

МИКРОБИОЦЕНОЗ НЁБНЫХ МИНДАЛИН У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ ХРОНИЧЕСКОГО ТОНЗИЛЛИТА

Каф. оториноларингологии Харьков. нац. мед. ун-та (г. Харьков)

Хронический тонзиллит (ХТ) по-прежнему составляет одну из основных проблем не только оториноларингологии, но и многих других клинических дисциплин, в патогенезе которых главную роль играют аллергия, очаговая инфекция и дефицитные состояния местного и системного иммунитета. Больные хроническим тонзиллитом формируют обширную группу риска по многим тяжелым соматическим нарушениям и требуют к себе повышенного внимания как со стороны отоларингологов, так и врачей других специальностей [3, 5, 11, 15].

В патогенезе хронического тонзиллита немаловажное значение имеет нарушение микробиоты нёбных миндалин, поскольку ротовая часть глотки является экологической системой, в которой внешние факторы динамически взаимодействуют с внутренними, сохраняя при этом состояние равновесия. Индигенная микрофлора у человека обладает рядом жизненно важных функций, основными из которых есть колонизационная резистентность, стимуляция наследственного и адаптивного иммунитета, детоксикации и др. Любой фактор стресса, влияющий на микрофлору, которая в норме формирует микробиоценоз определенного биотопа человека, может привести к утрате толерантности иммунной системы к микрофлоре и к развитию иммунного ответа [4, 14].

Изучение микробного «пейзажа» в лакунах и на поверхности нёбных миндалин при хронической тонзиллярной патологии выявило более 30 сочетаний различных форм микроорганизмов при четком преобладании β -гемолитического стрептококка класса А с двух-, трех- и четырехкомпо-

нентными бактериальными ассоциациями. Наряду с его лидирующим значением и высокой биологической активностью с обсеменением нёбных миндалин грамположительной кокковой флорой, возрастает роль условно-патогенных бактерий с выраженным персистентным потенциалом в сочетании с антибиотикорезистентностью и высокими показателями интенсивности колонизации. В глубине лакун чаще выявляется монофлора, на поверхности – полифлора; стафилококки в последнее время заметно потеснили позиции стрептококков, особенно после интенсивной антибактериальной терапии [1, 2, 13]. Несомненный интерес представляет выявление особенностей микробиоценоза нёбных миндалин у больных ХТ в зависимости от клинической стадии заболевания – компенсации или декомпенсации, что позволит дифференцированно подходить к вопросу выбора способов и средств лечения, а также профилактики данной патологии.

Целью исследования было сравнительное изучение микробиоценоза слизистой оболочки нёбных миндалин у больных с различными формами хронического тонзиллита.

Объект и методы исследования

Для решения поставленных задач обследован 121 больной хроническим тонзиллитом. В зависимости от формы ХТ они были подразделены на 2 группы:

- 60 человек с хроническим компенсированным тонзиллитом (группа ХКТ);
- 61 обследуемый с хроническим декомпенсированным тонзиллитом (группа ХДКТ).

Контрольную группу составили 17 практически здоровых лиц, которые не имели хронической патологии верхних дыхательных путей в анамнезе и не получали какую-либо медикаментозную терапию в течение 1 мес до обследования.

Материал со слизистой оболочки миндалин для бактериологического исследования отбирался натошак с использованием транспортной системы со средой Стюарта (Meuss.r.l., Италия), не касаясь слизистой оболочки ротовой полости, поверхности языка и зубов.

Микробиологические исследования, которые включали в себя определение качественного и количественного состава микробиоценоза обследуемого биотопа, выполнялись в соответствии с действующими нормативными документами по общепринятым методикам [6-8]. Для выделения микрофлоры использовался метод последовательных десятикратных разведений с количественным высевом материала на соответствующие для каждого вида микроорганизмов элективные и дифференциально-диагностические питательные среды. Посевы культивировались в течение 24-120 часов при 22-37^oC в аэробных, микроаэрофильных и анаэробных условиях в зависимости от группы микроорганизмов, которые исследовались. Микроаэрофильные и анаэробные условия культивирования создавали с помощью газогенерирующих пакетов Generator GEN box Microanaer Generator GEN box Anaer (bioMerieux, Франция).

Идентификация выделенных культур бактерий осуществлялась по морфологическим, культуральным, биохимическим признакам в соответствии с «Определителем бактерий Берджи», идентификация штаммов грибов – по «Определителю патогенных и условно-патогенных грибов» [9, 10, 12].

