

УДК 616.9

## ПЕРСИСТЕНТНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ХРОНИЧЕСКОГО ТОНЗИЛЛИТА

Хараева З. Ф., Нагоева М. Х., Афашагова М. М., Баразбиева С. М.

*ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им Х. М. Бербекова», Нальчик, e-mail: A\_Nagoev@mail.ru*

Хронический тонзиллит, хроническое, протекающее с обострениями, воспаление небных миндалин (гланд) в результате частых ангин. При заболевании отмечается боль при глотании, першение в горле, неприятный запах изо рта, увеличение и болезненность подчелюстных лимфоузлов. Являясь хроническим очагом инфекции в организме, снижает иммунитет и может вызывать развитие пиелонефрита, инфекционного эндокардита, ревматизма, полиартрита, аднексита, простатита, бесплодия. Риск развития хронического тонзиллита увеличивается при иммунных нарушениях. Общая и местная сопротивляемость организма понижается после перенесенных инфекционных заболеваний. Среди возбудителей хронического тонзиллита наиболее часто встречается грамположительная кокковая флора с выраженным персистентным потенциалом в сочетании с антибиотикорезистентностью. Комплекс выявленных свойств возбудителей хронических тонзиллитов определяет необходимость поиска новых методов терапии с применением препаратов не антибактериального происхождения, воздействующих на факторы противостояния бактерий врожденному и приобретенному иммунитету.

Ключевые слова: хронический тонзиллит, инфекционно-аллергические заболевания, лейкоциты.

## PERSISTENTNY POTENTIAL OF CAUSATIVE AGENTS OF CHRONIC TONSILLITIS

Haraeva Z. F., Nagoeva M. H., Afashagova M. M., Barazbieva S. M.

*FGBOU VO "Kabardino-Balkarian state university him H. M. Berbekova", Nalchik, e-mail: A\_Nagoev@mail.ru*

Chronic tonsillitis chronic, proceeding with aggravations, an inflammation of palatal almonds (tonsils) as a result of frequent quinsies. At a disease pain when swallowing is noted, irritation in a throat, an unpleasant smell from a mouth, increase and morbidity of submaxillary lymph nodes. Being the chronic center of an infection in an organism, reduces immunity and can cause development of pyelonephritis, infectious endocarditis, rheumatism, polyarthritits, an adneksit, prostatitis, infertility. The risk of development of chronic tonsillitis increases at immune violations. The general and local resilience of an organism goes down after the postponed infectious diseases. Among causative agents of chronic tonsillitis the grampolozhitelny kokkovy flora most often meets the expressed persistentny potential in combination with an antibiotikorezistentnost. The complex of the revealed properties of causative agents of chronic tonsillitis defines need of search of new methods of therapy with application of the preparations not of an antibacterial origin influencing factors of opposition of bacteria to the congenital and acquired immunity.

Keywords: chronic tonsillitis, infectious allergic diseases, leukocytes.

Среди миндалин лимфаденоидного глоточного кольца хроническое воспаление небных миндалин встречается намного чаще, чем все остальных вместе взятых, поэтому под термином «хронический тонзиллит» всегда подразумевают хронический воспалительный процесс в небных миндалинах. По данным разных авторов, хронический тонзиллит среди взрослого населения встречается в 4–10 % случаев, а среди детского — около 12–15 %.

Под влиянием неблагоприятных факторов внешней и внутренней среды снижается сопротивляемость организма, нарастают вирулентность и патогенность микрофлоры в лакунах

миндалин, что ведет к возникновению ангины и хронического воспаления в миндалинах. При хроническом тонзиллите в миндалинах обнаружено около 30 сочетаний различных микробов, однако в глубоких отделах лакун обычно нет большой полиморфности флоры; чаще здесь обнаруживается монофлора – различные формы стрептококка (особенно гемолитического), стафилококка и др. При хроническом тонзиллите в миндалинах могут встречаться ассоциации непатогенных микробов. В детском возрасте в удаленных миндалинах нередко находят аденовирусы, которые могут играть определенную роль в этиологии и патогенезе хронического тонзиллита. Таким образом, хронический тонзиллит следует относить к собственно инфекционным заболеваниям, обусловленным, в большинстве случаев, аутоинфекцией.

