

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 616.322-002.2-076-078

РЫБАК
Наталья Анатольевна

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ И
КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА
ХРОНИЧЕСКОГО ТОНЗИЛЛИТА**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальности 14.01.09 – инфекционные болезни

Минск, 2017

Научная работа выполнена в учреждении образования «Гродненский государственный медицинский университет»

**Научный
руководитель:**

Цыркунов Владимир Максимович,
доктор медицинских наук, профессор, профессор
кафедры инфекционных болезней учреждения
образования «Гродненский государственный
медицинский университет»

**Официальные
оппоненты:**

Жаворонок Сергей Владимирович,
доктор медицинских наук, профессор, профессор
кафедры инфекционных болезней учреждения
образования «Белорусский государственный
медицинский университет»

Петрова Людмила Григорьевна,
доктор медицинских наук, профессор, заведующий
кафедрой оториноларингологии государственного
учреждения образования «Белорусская медицинская
академия последипломного образования»

**Оппонирующая
организация:**

учреждение образования «Витебский государственный
ордена Дружбы народов медицинский университет»

Защита состоится 7 апреля 2017 г. в 14.00 на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.04 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, e-mail: uchsovet@bsmu.by, тел. 272-55-98.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Автореферат разослан 28 февраля 2017 г.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций
кандидат медицинских наук, доцент



А.М. Дронина

ВВЕДЕНИЕ

Хронический тонзиллит (ХТ) – очаг хронической инфекции в организме, периодически проявляющейся стойкой воспалительной реакцией небных миндалин, морфологически выражающейся альтерацией, экссудацией и пролиферацией [Плужников М. С. и соавт., 2010]. Проблема выхода ХТ за пределы оториноларингологии объясняется двумя причинами: миндалины являются центральным органом в регуляции и функционировании иммунной системы, ответственной за защиту дыхательных путей и орофарингеального пространства; значительной распространенностью ХТ среди детей и лиц молодого возраста [Быкова В. П., 2011; Иудина Т. А., 2010].

Заболеваемость ХТ колеблется в разных странах от 15,8 до 35% [Андриянова И. В. и соавт., 2015], среди трудоспособного населения 11-16%, у детей в возрасте 3-х лет – 2-3%, к 12 годам – 12-15%, а среди часто болеющих детей каждый второй страдает ХТ [Пальчун В. Т., 2012]. На долю ХТ приходится 24,8-35,0% всей патологии ЛОР-органов у взрослых и у детей [Каспранская Г. Р., 2013]. Согласно отчетам ЛОР-отделений за последнее десятилетие количество плановых тонзиллэктомий увеличилось в 3-4 раза.

Значительное число исследований по проблеме ХТ посвящено изучению микробиоценоза миндалин и признанию основной роли β -гемолитического стрептококка группы А (*S. pyogenes*, БГСА) в его развитии [Мирзоева Е. З., 2015]. Анализ таких работ показывает, что забор материала для бактериологического исследования проводился при обострении тонзиллита с поверхности, а не из глубины лакун [Окулич В. К. и соавт., 2012], на что был направлен потенциал лекарственных средств [Шляга И. Д., 2008]. Высокую заболеваемость ХТ объясняют синергизмом грибковой флоры с другими представителями микробиоценоза ротоглотки, пролонгирующими воспалительный процесс в миндалинах [Волосач О. С., 2009].

Большинство исследователей связывают структурную перестройку миндалин с естественной эволюцией, однако ХТ является, к сожалению, «достоянием» детей и лиц молодого возраста, у которых эволюцию миндалин нельзя объяснить только возрастом [Быкова В. П., 2004]. В связи с этим важно получить ответ на вопрос о роли микроорганизмов в развитии патологической эволюции органа методами морфологической оценки изменений основного субстрата воспаления как обязательного компонента инфекционной болезни.

На основании 40-летнего опыта сотрудников кафедры инфекционных болезней ГрГМУ в изучении вопросов диагностики и лечения ХТ было продолжено исследование по установлению взаимосвязи этиологического и морфологического факторов в формировании ХТ [Позняк С. Б., 2002; Цыркунов В. М., 2003].

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами и темами. Научное направление исследования соответствует перечню приоритетных направлений фундаментальных и прикладных научных исследований Республики Беларусь 2011-2015 гг. «Медицина, медицинская техника и технологии, фармация», п. 20 «Профилактика заболеваний», подпункту «Критические технологии: профилактика, эпидемиология и мониторинг неинфекционных и инфекционных заболеваний», п. 21 «Диагностика и лечение заболеваний», подпункту «Диагностика и лечение инфекционных и неинфекционных заболеваний».

Работа выполнена в рамках плановых научно-исследовательских работ учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет» (УО «ГрГМУ») по теме: «Разработка и внедрение новых методов диагностики и лечения социально-значимых инфекционных болезней» (2013-2017 гг., государственная регистрация № 20130881 от 10.06.2013 г.).

Цель и задачи исследования

Цель исследования: установить роль микроорганизмов в развитии патологической эволюции небных миндалин при ХТ.

В соответствии с целью исследования решались следующие **задачи:**

1. Установить характер морфологических изменений в миндалинах и разработать морфологические критерии степени активности и стадии хронизации патологического процесса в миндалинах при ХТ.

2. Определить частоту выделения и устойчивость/чувствительность различных микробных агентов, локализованных на поверхности и в глубине миндалин при ХТ.

3. Установить взаимосвязь микробных агентов, локализованных на поверхности и в глубине миндалин, с морфологическими изменениями в миндалинах и метатонзиллярными осложнениями при ХТ.

4. Определить способность микробных агентов, локализованных на поверхности и в глубине миндалин, формировать биологические пленки и оценить их устойчивость/чувствительность к различным антибактериальным средствам, применяемым в местной терапии ХТ.

Объект исследования: пациенты с ХТ, здоровые лица (добровольцы), удаленные небные миндалины, биоптаты миндалин.

Предмет исследования: микробиоценоз миндалин, морфологические изменения, формирование биопленок, устойчивость/чувствительность, антибактериальная активность.

Научная новизна. Впервые разработаны диагностические, морфологические критерии количественной оценки степени активности и стадии хронизации патологического процесса в миндалинах при ХТ.

Впервые установлено, что основную роль в развитии ХТ играет дисбиоз ротоглотки, представленный 8 группами (48 штаммами) различной УПФ, различающейся между собой на поверхности и в глубине миндалин, разной по устойчивости/чувствительности к антибиотикам и антисептикам, находящейся в межвидовых ассоциациях, формирующих биопленки, противостоящие действию антимикробных средств.

Впервые доказано, что причиной прогрессивного воспалительного процесса в миндалинах является постоянная контаминация миндалин возбудителями, ассоциированными между собой, по-разному влияющими на морфологические показатели степени активности воспаления и стадии патологической эволюции.

Доказано, что характер топоческих метатонзиллярных осложнений при ХТ зависит от ассоциации стрептококковой и стафилококковой микрофлоры, локализованной в глубине миндалин.

Установлено, что большинство антибактериальных средств, применяемых в местной консервативной терапии ХТ, и новые производные 5-нитротиазола (*in vitro*) обладают высокой антимикробной активностью в отношении основных микробных агентов, формирующих биопленки при ХТ.

Положения, выносимые на защиту

1. Патологическая эволюция миндалин при ХТ характеризуется морфологическими изменениями, оценка которых позволяет установить степень активности воспалительного процесса по количественным характеристикам некроза, изъязвления люминарного эпителия и крипт миндалин, инфильтрации люминарного эпителия и крипт нейтрофилами, выраженности воспалительного инфильтрата и активности воспаления в межфолликулярной зоне миндалин, выявляемых у 100% пациентов, стадию хронизации воспаления по количественным параметрам выраженности фиброза в межфолликулярной зоне и под эпителием, перестройке сосудистого русла (ангиоматозу), акантозу и лейкоплакии эпителия крипт и миндалин, выявляемых с разной частотой. Полуколичественная оценка морфологических изменений в миндалинах может дополнить показания для проведения плановой тонзиллэктомии у пациентов с ХТ.

