожнини» на стоматологічному факультеті. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції «Освітній процес підготовки лікарів в умовах сучасного світу: виклики та перспективи», 28 вересня 2022 року, м. Київ. С. 180-184.
4. Коваленко Н.І. Нормальна мікрофлора та мікрофлора при патологічних процесах порожнини рота : метод. вказ. для студентів II–III курсів за спеціальностями «Медицина», «Педіатрія», «Стоматологія» освітньо-кваліфікаційного рівня «Магістр». м. Харків, 2021, С. 52.
5. Lim Y., Totsika M., Morrison M. et al. Oral microbiome: A New biomarker reservoir for oral and oropharyngeal cancers. *Theranostics*. 2017. 7(17). P. 4313-4321.
6. Савичук Н. Колонізаційна резистентність порожнини рота. *Український Медичний Часопис*. 2012. № 4 (90) – VII/VIII. С. 57-63.
7. Мачоган В.Р. Мікрофлора порожнини рота та її роль у патогенезі генералізованого пародонтиту. *Вісник проблем біології і медицини*. 2014. Т. 4 (116), № 4. С. 25-29.
8. Коваль Г.М., Когутич А.І., Міцода К.Р. та ін. Дослідження мікробоценозу ротової порожнини студентів-іноземців медичного факультету. *Науковий вісник УжНУ «Медицина»*. 2015. № 3 (51). С.93-95.
9. Дєєва Ю.В., Довгич С.В. Конкурентна дія комєнсальної і патогенної мікрофлори слизової оболонки порожнини носа в пацієнтів із риносинуситами. *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія*. 2021. № 7-8. С. 5-9.

10. Філімонова Н.І., Сілаєва Л.Ф., Дика О.М. та ін. Мікробіологія : підруч. для студентів вищ. навч. закл. 2-ге вид. м. Харків, 2019, С. 676.
11. Gobbetti M., Calasso M., Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition). 2014. P. 535-553. URL: <https://www.sciencedirect.com/topics/immunology-and-microbiology/streptococcus-mitis> (дата звернення: 26.01.2024)
12. Мінухін В.В., Коваленко Н.І., Замазій Т.М. Патогенні коки : метод. вказ. з дисципліни «Мікробіологія, вірусологія та імунологія з мікробіологічною діагностикою». Харків, 2014. 56 с.
13. Волошина І.М., Шкотова Л.В., Скороход С.О. та ін. Бактерії роду *Lactobacillus*: біологічні та лікувальні властивості. Мікробіологічний журнал. 2019. Т. 81. № 6. С. 131-146.
14. Hyaekang K., Taehyun K., Jaeku K. et al. Is *LactoBacillus spp* Gram-Positive? A Case Study of *LactoBacillus spp* iners. Microorganisms. 2020. 8(7). P. 1- 8.
15. Bernard A., Funke G. Corynebacterium. In: Bergey's Manual of Systematic of Archaea and Bacteria (Online). London: John Wiley & Sons, Bergey's Manual Trust. 2015. P. 1-70.
16. Іванько О.Г., Скрипникова Я.С. Інфекція *Candida albicans* – найбільш розповсюджене грибкове захворювання у дітей. Здоров'я України ХХІ сторіччя. Педіатрія. 2021. № 5(61). С. 13.
17. Милославський Д.К., Коваль С.М. Перспективи використання пробіотиків як модуляторів кишкової мікробіоти при ожирінні. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2022. № 6. Р. 358-364.
18. Тесля А., Охмат О. Пробіотичний потенціал бактерій роду *Bacillus*. Збірник наукових праць «Тенденції та перспективи розвитку науки і освіти в умовах глобалізації». 2023. № 97. С. 21-23.
19. Головач І.Ю., Рекалов Д.Г. , Костенко В.О. Перспективи застосування пробіотиків на основі спор бактерій роду *Bacillus* у комплексній терапії захворювань опорно-рухового апарату. Український ревматологічний журнал. 2022. № 3–4 (89–90). С. 17-25.

