

13. Тезиков Д.А. Оптимизация гигиенического ухода за съёмными ортопедическими конструкциями на основе изучения влияния ультрафиолетового облучения на микрофлору съёмных зубных протезов. Дис. канд. мед. наук. Челябинск, 2014.
14. Третьякова И.Е. Регуляторная функция нейтрофилов в норме и в условиях механической травмы. Дис. канд. мед. наук. Челябинск, 1991.
15. Узбеков Р.М. Микроволновая дезинфекция эластичных вспомогательных и конструкционных материалов в клинике ортопедической стоматологии. Дис. канд. мед. наук. М., 2008.
16. Филимонова О.И., Емелина А.С. Изучение клинической эффективности при включении в комплексное лечение воспалительных заболеваний пародонта плазмотерапии у пациентов с несъёмными зубными протезами. Проблемы стоматологии. 2016, 2: 65-69.
17. Филимонова О.И., Шишкова Ю.С., Липская А.Д. и др. Поиск оптимального метода гигиенического ухода за съёмными зубными протезами. Уральский медицинский журнал. 2013, 5 (110): 81-83.
18. Хасанова Д.М., Липская А.Д., Емелина А.С. Содержание секреторного ингибитора протеиназы лейкоцитов в слюне у лиц, использующих стоматологические ортопедические конструкции. Российский иммунологический журнал. 2014, 8(3;17): 469-471.
19. Царев В.Н., Абакаров С.И., Умарова С.Э. Динамика колонизации микробной флорой полости рта различных материалов, используемых для зубного протезирования. Стоматология. 2008, 1: 55-57.
20. Шишкова Ю.С., Бабикова М.С. Сравнительный анализ микрофлоры слюны у лиц, использующих съёмные и несъёмные стоматологические ортопедические конструкции, с учетом возраста обследуемых и материала, применяемого в качестве основы для протеза и импланта. Человек. Спорт. Медицина. 2015, 15(1): 59-63.
21. Шишкова Ю.С., Филимонова О.И., Емелина А.С. Изучение содержания интерлейкина-1β в слюне у пациентов с несъёмными зубными протезами. Известия Самарского научного центра РАН. 2014, 16(5;4): 1251-1253.
22. Эргашев Ю. У. Гигиеническая оценка влияния зубных протезов на состояние полости рта. Дис. канд. мед. наук. Иркутск, 2002.

Поступила 04.04.18

Контактная информация: Бабикова Марина Сергеевна, 454048, Челябинск, ул. Блюхера, 42, р.т. (351)729-22-49

КРАТКОЕ СООБЩЕНИЕ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

Е.Л.Савлевич¹, М.А.Иванова², М.А.Мокроносова³, С.А.Горбунов¹, А.П.Якушенкова⁴

СЕЗОННЫЕ ОСОБЕННОСТИ МИКРОБНОГО ПЕЙЗАЖА НЕБНЫХ МИНДАЛИН У ЗДОРОВЫХ СТУДЕНТОВ

¹Центральная государственная медицинская академия Управления делами Президента, ²Центр нейрокоммуникативных исследований управления научной деятельности Гос. ИРЯ им. А.С.Пушкина, ³НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова, ⁴Клиническая больница Управления делами Президента, Москва

Цель. Характеристика микропейзажа небных миндалин у здоровых студентов в зависимости от времени года. *Материалы и методы.* Обследованы 40 студентов без патологии ротоглотки в возрасте 17-30 лет ($23 \pm 3,5$) при отсутствии хронического тонзиллита при фарингоскопии, признаков острой респираторной инфекции, приема антибиотиков в течение 1 месяца до проведения исследования и перенесенной ангины в анамнезе в течение последних 5 лет. Обследование проводилось трехкратно, раз в сезон:

осенью с 16.10 по 02.11, зимой с 27.01 по 06.03, весной с 02.04 по 19.04. *Результаты.* Для нормального микрорейзажа здоровых лиц в возрасте 17-30 лет характерно присутствие *Streptococcus viridans*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans*, *Neisseria*, *Micrococcus*, *Bacillus* и *Pseudomonas aeruginosa* как постоянных представителей. Присутствие *S. pyogenes* и *P. aeruginosa* в структуре микрорейзажа небных миндалин не сопровождалось какими-либо клиническими симптомами со стороны их носителей. Существует сезонная динамика увеличения частоты встречаемости условно патогенной флоры на небных миндалинах в весенний период и снижение роста всех микроорганизмов зимой.