2. Причиной патологической эволюции миндалин при ХТ является дисбиоз ротоглотки, обусловленный разной УПФ, спектр которой на поверхности и в глубине миндалин различается между собой и представлен внутривидовыми и межвидовыми ассоциациями стрептококков 3-й серогруппы, преимущественно со стафилококками, энтеробактериями, грибами и НФГБ, способными формировать биологические пленки. Одновременное выделение стафилококков с поверхности и из глубины миндалин в 2 раза превышает выделение стрептококков, что свидетельствует о ведущей этиологической роли

семейства стафилококков при ХТ. Дополнительное влияние на пролонгирование инфекционного процесса и формирование условий для персистенции других возбудителей в глубоких отделах миндалин оказывают *K. pneumoniae* и *E. cloacae*, НФГБ и лактобактерии мезофильной группы.

3. Пролонгирование активности инфекционного процесса в миндалинах при ХТ обусловлено стрептококками 3-й серогруппы, НФГБ и представителями лактобактерий, у которых установлена положительная корреляционная связь с основными морфологическими показателями активности и стадиями хронизации воспалительного процесса в миндалинах ($p < 0,05$). На развитие метатонзиллярных осложнений ХТ, чаще диагностируемых у пациентов с длительностью болезни до 5 лет, преимущественное влияние оказывают стафилококки и стрептококки, которые при поражении суставов ассоциированы с грибами рода *Candida ssp.*, при нефропатиях – с НФГБ, кардиопатиях – энтеробактериями.

4. Микроорганизмы, выделенные с поверхности и из лакун миндалин, имеют высокую устойчивость к незащищенным пенициллинам, цефалоспорином I и II генерации, эритромицину, тетрациклину, а к аминогликозидам, особенно 3-го поколения, фторхинолонам и цефалоспорином III и IV генераций, сохраняют высокую чувствительность. Микробные агенты, способные формировать биопленки, характеризуются мультирезистентностью к антибактериальным препаратам. Наиболее устойчивым штаммом является *S. aureus*, способный усиливать устойчивость в несколько раз, находясь в составе биопленки как в виде моно-, так и ассоциативной микрофлоры. Фурацилин в концентрации 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 мг/мл сохраняет антимикробную активность в отношении биопленочной микрофлоры (*S. aureus*, его ассоциации с *K. pneumoniae*, *C. albicans*, *S. pseudoporcinus*, *E. rhusiopathiae*). Йодиол в разведении 1/16 и хлоргексидин в концентрации 0,0625 мг/мл имеют высокую антимикробную активность при воздействии на биопленочные микроорганизмы (*S. aureus*, *K. pneumoniae*, *C. albicans*) в отличие от фурасола (28,6 мг/мл), имеющего низкий бактерицидный эффект на биопленочные штаммы *S. aureus* и его комбинации с другой УПФ. Наиболее высокой антимикробной активностью в отношении биопленочных агентов обладает комбинация хлоргексидина (0,0625 мг/мл) и производного 5-нитротиазола (0,0625 мг/мл), в 16 раз снижающая рекомендуемую концентрацию хлоргексидина.

Личный вклад соискателя ученой степени. Диссертационная работа является самостоятельным научным исследованием, выполненным автором. Тема диссертационного исследования, цель, задачи и методологические подходы сформулированы соискателем совместно с научным руководителем.

Соискателем предложена и реализована научная идея разработки новых

методов полуколичественной морфологической оценки степени активности и стадии хронизации воспалительного процесса в миндалинах, что отражено в публикациях и заявках на патенты, написанных без соавторов и в соавторстве с научным руководителем [4, 5, 8, 23-25], личный вклад соискателя – 90%. Разработка нового метода прижизненной биопсии миндалин для морфологической диагностики патологической эволюции миндалин при ХТ и бактериологического исследования микрофлоры из глубины лакун миндалин отражена в публикациях [15, 19, 20, 23], вклад соискателя – 90%. Установление характера дисбиоза ротоглотки, являющегося причиной развития ХТ, представленного различными ассоциациями условно-патогенной микрофлоры, отличающейся по видовому составу и по чувствительности к антибактериальным средствам, в зависимости от локализации возбудителей на поверхности или в глубине лакун миндалин представлено в публикациях без соавторов и в соавторстве [1, 2, 9-13, 21], вклад соискателя – 85%. Доказательства способности отдельных штаммов микроорганизмов формировать в глубине миндалин биологические пленки и увеличивать в их составе устойчивость к антибиотикам в несколько раз отражены в публикациях [6, 16, 18], вклад соискателя – 85%. Установление зависимости преобладающих в миндалинах штаммов условно-патогенной микрофлоры от характера и выраженности морфологических изменений в миндалинах и частоты развития различных метатонзиллярных осложнений представлено в совместных публикациях [3, 5, 8, 14, 17], вклад соискателя – 80%. Определение устойчивости/чувствительности различных штаммов условно-патогенной микрофлоры, формирующих биопленки, к наиболее часто применяемым в клинике местным антисептическим средствам для лечения ХТ отражено в совместных публикациях [7, 18], вклад соискателя – 85%.

На основании проведенного исследования разработана инструкция по применению «Метод диагностики степени активности и стадии хронического тонзиллита» (утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь, регистрационный № 014-0315 от 07.05.2015 г.) [22], вклад соискателя составил – 85%.

Формирование компьютерной базы данных, анализ и оценка полученных результатов, их статистическая обработка, оформление результатов диссертационного исследования выполнены соискателем лично. Выносимые на защиту научные положения, основные научные результаты диссертации, практические рекомендации сформулированы непосредственно автором при консультировании научного руководителя.

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов. Основные положения и результаты диссертации доложены и обсуждены на научных конференциях и симпозиумах: «Актуальные проблемы медицины»

(Гродно, 15 декабря 2011 г.); «Актуальные вопросы инфекционной и смежной патологии», посвящённой 50-летию кафедры инфекционных болезней с курсом детских инфекций (Гродно, 4 октября 2012 г.); VII съезде оториноларингологов РБ (Брестская область, д. Каменюки, 21-22 октября 2013 г.); VI съезде инфекционистов РБ (Витебск, 29-30 мая 2014 г.); на конференции «Современные проблемы инфекционной патологии человека», посвящённой 90-летию РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (Минск, 30-31 октября 2014 г.); VIII съезде оториноларингологов РБ (Гомель, 6-7 октября 2016 г.).

Результаты исследования использованы при разработке 1 инструкции по применению. Получены 5 актов внедрения в лечебную практику и учебный процесс в УЗ «Гродненская областная инфекционная клиническая больница», УЗ «Городская клиническая больница № 2 г. Гродно», УЗ «Витебская областная клиническая больница», УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет». Получено положительное решение о выдаче патента на изобретение и два уведомления о положительном результате предварительной экспертизы по 2-м заявкам на выдачу патентов.

Опубликование результатов диссертации. По теме диссертации опубликовано: 7 статей в рецензируемых научных журналах в соответствии с п. 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь общим объёмом 3,898 авторских листа; 12 статей в сборниках, материалах республиканских и международных научно-практических конференций объёмом 1,74 авторских листа; 2 тезиса в сборниках международных и республиканских конференций общим объёмом 0,243 авторских листа; издана 1 инструкция по применению. Получены: 1 положительное решение о выдаче патента и 2 приоритетные справки на поданные заявки на изобретения. Без соавторов опубликовано 6 печатных работ (1 статья в рецензируемом научном журнале и 5 статей в сборниках, материалах республиканских и международных научно-практических конференций общим объёмом 1,61 авторских листа).

