УДК 616.31-085
DOI https://doi.org/10.32782/2786-7684/2025-1-17

Кривцова Марина Валеріївна,
доктор біологічних наук, професор, завідувачка кафедри клініко-лабораторної та морфофункціональної діагностики, ДВНЗ «Ужгородський національний університет»
ORCID ID: 0000-0001-8454-2509
м.Ужгород, Україна

Костенко Євген Якович,
доктор медичних наук, професор, професор кафедри ортопедичної стоматології, ДВНЗ «Ужгородський національний університет»
ORCID ID: 0000-0002-3997-2371
м. Ужгород, Україна

Ньорба-Бобиков Михайло Михайлович,
асистент кафедри ортопедичної стоматології,
ORCID ID: 0000-0003-2493-8258
ДВНЗ «Ужгородський національний університет»
м. Ужгород, Україна

Скляр Іван Іванович,
аспірант кафедри кафедри клініко-лабораторної та морфофункціональної діагностики, ДВНЗ «Ужгородський національний університет»
ORCID ID: 0000-0001-8664-3952
м. Ужгород, Україна

Мандула Роман Михайлович,
аспірант кафедри ортопедичної стоматології, ДВНЗ «Ужгородський національний університет»
ORCID ID: 0009-0002-3761-6346
м. Ужгород, Україна

Волошин Максим Володимирович,
аспірант кафедри хірургічної стоматології, ДВНЗ «Ужгородський національний університет»
ORCID: 0000-0003-2167-105X
м. Ужгород, Україна

Бактерії роду *Enterococcus* при запальних захворюваннях м'яких тканин порожнини рота та визначення їх чутливості до антибіотиків за EUCAST

Постійно зростаючі темпи розвитку атибіотикорезистентності мікроорганізмів, обумовлюють актуальність впровадження принципів раціональної антибіотикотерапії та уніфікації методів вивчення чутливості до антибіотиків згідно з Європейськими протоколами. У роботі проведено мікробіологічний аналіз зразків, ізольовані культури бактерій роду *Enterococcus* від пацієнтів з інфекційно-запальними захворюваннями порожнини рота та визначена чутливість ентерококів до антибактеріальних препаратів за протоколами EUCAST (Європейського комітету з визначення чутливості до антимікробних препаратів).

Метою роботи було оцінити персистенцію ентерококів в умовах запальних захворювань м'яких тканин порожнини рота, а також визначити рівень антибіотикорезистентності ентерококів за EUCAST з метою оптимізації терапевтичних підходів.

Дослідження антибіотикограм показали, що *Enterococcus faecium* проявляв високий рівень чутливості до фторхінолонів, ванкоміцину та високий рівень резистентності до амоксициліну, та навіть амоксицилін/клавулонату й амоксицилін/сульбактаму. Вищий рівень чутливості до антибіотиків був характерний для *Enterococcus faecalis*, так до амоксицилін/клавулонату були чутливими 67,0% *Enterococcus faecalis* та лише 47,0 % *Enterococcus faecium*.

Результати дослідження підтвердили значну поширеність ентерококів у мікробіоценозі запаленої ділянки, що свідчить про їхню роль у патогенезі інфекційно-запальних захворювань порожнини рота. Встановлено високу частоту резистентності ентерококів до ряду антибіотиків, що обґрунтовує необхідність персоніфікованого підходу до терапії. Отримані дані можуть бути використані для вдосконалення методів лікування та профілактики інфекційно-запальних захворювань порожнини рота.

Показано, що оцінка чутливості ентерококів, ізольованих із осередку інфекційно-запального процесу порожнини рота, є ефективною за критеріями EUCAST, що пов'язано з видовою специфічністю генотипової резистентності різних видів даного роду до антибіотиків. Призначення антимікробного лікування з врахуванням критеріїв EUCAST унеможливлює призначення неефективного антимікробного препарату.

Ключові слова: перикоронарит, пародонтит, періімплантит, стоматологія, мікробіота, індивідуальна корекція, антибіотикотерапія, антибіотикорезистентність, мікробіоценоз.