Журн. микробиол., 2018, № 5, С. 98—103

Ключевые слова: хронический тонзиллит, микрофлора, небные миндалины, носительство, сезонность

*E.L.Savlevich*¹, *M.A.Ivanova*², *M.A.Mokronosova*³, *S.A.Gorbunov*¹, *A.P.Yakushenkova*⁴

SEASONAL FEATURES OF THE MICROBIAL LANDSCAPE OF PALATINE TONSILS IN HEALTHY STUDENTS

¹Central State Medical Academy of Department for Presidential Affairs, ²Centre of Neuro-Communicative Research State Russian Language Institute, ³Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, ⁴Clinical Hospital of Department for Presidential Affairs, Moscow, Russia

Aim. To find out microbial landscape characteristics of the palatine tonsils in healthy students, depending on the season. *Materials and methods.* It were examined 40 students without any oropharyngeal pathology aged 17-30 (23 ± 3.5). There were no signs of chronic tonsillitis at pharyngoscopy, no signs of acute respiratory infection; they did not take antibiotics for one last month prior to the study and had no tonsilitis for the last 5 years. Examination was made three times, once in a season: autumn from October 16 till November 2; winter from January 27 till March 6; spring from April 2 till April 19. *Results.* The normal microlandscape in healthy individuals aged 17-30 years permanently had *Streptococcus viridans*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans*, *Neisseria*, *Micrococcus*, *Bacillus*, and *Pseudomonas aeruginosa*. Presence of *S. pyogenes* and *P. aeruginosa* in the structure of microlandscape of the palatine tonsils did not cause any clinical symptoms in their carriers. We also revealed a seasonal dynamics expressed by the frequency of the increase of conditionally pathogenic flora on palatine tonsils in spring and the decrease in all microorganisms growth in winter.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 5, P. 98—103

Key words: chronic tonsillitis, microflora, palatine tonsils, carriage, seasonality

На тему хронического тонзиллита (ХТ) в последнее время ведутся интенсивные дискуссии на конференциях и съездах оториноларингологов различного уровня в связи с необходимостью формирования новых подходов к диагностике и лечению этого заболевания. В связи с тем, что для установления диагноза ХТ в клинической практике чаще всего используются субъективные критерии (например, казеозные пробки в лакунах небных миндалин, гиперемия и отёчность передней небной дужки и т.д.), большинство из которых в настоящий момент оспариваются на предмет возможных проявлений других заболеваний, например, ларингофарингеального рефлюкса (ЛФР), современные эпидемиологические исследования по распространенности ХТ в России отсутствуют [2]. Открытым остается вопрос о лечении ХТ и целесообразности удаления небных миндалин. Windfuhr J.P. на основании принципов доказательной медицины выполнил критический анализ различных показаний к тонзиллэктомии, где сделал вывод, что чрезмерный радикализм по отношению к небным миндалинам в большинстве случаев не оправдан и рекомендовал сократить рекомендации к оперативному лечению [16]. Популярный в нашей стране метод определения антител к стрептолизину О (АСЛО) также является малоинформативным и невалидным для определения тактики лечения ХТ [6]. Также нет однозначного мнения о роли различных

микроорганизмов в поддержании персистирующего воспалительного процесса в небных миндалинах. Согласно мнению ряда исследователей, небные миндалины как в норме, так и при хроническом тонзиллите могут быть носителями разнообразной, в том числе патогенной, флоры, а данные бактериологических исследований не имеют конкретного значения при диагностике хронического тонзиллита [3, 4].

