

## Этиологические факторы часто рецидивирующих воспалительных заболеваний ротоглотки – первый шаг к пониманию проблемы

Р.В. Щубелко<sup>1</sup>, И.Н. Зуйкова<sup>2</sup>, А.Е. Шулженко<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Многопрофильный Медицинский Центр "Клиника К+31", г. Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБУ Государственный научный центр Институт иммунологии ФМБА России, г. Москва, Россия

## Etiological factors of recurrent inflammatory diseases of the oropharynx - the first step to understanding the problem

R.V. Shchubelko<sup>1</sup>, I.N. Zuikova<sup>2</sup>, A.E. Shuljenko<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Multidisciplinary Medical Center "Clinic K+31", Moscow

<sup>2</sup> FSBI National research Center Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russian Federation

### Аннотация

Целью исследования являлось определение спектра бактериального и вирусного состава микрофлоры ротоглотки у пациентов с частыми рецидивами воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей (ВДП) и определение возможной роли персистирующей герпесвирусной инфекции в поддержании хронического воспаления. На базе ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России амбулаторно обследовано 204 пациента с хроническими рецидивирующими воспалительными заболеваниями ротоглотки. Обследование пациентов проводилось вне периода обострения. Выяснилось, что у часто болеющих взрослых микробный пейзаж вне периода обострения, состоит из сочетанной бактериально-вирусной микрофлоры. При этом, бактериальная флора преимущественно условно-патогенная (64,2%), и в значительно меньшей степени патогенная (35,8%), представлена в основном *Staphylococcus aureus* (31%). Герпесвирусы встречаются в 52-80% случаев в группе исследования, что достоверно выше их выявления в группе сравнения. При этом наиболее значимый представитель герпес-группы – вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ), ДНК которого встречается в ротоглотке часто болеющих взрослых в 65%, тогда как в группе сравнения в 19% случаев. Концентрация выявляемых герпесвирусов в исследуемой группе достоверно выше, чем в группе сравнения, где мы видим или отсутствие вирусов, или низкую вирусную нагрузку.

Таким образом, микробиологический пейзаж ротоглотки у часто болеющих взрослых представлен как бактериальными, так и вирусными агентами, которые влияют на механизмы местного иммунитета слизистых оболочек, что со временем приводит к истощению их защитных свойств и иммунологической несостоятельности.

### Summary

The aim of the study was to determine the spectrum of the bacterial and viral composition of the oropharyngeal microflora in patients with frequent recurrences of inflammatory diseases of the upper respiratory tract (UPT) and to determine the possible role of a persistent herpesvirus infection in maintaining chronic inflammation. On the basis of NRC Institute of Immunology FMBA of Russia, 204 patients with recurrent chronic inflammatory diseases of the oropharynx were examined on an outpatient basis. The patients were examined outside the period of exacerbation. It turned out that in often sick adult microbial landscape outside the period of exacerbation, consists of a combined bacterial-viral microflora. In this case, the bacterial flora is predominantly opportunistic (64.2%), and much less pathogenic (35.8%), mainly *Staphylococcus aureus* (31%). Herpesviruses occur in 52-80% of cases in the study group, which is significantly higher than their detection in the comparison group. Herewith, the most significant representative of the herpes group is the Epstein-Barr virus (EBV), whose DNA is found in the oropharynx of often ill adults in 65%, whereas in the comparison group in 19% of cases. The concentration of detectable herpesviruses in the study group is significantly higher than in the comparison group, where we see either the absence of viruses or a low viral load. Thus, the microbiological landscape of the oropharynx in frequently ill adults is represented by both bacterial and viral agents that affect the mechanisms of local immunity of the mucous membranes, which eventually leads to the depletion of their protective properties and immunological insolvency.

## Ключевые слова

Хронические воспалительные заболевания верхних дыхательных путей, микрофлора ротоглотки, герпес-вирусы, вирус Эпштейна-Барр.

## Введение

Ведение пациентов с хроническими часто рецидивирующими заболеваниями верхних дыхательных путей (ВДП) в настоящее время является не только общетерапевтической, оториноларингологической, но и иммунологической проблемой. В среднем взрослый человек переносит воспалительные заболевания ВДП 2–3 раза в год. Более частые рецидивы могут быть обусловлены несостоятельностью иммунной защиты и характерны для контингента часто болеющих взрослых.

Под хроническими воспалительными заболеваниями ротоглотки понимают хронический тонзиллит, хронический фарингит, а чаще – сочетанную патологию слизистой оболочки глотки и небных миндалин (фаринго-тонзиллит или тонзилло-фарингит), протекающие в структурном и клиническом единстве [1]. В хронизации воспаления ротоглотки играют роль различные факторы риска, которые, изменяя реактивность организма, снижают его сопротивляемость, способствуют нарушению симбиоза с условно-патогенными микробными агентами. К таким факторам относят неблагоприятные климатические и экологические воздействия (пыль, горячий, сухой или задымленный воздух, химические вещества), курение, злоупотребление алкоголем, употребление раздражающей пищи (острой, чрезмерно горячей или холодной), а также болезни желудочно-кишечного тракта, эндокринные, гормональные нарушения (менопауза, гипотиреозидизм), хронический риносинусит, аллергический ринит, постназальный синдром, гипо- или авитаминоз А, кариес зубов [2,3,4].

Пусковым фактором в развитии хронизации воспаления ВДП выступает возбудитель, обладающий сниженным потенциалом патогенности, характеризующийся отсутствием антигенного стимула и поэтому выпадающий из адекватного иммунологического контроля. Чаще всего это персистирующие бактериальные и/или вирусные инфекции, которые выработали в процессе эволюции механизмы уклонения от иммунного надзора [5].

Известно, что основными бактериальными возбудителями острого воспаления ротоглотки

## Keywords

Chronic inflammatory diseases of the upper respiratory tract, microflora of the oropharynx, herpes viruses, Epstein-Barr virus.

