

УДК616.322-002.2+616.322-008.87:[615.33:615.015.8]

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ МИКРОФЛОРЫ НЕБНЫХ МИНДАЛИН ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ТОНЗИЛЛИТЕ

¹Рыбак Н. А. (*rna64@mail.ru*), ¹Соколова Т. Н. (*sakalova@tut.by*),
²Ершова М. В. (*marusya-sofi@rambler.ru*)

¹УО «Гродненский государственный медицинский университет»,

²УЗ «Гродненская областная клиническая больница», Беларусь, Гродно

Проведенный сравнительный анализ антибиотикорезистентности микрофлоры, выделенной с зевной поверхности и глубоких отделов лакун небных миндалин у 102 пациентов с декомпенсированной формой ХТ, показал отсутствие в составе микрофлоры β-гемолитического стрептококка группы А (S.pyogenes), преобладание резистентных штаммов стафилококков S.aureus и его микст-вариантов, более высокую устойчивость к антибиотикам микроорганизмов, выделенных из глубины миндалин.

Ключевые слова: хронический тонзиллит, микрофлора, антибиотикорезистентность.

Актуальность проблемы диагностики и лечения пациентов, страдающих хроническим тонзиллитом (ХТ), не потеряла своей значимости до настоящего времени. На долю ХТ приходится 24,8-35,0% среди болезней ЛОР-органов как у взрослых, так и у детей [3, 6, 8]. Общеизвестна полиэтиологичность ХТ (бактерии, вирусы, грибы, другие) [4]. Основным этиологическим фактором в развитии ХТ признается β-гемолитический стрептококк группы А, который у большинства пациентов встречается в ассоциации с золотистым стафилококком [5, 6, 7].

В последнее десятилетие трудности лечения многих бактериальных инфекций, в том числе и ХТ, связывают со способностью микроорганизмов формировать в организме пациента микробные биопленки, в составе которых они приобретают повышенную резистентность к применяемым антибактериальным препаратам [9]. При исследовании небных миндалин, удалённых по поводу ХТ, было установлено, что у 85% пациентов обнаружены биопленки, представленные грамположительными кокками, грамотрицательными анаэробами, энтеробактериями и грибами [1]. Особенностью микроорганизмов, персистирующих в биопленке, является повышенная устойчивость к эффекторам иммунной системы, антибактериальным препаратам и дезинфектантам. Было установлено, что биоплёночные бактерии способны выживать при воздействиях антибиотиков в таких высоких концентрациях, которые не могут быть достигнуты в организме человека при стандартных терапевтических дозировках [1, 10]. К сожалению, до настоящего времени в реальных клинических условиях забор материала для выделения микроорганизмов и определения их чувствительности/устойчивости к антибиотикам проводится у пациентов с ХТ с поверхности миндалин.

Цель исследования – сравнительный анализ антибиотикочувствительности/резистентности микрофлоры, выделенной с зевной поверхности и глубоких отделов лакун небных миндалин у пациентов с декомпенсированной формой хронического тонзиллита (ДХТ).

Материалы и методы

Объектом исследования были 102 пациента с ДХТ, находившиеся в период 2011-2012 гг. в оториноларингологическом гнойном отделении для взрослых УЗ «Гродненская областная клиническая больница». Среди пациентов преобладали женщины (60,8%), городские жители (82,4%), среднего возраста 33,6±5,7 года. Длительность ДХТ у большинства пациентов была до 5 лет (73,5%),

от 6 до 10 лет – 19,6%, 11 и более лет – 6,9%.