Наиболее часто хронический тонзиллит начинается после ангины. При этом острое воспаление в тканях миндалин не претерпевает полного обратного развития, воспалительный процесс продолжается и переходит в хроническую форму. В редких случаях хронический тонзиллит начинается без предшествующих ангин. Возникновению и развитию его часто способствует постоянное аутоинфицирование из хронических очагов инфекции (кариозные зубы, хроническое воспаление в области носа и околоносовых пазух и др.), а также бактериальная и тканевая местная и общая аутоаллергия.

Проблема лечения хронического тонзиллита (ХТ) остается актуальной в современной медицине, что определяется широкой распространенностью данного заболевания, а также вероятностью развития серьезных осложнений и хронических заболеваний сердечно-сосудистой системы, почек и суставов, недостаточной эффективностью традиционной антибиотикотерапии. Учитывая последние данные о большом разнообразии видов возбудителей и тенденции все более частого выявления условно-патогенных микроорганизмов, становится актуальным определение микрофлоры глотки и чувствительности ее к антибиотикам. В криптах миндалин больных хроническим тонзиллитом преобладают грамположительные микроорганизмы. Заболеваемость ХТ достигла 25 % от общей заболеваемости в структуре ЛОР-болезней. Отрицательные последствия при неправильном выборе антибиотиков и сроков лечения проявляются в сохранении возбудителей в очаге воспаления и проявлении резистентной флоры с последующей хронизацией процесса.

Одним из ключевых звеньев в патогенезе инфекционных и инфекционно-аллергических заболеваний, к которым относится ХТ, является взаимодействие микроорганизмов с лейкоцитами (фагоцитоз). При этом бактерии выделяют факторы, ингибирующие активацию комплемента, активность лизоцима, интерферона, что сказывается на их способности выживать в условиях макроорганизма и устойчивости к фагоцитозу [2,3,4]. Поэтому наряду с оценкой

состояния иммунной системы важное значение имеет характеристика устойчивости возбудителя к механизмам фагоцитоза.

**Цель** данного исследования: изучить микробную флору небных миндалин у больных ХТ, а также изучить особенности факторов персистенции основных возбудителей хронического тонзиллита, оценив антилизоцимную (АЛА), антиинтерфероновую (АИА), антикомплементарную (АКА) активности выделенных микроорганизмов, как возможные пути противостояния кислороднезависимому механизму фагоцитоза, а также активность антиоксидантных бактериальных ферментов – каталазы, супероксид дисмутазы, как факторов устойчивости кислородзависимому механизму фагоцитоза.

**Материалы и методы.** В работе использованы 94 штамма: 45 принадлежали к *Staphylococcus aureus*, 23 – *Streptococcus salivarius*, 13 – *Streptococcus pyogenes*, 13 – *Streptococcus pneumoniae*. Выделение бактерий из исследуемого материала и их идентификацию производили общепринятыми методами бактериологического исследования. Для работы использовали суспензии бактерий в 0.9 % растворе NaCl с оптической плотностью  $A_{510}$  0,2, что соответствует концентрации  $1,5 \times 10^9$  кл/мл. Антилизоцимная активность (АЛА) бактерий изучалась по методу Бухарина О. В. [3]. Для оценки уровня АЛА были приняты следующие критерии: низкий уровень АЛА – 1–2 мкг/мл, средний – 3–5 мкг/мл, высокий – свыше 5 мкг/мл. Антикомплементарная и антиинтерфероновая активность (АКА) бактерий изучалась по методам Бухарина О. В. [3]. Активность каталазы штаммов бактерий определяли йодометрическим методом. Активность каталазы бактерий оценивали по калибровочной кривой, полученной с использованием коммерческого препарата каталазы («Sigma», USA). Для определения супероксид дисмутазной активности штаммов *Staphylococcus aureus* использовали метод, основанный на образовании адrenoхрома при автоокислении адреналина [7]. Эффективность внутриклеточного киллинга оценивалась по методу Nielsen S. L. [8]. Антибиотикочувствительность определяли стандартным способом с помощью диско-диффузного метода. Результаты исследований обрабатывались общепринятыми статистическими методами.