являются: *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Neisseria catarrhalis*, *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*, *Pseudomonas aeruginosa*. Однако попадание патогена в область, тропную его вирулентным потенциам, далеко не всегда приводит к развитию заболевания. Во многом подобный феномен связан с состоянием защитных факторов макроорганизма, в первую очередь иммунитета слизистых оболочек, или мукозального иммунитета [5,6]. Нарушение местного иммунитета слизистых оболочек, может приводить к активации патогенной или собственной условно патогенной флоры с формированием хронического воспаления. При хронических воспалительных заболеваниях ВДП в ротоглотке часто выявляют *Streptococcus viridans*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.* [6].

В последние 25-30 лет получены многочисленные данные, указывающие на роль герпесвирусов – Эпштейна-Барр (ВЭБ), цитомегаловируса (ЦМВ), вируса герпеса человека 6 типа (ВГЧ 6) - в этиопатогенезе хронических воспалительных заболеваний ВДП [7, 8]. Идея изучения герпесвирусов в этом качестве обусловлена особенностями их жизненного цикла: входными воротами при первичном инфицировании часто является слизистая оболочка и лимфоидные структуры ротоглотки, где развивается активное воспаление (острый фарингит, тонзиллит). В дальнейшем происходит генерализация инфекционного процесса, обеспечивая картину инфекционного мононуклеоза (ВЭБ, ЦМВ, ВГЧ 6-обусловленного) [8]. После первичной инфекции вирусы переходят в латентную фазу, в том числе и в области входных ворот. Герпесвирусы человека обладают уникальной способностью пожизненно персистировать в клетках макроорганизма, уходить от иммунного распознавания, и непрерывно или циклично размножаться [9, 10].

Согласно исследованиям последних лет, в лимфоидной ткани ротоглоточного кольца, миндалинах (биопсийный материал, соскобы) и в слюне, у пациентов с хроническими рецидивирующими воспалительными заболеваниями ротоглотки обнаруживается ДНК ВЭБ, ВГЧ 6 типа, ЦМВ.

Такие находки наталкивают на мысль о роли данных патогенов в поддержании хронического воспаления ВДП и объясняют неэффективность традиционной терапии при патологии ротоглотки. Однако влияние вирусной персистенции на течение хронического тонзиллита, фарингита остается пока за рамками клинической оценки особенностей течения заболевания и развития его осложнений [11, 12].

Иногда, как в случае с патогенной бактериальной микрофлорой, репликация герпесвирусов может обнаруживаться и у клинически здоровых лиц, не вызывая местного воспаления. В таких случаях, видимо, также речь идет об эффективности мукозального иммунитета слизистых оболочек, который контролирует и ограничивает инфекцию, предупреждая развитие воспаления [13, 14].

Вероятнее всего, хронические рецидивирующие воспалительные заболевания ВДП провоцируются сочетанной вирусно-бактериальной флорой, которая снижает иммунологическую реактивность, нарушает защитные свойства иммунитета слизистых оболочек ротоглотки, и, как следствие, способствует затяжному и хроническому течению воспаления [7].

Цель настоящего исследования - определение спектра бактериального и вирусного состава микрофлоры ротоглотки у пациентов с частыми рецидивами воспалительных заболеваний ВДП и определение возможной роли персистирующей герпесвирусной инфекции в поддержании хронического воспаления. Исходя из этого, задачами исследования являлись определение микробного пейзажа в ротоглотке вне периода обострения, определение роли герпесвирусов в поддержании хронического воспаления, установление характера взаимосвязи бактериальных и вирусных патогенов в межрецидивном периоде хронических воспалительных заболеваний ВДП.

### Материалы и методы

Всего обследовано 204 пациента – 49 (24%) мужчин и 155 (76%) женщин, которые обращались амбулаторно в клинику ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, по поводу частых обострений хронических воспалительных заболеваний ВДП – часто болеющие взрослые. В среднем частота обострений хронического фарингита/тонзиллита составила не менее 5 раз в год, средний показатель по группе – 7,1±2,1 раз в год.

Исследуемая группа состояла из трех подгрупп: в первую подгруппу вошли 77 пациентов

(11 мужчин, 66 женщин) с хроническим фарингитом; во вторую - 63 пациента (17 мужчин, 46 женщин) страдающие хроническим тонзиллитом; в третью - 64 пациента (21 мужчина, 43 женщины) с сочетанной патологией ротоглотки - хроническим тонзилло-фарингитом. Группа сравнения состояла из 62 условно здоровых лиц, не переносивших острых воспалительных заболеваний ВДП в течение 3-х месяцев перед обследованием (16 мужчин, 46 женщин).

Критериями исключения были признаки хронического тонзиллита токсико-аллергической формы II (ТАФ II), атрофическая и катаральная формы хронического фарингита, хронические риносинуситы, в том числе аллергические. Кроме того, в исследование не включались пациенты с множественным поверхностным или глубоким кариесом, курящие, а также женщины в период беременности или лактации.

Исследование спектра бактериально-вирусной флоры проводилось вне периода обострения хронических заболеваний ВДП.

Забор биоматериала для микробиологического исследования проводился стерильным тупфером для взятия мазков (Sarstedt), собирался между дужками миндалин, по язычку и задней стенке глотки, не касаясь губ, щек и языка. Доставка материала производилась в термоконтейнерах в течение 2 ч с момента забора. Посев осуществляли на нескольких питательных средах: кровяной агар с добавлением 5% крови крупного рогатого скота, на основе колумбийского агара (пр-во фирмы PRONADISA, Испания); уриселект («Bio-Rad», США); желточно-солевой агар (на основе солевого агара) и агар Сабуру (пр-во фирмы PRONADISA, Испания). Все посеvy культивировали по стандартной методике при температуре 37,0°C в течении 24–48 ч.

Тинкториальные свойства изучали путем окраски по Грамму по общепринятой методике, в соответствии с инструкцией производителя. Биохимическую идентификацию выделенных микроорганизмов осуществляли с помощью полуавтоматического бактериологического фотометра BBL Crystal AutoReader (BD Biosciences); для дрожжевых грибов использовали среду Сабуру (пр-во фирмы PRONADISA, Испания), с последующей идентификацией на хромогенном агаре (пр-во фирмы PRONADISA, Испания), с ручной постановкой чувствительности к антимикотикам (пр-во Научно-исследовательский центр фармакотерапии (НИЦФ), труднокультивируемых грибов на автоматическом бактериологическом анализаторе VITEK® 2 COMPACT и на автома-

тическом микробиологическом анализаторе BD Phoenix 100 с последующим подтверждением и чувствительностью к антимикотикам; Slidex pneumokit — сенсibilизированный латекс использовали для определения пневмококков («bioMerieux», Франция), оптохиновый тест, тест с желчью, определение каталазной активности («Bio-Rad», США). Гемолитическую активность культур изучали на агаре с добавлением 5% эритроцитов барана.