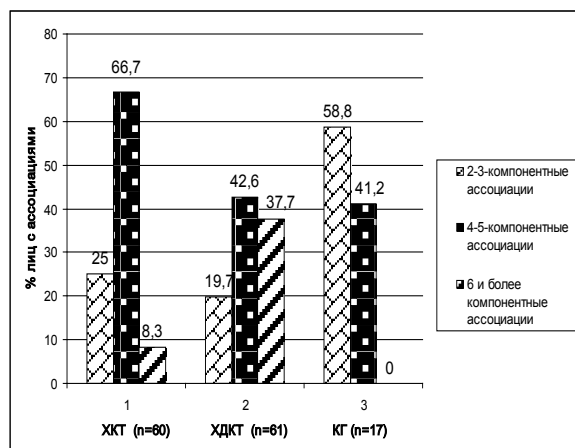
Для удобства результаты определения количества микроорганизмов выражались в десятичных логарифмах на 1 грамм клинического материала – lg КОЕ/г.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью пакета программ Statistika-8, Microsoft OfficeExcel, 2003. Результаты выражались как среднее (M) и его стандартное отклонение (m) для непрерывных величин и как доля (процент-

ное отношение) для категориальных переменных (т.е. переменных, описывающих качественные признаки). При выполнении процедур статистического анализа рассчитывался достигнутый уровень значимости (p), при этом критический уровень значимости в этом исследовании принимался равным 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Выявлено, что микробиоценозы слизистой оболочки небных миндалин у обследованных лиц состояли, в основном, из многокомпонентных ассоциаций аэробной, факультативно-анаэробной и анаэробной микрофлоры (рисунк). 2-3-компонентные ассоциации в 2,3-3 раза реже определялись у больных хроническим тонзиллитом, чем у практически здоровых лиц (p<0,05). Не отмечено достоверных отличий между персистенцией ценозов, состоящих из 4-5 микроорганизмов, как у пациентов с различными формами тонзиллита, так и у лиц контрольной группы. В противовес, микробиоценозы, включающие в себя 6 и более представителей, выявлены у 37,7% больных ХДКТ и у 8,3% – с ХКТ, но не обнаружены у здоровых лиц (p<0,05).



Количественная характеристика микробиоценозов, выделенных со слизистой оболочки миндалин у больных с различными формами ХТ и у лиц контрольной группы.

Всего у лиц с патологией миндалин выделено 546 штаммов микроорганизмов, что в среднем составило 4,6±0,4 изолята на

одного обследованного. В группе сравнения этот показатель составил 55 представителей со средним количественным показателем видовой персистенции 3,2 ($p < 0,05$).

Видовой состав микробиоценозов слизистой оболочки миндалин у обследуемых различных групп имел более выраженные отличия (таблица). У больных ХТ, независимо от его стадии, изучаемый биотоп активно колонизировали представители гноеродных кокков – β -гемолитические стрептококки выделены у 43-45% лиц в количестве $lg 6,0-6,7$ КОЕ/г, плазмокоагули-

рующие стафилококки (в подавляющем большинстве *Staphylococcus aureus*) – у 30-36% в количестве $lg 5,8-6,5$ КОЕ/г. Представители энтерококков персистировали у больных ХТ в 2,1-2,3 раза чаще, чем у лиц контрольной группы, в количестве, превышающем $lg 6,4$ КОЕ/г ($p < 0,05$). Данные микроорганизмы в последнее время рассматриваются как этиологический фактор многих гнойно-воспалительных заболеваний благодаря ферментам агрессии (протеазы, липазы и др.) и таким факторам вирулентности, как адгезины, инвазины [16].

Характеристика микробиоценоза слизистой оболочки небных миндалин у больных с различными формами хронического тонзиллита и лиц контрольной группы