Kryvtsova Maryna Valeriivna, Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Clinical Laboratory and Morphofunctional Diagnostics, Uzhhorod National University, ORCID ID: 0000-0001-8454-2509**,** Uzhhorod, Ukraine

Kostenko Yevhen Yakovych, Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor at the Department of Prosthetic Dentistry, Uzhhorod National University, ORCID ID: 0000-0002-3997-2371, Uzhhorod, Ukraine

Norba-Bobykov Mykhailo Mykhaylovych, Assistant at the Department of Prosthetic Dentistry**,** Uzhhorod National University, ORCID ID: 0000-0003-2493-8258, Uzhhorod, Ukraine

Sklyar Ivan Ivanovych, Postgraduate Student at the Department of Clinical Laboratory and Morphofunctional Diagnostics, Uzhhorod National University, ORCID ID: 0000-0001-8664-3952, Uzhhorod, Ukraine

Mandula Roman Mykhaylovych, Postgraduate Student at the Department of Prosthetic Dentistry**,** Uzhhorod National University, ORCID ID: 0009-0002-3761-6346**,** Uzhhorod, Ukraine

Voloshyn Maksym Volodymyrovych, Postgraduate Student at the Department of Surgical Dentistry and Clinical Disciplines, Uzhhorod National University, ORCID ID: 0000-0003-2167-105X, Uzhhorod, Ukraine

Enterococcus bacteria in inflammatory diseases of the oral soft tissues and determination of their sensitivity to antibiotics according to EUCAST

The constantly increasing rates of development of antibiotic resistance of microorganisms determine the relevance of implementing the principles of rational antibiotic therapy and unification of methods for studying antibiotic sensitivity according to European protocols. The work carried out microbiological analysis of samples, selected cultures of bacteria of the genus Enterococcus from patients with infectious and inflammatory diseases of the oral cavity and determined the sensitivity of enterococci to antibacterial drugs according to the protocols of EUCAST.

The aim of the work was to assess the persistence of enterococci in conditions of inflammatory diseases of the soft tissues of the oral cavity, as well as to determine the level of antibiotic resistance of enterococci according to EUCAST in order to optimize therapeutic approaches.

Antibioticogram studies showed that *Enterococcus faecium* exhibited a high level of sensitivity to fluoroquinolones, vancomycin and a high level of resistance to amoxicillin, and even amoxicillin/clavulanate and amoxicillin/sulbactam. A higher level of sensitivity to antibiotics was characteristic of *Enterococcus faecalis*, so 67.0% of *Enterococcus faecalis* and only 47.0% of Enterococcus faecium were sensitive to amoxicillin/clavulanate.

The results of the study confirmed the significant prevalence of enterococci in the microbiocenosis of the inflamed area, which indicates their role in the pathogenesis of infectious and inflammatory diseases of the oral cavity. A high frequency of resistance of enterococci to a number of antibiotics was established, which justifies the need for a personalized approach to therapy. The data obtained can be used to improve methods of treatment and prevention of infectious and inflammatory diseases of the oral cavity.

It has been shown that the sensitivity assessment of enterococci isolated from the focus of the infectious-inflammatory process of the oral cavity is effective according to the EUCAST criteria, which is associated with the species specificity of genotypic resistance of different species of this genus to antibiotics. The appointment of antimicrobial treatment taking into account the EUCAST criteria makes it impossible to prescribe an ineffective antimicrobial agent.

Key words: Pericoronaritis, dentofacial anomaly, dentistry, microbiome, individual correction, antibiotic therapy, antibiotic resistance.

Вступ. *Ентерококи* (грампозитивних коки) – коменсали, що мешкають у шлунково-кишковому тракті та ротовій порожнині людини. Зростання наукового та практичного інтересу до цього роду бактерій у клінічній мікробіології пов'язане з їх високою резистентністю до доступних на даний момент антибіотиків [7]. Добре відомо, що ентерококи викликають цілу низку інфекцій, деякі з яких потенційно смертельні, включаючи інфекції сечовивідних шляхів, неонатальні та ранові інфекції, а також ендокардит і менінгіт [8]. Протягом останніх кількох десятиліть вони також були визнані відомими нозокоміальними патогенами в усьому світі, в тому числі через зростаючу появу фенотипів антимікробної резистентності. Заслуговують на увагу резистентні до ванкоміцину ентерококи та їх вплив у внутрішньолікарняних умовах, що викликає значне занепокоєння. Окрім ванкоміцину, ентерококи також виявляють резистентність до тетрацикліну, пеніциліну, цефалоспоринів та аміноглікозидів [7]. Представники роду *Enterococcus*, зокрема *E. faecalis* і *E. faecium*, здатні утворювати біоплівки, проявляти резистентність до антибіотиків і протистояти імунній відповіді організму [3, 5]. Встановлено, що ентерококи можуть бути основними збудниками інфекційного процесу в ротовій порожнині, зокрема в осередках хронічного запалення, таких як пародонтит, пульпіт та перикоронарит [1, 2].