Вирусную нагрузку определяли в смешанной слюне, собранной утром, натошак, в стерильные контейнеры, и доставленной в течение 2-х часов с момента забора. Выявление и количественное определение ДНК ВЭБ, ВГЧ 6, ЦМВ в биоматериале проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® EBV-скрин/монитор-FL», «АмплиСенс® HHV6-скрин-титр-FL», «АмплиСенс® CMV-скрин/монитор-FL» разработанных ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора в режиме «реального времени» с помощью прибора Applied Biosystems 7300 Real Time PCR System.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 12.0. В процессе анализа полученных данных и проверки их на нормальность распределения установлено, что данные имеют характер распределения, отличный от нормального, поэтому для их статистической обработки использовали непараметрические методы. Для сравнения двух независимых групп применяли непараметрический критерий Манна-Уитни. Критическое значение уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез принимали равным 0,05.

### Результаты и обсуждение

В исследовании приняли участие 204 пациента с частыми рецидивами хронических воспалительных заболеваний ротоглотки, в возрасте от 18 до 60 лет; средний возраст мужчин, обратившихся за лечением –  $33,83 \pm 5,7$  лет, средний возраст женщин, обратившихся за лечением –  $34,37 \pm 6,4$  лет.

Исследуемая группа была разделена на три подгруппы, в зависимости от локализации воспалительного процесса в ротоглотке: 1-я подгруппа – пациенты с хроническим фарингитом, 2-я подгруппа – пациенты с хроническим тонзиллитом, 3-я подгруппа – пациенты с хроническим тонзилло-фарингитом. Опрос пациентов показал, что основными жалобами в 1-й подгруппе являлись

дискомфорт в горле в виде першения, саднения, неловкости и/или жжения, и общая симптоматика - слабость, недомогание, субфебрилитет. Во 2-й подгруппе преобладали жалобы на боли при глотании («пустой глоток»), «простреливание» в ухо, ощущение крупинки на языке (пробок из миндалин), покалывание при глотании и разговоре, нерезкие болевые ощущения в области регионарных лимфатических узлов, их увеличение, и также общая симптоматика - слабость, недомогание, субфебрилитет. В 3-й подгруппе, встречались все без исключения жалобы, характерные для 1-й и 2-й подгрупп. Указанные жалобы беспокоили пациентов во время рецидивов, а также частично, и с меньшей интенсивностью, сохранялись и вне периода обострения заболеваний.

При исследовании микробного пейзажа ротоглотки у пациентов обеих групп мог выделяться как один представитель бактериальной микрофлоры - либо патогенный, либо условно-патогенный, так и несколько разных микроорганизмов одновременно – патогенных, условно-патогенных или в виде их сочетания.

В исследуемой группе бактериальная микрофлора, не зависимо от патогенности, как моноинфекция (т.е., обнаруживался только один возбудитель), выявлена у 33% пациентов, у 67% обнаружена микст-инфекция – несколько микроорганизмов в образце.

В исследуемой группе у 64,2% пациентов определялась только условно-патогенная флора, у 35,8% патогенная, в том числе и в сочетании с условно-патогенной. В группе сравнения условно-патогенная флора выявлялась у 87,1%, а патогенная, в том числе и в сочетанном представителе, встречалась у 12,9% случаев, что достоверно меньше, чем в группе часто болеющих взрослых. Таким образом, встречаемость патогенных возбудителей в целом, как в группе с хроническими воспалительными заболеваниями ВДП, вне периода обострения, так и в группе условно здоровых лиц, значительно ниже, чем выявляемость условно-патогенной флоры.

Наиболее частым представителем патогенной бактериальной флоры, без учета сочетанного обнаружения микроорганизмов, оказался *Staphylococcus aureus*, который выявлялся в 31% случаев у лиц исследуемой группы. При этом, в сочетании с другой патогенной микрофлорой *Staphylococcus aureus* регистрировался у 11 пациентов (5%) этой группы, а у 53 пациентов (26%) выявлено сочетание *Staphylococcus aureus* с условно-патогенными микроорганизмами. Тем не

менее, в группе сравнения этот возбудитель выявлялся достоверно реже – в 13% случаев (таб. 1).

Такие результаты коррелируют с данными литературы и показывают, что *Staphylococcus aureus* не является представителем нормальной микрофлоры человека и способен поддерживать хронический очаг инфекции в лимфоидной ткани ротоглотки. Тем не менее, этот патоген также может выделяться у 15-30% клинически здоровых лиц как транзиторная флора [6].

Согласно данным российской и зарубежной литературы, основными этиопатологическими факторами в развитии острого или обострения хронического воспаления ВДП, являются представители рода *Streptococcus* группы А, среди которых основную патогенную роль играет бета-гемолитический стрептококк группы А – *Streptococcus pyogenes* [3,4,6]. Однако по результатам бактериологического исследования

материала ротоглотки вне периода обострения у взрослых пациентов с частыми обострениями хронических заболеваний ВДП частота его обнаружения составила всего 1%. Также невысока доля и другой патогенной микрофлоры, характерной для острых воспалительных процессов ротоглотки: *Streptococcus pneumoniae* - 3% случаев, *Pseudomonas aeruginosa* – 1,5%, энтеробактерии (*Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*) – 5,5%. В группе условно здоровых лиц патогенная микрофлора выявлена менее, чем в 2% случаев. Грибковая флора (*C. albicans*) встречается в 3,7 раза чаще в исследуемой группе.