Структура и объём диссертации. Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 5 глав собственных исследований, заключения, библиографического списка и приложений. Полный объём диссертации составляет 149 страниц компьютерного текста, содержит 20 рисунков, 31 таблицу и 3 приложения объёмом 16 страниц. Библиографический список включает 297 источников (на русском языке – 190, на иностранном языке – 107), 21 публикацию автора, 1 инструкцию по применению, 1 положительное решение о выдаче патента и 2 приоритетные справки на заявки на изобретения.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Материал и методы исследования. Проспективное контролируемое клиническое исследование проведено открытым методом на кафедре инфекционных болезней и НИЛ УО «Гродненский государственный медицинский университет», на базах оториноларингологического (ЛОР) отделения и клинико-диагностической лаборатории УЗ «Гродненская областная клиническая больница», 1-го инфекционного отделения и диагностической лаборатории УЗ «Гродненская областная инфекционная клиническая больница», УЗ «Гродненское областное патологоанатомическое бюро».

Объектом исследования были 115 пациентов с ХТ, 102 из которых (1-я группа) выполнена плановая классическая тонзиллэктомия с микробиологическим и морфологическим исследованием миндалин, 13 пациентам (2-я группа) проведена прижизненная биопсия нёбных миндалин для формирования биоплёнок и определения чувствительности флоры к антибиотикам и антисептикам. Контрольную (3-ю группу) составили 10 здоровых добровольцев без признаков ХТ, которым проведена прижизненная биопсия нёбных миндалин и микробиологическое исследование материала.

Все пациенты находились в стационарных условиях гнойного отделения ЛОР для взрослых УЗ «ГОКБ» в период с сентября 2011 г. по август 2012 г. и в июне 2015 г. Диагноз декомпенсированной формы ХТ на стадии клинической ремиссии установлен в стационаре врачом-оториноларингологом в соответствии с МКБ-10. Обследование проведено согласно клиническим протоколам по ХТ. Все пациенты и здоровые добровольцы были ознакомлены с протоколом исследования и подписали информированное согласие на участие в нем (протокол комитета по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета № 04 от 07.02.2014 г.).

Морфологическая диагностика степени активности и стадии хронизации воспаления в миндалинах. Удаленные миндалины фиксировались в 10% нейтральном растворе формалина. После фиксации миндалина разрезалась на 5-6 кусочков размером 1,5×1,5×0,2 см и осуществлялась их проводка в спиртах восходящей концентрации. После проводки кусочки заливались в парафин. Гистологические срезы окрашивались гематоксилином и эозином, а также пикрофуксином по Ван-Гизону. Срезы изучали в световом микроскопе по общепринятым методикам, а морфологическая оценка изменений в миндалинах проводилась по оригинальной методике (инструкция по применению «Метод диагностики активности и стадии хронизации хронического тонзиллита» от 7.05.2015 г. № 014-0315) [22]. Для прижизненной морфологической диагностики изменений в миндалинах разработан оригинальный метод (положительное решение о

выдаче патента от 14.11.2016 г. «Способ забора биопсийного материала из небных миндалин для морфологического исследования», заявка № а20131089 от 18.09.2013 г.) [23]. Осложнений при проведении биопсии не было.

Для определения морфологических критериев оценки активности воспалительного процесса и стадии хронизации в миндалинах при ХТ оценивалось 25 показателей [22].

В ранговую систему подсчета были включены следующие показатели *морфологической оценки степени активности ХТ*: некроз и изъязвление люминарного эпителия миндалин; инфильтрация люминарного эпителия миндалин нейтрофилами; некроз и изъязвление эпителия крипт миндалин; инфильтрация эпителия крипт нейтрофилами; характеристика крипт и их инфильтрация нейтрофилами; степень выраженности и распространённость воспалительного инфильтрата в межфолликулярной зоне миндалин; активность воспалительного процесса в межфолликулярной зоне (заявка на патент № а20140324 «Способ определения степени активности хронического тонзиллита» от 13.06.2014 г.) [24].

В ранговую систему подсчета были включены следующие показатели *морфологической оценки стадии хронизации ХТ*: фиброз в миндалинах; перестройка сосудистого русла (ангиоматоз); изменения эпителия в виде лейкоплакии и акантоза (заявка на патент № а20150181 «Способ определения стадии хронизации хронического тонзиллита» от 06.04.2014 г.) [25].

Морфологические изменения анализировали в 10 случайных полях зрения при увеличении микроскопа в 100 крат и выражали в баллах от 0 до 6: 0 баллов – отсутствие изменений; 1-2 балла – минимальные изменения; 3-4 балла – умеренные изменения; 5-6 баллов – выраженные изменения.

Окончательный показатель морфологической диагностики активности и стадии хронизации процесса в миндалинах определяли суммированием баллов (S): при S=0-2 балла – отсутствие активности; при S=3-10 баллов – низкая степень активности; при S=11-20 баллов – умеренная степень активности; при S \geq 21 балла – высокая степень активности ХТ; стадия хронизации при S=0-2 балла – отсутствие фиброза; при S=3-10 баллов – 1-я начальная стадия хронизации; при S=11-20 баллов – 2-я (умеренная) стадия хронизации, при S \geq 21 балла устанавливалась 3-я, выраженная стадия хронизации ХТ.

Диагностика микробиоценоза миндалин. Проведено бактериологическое исследование планктонной (с поверхности миндалин), глубинной (из лакун) и биопленочной микрофлоры с определением колониеобразующих единиц (КОЕ) и чувствительности к антибактериальным средствам (АБС). Видовую идентификацию микроорганизмов проводили по классическим методикам (инструкция Минздрава Республики Беларусь от 19.03.2010 г. № 075-0210 «Микробиологические методы исследования биологического материала»).

Чувствительность и резистентность микроорганизмов к антибиотикам и антисептикам исследовали на микробиологическом анализаторе VITEK[®] 2 (BioMerieux). Использовали карты Antimicrobial Susceptibility Test к системам VITEK[®] 2 Systems, позволяющие определить минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) в соответствии с инструкцией «Методы определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам», утверждённой Министерством здравоохранения Республики Беларусь (№ 226-12-08, декабрь 2010 г.). Для выращивания биопленок использовали стерильные 96-луночные полистироловые U-образные планшеты объемом 323 мкл. Контроль роста 12 вариантов биопленок, состоящих из одного, двух и трех видов микроорганизмов (рисунки 1, 2) проводили методом электронной микроскопии (микроскоп JEM1011, JEOL, Япония).

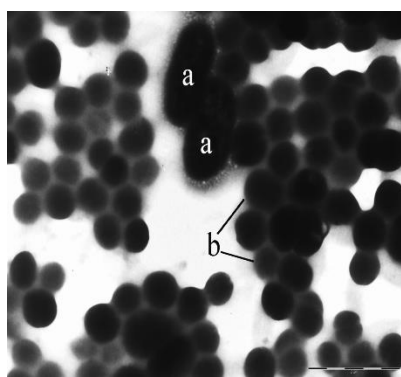


Рисунок 1. – Биоплёнка: а – грибы рода Candida, b – стафилококки, ув. × 15000, электронная микроскопия

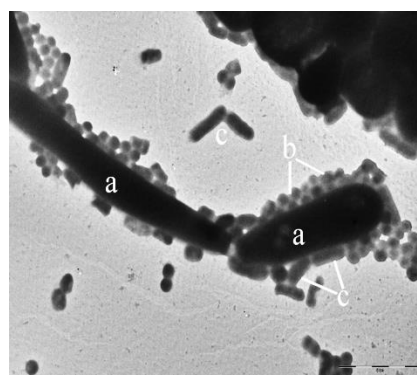


Рисунок 2. – Электронограмма: а – грибы рода Candida, b – стафилококки, c – клебсиеллы, ув. × 5000

Чувствительность/устойчивость биопленочных штаммов изучена к наиболее часто используемым в клинике антисептикам (йодиол, фурацилин, фурасол и хлоргексидин) в разных концентрациях, а также комбинации хлоргексидина и нового производного 5-нитро-2-аминотиазола.