Взаимоотношения микробиома и человека является сложным процессом. Количественное выделение различных микробных колоний часто является бессимптомным носительством и не является показанием к проведению лечебных мероприятий. Микробный пейзаж небных миндалин при ХТ отличается большим многообразием, наряду с патогенной флорой выявляются условно патогенные и сапрофитные виды микроорганизмов. По данным культурального исследования 668 пациентов с ХТ Енина И.П. и др. бета-гемолитический стрептококк (БГСА) выявлен в 53%, *Mycoplasma pneumoniae* в 24,5%, *S. aureus* в 26,8%, чаще всего в ассоциациях с микоплазмами [1]. В Казахстане при исследовании 189 детей и взрослых с ХТ у 140 пациентов лидирующее место занял *S. aureus* в 33%, часто в ассоциациях с *C. albicans*. При этом высеивалось 18 видов различных микроорганизмов [7]. Большой интерес представляют сравнительные бактериологические исследования между группами здоровых людей и при патологии миндалин. В Москве были выполнены культуральные исследования микрофлоры задней стенки глотки относительно здоровых детей, пациентов с ангиной, инфекционным мононуклеозом, ОРВИ и пневмонией. Во всех группах лидирующей микрофлорой были альфа-гемолитические стрептококки и нейссерии, при этом максимальное их количество присутствовало в группе здоровых. На третьем месте во всех группах по частоте встречаемости был *S. aureus* [8]. В Турции при перспективном исследовании удаленных небных миндалин у 111 пациентов было выявлено 604 бактериальных штамма. Наиболее распространены были коагулазо-отрицательные стафилококки, альфа-гемолитические стрептококки и дифтероиды. Не было получено достоверной разницы в микрофлоре в зависимости от возраста и степени гипертрофии миндалин [11].

Микробный состав слизистой оболочки миндалин относительно постоянен, независимо от состояния здоровья, по сравнению с полостью носа. Нормальная флора преобладает и сохраняется в течение длительного периода у здоровых людей, тогда как у лиц после острого тонзиллита оппортунистические штаммы с высокой активностью увеличивают патогенное воздействие в течение длительного времени [Soboleva I. et al., 2012]. Van Staaij V. et al. сравнивали микрофлору с поверхности миндалин у группы здоровых и пациентов с ХТ. Выявлено, что потенциальные респираторные патогены присутствуют у 54% пациентов с ХТ и у 41% здоровых. *Haemophilus influenzae* обнаруживали у 41% больных и 34% здоровых детей. *Moraxella catarrhalis* встречался в 7% случаев больных с ХТ и отсутствовал у здоровых. *H. influenzae* обнаруживался у 32% детей с ХТ и 48% детей с симптомами тонзиллярной гипертрофии. Автор предположил, что вариации микробной флоры не играют существенной роли в предрасположенности к заболеваниям миндалин [13]. Согласно проведенному Vista M. et al. исследованию, наиболее часто высеивающимися бактериями при остром тонзиллите являются *S. viridans*, *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis* и БГСА. Тот же результат показали и посеы с миндалин, не пораженных тонзиллитом [9]. По данным Swidsinski A. et al. предшествующие курсы антибиотикотерапии не позволяют избавиться от патогенных штаммов с поверхности небных миндалин [15]. При сравнении микрофлоры с поверхности миндалин у пациентов с рецидивирующим тонзиллофарингитом и пациентов с синдромом обструктивного апноэ сна не выявлено значимой разницы в составе микрофлоры как со стороны аэробов, так и анаэробов [14]. В исследовании Kuhn J. et al. концентрация *S. aureus* и *H. influenzae* была выше обнаружена в гипертрофированных миндалинах по сравнению с хроническим тонзиллитом [12]. При сравнении микрофлоры с поверхности и глубины небных миндалин и аденоидной ткани у пациентов с ХТ выявлено, что наиболее частыми видами аэробных микроорганизмов являются *S. viridans* и *Neisseria* spp. Число поверхностных аэробных микроорганизмов из аденоидной ткани значительно превышает число микробов из глубоких структур. Количество микробов из глубоких структур