Кроме того, в исследуемой группе достоверно чаще (в 12,2% случаев), по сравнению с группой условно здоровых лиц (3%), обнаруживались представители бета-гемолитических стрептококков группы В – *Streptococcus milleri group* (*Str. anginosus*, *Str. intermedius* *Str. constellatus* *Str.*

**Таблица 1. Спектр бактериальной флоры, выявляемой в группах, при микробиологическом исследовании материала из зева**

Патоген	Исследуемая группа пациентов (n=204) N (частота встречаемости %)**	Группа условно здоровых лиц (n=62) N (частота встречаемости %)**
<b>Стафилококки</b>		
<i>Staphylococcus aureus</i>	64 (31%)*	9 (13%)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	7 (3,5%)	0 (0%)
<b>Стрептококки</b>		
<i>Str.pyogenes</i> группа А (бета-гемолитический)	2 (1%)	0 (0%)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (альфа-гемолитический)	6 (3%)	0 (0%)
<i>S. anginosus group</i> ( <i>S. constellatus</i> , <i>S. intermedius</i> , <i>S. anginosus</i> )	25 (12,2%)*	2 (3%)
<i>S. mitis group</i> ( <i>S. mitis</i> , <i>S. cristatus</i> , <i>S. oralis</i> )	20 (9,8%)	8 (13%)
<i>S. sanguinis group</i> ( <i>S. sanguinis</i> , <i>S. parasanguinis</i> u <i>S. gordonii</i> )	37 (18%)	8 (13%)
<i>S. salivarius group</i> ( <i>S. salivarius</i> u <i>S. vestibularis</i> )	11 (5,4%)	3 (5%)
<i>Streptococcus viridans</i>	22 (10,7%)	4 (6,5%)
<b>Грамотрицательные бактерии</b>		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3 (1,5%)	0 (0%)
<b>Энтеробактерии</b>		
( <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Serratia marcescens</i> )	12 (5,5%)	1 (1,6%)
<b>Дрожжеподобные грибы рода Кандида</b>		
<i>Candida albicans</i>	12 (6%)	1 (1,6%)

\* – достоверность различий с показателями группы условно здоровых лиц  $p < 0,05$

\*\* – частота встречаемости по группе без учета сочетанного обнаружения микроорганизмов

*agalactiae*). Эта группа стрептококков обитает в полости рта и слизистых оболочек ВДП, один из подвидов которой – *Streptococcus constellatus sub. pharynges*, ассоциирован с фарингитом.

Наиболее широко микрофлора ротоглотки исследуемой группы представлена условно-патогенными микроорганизмами, среди которых основное место занимают грамположительные альфа-гемолитические стрептококки (около 64% случаев). Преобладающими стрептококками вне периода обострения у часто болеющих взрослых являются *Strept. anginosus group*, *Strept. sanguinis group*, *Strept. viridans*, тогда как в группе условно здоровых лиц чаще встречаются *Strept. mitis group*, *Strept. sanguinis group*. Таким образом, патогенные микроорганизмы, характерные для острой фазы воспаления, крайне редко встречаются вне периода обострения и не свойственны условно здоровым лицам.

При изучении образцов смешанной слюны у пациентов исследуемой группы, установлена высокая частота обнаружения герпесвирусной инфекции - ДНК ВЭБ - 65% случаев, при этом в 55% случаев в сочетании с ДНК ВГЧ 6 типа, и лишь в 10% случаев в виде моноинфекции. Изолированное обнаружение ДНК ВГЧ 6 типа наблюдалось в 30% случаев, ЦМВ в 2,5% случаев (рис. 1).

В группе сравнения герпесвирусы выявлялись значительно реже: ДНК ВЭБ в 19% случаев (в сочетании с ВГЧ 6 типа в 14%, в виде моноинфекции в 5% случаев). ДНК ЦМВ не выявлялась в смешанной слюне пациентов группы сравнения, также редко выявляется этот патоген и у пациентов исследуемой группы – 2,5%. ДНК ВГЧ 6 типа

одинаково часто обнаруживалась как у пациентов с хронической рецидивирующей патологией ВДП, так и в группе условно здоровых лиц. Отсутствие вирусной репликации в слюне достоверно чаще встречалось в группе сравнения – в 40% случаев ( $p < 0,05$ ), по сравнению с 2,5% пациентов исследуемой группы (рис.2).

Помимо качественного определения наличия герпесвирусов в ротоглотке, была проведена количественная оценка их вирусной нагрузки в смешанной слюне пациентов обеих групп. Выяснилось, что в исследуемой группе средняя концентрация вирусной нагрузки ВЭБ составила  $4,55 \pm 0,95$  lg копий на  $10^5$  клеток человека (кл. чел.), что достоверно выше концентрации вирусов в группе условно здоровых лиц. Для ВГЧ 6 типа средняя концентрация вирусной нагрузки составила  $3,37 \pm 0,35$  lg копий на  $10^5$  кл.чел., что также выше средней концентрации этого патогена, чем в группе сравнения. Для ЦМВ этот показатель ниже клинически значимого уровня в группе исследования и не определялся в группе условно здоровых лиц. Это свидетельствует о низкой активности ЦМВ у взрослых людей (рис. 3).

Кроме того, у часто болеющих взрослых выявлена следующая корреляция между уровнями вирусной нагрузки для ВЭБ и ВГЧ 6 типа. При концентрации ДНК ВГЧ 6 типа ниже  $10^3$  ( $3,0$  lg) копий на  $10^5$  кл.чел. (в среднем  $2,11 \pm 0,34$  lg копий на  $10^5$  кл.чел.) определяемая вирусная нагрузка ДНК ВЭБ также в среднем невысокая и составила  $3,49 \pm 0,25$  lg копий на  $10^5$  кл.чел. Тогда как у пациентов с высокой концентрацией ДНК ВГЧ 6