Статистический анализ данных проводился с помощью программного обеспечения STATISTICA 6.0. 437.0 для Windows (Stat Soft, Inc., США), лицензионный номер 31415926535897 и SPSS v19.0 (IBM Company, США). При анализе категориальных данных использован точный двусторонний тест Фишера как альтернатива критерию χ^2 -Пирсона. Достоверность различий принята при уровне статистической значимости $p < 0,05$. Для проверки гипотез использовался критерий знаков для попарного сравнения долей проявления признака в пределах одной и той же группы – z-критерий сравнения долей. Если количество сравниваемых групп превышало 2, вносилась поправка Холма для уровней статистической значимости. В случае необходимости проводилось угловое преобразование долей.

Результаты собственных исследований

Морфологическая оценка изменений в миндалинах при ХТ и в контрольной группе. Основным показателем активности воспаления (некроз и изъязвление) был более выраженным в эпителии крипт у 89,2% пациентов, а в эпителии миндалин признак отсутствовал у 69,6%. Выраженность воспалительного инфильтрата в межфолликулярной зоне миндалин, приводящего к склерозу, равному 3-5 баллам, была у 87,1%, инфильтрация эпителиа миндалин нейтрофилами отсутствовала у 31,3% пациентов. Установлено, что плановая тонзиллэктомия у 16,7% пациентов была проведена при высокой активности воспаления, причем рутинные методы диагностики до операции не указывали на активный воспалительный процесс (таблица 1).

Таблица 1. – Суммарные показатели активности воспаления при ХТ (n=102)

Показатели активности	Баллы	Частота, абс/%
Отсутствует	0-2	0
Низкая	3-10	22/21,5
Умеренная	11-20	63/61,8
Высокая	21 и более	17/16,7

Фиброз разной стадии имел место у 100% пациентов с ХТ, однако у 18,6% прооперированных выявлена I стадия хронизации, свидетельствующая о сохранении лимфоидного компонента миндалин (таблица 2).

Таблица 2. – Суммарные показатели стадии хронизации при ХТ (n=102)

Стадия хронизации	Баллы	Частота, абс/%
Отсутствие хронизации (0 стадия)	0-2	0
Начальная (I стадия)	3-10	19/18,6
Умеренная (II стадия)	11-20	82/80,3
Выраженная (III стадия)	21-и более	1/0,98

В контрольной группе у 6 из 10 лиц установлена низкая активность воспаления, а признаки начальной (I) стадии хронизации выявлены у 5, что подтверждало наличие у них морфологических признаков ХТ.

Сравнительный бактериологический анализ микрофлоры из поверхностных структур и глубоких отделов миндалин. С зевной поверхности и глубоких отделов миндалин выделено 48 видов микроорганизмов из 8 групп: стрептококки, стафилококки, микрококки, энтеробактерии, неферментируемые грамм (-) бактерии (НФГБ), энтерококки, лактобактерии мезофильной группы и грибы рода *Candida*.

Стрептококки выделялись (независимо от места забора материала) в монокультуре в 28,3 и 21,3%, в микст-культуре – 60,4 и 59% ($p < 0,05$). В глубоких отделах миндалин они выявлялись в низких концентрациях (10^3 и 10^4 КОЕ) – 90%, на поверхности – 79% ($p < 0,05$). Высокие концентрации (10^5 , 10^6 КОЕ) выделялись с одинаковой частотой ($p > 0,05$). Стрептококки 1-2 серогрупп, включая *S. pyogenes*, не выделены. Основными агентами были возбудители 3-й серогруппы. Установлена взаимосвязь ХТ с *S. thermophilis*, *S. thoraltensis*, *S. pluranimalium*, выделенными только из глубины миндалин и *G. adiacens* (54,5%), *S. parasanguinis* (50,0%), *S. pneumoniae* и *S. salivarius* (по 33,3%), *S. mitis* (31,6%), *S. oralis* (28,6%), *S. species* (16,6%), выделенными и с поверхности, и из глубины (число совпадений – 32,9%).

Стафилококки, представленные 8 штаммами (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. warneri*, *S. lentus*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. capitis*, *S. sciuri*, другие *S. Гр. (+)* кокки), с поверхности миндалин в монокультуре выделялись у 32,8% пациентов, в микст-культуре – у 67,2% ($p < 0,05$). Выделение стафилококков чаще было из глубоких отделов в микст-культуре – 73,1% ($p < 0,05$), и в низких концентрациях (10^3 – 10^4 КОЕ) – 82,1%. Частота совпадений у них была в 2 раза (62,7%) чаще, чем у стрептококков. Среди стафилококков значительно чаще выделялся *S. aureus* с поверхности (76%) и из лакун (84%), $p < 0,05$.

Микрококки преимущественно выделялись в виде микст-культур из глубоких отделов миндалин ($p < 0,05$) в концентрации 10^3 КОЕ у 100% пациентов, на поверхности – 10^3 – 10^4 КОЕ ($p < 0,05$). Доминировали *K. rosea* на поверхности миндалин (40%) и в глубоких отделах (28,6%), *R. mucilaginosa* (30 и 42,9%) соответственно ($p < 0,05$).

Энтеробактерии были представлены *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. cloacae*, *S. marcescens*, *S. ficaria*, *E. aeruginosa* и чаще высевались в ассоциациях независимо от места выделения (по 83%). Более частым представителем была *K. pneumoniae*, выделенная с поверхности (44,4%) и из глубины (50%) и *E. cloacae* – 27,8% и 16,7%, соответственно.

НФГБ (*V. gladioli*, *V. ceracia* group) выделялись в ассоциациях в низких концентрациях (80-100%) из лакун (по 42,8%). *P. aeruginosa* выделена только из глубины миндалин (14,3%). Совпадения в выделении штаммов наблюдались только у *V. ceracia* group (33,3%).

Энтерококки, представленные *Enterococcus* гр. (+), *E. faecalis*, *E. rhusiopathiae*, выделены только у 1,9-2,9% пациентов. На поверхности доминировали гр. (+) *Enterococcus*, в глубине миндалин – *E. faecalis* и *E. rhusiopathiae* с одинаковой частотой.

Лактобактерии выделялись только из глубины, в микст-культуре, в 10^3 КОЕ, что важно для оценки роли мезофилов в формировании биопленок.

Грибы рода *Candida* выделены в 100% случаев в ассоциации с УПФ. На поверхности преобладали *C. albicans*, *Candida ssp.* (по 37,5%), *C. famata* (25,0%), в глубине – *Candida ssp.* (63,6%), реже *C. albicans* – 9,1% ($p < 0,05$), чаще в концентрации 10^5 КОЕ, в глубине миндалин – 10^3 КОЕ ($p < 0,05$).

Взаимосвязь микробиоценоза и морфологической эволюции миндалин. Наиболее значимая связь планктонной микрофлоры с показателем активности воспаления отмечена у стрептококков ($p < 0,05$) и лактобактерий ($p < 0,005$), меньшая – у энтеробактерий ($p < 0,01$). Выделение стафилококков с поверхности миндалин не коррелировало с активностью воспаления (Sperman Rank Order = -016), несмотря на то что у 60 и 26% пациентов этой группы зафиксирован показатель умеренной и высокой активности в миндалинах.