20. Elshaghabee F., Rokana N., Gulhane R. et al. *Bacillus* As Potential Probiotics: Status, Concerns, and Future Perspectives. *Frontiers in Microbiology*. 2017. № 8. P. 1-15.
21. Ehling-Schulz M., Koehler T., Lereclus D. The *Bacillus cereus* Group: *Bacillus* species with Pathogenic Potential. *Microbiology Spectrum*. 2019. T. 7. № 3. P. 60.
22. Mohammed, Y., Lee, B., Kang, Z. et al. Development of a two-step cultivation strategy for the production of vitamin B12 by *Bacillus megaterium*. *Microbial Cell Factories*. 2014. T.13. P. 1-10.
23. Белоусова О.Ю. Пробиотик *Bacillus clausii*: сьогодення та перспективи застосування в клінічній практиці. *Здоров'я України XXI сторіччя. Гастроентерологія*. 2022. № 12 (529). С 2.
24. Штучний інтелект ChatGPT 3.5.
25. Сафронова Л.А., Іляш В.М. Біосинтетична активність бацил, обумовлюючи їх пробіотичний ефект. *Мікробіологічний журнал*. 2017. № 79(6) С. 120-136.
26. Лич І., Волошина І. Пробиотики на основі бактерій роду *Bacillus*. Матеріали І Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції «Біотехнологія: досвід, традиції та інновації», 14-15 грудня 2016 року, м. Київ. С. 415-419.
27. Luise D., Bosi P., Raff L. et al. *Bacillus spp.* Probiotic Strains as a Potential Tool for Limiting the Use of Antibiotics, and Improving the Growth and Health of Pigs and Chickens. *Front Microbiol*. 2022. № 13. P 19.
28. Arnaouteli S., Bamford N., Stanley-Wall N. et al. *Bacillus spp subtilis* biofilm formation and social interactions. *Nature Reviews Microbiology*. 2021. Annual Reviews № 19. P. 600-614.
29. Abriouel H., Franz C. M., Omar N. et al. Diversity and applications of *Bacillus* bacteriocins. *FEMS Microbiology Reviews*. 2011. T. 35. № 1. P. 201–232.
30. Miller M. B., Bassler B. L. Quorum sensing in bacteria. *Annual Reviews Microbiology*. 2001. № 55. P. 165–199.
31. Dong Y., Gusti A., Zhang Q. et al. Identification of Quorum-Quenching N-Acyl

- Homoserine Lactonases from *Bacillus* Species. *Applied and Environmental Microbiology*. 2002. № 68 (4) P. 1754–1759.
32. Xu X., Huang Q., Mao Y. et al. Immunomodulatory effects of *Bacillus subtilis* (natto) B4 spores on murine macrophages. *Microbiology and Immunology*. 2012. № 56. P. 817–824.
 33. Huang Q., Xu X., Mao Y. L. et al. (2013). Effects of *Bacillus subtilis* B10 spores on viability and biological functions of murine macrophages. *Animal Science Journal*. № 84. P. 247–52.
 34. Сафронова Л.А., Скороход І.О. Потенціал бактерій роду *Bacillus spp* як пробіотиків. *Здоров'я України XXI сторіччя*. 2021. № 13-14. С. 14-15.
 35. Na-Kyoung L., Won-Suck K. *Bacillus spp* strains as human probiotics: characterization, safety, microbiome, and probiotic carrier. *Food Sci Biotechnol*. 2019. № 28(5). P. 1297-1305.
 36. Yang H.J., Kwon D.Y., Kim H.J. et al. Fermenting soybeans with *Bacillus licheniformis* potentiates their capacity to improve cognitive function and glucose homeostasis in diabetic rats with experimental Alzheimer's type dementia. *European journal of nutrition*. 2015. T. 54. P. 77-88.
 37. Wang H., Huang J., Sun L. et al. An efficient process for co-production of γ -aminobutyric acid and probiotic *Bacillus subtilis* cells. *Food Sci. Biotechnol*. 2019. T. 28. P. 155-163.
 38. Савустьяненко А. В. Механізми дії пробіотиків на основі *Bacillus subtilis*. *Актуальна інфектологія*. 2016. № 2(11) С. 35–44.
 39. Климинюк С.І., Ситник В.П., Широбоков В.П. Практична мікробіологія: навчальний посібник. м. Вінниця: Нова книга, 2018, С. 576
 40. Наказ МОЗ України №167 від 05.04.2007 «Про затвердження методичних вказівок щодо визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів». URL: <https://zakon.rada.gov.ua/go/v0167282-07> (дата звернення: 09.03.2024).
 41. Войтович О.В., Ерьоміна А.К., Камишний О.М. Взаємодія мікроорганізмів з навколишнім середовищем. *Мікробіота ротової*

порожнини людини : навч. посібник з мікробіології для студентів-стоматологів II-I курсу мед ф-ту. м. Запоріжжя, 2015, С. 86.

42. Боєва С.С. Слюсарев О.А., Сєрих Н.О. Аналіз бактеріологічного дослідження мікрофлори порожнини зів'язи серед дорослого населення м. Краматорська за період 2015-2016 років. Матеріали чотирнадцятої всеукраїнської практично-пізнавальної конференції «Наукова думка сучасності і майбутнього» , серпень 2017 року, м. Дніпро, С.84-86.