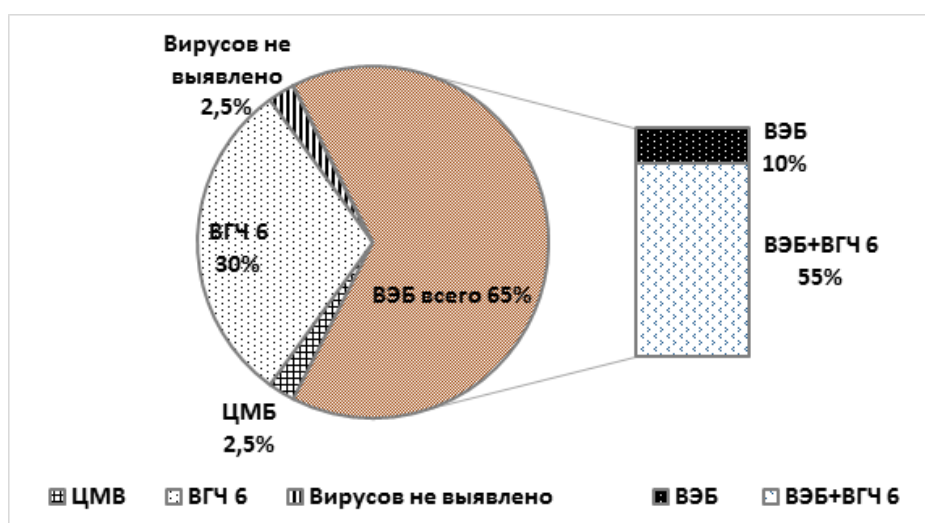
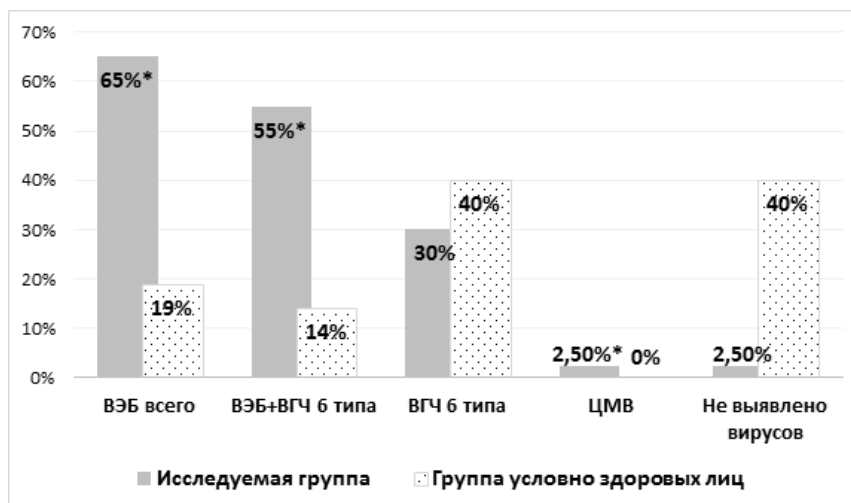


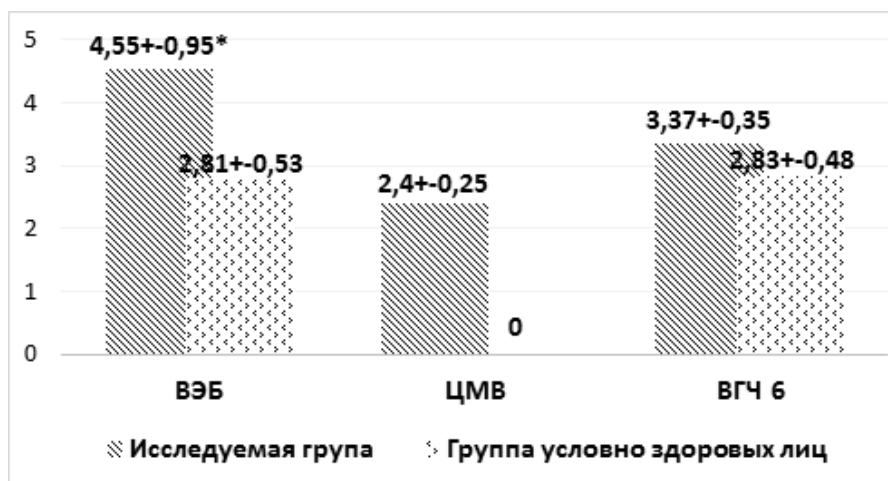
Рис. 1. Частота выявления ДНК герпесвирусов в слюне пациентов исследуемой группы

\* - достоверность различий с показателями группы условно здоровых лиц  $p < 0,05$



**Рис. 2. Частота выявления ДНК герпесвирусов в группах, при исследовании материала ротоглотки**

\* – достоверность различий с показателями группы условно здоровых лиц  $p < 0,05$



**Рис. 3. Концентрация вирусной нагрузки выявленных герпесвирусов в группах**

\*-достоверность различий с показателями условно здоровых лиц  $p < 0,05$

типа - более  $10^3$  ( $3,0 \lg$ ) копий на  $10^5$  кл.чел. обнаруживается и более высокая концентрация ДНК ВЭБ -  $4,56 \pm 0,36 \lg$  копий на  $10^5$  кл.чел. Это может свидетельствовать в пользу предположения, что ВГЧ 6 типа является ко-фактором активности ВЭБ-инфекции.

При детализации количества и взаимосвязи бактериальной и вирусной микрофлоры у пациентов в зависимости от диагноза выявлены следующие результаты.

У пациентов 1-й подгруппы исследуемой группы с хроническим фарингитом, после тонзиллэктомии ( $n=17$ ) в два раза снижается частота выявления патогенной бактериальной флоры и ДНК ВЭБ в ротоглотке, по сравнению с пациентами других подгрупп. Это подтверждает

тот факт, что основной областью активности патогенов, и в частности ВЭБ, являются лимфоидные структуры, преимущественно небные миндалины, где поддерживается активное воспаление [15, 16, 17]. Такие данные соответствуют жизненному циклу вируса, персистирующего в лимфоидной ткани. Небольшая доля обнаружения ДНК ВЭБ (в сочетании с ДНК ВГЧ 6 типа) в слюне пациентов после тонзиллэктомии, может свидетельствовать о персистенции вирусного очага в других лимфоидных структурах, в том числе и в сохранных миндалинах (например, язычной). При сохранных небных миндалинах у пациентов с хроническим фарингитом ( $n=60$ ), патогенная бактериальная флора выявляется также часто, как и у пациентов с хроническим

тонзиллитом, активность герпесвирусов сопоставима с другими группами. Установлено, что частота выявления ДНК вирусов герпес-группы (ВЭБ, ВГЧ 6 типа) несколько увеличивается на фоне резидентной условно-патогенной микрофлоры (рис. 4).