**Результаты и обсуждение.** Оценке роли микробного фактора в развитии гнойно-воспалительных заболеваний всегда уделяется большое внимание, так как от вида микроорганизма, вызывающего инфекционный процесс, зависят особенности течения, риск развития осложнений и прогноз тяжести заболевания [1,4,5].

Результаты исследования микрофлоры миндалин больных с ХТ показали, что в 40 % случаев высевается *S.aureus*, в 30 % и 17 % – смешанная микрофлора – *S.pyogenes* совместно с

*S.salivarius* и *S.aureus* совместно с *S. pyogenes*, соответственно. Кроме того, в составе смешанной флоры встречаются *C.albicans* (6 %). Обсемененность грибковой флорой является доказательством дисбиоза и локального иммунодефицитного состояния миндалин. Среди выделенных штаммов у больных с ХТ множественной антибиотикорезистентностью обладали 56 % (53 штамма) возбудителей, при сравнительном анализе видовой антибиотикорезистентности наибольшее количество полирезистентных штаммов относилось к *S.aureus* – 62 % (28 штаммов).

К специфическим факторам защиты микроорганизма относится антилизосимная активность – способность бактерий специфически инактивировать лизосим хозяина и обеспечить сохранению возбудителя в макроорганизме. Повышение антилизосимной активности способствует тому, что бактериальная клетка приобретает дополнительные средства дистанционного действия, направленного на инактивацию механизмов иммунитета организма и, как следствие, увеличению числа возбудителя в микробиоценозе. Антилизосимной активностью (АЛА) обладало 67 % (53 бактериальных культуры) из 94 изученных штаммов. Наибольшее число штаммов с антилизосимной активностью выявлено среди культур, относящихся к *Staphylococcus aureus* – 83 % (39 штамма). Меньшее число бактериальных культур *Streptococcus pyogenes* – 64 % (41 штамм), выделенных из зева, также обладали АЛА. У штаммов *Streptococcus pneumoniae* и *Streptococcus salivarius* антилизосимная активность не обнаружена. Как следует из представленных в табл. 1 данных, наиболее часто во всех группах штаммов встречаются культуры со средними показателями активности АЛА. Повышение персистентного потенциала микрофлоры может происходить и под действием метаболитов грибов рода *Candida*, которые способны усиливать антилизосимную активность золотистых стафилококков. Также обращает на себя внимание тот факт, что все штаммы гемолитически активных стафилококков обладали высокой и средней АЛА. Также возможно изменение персистентных характеристик бактерий под воздействием лекарственных средств или, например, токсинов бактерий. Из полученных данных можно сделать заключение, что в условиях дисбактериоза, обусловленного действием эндотоксинов, происходит повышение антилизосимной активности *St. aureus* и увеличение числа в миндалинах.

Таблица 1

**Уровень антилизосимной активности штаммов, выделенных у больных с ХТ**

Штамм	Число штаммов с АЛА	Число штаммов с различным уровнем АЛА (мкг\мл)			
		1-2	3-4	5-6	7 и >7

Staphylococcus aureus	83% (39 штамма)	-	15 (20%)	20 (26%)	13 (18%)
Streptococcus pyogenes	64% (41 штамм)	15 (17%)	29 (32%)	30 (34%)	-