Диагноз ДХТ был установлен на основании стандартных методов обследования, соответствующих клиническим протоколам. От всех наблюдаемых пациентов получено информированное согласие на участие в исследовании. Первый забор материала для бактериологического исследования проводился со слизистой зевной поверхности небных миндалин непосредственно в операционной в стерильных условиях перед операцией. После выполнения классической двусторонней тонзилэктомии проводился второй забор материала из глубоких отделов лакун небных миндалин через дополнительный разрез со стороны капсулы удалённой миндалины. Выделение и идентификация аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов проведены на микробиологическом анализаторе «Vitek» (США). Чувствительность/резистентность выделенных микроорганизмов к антибиотикам определялась автоматическим методом на анализаторе VITEK® 2, предназначенном для ускоренного определения *in vitro* чувствительности бактерий и дрожжей к антибактериальным препаратам. Исследования проводили на картах Antimicrobial Susceptibility Test (AST) к системам VITEK® 2 Systems, предназначенных для определения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) методом двукратных разведений в микрообъемах. Обработка результатов проводилась методами вариационной статистики с использованием стандартной лицензионной программы STATISTICA 6.0.

Результаты и обсуждение

В результате бактериологического исследования материала из зевной поверхности и глубоких отделов небных миндалин выделено 48 видов микроорганизмов, составивших 8 групп: стрептококки, стафилококки, микрококки, энтеробактерии, не ферментируемые грамотрицательные бактерии (НГОБ), энтерококки, мезофиллы и грибы.

Проведённый бактериологический скрининг показал, что, несмотря на существующее положение, что *S.pyogenes* является основным патогеном при ХТ, ни у одного нашего пациента этот микроорганизм не выделен ни с поверхности, ни из глубины миндалин [7]. Среди выделенных штаммов стрептококков были верифицированы: *S.plurimalium*, *S.cristatus*, *S.pneumoniae*, *S.parasanguinis*, *S.saliuarius*, *S.oralis*, *S.mithis*, *S.spicius*, *S.thermophilis*, *S.sanguinis*, *Granulicatella adiacens*, которая по своим свойствам относится к альфа-гемолитическому стрептококку.

Результаты исследования стрептококкового пей-

жажа показали, что с зевной поверхности миндалин у 54 (52,9%) пациентов было выделено 65 возбудителей рода *Streptococcus*, а из глубоких отделов у 61 (59,8%) пациента – 82 изолята, что свидетельствовало о наличии микробных ассоциаций внутри группы. Анализ чувствительности/резистентности стрептококков не был проведен в связи с тем, что в большинстве посевов это были ассоциации как внутригрупповые, так и с другими группами микроорганизмов, а тестирование на антибиотикочувствительность проводилось к клинически значимым штаммам. Исследование на чувствительность к антибактериальным препаратам проведено только у *S. pneumoniae*, относящегося к условно-патогенной флоре. Установлена тенденция к формированию резистентности у изолятов *S. pneumoniae*, выделенных в глубоких отделах небных миндалин – в 100% к бензилпенициллину, имепенему, эритромицину, тетрациклину и в 50% – к левофлоксацину, линезолиду, рифампицину, триметаприму, хинупристу.

Наиболее многочисленной была группа стафилококков, преимущественно представленная *S. aureus*, который с поверхности миндалин высевался у 43 (75,4%) пациентов, из лакун небных миндалин – у 55 (82,1%). Другие стафилококки были выделены значительно реже, в частности: *S. epidermidis* с поверхности миндалин выделялся 8,8%, из лакун у 8,9% пациентов; *S. haemolyticus* с поверхности – у 3,5%, из глубоких отделов – у 4,5%; *S. hominis* с поверхности – у 7,0%; *S. lentus*, *S. sciuri* и другие стафилококки Гр. (+) кокки – по 1,7%, из глубоких отделов – *S. caritis*, *S. warneri*, другие стафилококки Гр. (+) кокки – по 1,5%.

Анализ резистентности группы *Staphylococcus spp.* к антибиотикам, выделенных с поверхности и из глубоких отделов миндалин, показал их различия, представленные на рисунке 1.

Как видно из рисунка 1, число резистентных штаммов стафилококка на зевой поверхности была больше, чем в глубоких отделах миндалин, соответствующих условиям биопленки. Самая высокая

резистентность стафилококков оказалась к бензилпенициллину: 82% на поверхности и 77% – в глубоких отделах; ниже к эритромицину: 34% изолятов на поверхности и 16% – в глубоких отделах; к тетрациклину: 31% – на поверхности и 19% – в глубине; к ванкомицину – 31% и 36%, соответственно. Большой процент устойчивых штаммов стафилококка был к клиндамицину (26% и 17%), к оксациллину (24% и 22%), гентамицину (18% и 4%), реже к рифампицину (12% и только 2% – в глубине лакун).

