

<https://doi.org/10.25207/1608-6228-2021-28-6-29-41>

© Коллектив авторов, 2021

ОЦЕНКА МИКРОБИОТЫ РОТОГЛОТКИ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ТОНЗИЛЛИТОМ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПОЛИВАЛЕНТНЫМ ПИОБАКТЕРИОФАГОМ: НЕРАНДОМИЗИРОВАННОЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Ю.В. Мисюрина¹, М.В. Гаделия^{1,2,*}

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
ул. им. Митрофана Седина, д. 4, г. Краснодар, 350063, Россия

² Общество с ограниченной ответственностью «Центр оториноларингологии — хирургия головы и шеи»
ул. Новосущёвская, д. 21, г. Москва, 127055, Россия

АННОТАЦИЯ

Введение. За последние годы отмечается возрастание частоты хронической патологии небных миндалин в 1,5–1,8 раза. Проблема выбора оптимального метода лечения хронического тонзиллита остается актуальной, несмотря на многочисленные исследования и оптимизацию лечебно-диагностического процесса.

Цель работы — провести анализ микрофлоры ротоглотки у пациентов с хроническим тонзиллитом при лечении поливалентным пиобактериофагом.

Методы. За период 2018–2021 гг. под наблюдением находились 126 пациентов с диагнозом «хронический тонзиллит, компенсированная форма». Оценивались качественные и количественные характеристики микрофлоры ротоглотки на момент включения в исследование, сразу после окончания курса лечения и через 3 месяца. Пациенты были разделены на 2 группы: в основной группе ($n = 65$) выполняли вакуумное промывание лакун небных миндалин на аппарате «Тонзиллор ММ», также назначался поливалентный пиобактериофаг; в группе сравнения ($n = 61$) выполняли только санацию лакун небных миндалин на аппарате «Тонзиллор ММ». В исследование включена контрольная группа здоровых добровольцев. Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи метода хи-квадрат Пирсона, с применением статистической программы SPSS 23. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Сравнительный анализ количественных показателей персистенции отдельных представителей микробиоты слизистой оболочки миндалин (частота выделения, плотность микробной колонизации) показал у пациентов с хроническим тонзиллитом существенное увеличение представителей стафилококков, β -гемолитических стрептококков, энтеробактерий, грамотрицательных анаэробных бактерий, а также грибов в сравнении с контрольной группой ($p < 0,05$). Проведенное лечение положительно отразилось на состоянии микробиоты в сравнении с контрольной группой, однако лучший эффект установлен при применении поливалентного пиобактериофага. На основании микробиологического исследования отмечалась стабильность достигнутых результатов при динамическом наблюдении за пациентами. В группе пациентов, которым выполняли санацию на аппарате «Тонзиллор ММ», через 3 месяца наблюдается дисбиотическая картина 2–3-й степени у 47,5% (29 человек), а при использовании поливалентного пиобактериофага таких пациентов было 7,7% (5 человек) ($p < 0,01$).

Заключение. Таким образом, проведенное исследование свидетельствует об эффективности и целесообразности применения пиобактериофага для лечения хронического тонзиллита прежде всего с микрoэкологических позиций.

Ключевые слова: хронический тонзиллит, миндалин, микрофлора, дисбиоз, поливалентный пиобактериофаг

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Мисюринa Ю.В., Гаделия М.В. Оценка микробиоты ротоглотки у пациентов с хроническим тонзиллитом при лечении поливалентным пиобактериофагом: нерандомизированное экспериментальное клиническое исследование. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2021; 28(6): 29–41. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2021-28-6-29-41>

Поступила 19.07.2021

Принята после доработки 15.10.2021

Опубликована 28.12.2021

OROPHARYNGEAL MICROBIOTA PROFILING IN CHRONIC TONSILLITIS PATIENTS RECEIVING POLYVALENT PYOBACTERIOPHAGE: A NON-RANDOMISED EXPERIMENTAL CLINICAL TRIAL

Yuliya V. Misyurina¹, Maiya V. Gadeliya^{1,2,*}

¹ *Kuban State Medical University
Mitrofan Sedina str., 4, Krasnodar, 350063, Russia*

² *Otorhinolaryngology Centre for Head and Neck Surgery LLC
Novosushchevskaya str., 21, Moscow, 127055, Russia*

ABSTRACT

Background. Recent years have witnessed a 1.5–1.8-fold growth of chronic palatine tonsillitis. Choosing optimal treatment remains relevant in this illness despite ample research and improvement in therapy and diagnosis.