Положительная корреляционная связь установлена между активностью воспаления (некроз и изъязвление люминарного эпителия) и НФГБ, лактобактериями, выделенными из глубины лакун. В результате сравнения показателей хронизации процесса с микробиоценозом глубоких отделов миндалин установлено, что на I стадии присутствовала флора I, II, IV, V групп с той же частотой, что и на поверхности, дополнительно выявлены микрококки. На II стадии спектр и частота возбудителей изменились в сторону увеличения VI, VII, VIII групп (100%). В III стадии хронизации ХТ микрофлора из миндалин не выделялась в силу отсутствия субстрата для ее персистенции.

Взаимосвязь микробиоценоза миндалин с метатонзиллярными осложнениями. У 81 (79,3%) пациента с ХТ, преимущественно у женщин (60,8%), диагностированы осложнения: поражение суставов – у 39 (38,2%), мочевыводящих путей – у 16 (15,7%), сердечно-сосудистой системы – у 18 (17,6%), хронический паратонзиллит – у 8 (7,8%). При паратонзиллите стрептококки выделялись в 75% случаев, независимо от места забора, при артропатиях – в 64,1% из глубины миндалин. При паратонзиллите стафилококки выделялись из глубины миндалин в 87,5%, при поражении почек – в 61,1%, суставов – у 58,9%, в виде моноинфекции – при паратонзиллите у 25%, при поражении суставов – 23,1%. Вклад УПФ был не одинаковым: энтеробактерии у пациентов с патологией сердца выделялись с поверхности в 25% случаев, из глубины миндалин – в 31,2%, в виде микст-флоры – в 22,2%, грибы – только с поверхности миндалин: при поражении суставов и паратонзиллите – по 25%, поражении почек – 22%.

Устойчивость/чувствительность к антибиотикам и антисептикам планктонных и биопленочных микроорганизмов. У 100% изолятов *S. pneumoniae*, выделенных из глубины миндалин, установлена резистентность к бензилпенициллину, имепенему, эритромицину, тетрациклину, у 50% – к левофлоксацину, линезолиду, рифампицину, триметаприму, хинупристу. Чувствительными *S. pneumoniae* были к моксифлоксацину.

S. aureus, выделенный с поверхности и из глубины миндалин, был устойчив к бензилпенициллину (75 и 72%, соответственно), 31 и 34% – к ванкомицину, 11% – к оксациллину (выделенных из глубины), а в микст-культуре – к клиндамицину, тетрациклину, триметоприму. *S. aureus* с поверхности миндалин в 100% были чувствительны к оксациллину, фторхинолонам, гентамицину, тайгециклину, хинупристину.

Резистентность энтеробактерий к ампициллину (поверхность и лакуны) составила 99 и 90%, к амоксиклаву – 31 и 40%, к пиперацилину – 19 и 10%, к тетрациклинам – 9 и 13%, соответственно. К цефалоспорином I-го, II-го и перорального III-го поколений устойчивость энтеробактерий на поверхности составила от 28 до 36%, в глубоких отделах – 51%, к парентеральным цефалоспорином III и IV поколений чувствительность составила 93 и 91%.

НФГБ, независимо от места забора, были резистентными к ампициллину, цефалоспорином I и II поколений и норфлоксацину в 100%, к амоксиклаву и сульфаниламидам в 50%, к пиперацилину в 25 и 50%, к ципрофлоксацину в 50% (поверхность), нитрофурантоину в 75 и 50%. Абсолютная чувствительность НФГБ выявлена к цефалоспорином III и IV поколений, 100% – к левофлоксацину и моксифлоксацину у планктонных штаммов, к тетрациклину – у изолятов с поверхности чувствительность была у 50%, из глубоких отделов – у 100%. К колистину резистентные НФГБ выявлялись в 50% из лакун, на поверхности все были чувствительными.

Изучение устойчивости/чувствительности биоплёночных микроорганизмов к наиболее часто применяемым антисептикам проводили на штаммах, имеющих важное значение в патологии ХТ: *S. aureus*, *S. mitis*, *S. oralis*, *S. pseudoporcinus*, *S. parasanguinis*, *R. dentocariosa*, *E. rhusiopathiae*, *K. kristinae*, *K. pneumoniae*, *C. albicans* и некоторые другие грибы рода *Candida*.

МИК йодиола на большинство биоплёнок при экспозиции 30 сек. была эффективна в разведении 1/16, для действия на биоплёнку из *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *C. albicans* требовался неразведённый раствор. При увеличении разведения экспозиция воздействия йодиола составляла от 3 до 5 минут.

МИК фурацилина наиболее активно действовала в высокой концентрации на биоплёнку, состоящую из *S. aureus*, *K. pneumoniae* и *C. albicans*, а также на биоплёнку, состоящую из *S. pseudoporcinus*, *E. rhusiopathiae*.

Фурасол (в рекомендованной для практики концентрации в 28,6 мг/мл) оказывал слабый бактерицидный эффект. Биоплёнки, состоящие из *C. albicans* и их разных сочетаний, были наиболее устойчивы к хлоргексидину (МИК 0,5-0,25 мг/мл, срок экспозиции – 30 секунд). Положительное бактерицидное действие хлоргексидина в минимальной концентрации 0,0625 мг/мл на все исследуемые биоплёнки проявлялось при экспозиции не менее 3 минут.

Самую высокую антимикробную активность проявила комбинация хлоргексидина с производным 5-нитротиазола. Большинство биоплёнок были чувствительны к комбинации хлоргексидина с производным 5-нитротиазола в концентрации 0,0625 мг/мл, при минимальной временной экспозиции воздействия в течение 30 секунд.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Оценка морфологических изменений в миндалинах при ХТ позволяет установить характер патологической эволюции органа, обусловленной длительным персистированием в миндалинах УПФ [4, 20, 22, 23]. Основными морфологическими показателями оценки степени активности воспаления при ХТ являются: некроз и изъязвление люминарного эпителия миндалин (30,4%) и крипт миндалин (89,2%), инфильтрация люминарного эпителия и крипт нейтрофилами (68,7%), выраженность воспалительного инфильтрата (97,1%) и активность воспаления в межфолликулярной зоне миндалин (87,1%), суммарно выявленные у 100% пациентов. Низкая активность воспаления констатирована у 22 (21,5%) пациентов, умеренная – у 63 (61,8%) и высокая – у 17 (16,7%) [24]. Основными морфологическими показателями для оценки стадии хронического процесса в миндалинах являются выраженность фиброза в межфолликулярной зоне и под эпителием (100%), ангиоматоз (97%), акантоз (77,5%) и лейкоплакия эпителия крипт и миндалин (7%), выявляемые с разной частотой [25]. Плановая тонзиллэктомия при ХТ у 16,7% пациентов проводится в период максимальной выраженности воспаления, у 18,6% – с начальной (I) стадией хронизации. Дополнительными показаниями для оперативного лечения ХТ являются низкая активность и II-III стадия хронизации воспаления в миндалинах [4, 9, 15, 19].