В связи с заметным доминированием *S. aureus* (75,43%) среди возбудителей данной группы была определена резистентность данного изолята к антибиотикам с учетом места выделения (табл. 1).

Таблица 1. – Чувствительность/резистентность к антибиотикам

| № п/п | Антибиотики | Поверхность, n=39 | | Глубокие отделы n= 48 | |
|-------|------------------------------|-------------------|---------|-----------------------|---------|
| | | Чувст. | Резист. | Чувст. | Резист. |
| 1. | Бензилпенициллин | 25% | 75% | 28% | 72% |
| 2. | Оксациллин | 100% | 0% | 89% | 11% |
| 3. | Клиндамицин | 88% | 12% | 86% | 14% |
| 4. | Гентамицин | 100% | 0% | 100% | 0% |
| 5. | Ципрофлоксацин | 100% | 0% | 100% | 0% |
| 6. | Левофлоксацин | 100% | 0% | 100% | 0% |
| 7. | Моксифлоксацин | 100% | 0% | 100% | 0% |
| 8. | Эритромицин | 88% | 12% | 98% | 2% |
| 9. | Тетрациклин | 84% | 16% | 88% | 12% |
| 10. | Ванкомицин | 69% | 31% | 66% | 34% |
| 11. | Линезолид | 97% | 3% | 100% | 0% |
| 12. | Рифампицин | 97% | 3% | 100% | 0% |
| 13. | Триметоприм/сульфаметоксазол | 95% | 5% | 96% | 4% |
| 14. | Нитрофурантоин | 90% | 10% | 100% | 0% |
| 15. | Тайгесиклин | 100% | 0% | 100% | 0% |
| 16. | Хинупристин/данфопристин | 100% | 0% | 100% | 0% |



Рисунок 1. – Сравнительный анализ резистентности группы *Staphylococcus spp.*, выделенных с поверхности и глубоких отделов миндалин у пациентов с ДХТ

Как видно из таблицы 1, подавляющее большинство штаммов *St. aureus*, выделенных с поверхности и из глубины миндалин, были резистентными к бензилпенициллину (75% и 72%, соответственно). Характерна высокая частота резистентности *S. aureus* к резервному антибиотику – ванкомицину, – наиболее часто применяемому в клинике при неэффективности стартовых схем антибиотиков. Резистентными к ванкомицину оказались 31% и 34% *S. aureus*, выделенных с поверхности и из глубины миндалин. Различия в чувствительности *S. aureus* отмечены по отношению к оксациллину, к которому были резистентными 11% штаммов, выделенных из глубины, в то время как 100% возбудителей, находящихся на поверхности миндалин, были к нему чувствительными. Противоположная тенденция отмечена у *S. aureus* по отношению

к представителю нитрофуранов, к которому были чувствительны 100% штаммов, выделенных из глубины миндалин. Схожая ситуация выявлена в частоте чувствительных штаммов *S.aureus*, выделенных из глубины миндалин, по отношению к макролидам.

При сравнении показателей групповой чувствительности/резистентности стафилококков с монокультурой *S.aureus* установлено, что различия заключались в снижении в 2 раза резистентности штамма *S.aureus* в сравнении с общегрупповой – к клиндамицину. У *S.aureus*, выделенного с поверхности миндалин, отмечена значительно более низкая резистентность к рифампицину (3%), в отличие от групповой резистентности, равной 12%. Схожие результаты отмечены в отношении *St.aureus* к эритромицину: на поверхности устойчивость монокультуры составила 12%, общая групповая резистентность была равной 34%, в глубоких отделах – 2% и 16%, соответственно. Такая же ситуация была по отношению к тетрациклину на поверхности: монокультура *S.aureus* составила 16%, общегрупповая резистентность – 31%, в отличие от глубоких отделов (12% и 19%). В небольшом проценте сохранялась резистентность *S.aureus* к триметоприму на поверхности (5%) и в глубине (4%). На поверхности миндалин 10% изолятов *S.aureus* оказались резистентными к нитрофуронтоину, 3% – к линезолиду, в то время как в глубине наблюдалась абсолютная их чувствительность к данным антибиотикам. Наряду с этим у *S.aureus* сохранялась высокая чувствительность к гентамицину, фторхинолонам, тайгициклину и хинупристину.