Дані про поширеність *E. Faecalis* в ротовій порожнині сильно відрізняються в різних дослідженнях, коливаючись від 0 до 50% залежно від орального джерела тестованих зразків (слина, кореневі канали, наліт) і досліджуваних популяцій [9] повідомили про наявність *E. faecalis* у 29% зразків слини порожнини рота та 22% у зразках ясенної борозни, зібраних у 41 ендодонтичного пацієнта. Останнім часом лікарська стійкість *E. faecalis* і *E. faecium* та їх можливий внесок у горизонтальний перенос генів підкреслюють зростаючу увагу до ентерококів у ротовій порожнині

Особливу увагу привертає висока стійкість ентерококів до антибактеріальної терапії. Наявність механізмів резистентності ускладнює вибір ефективного лікування, що може призводити до тривалого перебігу захворювання та ризику генералізації інфекції [6]. Це визначає необхідність подальшого вивчення ролі ентерококів у патогенезі інфекційних ускладнень у порожнині рота та розробки оптимальних підходів до лікування.

Метою роботи було оцінити персистенцію ентерококів в умовах запальних захворювань м'яких тканин порожнини рота, а також визначити рівень антибіотикорезистентності ентерококів за EUCAST з метою оптимізації терапевтичних підходів.

Матеріали та методи. Методи дослідження включали: клінічні – для оцінки стану ротової порожнини, вираженості запального процесу, болю, набряку та функціональних порушень; функціональні – для визначення процесів адаптації тканин; мікробіологічні – для вивчення видового та кількісного складу мікробіому, а також визначення антибіотикограми ентерококів; мікроскопічні – для дослідження морфологічних, тинкторіальних і біохімічних властивостей бактерій; рентгенологічні; морфологічні – для аналізу тканин слизової оболонки та пародонту; комп'ютерні – для автоматизованої обробки та зберігання результатів; статистичні – для визначення достовірності отриманих результатів.

Мікробіологічний аналіз мазків з уражених ділянок проводився у ННЦ «Мікробіолоії та біотехнології» ДВНЗ «УжНУ». Біологічний матеріал висівали за методом Голда на диференційно-діагностичні поживні середовища, культивували при 37°С протягом 24–28 годин у термостаті. Ідентифікація ізолятів здійснювалася бактеріоскопічними (мікроскопія після фарбування за Грамом) та біохімічними (визначення ферментативної активності) методами. Для виділення та диференціації мікроорганізмів застосовували поживні середовища. Ідентифікація виділених чистих культур здійснювалася за допомогою MALDI-TOF – метод матрично-активованої лазерної десорбції/іонізації та часо-пролітної масс-спектрометрії.

Антибіотикочутливість ентерококів оцінювали диско-дифузійним методом згідно з рекомендаціями EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing), використовуючи стандартні диски з антибіотиками («Фармактив», Україна).

Аналіз медичної документації проводився з дотриманням принципів медичної етики та збереженням анонімності пацієнтів. Оцінка результатів, математичний аналіз та перевірка достовірності даних виконувалися із застосуванням програмного забезпечення Statistica (STATISTICA) та Microsoft Office Excel 2019 (Microsoft Office).

Результати дослідження. Експериментальні дослідження виконували з дотриманням основних положень GCP (1996), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1997), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення науково-медичних досліджень за участю людини (1964–2000).

Досліджувалась вибірка пацієнтів ретроспективою у 3 роки із збереженням принципу анонімності на базі університетської стоматологічної поліклініки ДВНЗ «УжНУ», до складу якої входило 227 осіб віком від 20 до 60 років, 82 з діагностованим перикоринаритом; 80 – з генералізованим пародонтитом та 65 з періімплантитом.

У респондентів були ізольовані штами бактерій роду *Enterococcus*. У подальшому проводився запис результатів мікроскопії, опис виявлених груп мікроорганізмів, їхня порівняльна характеристика з нормальним фізіологічним станом мікробіоти ротової порожнини, також тестування антибіотикочутливості кожного отриманого ізоляту.

