

не присутствуют в составе кишечной микрофлоры. Пробиотическая роль препарата *V. cereus* сводится, прежде всего, к созданию благоприятного микроокружения для представителей нормальной кишечной микрофлоры и синтезу биологически активных веществ, а также к улучшению пищеварения, поскольку бактерии *V. cereus* проявляют антагонизм по отношению к гнилостной микрофлоре. Кроме того, ферменты, выделяемые этими бактериями, расщепляют жиры, углеводы и белки, предотвращая развитие процессов гниения в кишечнике.

Значительное снижение связывания секреторного иммуноглобулина А с бактериями после температурной обработки препарата указывает на важную роль конформации этого полимерного иммуноглобулина в реализации его связывающей способности. Установлено также, что увеличение концентрации sIgA стимулирует развитие пробиотических бактерий и тем самым способствует нормализации микробиоценоза кишечника.

#### Литература

1. Hooper L.V., Littman D.R. and Macpherson A.J. Interactions between the microbiota and the immune system / L.V. Hooper // *Science*, 2012. – N 336. – P. 1268-1273.

2. Phoom, C and E. M. Nolan. Defensins, Lectins, Mucins and Secretory Immunoglobulin A: Microbe-Binding Biomolecules that Contribute to Mucosal Immunity in the Human Gut/ C. Phoom//*Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 2017. – V. 52. – N 1. – P. 45-56.

3. Sansonetti, P.J. To be or not to be a pathogen: that is the mucosally relevant question/ P.J. Sansonetti// *Mucosal Immunol.*, 2011. – N. 4. – P. 8-14.

## МИКРОФЛОРА НЁБНЫХ МИНДАЛИН ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ТОНЗИЛИТЕ

**Рыбак Н.А., Соколова Т.Н.**

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь

Кафедра инфекционных болезней

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С.И. Гельберга

**Актуальность.** Хронический тонзиллит (ХТ) несмотря на достижения медицинской науки и практического здравоохранения, занимает одно из лидирующих мест среди заболеваний ротоглотки, на его долю приходится 24,8-35,0% в структуре всей ЛОР-патологии, как у взрослых, так и у детей [1, 3]. Тенденция к росту заболеваемости сохраняется и в настоящее время. ХТ представляет собой хронический процесс в небных миндалинах, проявляющийся стойкой воспалительной

реакцией, а морфологически альтерацией, экссудацией и пролиферацией, обусловленный угнетением неспецифических факторов естественной защиты организма, нарушении гуморального и клеточного звеньев иммунитета. Основными возбудителями ХТ являются представители патогенной, условно-патогенной микрофлоры, вирусы, грибы. Причиной ХТ может быть аллергическое воспаление, дисбиоз верхних дыхательных путей, которые обеспечивают естественную инволюцию миндалин и способствуют замещению лимфоидной паренхимы соединительной тканью, зачастую способствуя развитию метатонзиллярных осложнений. Ассоциации микробных сообществ, и их способность формировать биопленки являются существенным фактором резистентности, и составляют проблему эффективности терапии [2, 3].

**Цель.** Изучить состав микрофлоры небных миндалин, биопленочных микроорганизмов, ассоциированных с хроническим тонзиллитом.

**Материалы и методы исследования.** Всем пациентам с целью исследования были взяты мазки на флору чувствительность к антибиотикам дважды: с поверхности небных миндалин до операции, а затем продублирован второй мазок, из глубоких отделов лакун небных миндалин через дополнительный разрез со стороны капсулы после тонзилэктомии. Вторым этапом изучали состав микроорганизмов в составе микробных биопленках у 13 пациентов хроническим декомпенсированным тонзиллитом. Забор материала проводился трижды: с зевной поверхности небных миндалин, из кусочка биопсийного материала, взятого в устье лакуны, из глубокого отдела лакуны после выполнения тонзилэктомии через дополнительный разрез со стороны капсулы удаленной миндалины. Материал засевался на 5% кровяной агар, маннитно-солевой, желточно-солевой агар, на среду Эндо, для выделения грам-плюс и грам-минус флоры, а для выделения грибов посев осуществляли на среду Сабуро.

Контроль роста микроорганизмов, выделение чистой культуры, проводили по классическим методикам. Идентификацию планктонной флоры и биопленочных микроорганизмов, чувствительность к антибиотикам, определяли на анализаторе VITEK<sup>®</sup> 2. Из общего числа выделенных изолятов для изучения свойств микроорганизмов из биопленок отобраны наиболее часто встречающиеся микроорганизмы: *S. aureus*, *S. mitis*, *S. oralis*, *S. pseudoporcinus*, *S. parasanguinis*, *Rothia dentocariosa*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *K. kristinae*, *K. pneumoniae*, *C. albicans*, из которых в искусственных условиях вновь были воссозданы биопленки, в таких комбинациях, как они находились в естественных условиях, на поверхности и глубине миндалин, включая их

сочетания, которые сохраняли в триптозо-соевом бульоне (TSB) содержащем 15% глицерин. Перед тестированием микроорганизмы кроме дрожжей пересеивали на триптозо-соевый агар с 5% бараньей кровью (TSAB) и инкубировали при 37°C в течение 24 часов, затем пересеивали на бульон Мюллера-Хинтона с добавлением 2% глюкозы. Дрожжи пересеивали на агар Сабуро инкубировали при 35°C в течении 48 часов.