Представителями 3 группы были микрококки – грамотрицательные кокки из семейства *Micrococcaceae*, входящие в состав нормальной микрофлоры ротоглотки и верхних дыхательных путей человека. С поверхности нёбных миндалин микрококки выделены у 10 (9,8%) пациентов, из глубоких структур – 7 (6,8%). В виде монокультуры микрококки выделены реже: с поверхности миндалин у 3,9% от общего чис-

ла пациентов, из глубоких отделов – 0,9%. В ассоциации с другими микроорганизмами как с поверхности, так и с глубоких структур, микрококки выделены с одинаковой частотой (по 5,8%). В связи с тем, что в количественном отношении микрококки выделялись в небольшой концентрации (103и 104), они признаны эпидемиологически и патогенетически не значимым патогеном, из-за чего их чувствительность к антибактериальным препаратам не определялась.

Группа энтеробактерий была представлена *E.coli*, *K.pneumonia*, *K.oxytoka*, *P.aerogenosae*, *S.marcescens*, *S.ficaria* *E.cloacae* и другими *Enterobacteriaceae*. У пациентов чаще были выделены *K.pneumonia*: с поверхности нёбных миндалин – у 18 (17,6%), из глубоких отделов – 12 (11,8%) пациентов. На рис. 2 представлены результаты исследований *Enterobacteriaceae* spp.

Как видно из рис. 2, у энтеробактерий, выделенных с поверхности, резистентность к ампициллину составила 99%, из глубоких отделов лакун миндалин – 90%, к амоксиклаву – 31% и 40%, к пиперацилину – 19% и 10%, соответственно. В отношении цефалоспоринов I-го поколения (цефазолин, цефалотин) резистентность энтеробактерий на поверхности нёбных миндалин составила от 28% до 36%, в глубоких отделах лакун – 50-51%; к цефалоспорином II-го поколения, в частности к цефокситину – 36% на поверхности и 47% в глубине лакун; к цефуроскиму – высокая устойчивость на поверхности миндалин (25%) и 37% в глубоких отделах лакун. К пероральным цефалоспорином III-го поколения (цефподоксиму) устойчивость энтеробактерий составила 28% на поверхности и 40% в лакунах, в то же время к парентеральным цефалоспорином III-го поколения (цефтазидим, цефтриаксон) резистентность на поверхности миндалин составила 7%, в посевах из глубоких отделов лакун – 9%. Такая же тенденция наблюдалась и у представителя IV-го поколения – цефипима, – к которому в глубоких отделах лакун резистентность энтеробактерий отмечена у 9% изолятов, а на поверх-

ности устойчивости к данному представителю цефалоспоринов не было. Резистентность энтеробактерий к группе тетрациклинов на поверхности нёбных миндалин составила 9%, в глубоких отделах – 13%. Сульфаниламиды изначально имели высокую активность к широкому спектру возбудителей, но многолетнее использование их как препарата первого ряда привело к тому, что большинство микроорганизмов, в том числе и энтеробактерии, выработали устойчивость к данной группе. Не была исключением и чувствительность к триметоприму, составившая на поверхности миндалин и в глубоких отделах по 15%. К представителю нитрофуранов (нитрофуронтоин) в 28% энтеробактерии были устойчивы на поверхности миндалин и в 67% из глубоких отделов миндалин у пациентов с ДХТ. Высокая (100%) чувствительность