У пациентов 2-й подгруппы исследуемой группы (n=63), с хроническим тонзиллитом, патогенная бактериальная флора обнаружена в 35% случаев, в то время как у большинства пациентов (65%) выявлена условно-патогенная резидентная

флора. У 71% пациентов при этом выявлено наличие активации вирусной инфекции, преимущественно в виде микст-инфекции (ВЭБ+ВГЧ 6 типа) равнозначно как в сочетании с патогенной, так и с условно-патогенной бактериальной флорой (рис. 5).

Исследование микрофлоры ротоглотки у пациентов 3-й подгруппы исследуемой группы (n=64) с сочетанной патологией ВДП, также выявило преобладание условно-патогенных резидентных представителей – в 75% случаев, по срав-

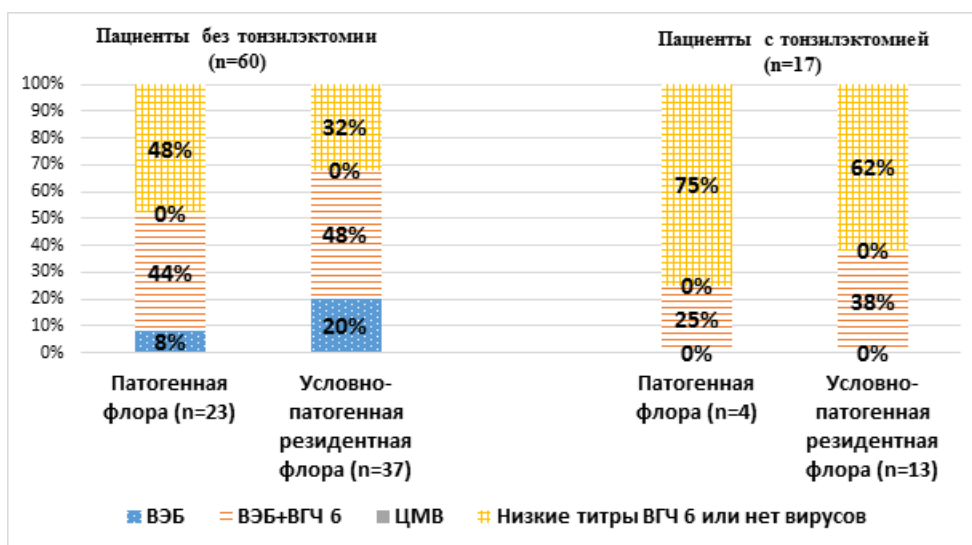


Рис 4. Частота встречаемости герпесвирусов в зависимости от типа бактериальной микрофлоры ротоглотки у пациентов 1-подгруппы исследуемой группы, с хроническим фарингитом, вне обострения

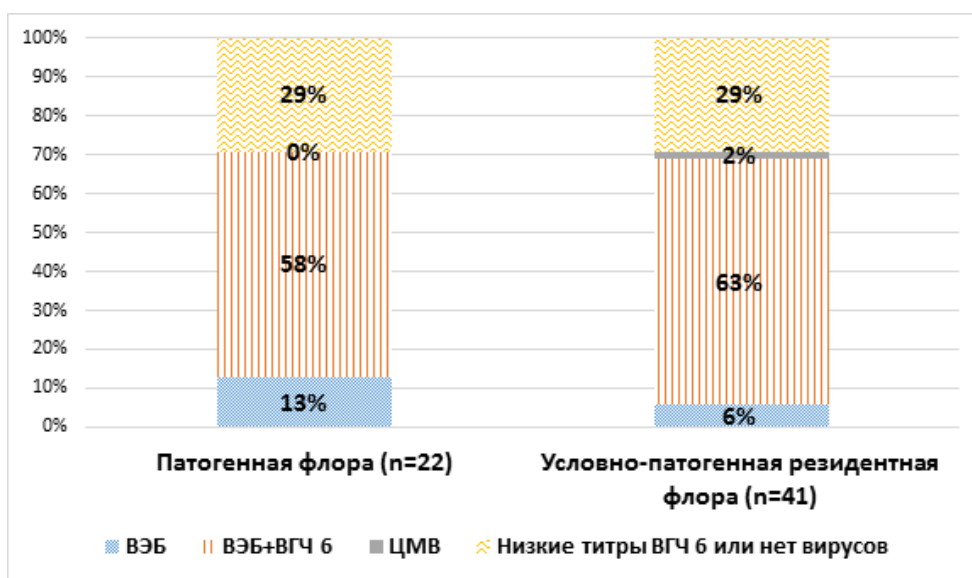


Рис. 5. Частота встречаемости герпесвирусов в зависимости от типа бактериальной микрофлоры ротоглотки у пациентов 2-подгруппы исследуемой группы, с хроническим тонзиллитом, вне обострения



нению с 25% случаев с патогенной микрофлорой. Выявление герпесвирусной инфекции отмечено у большинства пациентов: в 55% случаях обнаружено ДНК ВЭБ, ВГЧ6 и ЦМВ в сочетании с патогенной бактериальной флорой и в 79% случаев в сочетании с условно-патогенной резидентной флорой. Таким образом, можно предположить, что при отсутствии патогенной бактериальной флоры увеличивается роль вирусных агентов в поддержании хронического воспаления ротоглотки при тонзилло-фарингитах.

Данные результаты свидетельствуют о том, что в поддержании воспаления в ротоглотке существенную роль играет и герпесвирусная инфекция, так как в большом проценте случаев (52-80%) и достоверно чаще она выявляется у пациентов с рецидивирующими воспалительными заболеваниями ВДП по сравнению с условно здоровыми лицами. Об этом свидетельствует и тот факт, что у часто болеющих взрослых концентрация герпесвирусов достоверно выше, чем в группе контроля, где в свою очередь преимущественно встречается отсутствие вирусов или низкая вирусная нагрузка.

По сведениям литературы, вирусная нагрузка до 103 копий (3,0 lg) ДНК на 10<sup>5</sup> кл.чел. в пробе соответствует низкой концентрации и является клинически незначимой, а вирусная нагрузка более 103 копий (3,0 lg) ДНК клеток в пробе соответствует высокой концентрации, свидетельствует об активной репликации вирионов и может рассматриваться как клинически значимая [18].