Представители родов и видов микроорганизмов	Группы обследованных					
	ХКТ (n=60)		ХДКТ (n=61)		КГ (n=17)	
	частота выделения микроорганизмов (%)	плотность микробной колонизации lg КУО/г (M \pm m)	частота выделения микроорганизмов (%)	плотность микробной колонизации lg КУО/г (M \pm m)	частота выделения микроорганизмов (%)	плотность микробной колонизации lg КУО/г (M \pm m)
<i>Streptococcus</i> spp с β -гемолитическими свойствами	80,0	7,8 \pm 0,3*	41,0*	4,4 \pm 0,3	79,6	4,6 \pm 0,2
<i>Streptococcus</i> spp с β -гемолитическими свойствами	43,3*	6,7 \pm 0,4*	45,9*	6,0 \pm 0,4*	5,9	3,3
<i>Staphylococcus</i> spp коагулазоотрицательные	6,7	4,0 \pm 0,7	9,8	3,8 \pm 0,4	11,8	3,2 \pm 0,1
<i>Staphylococcus</i> spp коагулазоположительные	30,0*	6,5 \pm 0,4*	36,1*	5,8 \pm 0,6*	0	-
<i>Enterococcus</i> spp	48,3*	6,8 \pm 0,9*	54,1*	6,4 \pm 0,3*	23,5	3,4 \pm 0,4
<i>Stomatococcus</i> spp	10,0	4,2 \pm 0,3	13,1	3,8 \pm 0,2	0	-
<i>Aerococcus viridans</i>	6,7*	3,7 \pm 0,2	1,6*	3,2	29,4	3,9 \pm 0,3
<i>Corynebacterium</i> spp	11,7	4,3 \pm 0,5	6,6*	3,9 \pm 0,3	29,4	4,0 \pm 0,2
<i>Lactobacillus</i> spp	6,7*	3,5 \pm 0,5	1,6*	3,3	41,2	3,6 \pm 0,2
<i>Haemophilus</i> spp	26,7	8,1 \pm 0,8*	27,9	7,4 \pm 0,8*	17,6	3,9 \pm 0,2
<i>Neisseria</i> spp	65,0	8,3 \pm 0,6*	42,6	5,4 \pm 0,6*	52,9	4,8 \pm 0,3
<i>Moraxella</i> spp	16,7	7,3 \pm 0,4	18,0	5,1 \pm 0,5	0	-
НФГОБ ¹	6,7	3,7 \pm 0,2	29,5	4,9 \pm 0,7	0	-
Enterobacteriaceae ²	8,3	3,3 \pm 0,2	45,9	5,3 \pm 0,5	0	-
<i>Peptostreptococcus</i> spp	13,3	3,5 \pm 0,5	8,2	3,9 \pm 0,6	23,5	3,5 \pm 0,5
<i>Veillonella</i> spp	10,0	3,8 \pm 0,2	4,9	3,3 \pm 0,2	17,6	3,5 \pm 0,5
<i>Bacteroides</i> spp	6,7	3,5 \pm 0,5	29,5	5,0 \pm 1,0	0	-
<i>Fusobacterium</i> spp	5,0	3,2 \pm 0,2	26,2	4,0 \pm 0,5	0	-
<i>Candida</i> spp	13,3	3,3 \pm 0,2	34,4	4,3 \pm 0,3	0	-
<i>Aspergillus</i> spp	1,7	3,5	8,2	3,9 \pm 0,5	0	-

Примечание: ¹ – НФГОБ (неферментирующие грамотрицательные бактерии родов *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*); ² – представители родов *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* и *E. Coli*; * - достоверная разница между показателями в основных и контрольной группах ($p < 0,05$).

Кроме того, наблюдалось расширение видового состава микробиоценозов слизистой оболочки миндалин при хронической патологии за счет представителей стоматokokков, моракселл, неферментирующих грамотрицательных бактерий (*Acinetobacter* spp, *Pseudomonas* spp, *Alcaligenes* spp), энтеробактерий (представители родов *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* и *E. coli*), грамотрицательных анаэробных бактерий (*Bacteroides* spp, *Fusobacterium* spp), а также дрожжевых и плесневых грибов. На этом фоне имело место снижение частоты выделения представителей резидентной микрофлоры (аэрококки, коринебактерии, лактобактерии), присущей данному биотопу в норме.

Плотность обсеменения биотопа у больных ХКТ в среднем составила $\lg 6,2 \pm 0,4$ КОЕ/г, у пациентов с ХДКТ – $\lg 7,6 \pm 0,8$ КОЕ/г, а у здоровых лиц – $\lg 4,6 \pm 0,4$ КОЕ/г ($p < 0,01$).