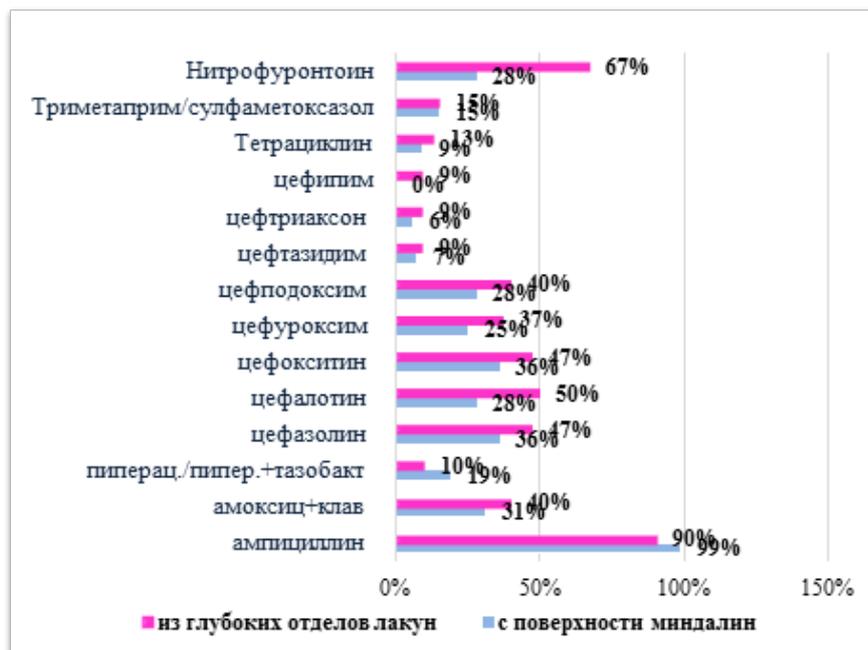


Рисунок 2. – Сравнительный анализ резистентности *Enterobacteriaceae* spp. выделенных с поверхности и глубоких отделов миндалин у пациентов с ДХТ

отмечена по отношению к энтеробактериям к группе карбапенемов, аминогликозидов и фторхинолонов.

Известно, что неферментируемые грамотрицательные бактерии, входящие в состав нормальной микрофлоры кишечника, могут вегетировать на слизистых, коже, вызывая различные нозокомиальные инфекции у иммунокомпроментированных лиц, пациентов с сахарным диабетом, онкологическими заболеваниями.

На рис. 3 представлены результаты исследований неферментируемых грамотрицательных бактерий (НГОБ).

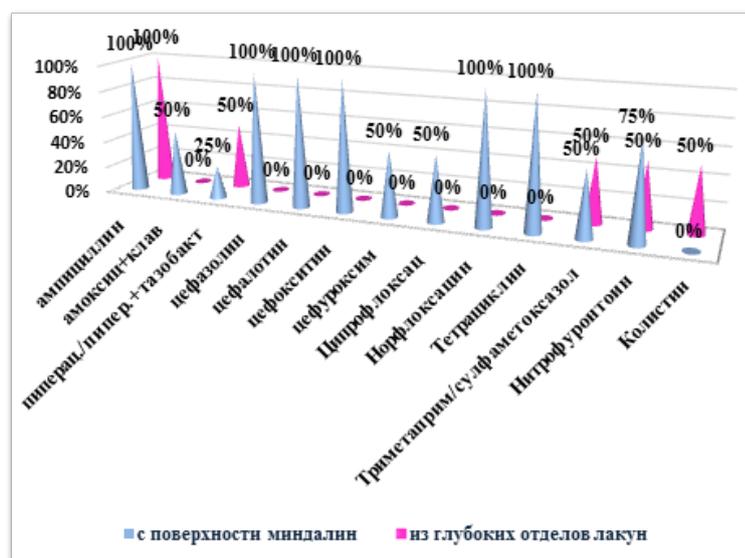


Рисунок 3. – Сравнительный анализ резистентности неферментируемых грамотрицательных бактерий, выделенных с поверхности и глубоких отделов миндалин у пациентов с ДХТ