В нашем исследовании получены данные о высокой вирусной нагрузке ДНК ВЭБ и ВГЧ 6 типа

у пациентов исследуемой группы, составляющей в среднем для ВЭБ - 4,55 lg (3,5x10<sup>4</sup>) копий ДНК на 10<sup>5</sup> кл.чел., для ВГЧ 6 типа – 3,37 lg (2,3x10<sup>3</sup>) копий ДНК на 10<sup>5</sup> кл.чел. В группе сравнения концентрация этих вирусов в слюне достоверно ниже: для ВЭБ – 2,81 lg (6,5x10<sup>2</sup>) копий ДНК на 10<sup>5</sup> кл.чел., для ВГЧ 6 типа – 2,83 lg (6,8x10<sup>2</sup>) копий ДНК на 10<sup>5</sup> кл.чел.

С учетом частого выявления ВГЧ 6 типа как в исследуемой группе, так и в группе контроля, его роль в патогенезе воспалительных процессов ротоглотки не очевидна, возможно, он является представителем облигатной микрофлоры. Однако, как было показано, у часто болеющих взрослых ДНК ВГЧ 6 типа в смешанной слюне обнаруживается в более высоких концентрациях по сравнению с условно здоровыми лицами и, кроме того, часто сочетается с ДНК ВЭБ. Предположительно, ВГЧ 6 типа при определенных обстоятельствах может способствовать активации ВЭБ или, по аналогии с условно-патогенной бактериальной флорой, самостоятельно приобретать патогенные свойства и поддерживать воспаление на местном уровне. Поэтому невозможно полностью исключить вклад ВГЧ 6 типа в общий патологический процесс ВДП. В зарубежных исследованиях этот вопрос так же остается открытым [19, 20, 21, 22].

Следует отметить, что при воспалительных заболеваниях ротоглотки частота выявления герпесвирусов более высока при условно-патогенной флоре, чем при патогенной, но у пациентов с хроническим тонзиллитом такой корреляции не отмечается. В то же время, при хроническом

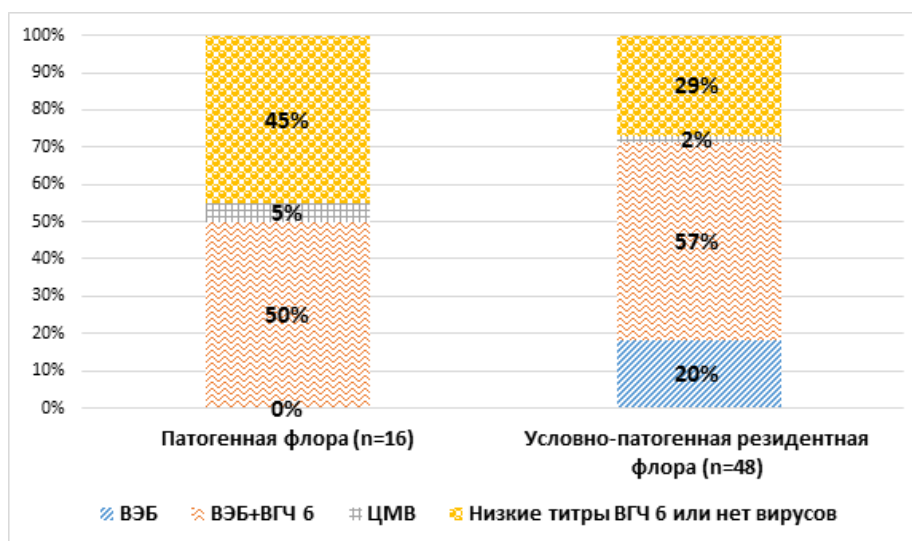


Рис 6. Частота встречаемости герпесвирусов в зависимости от типа бактериальной микрофлоры ротоглотки у пациентов 3-подгруппы исследуемой группы, с хроническим тонзилло-фарингитом, вне обострения

тонзиллите, обнаружение герпесвирусов наиболее высокое по всей группе (71%), выше только при хроническом тонзилло-фарингите с условно-патогенной флорой (79%). У всех пациентов с патогенной микрофлорой исследуемой группы чаще встречается низкая концентрация вирусов или их отсутствие; но для хронических тонзиллитов такой корреляции не отмечено. Полученные результаты демонстрируют один из филогенетически выработанных механизмов антагонизма вирусных патогенов по отношению к представителям бактериальной микрофлоры.

### Выводы

1. У часто болеющих взрослых микробный пейзаж вне периода обострения, представлен сочетанной бактериально-вирусной микрофлорой: условно-патогенными и/или патогенными бактериями (в основном *Staphylococcus aureus*), и представителями герпес-группы (преимущественно, ВЭБ, ВГЧ 6), что может играть роль в хронизации воспаления в ротоглотке, способствовать снижению местного иммунитета и приводить к частым обострениям патологии ВДП.
  2. Вероятнее всего, наибольшее значение в поддержании хронического воспаления в ротоглотке из вирусов группы герпеса имеет ВЭБ, так как он достоверно чаще ( $p < 0,05$ ) обнаруживается у часто болеющих взрослых по сравнению с другими герпесвирусами и с группой здоровых лиц. Возможно, ВЭБ поддерживает и усугубляет агрессивное действие как патогенной, так и условно-патогенной микрофлоры в первую очередь при тонзиллитах, тонзилло-фарингитах, а также может иметь и самостоятельные патогенные свойства в присутствии нормальной микрофлоры.
  3. ЦМВ не характерен для микробиологического пейзажа ротоглотки часто болеющих взрослых и обнаруживается в этой группе редко (2,5%); вероятнее всего, этот представитель герпес-группы не играет решающей роли при частых рецидивах воспалительных заболеваний ВДП.
  4. Роль ВГЧ 6 типа в патогенезе хронического воспалительного процесса до конца не выяснена и требует дальнейшего изучения.
- Таким образом, микробиологический пейзаж ротоглотки у часто болеющих взрослых представлен как бактериальными, так и вирусными агентами, среди которых несомненно есть активные участники воспаления (*Staphylococcus aureus*, ВЭБ), а также облигатная флора – стрептококки, ВГЧ 6 типа, которая при неблагоприятных условиях может приобретать вирулентные свойства и вовлекаться в патологический процесс. В любом случае, бактериально-вирусная комбинация патогенов влияет на механизмы местного иммунитета слизистых оболочек, и со временем приводит к истощению их защитных свойств и иммунологической несостоятельности. В дальнейшем, нам представляется целесообразным изучить состояние иммунологических факторов защиты слизистых оболочек при частых воспалительных заболеваниях ротоглотки и определить возможности терапии как этиологического, так и иммунокорректирующего направления.