ДОДАТКИ

Додаток А

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДВНЗ "УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ"
МЕДИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

UME  CO

UZHGOROD MEDICAL STUDENTS CONFERENCE

XXI МІЖНАРОДНА
НАУКОВО-
ПРАКТИЧНА
СТУДЕНТСЬКА КОНФЕРЕНЦІЯ

UZHGOROD
MEDICAL STUDENT'S
CONFERENCE



БІЛИЙ ХАЛАТ
медичний одяг

2024



Ужгород • Україна

чоловіків. Майже 72% опитуваних мали чи здобували медичну освіту. Статистичний аналіз даних опитування проведено у Microsoft Excel.

Результати. Про проблему нестачі донорських органів знали 97% респондентів. Більшість учасників опитування (56%, 299 осіб) надали перевагу презумпції згоди. Понад 81% опитуваних (433 особи) були готові самі стати посмертними донорами, але лише 55,4% (296 осіб) погодилися підписати згоду на донорство родичів першого ступеня споріднення у разі їх смерті. Найбільш частими причинами відмови від власного посмертного донорства були релігійні переконання та недовіра до медицини, а відмови від посмертного донорства родичів – страх прийняти таке рішення та страх понівечення тіла. Під час аналізу гендерних особливостей встановлено, що чоловіки рідше, ніж жінки, погоджуються на власне посмертне донорство (75,5% проти 82,2% відповідно). Головною причиною відмови у чоловіків була недовіра до медицини, а в жінок – релігійні переконання. Стосовно вікового розподілу, то в молодому віці (18-25 років) зафіксовано повну довіру до медицини та переважну підтримку презумпції згоди, проте з віком недовіра зростала та надавалася перевага презумпції незгоди. При поділі опитуваних залежно від наявності медичної освіти встановлено, що медики відмовляються від донорства майже втричі рідше, ніж не медики, та коливаються майже вдвічі менше.

Висновки. Отже, на основі результатів даного дослідження можемо стверджувати, що приблизно 20-25% респондентів ніколи не задумувалися про питання власного посмертного донорства органів чи їх родичів. Це свідчить про недостатнє інформування населення щодо питань трансплантації органів та потреби в їх донорстві. Результати даного дослідження та виявлені причини відмови від посмертного донорства будуть корисними для формування подальшої стратегії поширення інформації про донорство серед суспільства.

ВПЛИВ БАКТЕРІЙ РОДУ *BACILLUS SPP* НА ПАТОГЕННІ ІЗОЛЯТИ МІКРОБІОМУ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ СТУДЕНТІВ-МЕДИКІВ THE EFFECT OF BACTERIA GENUS *BACILLUS SPP* ON PATHOGENIC ISOLATES OF THE ORAL MICROBIOME OF MEDICAL STUDENTS

Гелеш А. Є.

Науковий керівник: д.м.н., проф. Коваль Г.М.

Медичний факультет ДВНЗ «Ужгородський національний університет»

Кафедра мікробіології, вірусології, епідеміології з курсом інфекційних хвороб
м. Ужгород, Україна

Вступ. Питання мікробіому людського тіла є надзвичайно актуальним, тому вивчення мікрофлори ротової порожнини має велике практичне та медичне значення і в найближчому майбутньому спонукає до перегляду його ролі в патогенезі багатьох хвороб.

Мета роботи. Дослідити персистенцію мікроорганізмів на слизових оболонках ротоглотки студентів різних вікових груп і факультетів, проаналізувати етіологічну роль отриманих ізолятів та запропонувати ефективний шлях профілактики без антибіотикотерапії.

Матеріали і методи дослідження. Матеріалом для мікробіологічних досліджень був клінічний матеріал вилучений зі слизової носоглотки студентів. Чутливість до антибактеріальних препаратів виділених культур вивчалась диско-дифузійним методом Keirby-Bauer з використання стандартних комерційних дисків на середовищі Мюллера-Хінтона. Антагоністичну активність штамів бацил визначали методом агарових блоків.

Результати. Обстежено 91 студента медичного факультету: медики і фармацевти – 70 дівчат і 21 хлопець – у віці від 18 до 23 років. Середній вік групи склав $20,2 \pm 1,09$ років. В результаті аналізу нами виділена аеробна та факультативно-анаеробна мікрофлора, яка містила в своєму складі сапрофітні, патогенні та умовно-патогенні коменсали, а саме: *S.aureus*, *Str.β-haemolyticus* (група A), *Candida albicans*, *Kl.pneumoniae*, *S.epidermidis*, *Str.mitis*, *Str.mutans*, *P.vulgaris*, *Enterobacter spp.*, *E.coli*. Проведений аналіз даних бактеріологічного дослідження порожнини зіву студентів 5 курсу медичного факультету показав, що, крім представників нормальної мікрофлори, виявлено значний відсоток (близько 87%) золотистого стафілококу, гемолітичного стрептококу. Виразну антагоністичну активність в титрі 500 тис. КУО/1мл стосовно цих клінічних ізолятів виявив

штам *Bacillus spp.* як при скринінгу, так і при сумісному культивуванні. Їх антибактеріальну ефективність визначали *in vitro* в умовах сумісного культивування культур.