Оценивая чувствительность к антибиотикам НГОБ, установлено, что их резистентность к ампициллину была у 100% микроорганизмов, выделенных с поверхности миндалин и в глубине, к амоксиклаву – у 50% на поверхности и в глубоких отделах, к пиперациллину – у 25% и 50%, соответственно, к цефалоспорином I и II поколений отмечена полная резистентность. С другой стороны, абсолютная чувствительность НГОБ выявлена к цефалоспорином III и IV поколений. На поверхности миндалин отмечалась

Литература

1. Голуб, А. В. Бактериальные биопленки – новая цель терапии? / А. В. Голуб // Клини. микробиол. антимикроб. химиотерапия. – 2012. – Том 14, № 1. – С. 23-29.
2. Рациональная антибактериальная терапия (Пособие для практических врачей) / А. А. Ключарёва [и др.] // – 2-е издание, стереотипное. – Мн.: БелМАПО, 2004. – 60 с.
3. Мальцева, Г. С. Применение лабораторных методологий в этиологической диагностике хронического тонзиллита / Г. С. Мальцева, Ю. К. Янов // Российская оториноларингология. – 2007. – № 2. – С. 46-55.
4. Мальцева, Г. С. Консервативное лечение хронического тонзиллита стрептококковой этиологии / Г. С. Мальцева, О. Н. Гринчук // Оториноларингология. Русмедикал групп. – 2011. – № 6. – С. 20-23.
5. Петрова, Л. Г. Новые возможности использования

устойчивость НГОБ у 50% штаммов к ципрофлоксацину, 100% устойчивость к норфлоксацину при наличии 100% чувствительности к левофлоксацину и моксифлоксацину. К нитрофурантоину резистентность НГОБ составила 75% и 50%, соответственно, у тетрациклина 50% резистентность была у НГОБ, выделенных с поверхности миндалин, а из глубоких отделов микроорганизмы были чувствительны в 100%. К колестилину резистентные штаммы НГОБ выявлялись в 50% из глубоких отделов, а с поверхности все они были чувствительны. Устойчивость НГОБ к сульфаниламидам наблюдалась в 50% как на поверхности

миндалин, так и в глубине, что, возможно, было связано с тем, что НГОБ проявляют свою природную резистентность к сульфаниламидным препаратам [2].

Группа энтерококков была немногочисленной, в связи с чем делать выводы об истинной картине резистентности этих микроорганизмов некорректно. Следует только отметить, что у выделенных энтерококков отмечалась устойчивость к бензилпенициллину, ампициллину, клиндамицину, ципрофлоксацину, левофлоксацину, моксифлоксацину, тетрациклину, эритромицину, рифампицину, ванкомицину.

Выводы

При ДХТ микробный пейзаж представлен 8 группами условно-патогенных микроорганизмов, качественный состав которых отличается на поверхности и в глубине миндалин. Наличие мультирезистентности и более высокой устойчивости к антибиотикам микроорганизмов, обитающих в глубине миндалин, вероятно, обусловлено их способностью формировать биопленки.

Наиболее устойчивыми к антибиотикам штаммами микроорганизмов, находящихся на поверхности миндалин, является популяция стафилококков.

У микроорганизмов, выделенных как с поверхности миндалин, так и из глубоких отделов, имеется высокая резистентность к группе незащищённых пенициллинов, цефалоспоринов I и II генерации, эритромицину, тетрациклину, а к аминогликозидам, особенно 3-го поколения и фторхинолонам, сохраняется высокая чувствительность.

Literatura

1. Golub, A.V. Bakterial'nye bioplenki – novaya cel' terapii? / A.V. Golub //Klin. mikrobiol. antimikrob. himioterapiya. – 2012. – Tom 14, № 1. – S. 23-29.
2. Racional'naya antibakterial'naya terapiya (Posobie dlya prakticheskikh vrachej) / A.A. Klyucharyova [i dr.] // – 2-eizdanie, stereotipnoe. – Mн.: BelMAPO, 2004. – 60s.
3. Mal'ceva, G.S. Primenenie laboratornyh metodologij v e'tiologicheskoy diagnostike hronicheskogo tonzillita / G.S. Mal'ceva, Yu.K. Yanov //Rossijskaya otorinolaringologiya. – 2007. – № 2. – S. 46-55.
4. Mal'ceva, G. S. Konservativnoe lechenie hronicheskogo tonzillita streptokokkovej e'tiologii / G. S. Mal'ceva, O.N. Grinchuk //Otorinolaringologiya. Rusmedikal grupp. – 2011. – № 6. – S. 20-23.
5. Petrova, L.G. Novye vozmozhnosti ispol'zovaniya