было одинаковым в небных миндалинах и аденоидах [10]. Сравнение микрофлоры с поверхности и лакун небных миндалин у пациентов с ХТ и здоровых показало видовую идентичность высеваемой микрофлоры, однако разница присутствует в количественном составе. По мнению Н.А. Рыбак, острый инфекционный процесс в миндалинах (ангина) стартует и реализуется за счет моноинфекции, а прогредиентный патологический процесс формируется в результате постоянной контаминации миндалин ассоциированными микробными агентами, проникающими в иммунный орган посредством экзогенных и эндогенных механизмов, опосредованных в последующем аутоиммунными реакциями [5]. Таким образом, нет полного понимания о роли конкретных микробных ассоциаций в патогенезе хронического тонзиллита.

С учетом возрастания антибиотикорезистентности условно патогенных микроорганизмов, изменением популяционного микропейзажа небных миндалин у здоровых людей, динамическими изменениями в композиционном составе микрофлоры актуально проведение исследований, направленных на изучение микробного состава небных миндалин у здоровых лиц.

Цель работы — характеристика микропейзажа небных миндалин у здоровых студентов в зависимости от времени года.

Были обследованы 40 студентов без патологии ротоглотки в возрасте 17–30 лет ($23 \pm 3,5$), 20 мужчин и 20 женщин. Критериями включения были — отсутствие хронического тонзиллита при фарингоскопии (слизистая небных миндалин нормальной окраски, лакуны чистые), отсутствие увеличения подчелюстных лимфоузлов, отсутствие признаков острой респираторной инфекции, отсутствие приема антибиотиков в течение 1 месяца до проведения исследования и отсутствие в анамнезе перенесенной ангины в течение последних 5 лет. Исследование проводили в лаборатории микробиологии Института биологии и химии МПГУ. Ватным тампоном натошак был взят мазок с правой и левой небных миндалин на питательную среду в чашке Петри. В качестве питательной среды использовался мясопептонный агар (пептон, агароза, мясной бульон из говяжьего сердца, дистиллированная вода с добавлением 15% сыворотки крови крупного рогатого скота. pH среды 7,2–7,6 достигался добавлением NaCl). Обследование проводилось трехкратно, раз в сезон: осенью — с 16.10 по 02.11, зимой с 27.01 по 06.03, весной с 02.04 по 19.04. При этом учитывалась уличная температура и осадки — при проведении исследования в каждом сезоне эти показатели были примерно одинаковые. Культивация штаммов осуществлялась в термостате при температуре 37,3–37,7°C в течении 24 часов. Для определения серогруппы стрептококков использовался набор реактивов СТРЕП-ТЕСТ А, В, С, G (ООО «Научно-производственное объединение Аквапаст», Санкт-Петербург), т.к. бактериальный гемолиз на данном агаре виден нечетко. Окрашивание препаратов проводилось несколькими способами: использовались методы простой окраски (генцианвиолет либо фуксин), сложные (по Граму для выявления Грам+ и Грам- организмов, по Бурри-Гинсу для выявления капсул); для детального определения микроорганизмов использовался метод иммерсионной микроскопии. Микроорганизмы оценивались как диагностически значимые при высевах колоний в количестве более 10^3 КОЕ.

Для статистического анализа данных использовались свободные программы AtteStat версия 10.2.1. Все количественные признаки тестировались на соответствие их распределению нормальному критерием Шапиро-Уилка. Сравнительный анализ параметрических признаков проводился с помощью однофакторного дисперсионного анализа с последующим поиском межгрупповых различий критерием Шеффе. Анализ непараметрических количественных признаков проводился с помощью критерия Крускала-Уоллиса с последующим поиском межгрупповых различий критерием Манна-Уитни с поправкой Бонферрони. Качественные признаки сравнивались точным критерием Фишера-Фримана-Холтона.