Висновки. Серед бактерій, які були виділені з порожнини зів студентів медиків переважали *S.aureus*, *S.β-haemolyticus* (група А). Мікробіом зів студентів спеціальності фармація практично складався з представників нормальної мікрофлори. Експериментально доведено принципову можливість використання коменсальних *Bacillus spp.* слизових оболонок як альтернативи антибіотикотерапії.

ВІЛ-АСОЦІЙОВАНІ ІНФЕКЦІЇ

HIV-ASSOCIATED INFECTIONS

Комарницька Т.Р.

Науковий керівник: доц. Карбованець О. І., доц. Козутич А.І.

Медичний факультет ДВНЗ «Ужгородський національний університет»

Кафедра мікробіології, вірусології, епідеміології з курсом інфекційних хвороб

м. Ужгород, Україна

Вступ. В основі ВІЛ-інфекції лежать значні деструктивні зміни імунної системи, зокрема, зменшення CD-4+ клітин в організмі інфікованого, що призводить до прогресуючої імуносупресії та приєднання опортуністичних інфекцій (ОІ). Саме вони і визначають клінічні прояви і перебіг ВІЛ у інфікованої особи. Проблематика ОІ полягає у поширенню збудника та його локалізацію в різних органах, слабка імунна відповідь організму на збудник та часті рецидиви, а також характерний багатомісячний чи багаторічний перебіг.

Мета роботи. Виявити основні опортуністичні інфекційні захворювання у ВІЛ-інфікованих серед пацієнтів комунального некомерційного підприємства «Обласна клінічна інфекційна лікарня» Закарпатської обласної ради (КНП «ОКІЛ»ЗОР»).

Матеріали та методи дослідження. У ході виконання роботи нами було проведено аналіз журналу приймального відділення КНП «ОКІЛ»ЗОР» за період 2023 року, за допомогою медико-статистичного методу виявлено 29 випадків госпіталізацій ВІЛ-інфікованих. Для дослідження був використаний бібліосемантичний метод з наступним логічним узагальненням. Огляд літератури було проведено на доступних вітчизняних та закордонних сайтах.

Результати. Для написання наукової роботи були взяті для дослідження історії хвороби пацієнтів, які знаходились на лікуванні в Закарпатській обласній інфекційній лікарні з діагнозом В-20. Середній вік госпіталізованих становить 35-40 р., більшу частину складають особи чоловічої статі (60%), за патогенезом - III-IV клінічна стадія хвороби. В ході дослідження статистично виявлені такі найпоширеніші опортуністичні інфекції, як: цитомегаловірусні інфекції (герпесвірусні інфекції, вірус Епштейна-Барра, цитомегаловірусний пневмоніт та ін.) – 24,53%, туберкульозні ураження легеневої та позалегеневої форм - 13,21%, паразитарні хвороби - 28,30%, токсоплазмозний менінгоенцефаліт - 3,77%, постенцефалітичний паркінсонізм - 3,77%, шигельоз - 3,77%, різні форми анемії - 7,55%, пневмонії різного генезу - 15,09%. Крім супутніх захворювань виявлені порушення з боку системи крові, нервової та ендокринної систем, токсичні ураження печінки, порушення обміну пуринів та піримідинів, лімфаденопатії та розвиток злоякісних новоутворень різної локалізації.

Висновки. Моніторинг опортуністичних інфекцій у хворих з ВІЛ залишається ключовим з огляду на важкість перебігу інфекції та низьку імунну відповідь організму через зниження CD-4 клітин. На даному етапі важливо вчасно зреагувати на прояв будь-якого ВІЛ-індикаторного захворювання, максимально полегшити перебіг вже існуючих асоційованих інфекцій та попередити розвиток опортуністів надалі.

ВЗАЄМОЗАЛЕЖНІСТЬ МІКРОБІОТА КИШКІВНИКА ТА ХВОРОБИ

ПАРКІНСОНА, В ПОРІВНЯННІ З ІНШИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ ЦНС

THE INTERDEPENDENCE OF THE INTESTINAL MICROBIOT AND PARKINSON DISEASE COMPARED TO OTHER DISEASES OF THE CNS

Луц В.В.

Науковий керівник – ас. Лушнікова О.В.