klaritromicina dlya lecheniya infekcij verhnih dyhatel'nyh putej / L.G. Petrova // Otorinolaringologiya. Vostochnaya Evropa. – 2012. – № 1 (06). – С. 115-122.

6. Роль микрофлоры в этиологии хронического тонзиллита / А. И. Крюков [и др.] // Вестник оториноларингологии. – 2010. – № 3. – С. 4-6.

7. Рыбак, Н. А. Микробиоценоз небных миндалин при хроническом тонзиллите / Н. А. Рыбак, В. М. Цыркунов, Р. Ф. Рыбак // Здравоохранение. – 2014. – №12. – С. 2-7.

8. Цыркунов, В. М. Микробиологические и морфологические аспекты хронического тонзиллита / В. М. Цыркунов [и др.] // Инфекционные болезни. – 2016. – Т.14, № 1. – С. 42-47.

9. Чеботарь, И. В. Антибиотикорезистентность биопленочных бактерий / И.В. Чеботарь [и др.] // Клини.микробиол. антимикроб. химиотер. – 2012. – Том 14, № 1. – С 51-58.

10. Chole, R. Anatomical evidence of microbial biofilms in tonsillar tissues: a possible mechanism to explain chronicity/ R. Chole, B. Faddis // Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2003. – № 129. – P. 634-636.

klaritromicina dlya lecheniya infekcij verhnih dyhatel'nyh putej / L.G. Petrova // Otorinolaringologiya. Vostochnaya Evropa. – 2012. – № 1 (06). – С. 115-122.

6. Rol' mikroflory v e'tiologii hronicheskogo tonzillita / A. I. Kryukov [i dr.] // Vestnik otorinolaringologii. – 2010. – № 3. – С. 4-6.

7. Rybak, N. A. Mikrobiocenozy nyobnyh mindalin pri hronicheskom tonzillite /N.A. Rybak, V.M. Cyrkunov, R. F. Rybak // Zdravoohranenie. – 2014. – №12. – С. 2-7.

8. Cyrkunov, V. M. Mikrobiologicheskie i morfologicheskie aspekty hronicheskogo tonzillita/ V.M. Cyrkunov [i dr.] // Infekcionnye bolezni. – 2016. – Т.14, № 1. – С. 42-47.

9. Chebotar', I. V. Antibiotikorezistentnost' bioplenochnykh bakterij./ I.V. Chebotar' [i dr.] // Klin. mikrobiol. antimikrob. himioter. – 2012. – Том 14, № 1. – С 51-58.

10. Chole, R. Anatomical evidence of microbial biofilms in tonsillar tissues: a possible mechanism to explain chronicity/ R. Chole, B. Faddis // Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2003. – № 129. – P. 634-636.

ANTIBIOTIC RESISTANCE OF THE MICROFLORA OF PALATINE TONSILS IN CHRONIC TONSILLITIS

Rybak N. A., Sokolova T. N., Erchova M. V.

Educational Establishment "Grodno State Medical University", Grodno, Belarus

Health Care Institution "Grodno Regional Clinical Hospital", Grodno, Belarus

*The carried-out comparative analysis of antibiotic resistance of the microflora allocated from the surface of fauces and deep parts of lacunas of palatine tonsils in 102 patients with decompensation of the CT showed the absence of β -hemolytic streptococcus of group A (*Str.pyogenes*) in the microflora, prevalence of resistant strains of *St.aureus* and its mixed-options, higher resistance of the microorganisms allocated from the depth of tonsils to antibiotics.*

Keywords: chronic tonsillitis, microflora, antibiotic resistance.

Поступила: 18.04.2016

Отрецензирована: 26.04.2016