

Нарзуллаев Н.У. **РОЛЬ МИКРОФЛОРЫ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ В ЭТИОЛОГИИ ХРОНИЧЕСКОГО ТОНЗИЛЛИТА**
Бухарский осударственный медицинский институт

Проблема хронического тонзиллита (ХТ) и роли (β -гемолитического стрептококка группы А (БГСА) в этиологии этого заболевания остается весьма актуальной научно-клинической задачей современной оториноларингологии. Низкая эффективность антибиотикотерапии при обострениях ХТ на фоне ВИЧ-инфицирования является одной из наиболее значимых составляющих этой проблемы: бактериологически обоснованная терапия ХТ, вызванного БГСА, в 20% случаев не приводит к санации небных миндалин, что способствует рецидивирующему течению заболевания, а также возникновению таких осложнений, как паратонзиллит, парафарингит, передний медиастинит [2; 3; 4]. Одной из возможных причин низкой эффективности антибиотикотерапии ХТ является способность колонизирующих небные миндалины микроорганизмов, в том числе БГСА, к существованию в виде биопленки [1]. Имеющиеся в настоящее время результаты экспериментов и данные клинических наблюдений свидетельствуют о значительно более высоком уровне резистентности к антибактериальным средствам (АБС) биопленок бактерий, нежели соответствующих им планктонных культур [5; 6].

Целью настоящего исследования явился анализ этиологической роли БГСА в генезе различных форм ХТ.

Методика исследования. В период с 2008 по 2010 г. на базе ЛОР-отделения Бухарской детской многопрофильной больницы и детской инфекционной больницы было обследовано 32 ВИЧ-инфицированных больных детей ХТ в возрасте от 3 до 14 лет. Больные ХТ были распределены в 2 группы: в 1-ю группу включены 14 (37,6%) пациента с ХТ токсико-аллергической формы I (ТАФ I), во 2-ю — 18 (62,4%) пациентов с ХТ ТАФ II.

Перед выполнением хирургического вмешательства (двусторонней тонзиллэктомии или абсцесстонзиллэктомии), а также в различные сроки послеоперационного периода больным проводились следующие исследования: общеклинические — рентгенография грудной клетки, электрокардиография, общий анализ крови и мочи, биохимический анализ крови, серологическая диагностика сифилиса, гепатита В и С, ВИЧ-инфекции; специальные — бактериологическое, бактериоскопическое, патоморфологическое.

Способность к формированию *in vitro* биопленок изучалась на модели 26 штаммов БГСА: эталонного штамма *S. pyogenes* ATCC 19615 и 25 штаммов *S. pyogenes*, выделенных из клинического материала при ХТ и хранившихся при -70°C на среде с криопротектором в режиме камеры глубокого замораживания MDF-392 («Sanyo», Япония).

Методика бактериологического исследования. Отбор проб для бактериологического исследования производился из глубины лакун небных миндалин с помощью транспортной системы 110С на основе среды Эймса с алюминиевым аппликатором («Coraп Innovation», Италия). Отобранные образцы биологического материала транспортировались в бактериологическое отделение в течение 2-3 ч и немедленно подвергались бактериологическому исследованию в классической аранжировке [7] с использованием кровяного агара на основе Columbia Agar («bioMerieux», Франция), содержащего 5% цельной дефибрированной бараньей крови (ООО «ЭКО-лаб», Россия). В целях повышения высеваемости БГСА в технику посева на кровяной агар были внесены собственные модификации: по застывании традиционного горизонтально залитого агарового слоя толщиной 4 см на поверхности последнего создавалась дополнительная площадка скошенного кровяного агара, вплотную примыкающая к ее борту и занимающая около 1/3 площади чашки: поперечник полученной наклонной плоскости оказывался сопоставимым по размеру с длиной тампона, использующегося для отбора проб исследуемого биологического материала. Конструкция подобного типа позволяла повысить эффективность переноса исследуемого материала на поверхность кровяного агара. Идентификация выделенных культур осуществлялась на бак-териологическом анализаторе mini API с использованием оригинальных тест-систем типа ID и API («bio Merieux», Франция).