У ході проведення дослідження було виявлено певну тенденцію щодо поширеності конкретних двох видів бактерії – *Enterococcus faecalis* і *Enterococcus faecium*. Частота виділення бактерій роду *Enterococcus* в умовах пародонтиту складала 38,0%, перикоринариту – 29,0%, періімплантиту – 31,5%. Ентерококи виділяли як у монокультурі, та і у структурі асоціацій. Здебільшого асоціації мікроорганізмів виділяли при пародонтиті.

В результаті проведених досліджень нами було ізольовано 74 культури бактерій роду *Enterococcu*s, 34 культури, з яких належали до виду *Enterococcus faecalis* та 40 – до *Enterococcus faecium.*

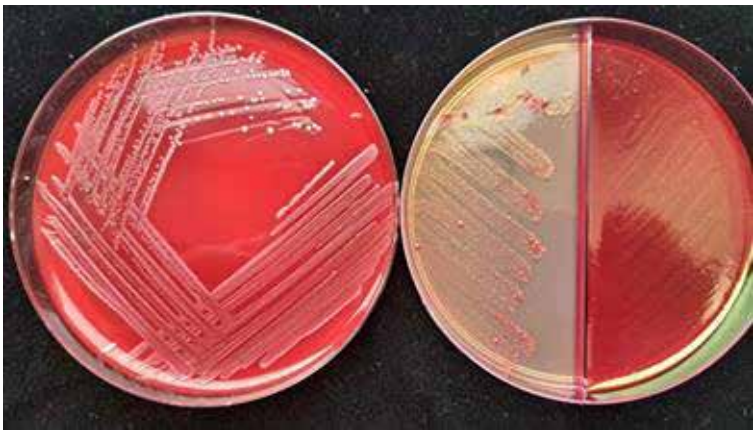


Рис. 1. Чиста культура Enterococcus faecalis ізольована із осередку запального процесу порожнини рота

Дослідження показали, що виділені мікроорганізми мали варіативний штамоспецифічний характер чутливості до антимікробних препаратів. Це додатково вказує на те, що чутливість до антибактеріальних препаратів зазнає суттєвих змін і потребує ретельного перегляду та постійного моніторингу. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків здійснювали із врахуванням рекомендацій EUCAST (Європейського комітету з визначення чутливості до антимікробних препаратів). Впровадження експертних правил EUCAST має особливе значення як у загально лікарській практиці, так і в стоматології. Значною перевагою даних рекомендацій є те, що дані протоколи враховують природну стійкість мікроорганізмів до антибіотиків, що унеможливлює застосування препарату, до якого мікроорганізм володіє генетичними детермінантами стійкості. Експертні правила EUCAST для визначення чутливості до антибіотиків, які були вперше опубліковані у 2008 (http://www.eucast.org), поділяються на наступні розділи: природна стійкість, виняткові фенотипи та правила інтерпретації отриманих результатів. Природна стійкість до препарату означає, що даний препарат немає достатньої активності відносно представників виду, що обумовлює клінічну неефективність. У таких випадках визначення чутливості проводити не рекомендується. Результати дослідження, які свідчать про «чутливість» представника виду з природною стійкістю до даного препарату, вимагають обережної оцінки. Крім того, зустрічаються ситуації, коли антибіотик проявляє активність *in vitro*, але не є активним *in vivo.* Прикладами природної стійкості є стійкість представників (табл. 1).

До прикладу, у *E. faecalis* очікуваним фенотипом є чутливість до ампіциліну, амоксициліну та піперациліну (з інгібітором бета-лактамази та без нього), тоді як у *E. faecium* поширеною є резистентність. Ізоляти, стійкі до ампіциліну, можуть бути стійкими до ампіциліну, амоксициліну та піперациліну (з інгібітором або без нього). Для *E. faecalis*, резистентних до ампіциліну за допомогою методу дискової дифузії, слід підтвердити резистентність за допомогою МІК-тесту. Чутливість до ципрофлоксацину та левофлоксацину можна визначити за допомогою скринінгового тесту дискової дифузії норфлоксацину.

Дослідження антибіотикограм показали, що *Enterococcus faecium* проявляв високий рівень чутливості до фторхінолонів, ванкоміцину та високий рівень резистентності до амоксициліну, та навіть амоксицилін/клавулонату та амоксицилін/сульбактаму (рис. 2).