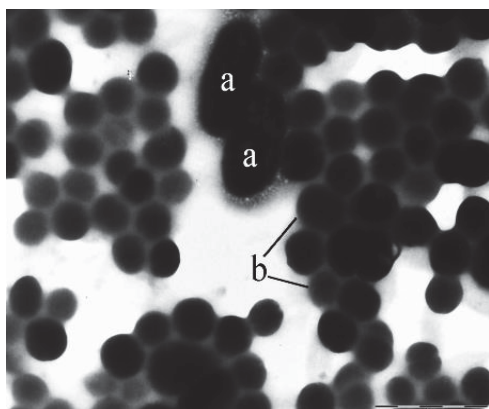
Разработана методика получения биопленок в искусственных условиях с учетом диагностированного пейзажа микроорганизмов (монокультура, микст), выделенных от пациентов с поверхности и глубины миндалин. Для получения биопленок в искусственных условиях готовили рабочую взвесь микроорганизмов. Брали 2 мл 24 часовой культуры бактерий в жидкой питательной среде, вносили в 10 мл свежеприготовленного мясо-пептонного бульона с 2% глюкозой. При необходимости получения бактериальной пленки из различных микроорганизмов, выросшие бульонные культуры смешивали в одинаковых пропорциях, взвесь вносили в стерильные 96-луночные планшеты, помещали в термостат для инкубации. В течение 3-х дней ежедневно промывали лунки фосфатным буферным раствором (pH 7,2-7,4), а затем вносили свежую питательную среду и продолжали инкубировать. Контроль роста биопленок в планшетах осуществляли с помощью медных сеточек покрытых формваровой плёнкой для электронной микроскопии, электронным микроскопом JEM1011 (JEOL, Япония). Полученные биопленки использовали для дальнейшего исследования *in vitro*. Таким образом, было получено 12 вариантов биопленок состоящих из одного, двух и трех видов микроорганизмов.

**Результаты.** Проанализированы результаты бактериологических посевов из зевной поверхности и глубоких отделов лакун небных миндалин у 102 пациентов с ХТ. В результате были выделены 48 видов различных микроорганизмов, которые были представлены 8 группами: стрептококками, стафилококками, микрококками, энтеробактериями, НФГБ, энтерококками, мезофилами, грибами рода *Candida*.

Из общего числа изолятов, для изучения свойств микроорганизмов из биоплёнок, были отобраны *S. aureus*, *S. mitis*, *S. oralis*, *S. pseudoporcinus*, *S. parasanguinis*, *Rothiadentocariosa*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *K. kristinae*, *K. pneumoniae*, *C. albicans*, из которых в искусственных условиях вновь воссозданы биопленки, в таких комбинациях, как они находились в естественных условиях, на поверхности и глубине миндалин, включая их сочетания. Совпадение выделенных микроорганизмов в составе биоплёнок с поверхности миндалин и из глубины составило 4 случая (31%), частичное совпадение 3 случая (23%), полностью отличались по составу биопленок – в 6 (38%) случаях.

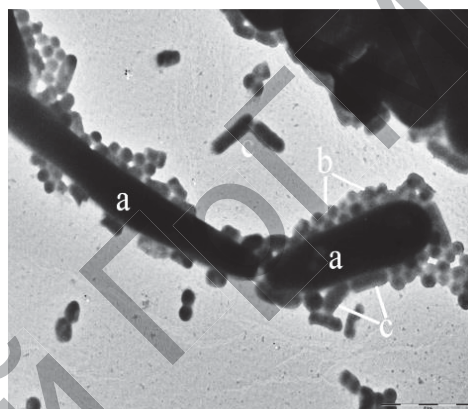
Представлялось важным провести контроль роста 12 вариантов биопленок, состоящих из одного, двух и трех видов микроорганизмов. Визуализация микробных пленок представлена на (рисунках 1, 2) методом электронной микроскопии (микроскоп JEM1011, JEOL, Япония).

На представленных снимках в электронном микроскопе хорошо видны воссозданные биопленки, представленные стафилококками и кандидами (рис.1), а также на электронограмме (2) виден конгломерат в виде стафилококков и клебсиелл адгезированных на поверхности кандиды.



**Рисунок 1. – Биоплёнка:**  
**a – грибы рода Candida,**  
**b – стафилококки**

Ув. x15000, электронная микроскопия



**Рисунок 2. – Электронограмма:**  
**a – грибы рода Candida,**  
**b – стафилококки, c – клебсиеллы**

Ув. x5000

### **Выводы:**

1. При ХТ микробный пейзаж представлен 8 группами условно-патогенных микроорганизмов, качественный состав которых отличается на поверхности и в глубине миндалин, установлено, что у 85% пациентов обнаружены биопленки, представленные грамположительными кокками, грамотрицательными анаэробами, энтеробактериями и грибами.

2. У пациентов с ХТ выделены биопленки, доказана способность к биопленкообразованию *in vitro*, что подтверждено с помощью электронной микроскопии.

### **Литература**

1. Микробиологические и морфологические аспекты хронического тонзиллита / В.М. Цыркунов, Н.А. Рыбак, А.В. Васильев, Р.Ф. Рыбак // Инфекц. болезни. – 2016. – Т. 14, № 1. – С. 42-47.

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

3. Чувствительность/резистентность микроорганизмов, выделенных из биопленок, к антибактериальным средствам при хроническом тонзиллите / Н.А. Рыбак, Т.Н. Соколова, В.М. Цыркунов, О.Б. Островская // Клиническая инфектология и паразитология. – 2016. – № 2 (17). – С. 171-182.