Результаты исследования. В ходе бактериологического диагностического исследования БГСА был выделен от 16 пациентов с ХТ из 32 обследованных; общая высеваемость БГСА при ХТ составила, таким образом, 25,7%. Коэффициент постоянства микроорганизмов при ХТ отражен в таблице.

Как видно, высеваемость БГСА у больных ХТ ТАФ II, осложнившимся паратонзиллярным

Таблица 1. Микробный пейзаж небных миндалин при ХТ

Хронический тонзиллит ТАФ I	Хронический тонзиллит ТАФ II Паратонзиллярный абсцесс
<i>S. viridans</i> - 56,2%	<i>Staphylococcus epidermides</i> - 7,3%
<i>S. pyogenes</i> - 16,0%	<i>Klebsiella pneumoniae</i> - 3,7%
<i>S. aureus</i> - 24,3%	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> - 1,2%
<i>Candida albicans</i> - 8,5%	<i>Haemophilus infulenciae</i> - 1,2%
<i>S. viridans</i> - 56,3%	
<i>S. pyogenes</i> - 40,0%	<i>S. pneumoniae</i> - 4,4%
<i>S. aureus</i> - 5,8%	<i>Staph. Epidermides</i> - 6,6%
<i>Candida albicans</i> - 2,2%	<i>Klebsiella pneumoniae</i> - 3,7%
<i>S. pneumoniae</i> - 2,4%	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> - 2,9%
<i>Haemophilus infulenciae</i> - 0,7%	

абсцессом, в 2,5 раза превышает таковую при ХТ ТАФ I: 40% (7 культуры у 14 пациентов) против 16% (6 культур БГСА у 18 пациентов). Кроме того, отмечается доминирование *S. aureus* при ХТ ТАФ I: 24,3% против 5,8% при ХТ ТАФ II. Наконец, если при ХТ ТАФ I БГСА в монокультуре и в ассоциации с иными микроорганизмами высевается с сопоставимой частотой (54% и 46% соответственно), то при ХТ ТАФ II отмечается явное доминирование монокультуры (77% против 23%).

Результаты клинических наблюдений показали, что рецидивы паратонзиллярных абсцессов у больных с ХТ ТАФ II, ассоциированным с БГСА, встречаются в 2 раза чаще, чем у больных, у которых БГСА обнаружен не был (26% и 18% случаев соответственно).

Выделенные культуры БГСА обладали выраженной способностью к образованию биопленок на абиогенных носителях всех изученных нами типов. При изучении динамики процесса биопленкообразования на стальном носителе на модели штамма *S. pyogenes* ССВН-426, выделенного при ХТ ТАФ I, были получены следующие результаты: если спустя 1 ч инкубации отмечается лишь инициация процесса, то к 24 ч инкубации биопленка БГСА, состоящая из кокковых клеток и внеклеточного матрикса, достигает значительных размеров.

Все выделенные культуры БГСА обладали способностью к образованию биопленки на стеклянном носителе. Изучение процесса биопленкообразования БГСА на стеклянном носителе позволило разработать собственную систему полуколичественной оценки этой способности:

- I степень (1+) — отдельные, не связанные между собой «островки» биопленки размером 2x3 мм, обнаруживающиеся не менее чем в 3 полях зрения, не формирующие сплошного слоя пленки;

- II степень (2+) — отдельные, зачастую связанные между собой, однако не формирующие сплошного слоя фрагменты биопленки размером от 2x3 до 6x10 мм, обнаруживающиеся в каждом из изученных полей зрения.

- III степень (3+) — крупные, как правило, связанные между собой фрагменты биопленки, не достигающие, однако, структуры непрерывного слоя: размеры фрагментов сопоставимы с размерами дефектов.

- IV степень (4+) — сплошной непрерывный слой биопленки, покрывающий всю поверхность покровного стекла; редкие единичные мелкие дефекты слоя носят, по-видимому, артефактный характер.