В ходе исследования у здоровых людей во всех трех сезонах, когда проводились посевы, наиболее частыми представителями микрофлоры небных миндалин были следующие виды микроорганизмов: *S. viridans*, *S. pyogenes*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *C. albicans*, *Neisseria*, *Micrococcus*, *Bacillus* и *P. aeruginosa*. При этом прослеживалась

определенная динамика встречаемости всех обнаруженных микроорганизмов в разные периоды времени года. Резкий активный рост микроорганизмов весной, несущественно в меньшем количестве они были выявлены в осеннее время без статистически значимых различий между этими 2 группами. В зимнее время количество обнаруженных микроорганизмов было практически в 2 раза меньше, чем в весеннее и осеннее время, что было подтверждено статистическими методами.

При сравнении встречаемости отдельных микроорганизмов в разные сезоны получены следующие результаты. Род *Staphylococcus* был представлен *S. aureus* и *S. epidermidis*. Высев этой микрофлоры наблюдали от 4 до 30% в зависимости от сезона (17 и 30% осенью, 13 и 4% зимой, 22 и 26% весной соответственно). Рост дрожжеподобных грибов рода *Candida* был более выраженным в осенне-весенний период (48 и 39%) со снижением зимой до 17%. Представители условно патогенной флоры рода *Neisseria* встречались в 43-52% с небольшим диапазоном их сезонной вариабельности. Микроорганизмы рода *Bacillus* активно высевались в осеннее время (39%) и весной (13%) и полностью отсутствовали зимой. Также был отмечен достоверный рост бактерий рода *Micrococcus* (61%) весной по сравнению с зимним (43%) и осенним (39%) сезоном. Интересен был факт высева *P. aeruginosa* с поверхности миндалин у здоровых людей при полном отсутствии жалоб и клинических симптомов со стороны ротоглотки. Обращает на себя внимание, что активный рост синегнойной палочки был отмечен в осенний период у 43% человек, в зимний и весенний период была обнаружена тенденция к снижению носительства *P. aeruginosa* до 4% и 13% соответственно. *S. viridans* и *S. pyogenes* высевались осенью в 43 и 26%, зимой в 22 и 22%, весной в 74 и 52% соответственно.

Полученные результаты показали, что небные миндалины у здоровых людей не являются стерильными. В течение всех исследуемых сезонов на них были обнаружены представители патогенной, условно патогенной и нормальной микрофлоры, при этом их количественный состав изменяется в зависимости от времени года. Максимальный рост микроорганизмов обнаружен весной, в особенности *S. viridans*, *S. pyogenes* и *Micrococcus*. В осеннее время года также был активный рост всех выявленных нами в процессе исследования возбудителей, при этом отмечался максимальный процент встречаемости *P. aeruginosa*, микроорганизмов рода *Bacillus* и *C. albicans* при полном отсутствии у этих людей признаков кандидоза ротоглотки. Зимой отмечалось достоверное снижение роста всех микроорганизмов, хотя при этом не было получено не одного абсолютно стерильного посева. Также наблюдалось разнообразие микробного состава небных миндалин у каждого пациента в течение 3 сезонов, не отмечалось стагнации их видового разнообразия. Существует сезонная динамика увеличения частоты встречаемости условно патогенной флоры в весенний период и снижение роста всех микроорганизмов зимой, что может быть обусловлено различной степенью влажности воздуха и различием температурного режима окружающей среды. Наши данные позволяют сделать выводы о необходимости дальнейшего изучения микрофлоры небных миндалин, возможно, путем сравнения разных возрастных групп, у лиц, проживающих в разных регионах России, и влияния состояния местного врожденного иммунитета, заболеваний желудочно-кишечного тракта на динамику микробиоценоза слизистой ротоглотки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Енин И.П., Батулин В.А., Шетинин Е.В. и др. Микрофлора небных миндалин при хроническом тонзиллите. Вестник оториноларингологии. 2013,4:21-22.
2. Косяков С.Я., Анготоева И.Б., Мулдашева А.А. Противоречивость современных представлений о проблеме хронического тонзиллита. Медицинский совет. 2015,3:35-39.
3. Мальцева Г.С. Особенности стрептококковой инфекции при хроническом тонзиллите. Consilium Medicum. 2010,11:26-29.
4. Полякова Т.С. Гуров А.В. Современный взгляд на проблему терапии тонзиллофарингитов. Русский медицинский журнал. 2007,2:146-150.
5. Рыбак Н.А., Цыркунов В.М., Рыбак Р.Ф. Микробиоценоз небных миндалин при хроническом тонзиллите. Здоровоохранение (Минск). 2014,12:2-7.