Различия между формами хронического тонзиллита выявлены в отношении представителей индигенной микрофлоры – α -гемолитических стрептококков и нейссерий, которые в 1,5-2,0 раза чаще выделялись при компенсированной форме ХТ, уровень колонизации более чем в 1000 раз превышал показатели при декомпенсированном ХТ ($p < 0,01$). Напротив, нарушение компенсаторных механизмов при изучаемой патологии (ХДКТ) приводило к достоверно более интенсивному заселению слизистой оболочки миндалин грамотрицательными микроорганизмами, не свойственными данному биотопу: представители неферментирующих грамотрицательных бактерий, энтеробактерий, бактероидов и фузобактерий в 4,4-5,5 раза чаще колонизировали поверхность миндалин при ХДКТ ($p < 0,01$). Кроме этого, у каждого третьего больного ХДКТ выявлена персистенция дрожжеподобных грибов рода *Candida* в количестве, в 10 раз превышающем таковое при ХКТ. Известно,

что грибы не являются этиологическим фактором тонзиллита, но они могут поддерживать воспалительный процесс в миндалинах. Кроме этого, они ведут к снижению чувствительности патогенных стафилококков к антибиотикам и тем самым оказывают отягчающее влияние на течение хронического тонзиллита [4].

Выводы

1. У всех больных хроническим тонзиллитом видовой и количественный состав микробиоценоза слизистой оболочки небных миндалин отличается от микробных сообществ у практически здоровых людей.

2. Микробный «пейзаж» патологически измененных миндалин расширен за счет представителей стоматokokков, моракселл, неферментирующих грамотрицательных бактерий (*Acinetobacter* spp, *Pseudomonas* spp, *Alcaligenes* spp), энтеробактерий (представители родов *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* и *E. coli*), грамотрицательных анаэробных бактерий (*Bacteroides* spp, *Fusobacterium* spp), а также дрожжевых и плесневых грибов. Указанные изоляты в 1,5-5,5 раза чаще выявлялись при декомпенсированной форме тонзиллита.

3. Количественные характеристики микробных сообществ у больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом (плотность колонизации, видовая плотность ассоциаций) достоверно превышают таковые при компенсированной форме заболевания.

4. Выявленные микробиоценотические особенности у больных с различными формами хронического тонзиллита диктуют необходимость включения в схемы их лечения способов и средств, имеющих направленное противомикробное действие, а также обеспечивающих восстановление и сохранение нормального микробиоценоза указанного биотопа.

1. Белов Б.С. А-стрептококковый тонзиллит: вопросы антибактериальной терапии / Б. С. Белов // *Consilium medicum*. – 2012. – № 11. – С. 25-32.
2. Бути чи не бути патогеном: мікробіоценоз верхніх дихальних шляхів, фізіологічне запалення та

образрозпізнаючі рецептори / О. М. Камишний, О. В. Войтович, І. О. Топол, А. С. Деген // *Аннали Мечніківського інституту*. – 2011. – № 4. – С. 246-251. – www.imiamn.org.ua/journal.htm.

3. Забиров Р.А. Этиология и патогенез хронического тонзиллита (обзор литературы) / Р. А. Забиров, Н. В. Султанова // Рос. оториноларингология. – 2010. – № 2. – С. 154-160.
4. Заболотный Д. И. Теоретические аспекты генеза и терапии хронического тонзиллита / Д. И. Заболотный, О. Ф. Мельников – К.: Здоров'я, 1999. – 143 с.
5. Кішук В. В. Хронічний тонзиліт: стан проблеми / В.В. Кішук // Здоров'я України. – 2010. – № 3 (вересень). – С. 58-59.
6. Лабинская А.С., Блинкова А.П., Ещина А.С. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований. – М.: Медицина, 2004. – 576 с.
7. Лабораторна діагностика гнійно-запальних захворювань, обумовлених аспорогенними анаеробними мікроорганізмами. – Харків, 2000. – 35 с. – (Нормативний документ МОЗ України. Методичні рекомендації).
8. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений: Приказ №535. – [Действителен от 1985-04-22]. М.: МЗ СССР, 1985. – 123 с. – (Нормативный документ МЗ СССР. Приказ).
9. Определитель бактерий Берджи: В 2 т., Т.1 / Под ред. Хоулта Дж., Крига Н., Снита П., Стейли Дж., Уилльямса С. / [Пер. с англ. под ред. Заварзина Г.А.]. – Девятое изд., М.: Мир, 1997. – 432 с.
10. Определитель бактерий Берджи: В 2 т., Т.2 / Под ред. Хоулта Дж., Крига Н., Снита П., Стейли Дж., Уилльямса С. / [Пер. с англ. под ред. Г.А. Заварзина]. – Девятое изд., М.: Мир, 1997. – 368 с.
11. Пальчун В.Т. Современные представления о токсико-аллергических проявлениях хронической тонзиллярной патологии, её этиологическая и патогенетическая роль в возникновении и течении общих заболеваний / В. Т. Пальчун, А. В. Гуров, А. В. Аксенова, О. А. Гусева // Вестн. оториноларингологии. – 2012. – № 2. – С. 5-12.
12. Саттон Д. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов / Д. Саттон, А. Фотергилл, М. Ринальди; Пер. с англ. К. Л. Тарасова, Ю. Н. Ковалева под ред. И. Р. Дорожковой. – М.: Мир, 2001. – 486 с.
13. Чистякова В. Р. Ангина и хронический тонзиллит (аналитический обзор) / В. Р. Чистякова // Вестн. оториноларингологии. – 2012. – № 1. – С. 68-76.
14. Янковский Д. С. Место дисбиоза в патологии человека / Д. С. Янковский, Р. А. Моисеенко, Г. С. Дымент // Современная педиатрия. – 2010. – №1 (29). – С. 154-167.
15. Streptococcal tonsillitis as a cause of urticaria: tonsillitis and urticaria / G. Calado, [et al.] // Allergol. Immunopathol. – 2012. – Vol. 40, №6. – P. 341-345.
16. Fisher K. The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus / K. Fisher, C. Phillips // Microbiol. – 2009. – Vol. 155, № 6. – P. 1749-1757.