16,7% штаммов БГСА, выделенных у больных с ХТ ТАФ I, обладали способностью к формированию биопленки на пластиковом носителе: средний показатель оптической плотности лунок планшета, несущих биопленки рассматриваемой группы штаммов БГСА, составлял 1,467 А (условных единиц оптической плотности) против 0,090 А в контрольных, заведомо лишенных биопленки лунок. У тех же штаммов данный показатель коррелировал с биопленкообразованием на стеклянных носителях (III-IV степень). Такими же показателями оптической плотности, превышающей 1А, обладали 45,6% штаммов БГСА, выделенных у больных ХТ ТАФ II, осложнившимся паратонзиллярным абсцессом, что также соответствовало образованию данными штаммами биопленок III-IV степени на стеклянных абиогенных носителях.

При бактериоскопическом исследовании мазков этих же групп больных ХТ были обнару-

жены скопления микроорганизмов, окруженные нехарактерной для адгезии оболочкой — «матриксом», который, как известно, является отличительной чертой биопленки, качественно отличающей ее от банальной адгезии [8; 9; 10].

Выводы

Бактериологический метод исследования остается «золотым стандартом» клинической лабораторной диагностики ХТ, результаты которого позволяют осуществить этиологическую диагностику этого заболевания с абсолютной специфичностью.

Достоверность бактериологической диагностики ХТ существенно возрастает вследствие оптимизации вне- и внутрилабораторных работ на преаналитическом этапе исследования. Частота высеваемости БГСА определяется как формой ХТ, так и особенностями техники отбора проб биологического материала, а также составом и способом приготовления искусственных питательных сред.

Отмечается достаточно высокий процент высеваемости (40%) БГСА у больных с ХТ ТАФ II, осложнившимся паратонзиллярным абсцессом. Таким образом, данная группа больных является группой риска для таких сопряженных заболеваний, как постстрептококковый ревмокардит, гломерулонефрит, полиартрит.

Доказана способность БГСА к формированию биопленки *in vitro* на поверхности абиогенных носителей, что, возможно, отражает способность БГСА детерминировать хронизацию и рецидивирование тонзиллита в естественных условиях.

Разработанная нами методика полуколичественной оценки способности пиогенного стрептококка к формированию биопленки *in vitro* может быть положена в основу систематического изучения феномена биопленкообразования на абиогенных носителях.

Использованная литература:

1. Brook «Failure of penicillin to eradicate group A beta-hemolytic streptococci tonsillitis: causes and management». J Otolaryngol 2001; 30: 324—329.
2. Т.П. Бессараб, А.Б. Козлов. Новости оториноларингологии. 2001;1:21 -23.
3. Т.П. Бессараб «Аспекты ВИЧ-инфекции и СПИДа в оториноларингологии». Вестник оториноларингологии. 2004; 1: 15-23.
4. М.Р. Богомильский А.Г. Румянцев и др. Поражения ЛОР-органов при СПИДе у детей // Вестник оториноларингологии. 2002; 1: 4-6.
5. Н.И. Брико, Л.А. Ещина, Л.А. Ряпис. Лабораторная диагностика стрептококковых инфекций. Пособие для врачей и научных работников. М., 2000.
6. J.C. Post , P. Stoodley , L. Hall-Stoodley L., O.D. Ehrlich. The role of biofilms in otolaryngologic infections. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg 2004; 12: 185-190.
7. C. Steiner, B. Sedlacek, M. Schikinger et al. Determination of microbicidal activity of chemical disinfectants by the impedance method. Proceed Euro Food Chem 1997; IX: 3: 717-722.
8. Г.В. Тен. Роль внеклеточной ДНК и липидов матрикса во взаимодействии бактерий биопленок с антибиотиками // Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. С-Пб., 2007.
9. В.В. Тец. Бактериальные сообщества // В кн.: Клеточные сообщества. Под ред. В.В. Теца. С.-Пб., 1998; 15—73.
10. J.W. Cosrerton, P.S. Stewart, E.P. Greenberg. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. Science, 1999; 284: 1318—1322.