### Литература

1. Мирзоева Е.З. Диагностическая значимость симптомов хронического тонзиллита и хронического фарингита. Верхневолжский медицинский журнал 2014; 12 (4): 32-35.
2. Васяева А.А., Арефьева Н.А. Иммуноterapia при хронических фарингитах: показания, результаты. РМЖ. Оториноларингология 2010; 18 (28): 1-7.
3. Koskenkorva T., Koivunen P., Koskela M., et al. Short-term outcomes of tonsillectomy in adult patients with recurrent pharyngitis: a randomized controlled trial. CMAJ, 2013 DOI: 10.1503/cmaj.121852.
4. Georgalas C.C., Tolley N.S., Narula A. Tonsillitis. Clinical Evidence 2009;10: 503
5. Медицинская микробиология. / Под ред. Покровский В.И., О.К. Поздеев. – М.: ГЭОТАР Медицина; 1999: 1200
6. Кренделев М.С. К вопросу об этиологии тонзиллита. Современные проблемы науки и образования. 2015; (4): 377-388
7. Азнабаева Л.Ф., Арефьева Н.А. Иммунологические аспекты хронического тонзиллита. Вестник оториноларингологии. 2013; (4): 4-9
8. Baron E.J., Miller J.M., Weinstein M.P. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM)(a). Clin Infect Dis. 2013; 57(4): 22-121. doi: 10.1093/cid/cit278.
9. Егорова Н.Ю., Гусева Л.Н., Гусева Н.А. и др. Инфекционный мононуклеоз у детей: диагностика, лечение и наблюдение в катамнезе. Consilium Medicum. Педиатрия. 2010; №4: 73-79
10. Исаков В.А., Архипова Е.И., Исаков Д.В. Герпесвирусные инфекции человека. – С.-Пт.: СпецЛит; 2013: 670
11. Dias E.P., Rocha M.L., Carvalho M.O., et al., Detection of Epstein-Barr virus in recurrent tonsillitis. Brazilian Journal of Otorhinolaryngology. 2009, 75(1): 30-4. DOI: org/10.1016/S1808-8694(15)30828-4
12. Салахова А.Х. Факторы гуморального иммунитета при персистенции вируса Эпштейна-Барр в ткани небных миндалин у практически здоровых лиц и больных паратонзиллитом. Уральский медицинский журнал. 2004; (6 (7)): 12-14

13. Zuercher A.W., Coffin S.E., Thurnheer M.C. et al. Nasal-associated lymphoid tissue is a mucosal inductive site for virus-specific humoral and cellular immune responses *The Journal of Immunology*. 2002; 168(4): 1796–1803. DOI: 10.1371/journal.pone.0084097 Sep 09, 2014
14. Brandtzaeg P. Secretory immunity with special reference to the oral cavity *Journal of Oral Microbiology*. 2013; 5:1-24. DOI: 10.3390/proteomes1030275 Sep 07, 2014
15. Endo L.H., Ferreira D., Montenegro M.C. et al. Detection of Epstein-Barr virus in tonsillar tissue of children and the relationship with recurrent tonsillitis. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2001; 58(1):9-15.
16. Dias E.P., Rocha M.L., Oliveira M.O., Carvalho et al. Detection of Epstein—Barr virus in recurrent tonsillitis. *Rev Bras Otorrinolaringol*. 2009; 75: 1: 30—34.
17. Assadian F, Sandström K., Bondeson K., et al. Distribution and Molecular Characterization of Human Adenovirus and Epstein-Barr Virus Infections in Tonsillar Lymphocytes Isolated from Patients Diagnosed with Tonsillar Diseases. *Plos One*. 2016, 2: 19. DOI: 10.1371/journal.pone.0154814
18. Шахгильдян В.И., Шипулина О.Ю., Сафонова А.П., и др. Клиническая интерпретация молекулярных методов в диагностике цитомегаловирусной инфекции. Молекулярная диагностика. Том 1. Раздел 3: 161-167
19. Agut H., Bonnafous P., Gautheret-Dejean A. Laboratory and Clinical Aspects of Human Herpesvirus 6 Infection. *Clinical Microbiology Reviews*. 2015, 28 (2): 313-335. DOI: 10.1128/CMR.00122-14.
20. Cone R. W., Huang M.-L. W., Ashley R. et al. Human herpesvirus 6 DNA in peripheral blood cells and saliva from immunocompetent individuals. *J. Clin. Microbiol*. 1993; 31:1262–1267.
21. Fujiwara N., Namba H., Ohuchi R. et al. Monitoring of human herpesvirus-6 and -7 genomes in saliva samples of healthy adults by competitive quantitative PCR. *J. Med. Virol*. 2000; 61:208–213.
22. Collot S., Petit B., Bordessoule D. et al. Real-Time PCR for Quantification of Human Herpesvirus 6 DNA from Lymph Nodes and Saliva. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*. 2002; 40 (7): 2445–2451. DOI: 10.1128/JCM.40.7.2445–2451.2002

#### Сведения об авторах:

Щубелко Розалия Васильевна, врач аллерголог-иммунолог Многопрофильного Медицинского Центра «Клиники К+31»; 119415. Москва, ул. Лобачевского, дом 42, строение 4; e-mail: sparharia@gmail.com; тел: 8-916-432-70-72

Зуйкова Ирина Николаевна, к.м.н., ст.н.с. отделения "Аллергология и иммунотерапия" ФГБУ "ГНЦ "Институт иммунологии" ФМБА России; e-mail: zuikova\_i@mail.ru; тел: 8-926-232-63-36

Поступила 22.12.2017 г.