К секретирующим началам, обеспечивающим персистенцию микробной клетки, следует отнести и «антиинтерфероновый» признак, характеризующий способность бактерий инактивировать антибактериальную составляющую человеческого лейкоцитарного интерферона. Антиинтерфероновая активность (АИА) относится к факторам, направленным на инактивацию защитных механизмов хозяина, обеспечивающим стабильный антагонистический эффект в биоценозе. С учетом данных о прямой корреляционной связи антиинтерфероновой активности (АИА) с вирулентностью бактерий [4], нами было проведено исследование штаммов, выделенных при ХТ у больных, на предмет выявления этого фактора персистенции. Антиинтерфероновой активностью (АИА) обладало 57 % (45 бактериальных культур) из 94 изученных штаммов. Наибольшее число штаммов с антиинтерфероновой активностью также выявлено среди культур, относящихся к *Staphylococcus aureus* – 73 % (33 штамма). Среди штаммов, принадлежащих к роду *Streptococcus*, АИА не выявлена.

Кроме интерферона, бактериальной деградации подвергается и комплемент за счет антикомплементарной активности микроорганизмов. Исследуя факторы персистенции возбудителей хронического тонзиллита, направленные на деградацию механизмов резистентности организма, мы прежде всего исследовали АКА, поскольку система комплемента является не только ключевым фактором неспецифической резистентности, она задействована в различных гуморальных и клеточных реакциях макроорганизма, направленных на поддержание его гомеостаза. Антикомплементарная активность (АКА) выявлена у 34 % изученных штаммов *S.aureus* (табл. 2). Как видно из приведенных в таблице данных, штаммы пиогенного стрептококка обладают АКА в 30 % случаев. Как и при исследовании АИА, при изучении АКА, большинство штаммов обладали средними показателями активности (25 ед\мл).

Таблица 2

**Частота выделения и уровень антикомплементарной активности штаммов, выделенных из миндалин больных с хроническим тонзиллитом**

Штамм	% бактерий, выживающих после фагоцитоза	Число штаммов с АКА	Число штаммов с различным уровнем АКА, (ед\мл)		
			12,5	25	50

Staphylococcus aureus	15,5-17,5 %	34,2 % (25 штаммов)	20,0 % (5штаммов)	64,0 % (16 штаммов)	16 % (4 штамма)
Streptococcus pyogenes	13,0-22,0 %	30,5 % (4 штамма)	46,8 % (15 штаммов)	53,2 % (17 штаммов)	-

Известно, что первичными бактерицидными факторами, выделяемыми фагоцитами, являются перекись водорода и продукты ее свободнорадикального разложения, такие как гипохлорит и гидроксильный радикалы. Патогенные и условно-патогенные бактерии приспособляются выживать в среде с повышенной концентрацией перекиси водорода путем индукции генов раннего ответа на окислительное повреждение [6,9,10]. Белковыми продуктами этих генов являются, среди прочих, фермент каталаза, разлагающий перекись водорода до нейтральных продуктов: воды и молекулярного кислорода и фермент супероксид дисмутаза (СОД), разлагающая супероксид анион радикал до молекулярного кислорода. СОД является одним из главных ферментов антиоксидантной защиты. Существует три ее типа, содержащие марганец, железо, медь-цинк. У микроорганизмов встречаются все три типа СОД. Некоторые бактерии содержат более одной СОД, отличающихся по локализации и экспрессии. Fe-СОД и Mn-СОД находятся в цитоплазме и защищают бактериальную ДНК и протеины от окисления. Cu-Zn-СОД, находясь в периплазме, защищает мембранные и периплазматические структуры от экзогенного воздействия супероксидов.

Изучение влияния окислительного стресса на рост и мутагенез некоторых бактерий показало, что СОД более важна, чем каталаза, для предохранения кислородзависимого угнетения прироста и индукции мутации. СОД-дефицитные мутанты Staphylococcus xylois были более чувствительными к гипербарической оксигенизации и параквату. Это позволило сделать вывод, что СОД играет важную роль в защите от оксидативного стресса. В некоторых исследованиях показано, что СОД, как каталаза, является индуктивным ферментом, количество которого зависит от внешнего окислительного стресса.