2. Основной причиной ХТ является дисбиоз ротоглотки, обусловленный различной УПФ, спектр которой на поверхности и в глубине миндалин различается между собой, представлен преимущественно стрептококками 3-й серогруппы: (*G. adiacens* – 54,5%, *S. parasanguinis* – 50,0%, *S. pneumoniae* у *S. salivarius* – по 33,3%, *S. mitis* – 31,6%, *S. oralis* – 28,6%, *S. species* – 16,6%, при суммарном показателе – 32,9%); внутривидовыми и межвидовыми ассоциациями стрептококков с *S. aureus* (76 и 84%), *K. pneumoniae* (44 и 50%), *C. albicans*, *Candida ssp.* (по 37,5%), *C. famata* (25,0%) и НФГБ (*B. ceracia group*) – 33,3%, способными формировать биологические пленки. Среди УПФ, одновременно выделяемой с поверхности и из глубины лакун миндалин, преобладают стрептококки 3-й серогруппы (индекс Spearman Rank Order +0,26; $p < 0,01$), стафилококки (индекс Spearman Rank Order +0,52; $p < 0,001$), энтеробактерии (индекс Spearman Rank Order +0,47; $p < 0,0001$) и НФГБ (индекс

Spearman Rank Order +0,35; $p < 0,0005$). Выделение стафилококков одновременно с поверхности и из глубины миндалин в 2 раза превышает выделение стрептококков, что свидетельствует об этиологической роли семейства стафилококков в патологической эволюции миндалин [1, 2, 12, 13, 21].

3. Среди наиболее частых представителей УПФ, выделяемой из глубины лакун миндалин, достоверно значимую взаимосвязь с интегральным показателем активности воспаления «S» имеют стрептококки 3-й серогруппы (индекс Spearman Rank Order +0,25; $p < 0,05$) и лактобактерии (индекс Spearman Rank Order +0,28; $p < 0,005$). У представителей НФГБ (индекс Spearman Rank Order +0,23; $p < 0,05$) и лактобактерий из группы мезофилов (индекс Spearman Rank Order +0,31; $p < 0,005$) установлена положительная корреляционная связь с некрозом и изъязвлением люминарного эпителия, выраженностью и распространённостью воспаления в межфолликулярной ткани и инфильтрацией крипт нейтрофилами ($p < 0,05$); у энтеробактерий (индекс Spearman Rank Order +0,29, $p < 0,05$), микрококков (индекс Spearman Rank Order +0,25; $p < 0,05$), НФГБ (индекс Spearman Rank Order +0,21; $p < 0,05$) и лактобактерий (индекс Spearman Rank Order +0,22; $p < 0,05$) доказано наличие положительной корреляции с показателями хронизации: лейкоплакией, акантозом, склерозом межфолликулярной зоны миндалин ($p < 0,05$) [5, 7, 10, 11, 24, 25].

4. На формирование метатонзиллярных осложнений ХТ оказывают воздействие стрептококки 3-й серогруппы, выделенные из глубины миндалин у 78,7% пациентов с длительностью болезни до 5 лет, в 100% случаев – от 6 до 10 лет, с персистированием которых связано развитие паратонзиллита (75%) и поражение суставов (64,1%), а также стафилококки, вклад которых в осложнения максимально зафиксирован при паратонзиллите (87,5%), поражениях почек (61,1%) и суставов (58,9%). Этиологическая роль грибов, выделенных из глубины миндалин в 14,3% в виде микст-форм, в возникновении метатонзиллярных осложнений является не определяющей. На развитие основных осложнений ХТ преимущественно влияет не моно-, а микст-инфекция в виде стрептококковой и стафилококковой инфекций (от 35,9% при поражении почек до 75,0% при паратонзиллите). Дополнительный вклад в развитие поражения сердца вносят энтеробактерии, ассоциированные с другими возбудителями, у 25% пациентов [3, 14, 17].

5. У микроорганизмов, выделенных с поверхности и из глубоких отделов миндалин, имеется высокая устойчивость к группе незащищённых пенициллинов, цефалоспоринов I и II генерации, эритромицину, тетрациклину, а к аминогликозидам, особенно 3-го поколения, фторхинолонам и цефалоспорином III и IV генерации, сохраняется высокая чувствительность. Возбудители, способные формировать биопленки, характеризуются

мультирезистентностью и высокой устойчивостью к антибиотикам. Наиболее устойчивые к антибиотикам штаммы – популяция *S. aureus*, способная в составе ассоциативной биопленочной флоры увеличивать резистентность к большинству антибиотиков [6, 7, 16, 18]. Фурацилин в концентрации 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 мг/мл сохраняет антимикробную активность в отношении основной биопленочной микрофлоры (*S. aureus*, его ассоциации с *K. pneumoniae* и *C. albicans*, *S. pseudoporcinus*, *E. rhusiopathiae*). Йодиол в разведении 1/16 и хлоргексидин в концентрации 0,0625 мг/мл имеют высокую антимикробную активность при воздействии на биопленочные микроорганизмы (*S. aureus*, *K. pneumoniae*, *C. albicans*), в отличие от рекомендованной для практики концентрации фурасола (28,6 мг/мл), проявившего слабый бактерицидный эффект на биоплёнки, состоящие из *S. aureus* и его комбинации с другими микроорганизмами. Наиболее высокую антимикробную активность в отношении основных микробных агентов, формирующих биопленки, проявляет комбинация хлоргексидина (0,0625 мг/мл) и производного 5-нитротиазола (0,0625 мг/мл), которая, обладая синергизмом, в 16 раз снижает рекомендуемую концентрацию хлоргексидина, уменьшает время воздействия для достижения бактерицидного эффекта, имея, таким образом, преимущества перед импортными аналогами [7, 18].

Рекомендации по практическому использованию результатов

Разработанные морфологические критерии оценки активности и хронизации ХТ рекомендуются для внедрения в качестве дополнительных методов диагностики ХТ в профильных отделениях учреждений здравоохранения. При постановке диагноза ХТ формулировку необходимо дополнять указанием активности и стадии патологического процесса в миндалинах [22, 24, 25].

Оценка устойчивости/чувствительности микроорганизмов к антибиотикам/антисептикам должна проводиться на штаммах, выделенных из глубины миндалин и способных образовывать биологические пленки [1, 2, 6].

Для местной консервативной терапии ХТ рекомендовано применять йодиол в разведении 1/16, фурацилин – 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 мг/мл, хлоргексидин – 0,0626, применение фурасола в концентрации 28,6 мг/мл должно базироваться на учете индивидуальной чувствительности к нему возбудителей [7].

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ

Статьи в рецензируемых научных журналах

1. Рыбак, Н. А. Мониторинг микроорганизмов, выделяемых при хроническом тонзиллите / Н. А. Рыбак, Т. Н. Соколова, Р. Ф. Рыбак // Оториноларингология. Восточ. Европа. – 2012. – № 2. – С. 24-26.
2. Рыбак, Н. А. Микробиоценоз нёбных миндалин при хроническом тонзиллите / Н. А. Рыбак, В. М. Цыркунов, Р. Ф. Рыбак // Здоровоохранение. – 2014. – № 12. – С. 2-7.
3. Рыбак, Н. А. Микрофлора нёбных миндалин и метатонзиллярные осложнения при хроническом тонзиллите / Н. А. Рыбак // Клин. инфектология и паразитология. – 2014. – № 3. – С. 31-40.
4. Морфологические критерии активности и стадии хронического тонзиллита / Н. А. Рыбак, В. М. Цыркунов, Н. И. Прокопчик, М. Г. Зубрицкий, Р. Ф. Рыбак // Здоровоохранение. – 2015. – № 11. – С. 36-42.
5. Микробиологические и морфологические аспекты хронического тонзиллита / В. М. Цыркунов, Н. А. Рыбак, А. В. Васильев, Р. Ф. Рыбак // Инфекционные болезни. – 2016. – Т.14, № 1. – С. 42-47.
6. Рыбак, Н. А. Антибиотикорезистентность микрофлоры нёбных миндалин при хроническом тонзиллите / Н. А. Рыбак, Т. Н. Соколова, М. В. Ершова // Журн. Гродн. гос. мед. ун-т. – 2016. – № 2 (54). – С. 87-91.
7. Рыбак, Н. А. Чувствительность/резистентность микроорганизмов, выделенных из биоплёнок, к антибактериальным средствам при хроническом тонзиллите / Н. А. Рыбак, Т. Н. Соколова, В. М. Цыркунов, О. Б. Островская // Клин. инфектология и паразитология. – 2016. – № 2 (17). – С. 171-182.