Таблиця 1

Природна стійкість до антибіотиків бактерій роду *Enterococcus*
(https://www.eucast.org/expert_rules_and_expected_phenotypes)

Мікроорганізм	Фузидієва кислота	Цефтазидим	Цефалоспорини (за виключенням цефтазидиму)	Аміноглікозиди	Макроліди	Кліндаміцин	Ванкоміцин	Сульфонаміди
Enterococcus faecalis	C	C	C	C	C	C		C
Enterococcus gallinarum, Enterococcus casseliflavus	C	C	C	C	C	C	C	C
Enterococcus faecium	C	C	C	C	C			C

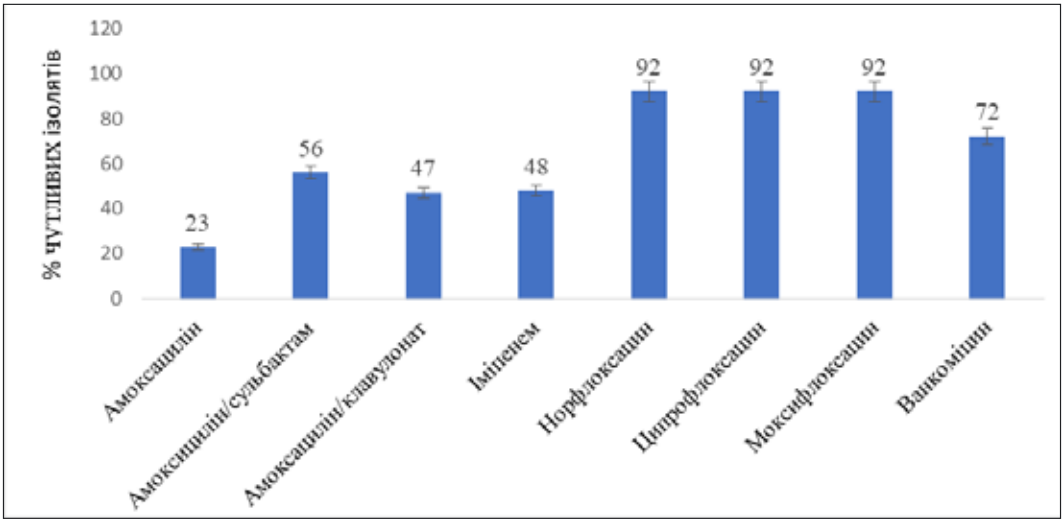


Рис. 2. Рівень резистентності бактерій виду Enterococcus faecium до антибіотиків

Вищий рівень чутливості до антибіотиків був характерний для *Enterococcus faecalis* (рис. 3), до амоксицилін/клавулонату були чутливими *67 % Enterococcus faecalis* та лише *47,0 % Enterococcus faecium.*

Узагальнюючи дані антибіотикограм пацієнтів досліджуваної вибірки можна стверджувати наступне: найбільшу ефективність проявляли фторхінолони. Найменш ефективним виявився амоксицилін.