Каталазная активность была выявлена у всех штаммов, выделенных при посевах с миндалин больных с хроническим тонзиллитом. При количественной оценке каталазной активности бактерий обнаружено, что наиболее высокая активность фермента наблюдалась у штаммов стафилококков (4,0-5,1 ед\20млн), штаммы стрептококков обладали достоверно более низкой каталазной активностью (2,2-2,5 ед\20млн и 2,3-2,7 ед\20млн, соответственно) ( $p < 0,05$ ).

В дальнейшем оценивали эффективность внутриклеточного киллинга бактерий с различной каталазной активностью. Обнаружили, то существует корреляция между

выживаемостью бактерий после фагоцитоза и их способностью разлагать перекись водорода. Спектрофотометрическая оценка каталазной активности лейкоцитов и стафилококков по отдельности и при смешивании (в соотношении 1:100) показала, что она практически не снижалась у стафилококков в процессе фагоцитоза (данные не приводятся). При оценке эффективности внутриклеточного киллинга бактерий фагоцитами обнаружено, что штаммы, активно продуцирующие каталазу, в среднем в 40 % случаев не уничтожаются в фагосомах, что приводит к персистенции инфекционного агента в организме. Коэффициент корреляции между каталазной активностью штаммов и способностью их к колониеобразованию после фагоцитоза равен 0,9.

При оценке супероксид дисмутазной активности бактерий обнаружено, что изученные штаммы таковой не обладали (данные не приводятся).

**Заключение.** Таким образом, среди возбудителей ХТ у больных наиболее часто встречается грамположительная кокковая флора с выраженным персистентным потенциалом в сочетании с антибиотикорезистентностью. Комплекс выявленных свойств возбудителей хронических тонзиллитов определяет необходимость поиска новых методов терапии с применением препаратов неантибактериального происхождения, воздействующих на факторы противостояния бактерий врожденному и приобретенному иммунитету.

### Список литературы

1. Азаматова Э. К. Цитокиновый статус крови и небных миндалин у детей с хроническим тонзиллитом / Э. К. Азаматова, З. Ф. Хараева, Г. С. Мальцева // Российская отоларингология. – 2009. – № 4(41). – С.3-7.
2. Бухарин О. В. Биомедицинские аспекты персистенции бактерий // ЖМЭИ. – 1994. – Приложение. – С.4-13.
3. Бухарин О. В., Усвяцов Б. Я., Хуснутдинова Л. М. Некоторые особенности микрофлоры миндалин и межмикробного взаимодействия (в норме и при патологии) // ЖМЭИ. – 2000. – № 4. – С.82-84.
4. Навашин С. М. Микро- и макроорганизм – взаимодействие в инфекционном процессе при антибактериальной терапии / С. М. Навашин // Антибиотики и химиотерапия. – 1998. – Т.43, № 11. – С.3-5.
5. Нагоева М. Х. Состояние показателей фибронектина у больных бактериальной ангиной // Клиническая лабораторная диагностика. – 2010. – № 9. – С. 64а-64б.
6. Нагоева М. Х. оценка состояния провоспалительных и противовоспалительных

цитокинов у больных бактериальной ангиной // Вестник медицинских технологий. – 2009. – Е16. – № 1. – С.85-88.

7. Хараева З. Ф., Азаматова Э. К. Факторы персистенции возбудителей хронических тонзиллитов // Проблемы и перспективы современной науки. – 2009. – Т. 2, вып. 1. – С.234-235.

8. Kanatani H., Martin S. E. Catalase and superoxide dismutase activities in virulent and nonvirulent *Staphylococcus aureus* isolates // J. Clin. Microbiol. – 1985. – Vol. 21. – P.607-610.

9. Misra H. P., Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase // J. Biol. Chem. – 1972. – V. 247. – P.3170.

10. Nielsen S. L., Black F., Storgaard M., Obel N. Evaluation of a method for measurement of intracellular killing of *Staphylococcus aureus* in human neutrophil granulocytes // J. Biochem. – 1995. – Vol.118(2). – P.271-277.