Статьи в научных сборниках и материалах конференций

8. Рыбак, Н. А. Инфекционные и морфологические аспекты хронического тонзиллита / Н. А. Рыбак // Актуальные проблемы медицины : [материалы ежегод. итоговой науч. конф., г. Гродно], 15-16 дек. 2011 г. / [редкол.: М. Н. Курбат (отв. ред.) и др.]. – Гродно : ГрГМУ, 2011. – С. 117-121.
9. Рыбак, Н. А. Микробиоценоз нёбных миндалин при хроническом тонзиллите / Н. А. Рыбак, Р. Ф. Рыбак, Т. Н. Соколова // Актуальные вопросы инфектологии : сб. ст. Респ. науч.-практ. конф., посвящ. 50-летию каф. инфекц. болезней с курсом дет. инфекций УО "ГрГМУ", 19 окт. 2012 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, УО "Гродн. гос. мед. ун-т" ; [редкол.: В. М. Цыркунов (отв. ред.), В. С. Васильев, Ю. В. Кравчук]. – Гродно : ГрГМУ, 2012. – С. 211-214.
10. Цыркунов, В. М. Микробиоценоз при хроническом тонзиллите : "Наука и практика в оториноларингологии" : материалы XI Рос. Конгр.

оториноларингологов / В. М. Цыркунов, Н. А. Рыбак, Р. Ф. Рыбак // Вестн. оториноларингологии. – 2012. – № 5. – С. 260-261.

11. Рыбак, Н. А. Участие стафилококков в развитии хронического тонзиллита / Н. А. Рыбак // Актуальные вопросы инфекционной патологии : материалы 6-го Съезда инфекционистов Респ. Беларусь, г. Витебск, 29-30 мая 2014 г. / ВГМУ ; Науч. об-во инфекционистов Респ. Беларусь, Евро-Азиат. о-во по инфекц. болезням ; [под ред. В. М. Семенова]. – Витебск, 2014. – С. 149-150.

12. Рыбак, Н. А. Участие стрептококков в развитии хронического тонзиллита / Н. А. Рыбак // Актуальные вопросы инфекционной патологии : материалы 6-го Съезда инфекционистов Респ. Беларусь, г. Витебск, 29-30 мая 2014 г. / ВГМУ ; Науч. об-во инфекционистов Респ. Беларусь, Евро-Азиат. об-во по инфекц. болезням ; [под ред. В. М. Семенова]. – Витебск, 2014. – С. 150-151.

13. Рыбак, Н. А. Участие условно-патогенной флоры нёбных миндалин в этиологии хронического тонзиллита / Н. А. Рыбак // Актуальные вопросы инфекционной патологии : материалы 6-го Съезда инфекционистов Респ. Беларусь, г. Витебск, 29-30 мая 2014 г. / ВГМУ ; Науч. об-во инфекционистов Респ. Беларусь, Евро-Азиат. об-во по инфекц. болезням ; [под ред. В. М. Семенова]. – Витебск, 2014. – С. 151-152.

14. Рыбак, Н. А. Инфекционные аспекты метатонзиллярных осложнений / Н. А. Рыбак, Р. Ф. Рыбак, В. М. Цыркунов // Современные проблемы инфекционной патологии человека : сб. науч. тр. / РНПЦ ЭиМ ; [под ред. Л. П. Титова]. – Минск, 2014. – Вып. 7. – С. 236-239.

15. Морфологические критерии активности инфекционного процесса в миндалинах при хроническом тонзиллите / В. М. Цыркунов, Н. А. Рыбак, Н. И. Прокопчик, М. Г. Зубрицкий, Р. Ф. Рыбак // Актуальные проблемы медицины : материалы ежегод. итоговой науч.-практ. конф., [г. Гродно], 27 янв. 2015 г. : в 2 ч. / [редкол.: В. А. Снежицкий (отв. ред.), С. Б. Вольф, М. Н. Курбат]. – Гродно : ГрГМУ, 2015. – Ч. 2. – С. 287-289.

16. Рыбак, Н. А. Антибиотикорезистентность стафилококков при хроническом тонзиллите / Н. А. Рыбак // Дни лабораторной медицины: материалы Республ. науч.-практ. конф., [г. Гродно], 5 мая 2016 г.: [редкол.: В. В. Воробьёв (отв. ред.), С. Б. Вольф, (отв. за выпуск)]. – Гродно : ГрГМУ, 2016. – С.82-83.

17. Рыбак, Н. А. Этиологические аспекты метатонзиллярных осложнений: материалы VIII Съезда оториноларингологов Респ. Беларусь / Н. А. Рыбак, В. Р. Кунцевич, Р. Ф. Рыбак // Оториноларингология. Восточ. Европа. – 2016. – Т.6, № 3. – С. 467-468.

18. Рыбак, Н. А. Антибиотикочувствительность микрофлоры при хроническом тонзиллите: материалы VIII Съезда оториноларингологов Респ.

Беларусь / Н. А. Рыбак, В. Р. Кунцевич, Р. Ф. Рыбак // Оториноларингология. Восточ. Европа. – 2016. – Т.6, № 3. – С. 470-471.

19. Морфологическая диагностика хронического тонзиллита: материалы VIII Съезда оториноларингологов Респ. Беларусь / В. М. Цыркунов, Н. А. Рыбак, Н. И. Прокопчик, М. Г. Зубрицкий, Р. Ф. Рыбак // Оториноларингология. Восточ. Европа. – 2016. – Т.6, № 3. – С. 468-469.

Тезисы докладов

20. Патоморфологические изменения в небных миндалинах при хроническом тонзиллите : Актуальные вопросы оториноларингологии на современном этапе : тез. докл. VII Съезда оториноларингологов Респ. Беларусь / Н. А. Рыбак, Н. И. Прокопчик, М. Г. Зубрицкий, Р. Ф. Рыбак // Оториноларингология. Восточ. Европа. – 2013. – С. 184-186. – Прил.

21. Этиологические аспекты хронического тонзиллита: Актуальные вопросы оториноларингологии на современном этапе : тез. докл. VII Съезда оториноларингологов Респ. Беларусь / Н. А. Рыбак, Р. Ф. Рыбак, В. М. Цыркунов // Оториноларингология. Восточ. Европа. – 2013. – С. 186-188. – Прил.

Инструкция по применению

22. Метод диагностики активности и стадии хронизации хронического тонзиллита: инструкция по применению № 014-0315: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 7 мая 2015 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Учреждение-разработчик УО "Гродн. гос. мед. ун-т"; сост.: В. М. Цыркунов, Н. А. Рыбак, Н. И. Прокопчик, М. Г. Зубрицкий, Р. Ф. Рыбак. – Гродно, 2015. – 8 с.

Патенты и заявки

23. Способ забора биопсийного материала из небных миндалин для морфологического исследования : положительное решение о выдаче патента от 14.11.2016 г., заявка а 20131089 от 18.09.2013 г. / Н. А. Рыбак, В. М. Цыркунов, Р. Ф. Рыбак. МПК А61В 10/06.

24. Способ определения степени активности хронического тонзиллита : заявка а20140324 Респ. Беларусь от 13.06.2014 г. : МПК G 01N33/48 / Н. А. Рыбак, В. М. Цыркунов, Н. И. Прокопчик, М. Г. Зубрицкий, Р. Ф. Рыбак.