Поступила в редакцию 24.01.14.

© А.С. Журавлев, Мани Ханс, Е.В. Демина, 2014

МІКРОБІОЦЕНОЗ ПІДНЕБІННИХ МИГДАЛИКІВ У ХВОРИХ З РІЗНИМИ ФОРМАМИ ХРОНІЧНОГО ТОНЗИЛІТУ

Журавльов А. С., Мани Ханс, Дьоміна С. В. (Харків)

Резюме

Надана порівняльна характеристика якісного та кількісного складу мікробіоценозу піднебінних мигдаликів у 121 хворого на хронічний тонзиліт (ХТ) в залежності від форми (компенсована або декомпенсована) та у практично здорових осіб. Слизова оболонка при патології в середньому колонізувала 4,6±0,4 види аеробної, факультативно-анаеробної та/або анаеробної мікрофлори, а в контрольній групі – 3,2. Мікробні асоціації, що включали в себе 6 та більше представників, спостерігались у 37,7% хворих на ХКТ і у 8,3% з ХДКТ, а у здорових осіб не були виявлені. Визначено суттєве збільшення у хворих на хронічний тонзиліт представників аллохтонної мікрофлори (β-гемолітичних стрептококів, плазмкоагулюючих стафілококів, неферментуючих грамнегативних бактерій, ентеробактерій, грамнегативних анаеробних бактерій, а також дріжджових та пліснявих грибів) які у 1,5-5,5 рази частіше вилучались при формі хронічного тонзиліту.

Ключові слова: хронічний тонзиліт, піднебінні мигдалики, мікробіоценоз.

MICROBIOCENOSIS OF PALATINE OF TONSILS IN PATIENTS WITH VARIOUS FORMS OF CHRONIC TONSILLITIS

Zhuravlev A. S, Manee Hans, Demina E. V. (Kharkov)

Summary

Comparative characteristics of the qualitative and quantitative composition of the microbiocenosis of palatine tonsils in patients with chronic tonsillitis (CT) depending on the form of the disease (compensated or decompensate) and in healthy individuals. Mucous membranes in the pathology of the average colonized 4,6±0,4 form of aerobic, facultative anaerobic and / or anaerobic microflora isolates were compared with 3,2 isolates in the control group. Microbial associations including 6 or more representatives were detected in 37,7% of patients with decompensate form versus 8,3% of patients with compensated form of the disease and were not found in healthy individuals. There was significant increase in patients with chronic tonsillitis representatives of allochthonous microflora (β-hemolytic streptococci, plasmocoagulating staphylococci, non-fermenting Gram-negative bacteria, Enterobacteriaceae, Gram-negative anaerobic bacteria also yeast and fungi). These isolates were 1,5-5,5 times more often identified with decompensate form of tonsillitis.

Keywords: chronic tonsillitis, the tonsils, microbiocenosis.