6. Савлевич Е.Л., Жарких М.А., Козлов В.С. и др. Неоднозначность диагностической ценности некоторых методов лабораторной диагностики при хроническом тонзиллите. Медицинский совет. 2016,9:54-57.
7. Сагандыкова Н.С. Особенности микрофлоры небных миндалин при хроническом воспалении. Вестник КазНМУ. 2015,2:105-107.
8. Феклисова Л.В, Мескина Е.Р, Галкина Л.А. и др. Современные подходы к коррекции микробиоценоза ротоглотки. Лечащий врач. 2009,10:71-74.
9. Bista M., Amatya R.C., Basnet P. Tonsillar microbial flora: a comparison of infected and non-infected tonsils. Kathmandu Univ. Med. J. 2006,4(1):18-21.
10. Brook I., Foote J. Comparison of the microbiology of recurrent tonsillitis between children and adults. Laryngoscope. 1986,96(12):1385-1388.
11. Develioglu O.N., Ipek H.D., Bahar H. et al. Bacteriological evaluation of tonsillar microbial flora according to age and tonsillar size in recurrent tonsillitis. Eur. Arch. Otorhinolaryngol. 2014,271(6):1661-1665.
12. Kuhn J.J., Brook I., Waters C.L. et al. Quantitative bacteriology of tonsils removed from children with tonsillitis hypertrophy and recurrent tonsillitis with and without hypertrophy. Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. 1995,104(8):646-652.
13. Van Staaij B.K., Van Den Akker E.H., De Haas Van Dorsser E.H. et al. Does the tonsillar surface flora differ in children with and without tonsillar disease? Acta Otolaryngol. 2003, 123(7): 873-878.
14. Stjernquist-Desatnik A., Holst E. Tonsillar microbial flora: comparison of recurrent tonsillitis and normal tonsils. Acta Otolaryngol. 1999,119(1):102-106.
15. Swidsinski A., Durffel Y., Loening-Baucke V. et al. Biomorphology of the bacterial invasion in chronic pharyngotonsillitis. Laryngorhinootologie. 2008,87(11):776-782.
16. Windfuhr J.P. Indications for tonsillectomy stratified by the level of evidence. GMS Curr. Top. Otorhinolaryngol. Head. Neck. Surg. 2016,15:Doc09.doi: 10.3205/cto000136. eCollection 2016. Review. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5169082/>.

Поступила 28.02.18

Контактная информация: Савлевич Елена Леонидовна, к.м.н.,
121359, Москва, ул. Маршала Тимошенко, 21

ЗАМЕТКА ИЗ ПРАКТИКИ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

Е.Б.Файзулов, Е.Р.Корчевая, Д.В.Марков, О.А.Петруша, В.В.Зверев

ПРОБЛЕМА КОНТАМИНАЦИИ КУЛЬТУР КЛЕТОК ОРТОРЕОВИРУСАМИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва

Обязательным требованием к культурам клеток, используемым в научных исследованиях и биотехнологическом производстве, является отсутствие их контаминации вирусами. Нами описан случай незапланированного выделения в культуре клеток почки эмбриона макаки-резуса МА-104 ортореовируса млекопитающих. ПЦР-анализ на наличие реовирусной РНК всех вероятных источников реовируса (трипсин, эмбриональная сыворотка коров, клинические образцы, культура клеток) не выявил вирусной РНК ни в одном из образцов. Важным условием активации репродукции реовируса в культуре клеток МА-104 являлось наличие в культуральной среде трипсина. Полученные результаты подчеркивают актуальность контроля на наличие контаминации реовирусами реактивов животного происхождения и клеточных культур. Поскольку реовирусы ассоциированы