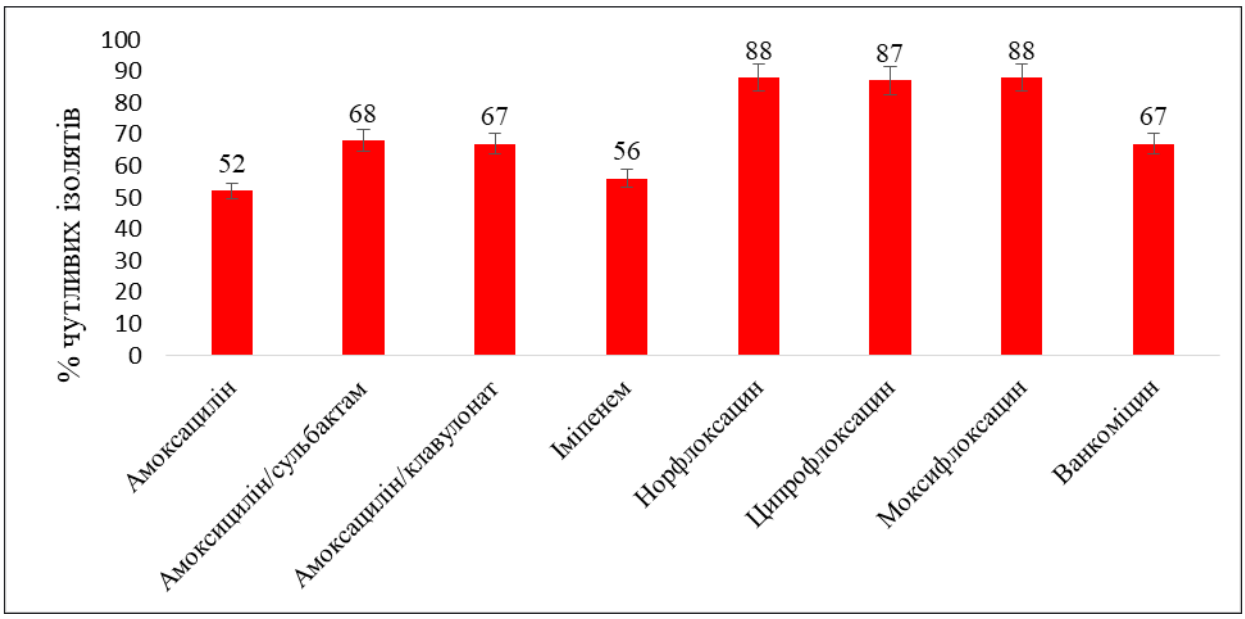


Рис. 3. Рівень резистентності бактерій виду Enterococcus faecalis до антибіотиків

Слід наголосити, що ентерококи проявляють природну стійкість до цефалоспоринів, що свідчить про неефективне застосування емпірично призначеного антибіотика у випадку, якщо збудником є бактерії роду *Enterococcus.*

Висновки. Ентерококи, зокрема *Enterococcus faecalis* і *Enterococcus faecium*, відіграють роль у патогенезі запальних та інфекційних захворювань порожнини рота, сприяючи хронізації запального процесу.

Висока резистентність ентерококів до антибактеріальної терапії ускладнює лікування та може призводити до рецидивів захворювання, що підтверджує необхідність ретельного мікробіологічного контролю при виборі терапевтичної тактики.

Подальші дослідження спрямовані на поглиблене вивчення механізмів антибіотикорезистентності ентерококів дозволять розробити ефективніші методи профілактики та лікування ускладненого перикоронариту, що сприятиме зниженню частоти його рецидивів і покращенню загальної стоматологічної допомоги.

REFERENCES

1. Ivanenko LM, Boyko OYu, Kharchenko SS. The role of enterococci in the development of infectious and inflammatory processes of the oral cavity. Practical Dentistry. 2021;2:14-20.
2. Kovalchuk NM, Melnychuk SO, Chernysh VL. Antibiotic resistance of enterococci in periodontal diseases. Dentistry and Health. 2020;5:38-44.
3. Petrova IS, Grigorenko MV, Kovalenko IV. Enterococcal biofilms in dental infections: a modern view. Journal of Dentistry. 2019;3:22-28.
4. Petrenko OM, Shevchenko IA, Kovalchuk VL. Features of the microbiocenosis in complicated pericoronaritis. Modern Dentistry. 2021;4:30-35.
5. Smith AJ, Robertson D, Tang MK. Enterococcus species in oral infections: Virulence factors and resistance mechanisms. Journal of Oral Microbiology. 2020;12(1):75-83.
6. Torres MJ, Camacho M, Ramos E. Enterococci in Dental and Periodontal Infections: Role in Biofilm Formation and Antibiotic Resistance. International Journal of Dentistry. 2019. Article ID 7481236. doi:10.1155/2019/7481236
7. Huycke MM, Sahm DF, Gilmore MS. Enterokoky z mnozhynnoiu likarskoiu stiikistiu: pryroda problemy ta plan na maibutnie. Emerg Infect Dis. 1998;4:239-249. 10.3201/eid0402.980211.
8. Komiyama EY, Lepesqueur LS, Yassuda CG, Samaranayake LP, Parahitiyawa NB, Balducci I, Koga-Ito CY. Enterococcus Species in the Oral Cavity: Prevalence, Virulence Factors and Antimicrobial Susceptibility. PLoS One. 2016 Sep 15;11(9):e0163001. doi: 10.1371/journal.pone.0163001. PMID: 27631785; PMCID: PMC5025163
9. Sedgley CM, Lee EH, Martin MJ, Flannagan SE: Antibiotic resistance gene transfer between *Streptococcus gordonii* and *Enterococcus faecalis* in root canals of teeth ex vivo. J Endod. 2008;34:570-574. 10.1016/j.joen.2008.02.014