25. Способ определения стадии хронизации хронического тонзиллита : заявка а20150181 Респ. Беларусь от 06.04.2015 г. : МПК G 01N33/48 / Н. А. Рыбак, В. М. Цыркунов, Н. И. Прокопчик, М. Г. Зубрицкий, П. Р. Рыбак.

РЭЗІЮМЭ

Рыбак Наталля Анатольеўна

Этыялагічная і клініка-марфалагічная дыягностыка хранічнага танзіліту

Ключавыя словы: хранічны танзіліт, марфалогія міндалін, мікрафлора, біяпленкі, пачуццёвасць, рэзістэнтнасць, антыбіётыкі, ускладненні, лячэнне.

Мэта даследавання: высветліць ролю мікраарганізмаў у паталагічнай эвалюцыі паднябенных міндалін пры хранічным танзіліце.

Метады даследавання: агульнаклінічны, марфалагічны, бактэрыялагічны, статыстычны.

Выкарыстаная апаратура: мікрабіялагічны аналізатар VITEK® 2 (БіяМер'е, Францыя); электронны мікраскоп JEM1011 (JEOL, Японія); мікраскоп даследчы «Leica» DM2500 (Кітай); микратом ротарны «Leica» RM2125RT (Швейцарыя); біяхімічны аналізатар ARCHITECTS8000, кампаніі Ebbott (ЗША).

Атрыманыя вынікі і іх навізна. У 115 пацыентаў з ХТ выяўлена роля 8 груп прадстаўнікоў умоўна-патагеннай мікрафлоры (УПФ), якая фарміруе біялагічныя плёнкі, у развіцці паталагічнай эвалюцыі паднябенных міндалін, яе ўзаемасувязь з распрацаванымі мікрабіялагічнымі паказчыкамі ступені актыўнасці і стадыі хранізацыі і метатанзілярнымі ўскладненнямі. Даказана, што ХТ фарміруе за кошт пастаяннай кантамінацыі міндалін асацыяванымі паміж сабой біяплёначнымі штамамі УПФ, якія адрозніваюцца паміж сабой на паверхні і ў глыбіні міндалін, каторыя фарміруюць дысбіёз ротаглоткі і супрацьстаяць уздзеянню антымікробных сродкаў.

Даказана, што большасць антыбактэрыяльных сродкаў, што прымяняюцца ў кансерватыўнай тэрапіі ХТ, і новыя вытворныя 5-нітратыязолу валодаюць высокай антымікробнай актыўнасцю ў адносінах асноўных мікробных агентаў, якія фарміруюць біяплёнкі пры ХТ.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: распрацаваныя метады марфалагічнай і бактэрыялагічнай дыягностыкі ХТ могуць быць выкарыстаны ва ўстановах аховы здароўя і ўстановах адукацыі, якія забяспечваюць атрыманне вышэйшай медыцынскай адукацыі і паслядыпломную падрыхтоўку спецыялістаў.

Галіна прымянення: інфекцыйныя хваробы, отарыналарынгалогія, клінічная лабараторная дыягностыка, клінічная фармакалогія.

РЕЗЮМЕ

Рыбак Наталья Анатольевна

Микробиологическая и клинико-морфологическая диагностика хронического тонзиллита

Ключевые слова: хронический тонзиллит, морфология миндалин, микрофлора, биопленки, чувствительность, резистентность, антибиотики, осложнения, лечение.

Цель исследования: установить роль микроорганизмов в развитии патологической эволюции небных миндалин при ХТ.

Методы исследования: общеклинический, морфологический, бактериологический, статистический.

Использованная аппаратура: микробиологический анализатор ВИТЕК® 2 (БиоМерье, Франция); электронный микроскоп JEM1011(JEOL, Япония); микроскоп исследовательский «Leica» DM2500 (Китай); микротом роторный «Leica» RM2125RT (Швейцария); биохимический анализатор ARCHITECT C8000, компании Ebbott (США).

Полученные результаты и их новизна. У 115 пациентов с ХТ установлена роль 8 групп представителей условно-патогенной микрофлоры (УПФ), формирующей биологические пленки, в развитии патологической эволюции небных миндалин, ее взаимосвязь с разработанными морфологическими показателями степени активности и стадии хронизации и метатонзиллярными осложнениями. Доказано, что ХТ формируется за счет постоянной контаминации миндалин ассоциированными между собой биопленочными штаммами УПФ, отличающимися между собой на поверхности и в глубине миндалин, формирующими дисбиоз ротоглотки и противостоящими действию антимикробных средств.

Доказано, что большинство антибактериальных средств, применяемых в консервативной терапии ХТ, и новые производные 5-нитротиазола обладают высокой антимикробной активностью в отношении основных микробных агентов, формирующих биопленки при ХТД.

Рекомендации по использованию: разработанные методы морфологической и бактериологической диагностики ХТ могут быть использованы в учреждениях здравоохранения и в учреждениях образования, обеспечивающих получение высшего медицинского образования и последипломную подготовку специалистов.

Область применения: инфекционные болезни, оториноларингология, клиническая лабораторная диагностика, клиническая фармакология.

SUMMARY

Rybak Natallia Anatolievna **Etiological, clinical and morphological diagnosis** **of chronic tonsillitis**

Key words: chronic tonsillitis, tonsil morphology, microflora, biofilm, excitability, resistance, antibiotics, complication, treatment.

The aim of research: to determine the role of microorganisms in the development of pathological evolution of palatine tonsils at the chronic tonsillitis

Methods of research: clinical, morphological, bacteriological, statistical.

Used equipment: a VITEK[®] 2 microbiological analyzer (BioMerieux, France); a JEM1011 electron microscope (JEOL, Japan); a Leica DM2500 research microscope (China); a Leica RM2125RT rotary microtome (Switzerland); an ARCHITECT C8000 biochemistry analyzer, Ebbott company (USA).

Results and their novelty. 115 patients with the chronic tonsillitis were examined. There was established a role of eight (8) groups of representatives of conditionally pathogenic microflora forming a biofilm in the development of pathological evolution of the tonsils and its relationships with the developed morphological indicators of activity degree and the stage of chronization, and metatonsillar complications.

It has been proved that the chronic tonsillitis is formed by the permanent contamination of the tonsils associated with each other by biofilm strains of conditionally pathogenic microflora differing among themselves on the surface and depth of the tonsils forming dysbiosis of oropharynx and resistant to the action of antimicrobial agents.

It has been proved that the majority of antibiotics used in conservative therapy of the chronic tonsillitis and the new derivatives of 5-nitrothiazole possess high antimicrobial activity against the main microorganisms forming biofilms at the chronic tonsillitis.

Recommendations for use: the developed methods of morphological and bacteriological diagnostics of the chronic tonsillitis can be used at health care centers and educational institutions providing higher medical education and postgraduate training.

Application area: infectious diseases, otorhinolaryngology, clinical laboratory diagnostics, clinical pharmacology.

Научное издание

Рыбак Наталья Анатольевна

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ И
КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА
ХРОНИЧЕСКОГО ТОНЗИЛЛИТА**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальности 14.01.09 – инфекционные болезни

Ответственный за выпуск С. Б. Вольф

Подписано в печать 24.02.2017.
Формат 60x84/16. Бумага офсетная.
Гарнитура Таймс. Ризография.
Усл. печ. л. 1,27. Уч.-изд. л. 1,44. Тираж 80 экз. Заказ 32.

Издатель и полиграфическое исполнение
учреждение образования
«Гродненский государственный медицинский университет».
ЛП № 02330/445 от 18.12.2013.
Ул. Горького, 80, 230009, Гродно.