Objectives. An analysis of oropharyngeal microflora in chronic tonsillitis patients receiving a polyvalent pyobacteriophage treatment.

Methods. A total of 126 patients diagnosed with compensated chronic tonsillitis were followed up over 2018–2021. Qualitative and quantitative traits of oropharyngeal microflora have been assessed at baseline, immediately upon completion and past 3 months of treatment. The patients were separated between two cohorts: the main one ($n = 65$) had palatine tonsil lacunae irrigation with a Tonsillor MM unit and received polyvalent pyobacteriophage, while the comparison cohort ($n = 61$) only had palatine tonsil lacunae sanitation with Tonsillor MM. The trial included a control healthy volunteers cohort. Pearson's chi-square method was used for statistical analyses with the SPSS 23 software. Statistical significance was obtained at $p < 0.05$.

Results. Quantitative comparisons of microbiotic strain persistence in tonsillar mucosa (isolation rate, microbial colonisation density) showed a significant prevalence of enterobacterial staphylococci and β -haemolytic streptococci, Gram-negative anaerobic bacteria and fungi in chronic tonsillitis patients compared to the control cohort ($p < 0.05$). Therapy positively impacted microbiota vs. control, but the best effect was observed with polyvalent pyobacteriophage. Microbiological assays in dynamic patient follow-up demonstrated stability of the results attained. The Tonsillor MM sanitation cohort revealed a 2–3 degree dysbiosis in 47.5% (29) patients in 3 months, while the polyvalent pyobacteriophage cohort only had 7.7% (5) such patients ($p < 0.01$).

Conclusion. The trial demonstrates efficacy and relevance of pyobacteriophage treatment in chronic tonsillitis, primarily at the microenvironmental level.

Keywords: chronic tonsillitis, tonsils, microflora, dysbiosis, polyvalent pyobacteriophage.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Misyurina Yu.V., Gadeliya M.V. Oropharyngeal microbiota profiling in chronic tonsillitis patients receiving polyvalent pyobacteriophage: A non-randomised experimental clinical trial. *Kubanskii Nauchnyi Meditsinskii Vestnik*. 2021; 28(6): 29–41. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2021-28-6-29-41>

Submitted 19.07.2021

Revised 15.10.2021

Published 28.12.2021

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время частота хронического тонзиллита (ХТ) остается высокой среди лор-патологии. По данным различных авторов, ХТ страдают от 12,5 до 22,1% населения, а доля среди всех хронических лор-заболеваний составляет от 22 до 40% [1–3]. За последние годы отмечается возрастание частоты хронической патологии небных миндалин в 1,5–1,8 раза. Проблема выбора оптимального метода лечения остается актуальной, несмотря на многочисленные исследования и оптимизацию лечебно-диагностического процесса [4].

Небные миндалины активно участвуют в формировании гуморального и местного иммунитета. Следовательно, их воспаление закономерно влечет за собой снижение функциональной активности, создает условия хронической персистенции инфекционного агента. Миндалины становятся резервуаром бактерий и местом перманентной сенсибилизации организма человека [5].

Лимфоэпителиальные образования рото- и носоглотки связаны с иммунитетом слизистых оболочек и называются «пограничная лимфоидная ткань». В настоящее время щадящее отношение к лимфоидной ткани является приоритетным направлением в лечении [6, 7]. Однако тонзилэктомия продолжает оставаться одной из самых распространенных хирургических операций, выполняемых отоларингологами за последние годы [8].

Таким образом, проблема выбора оптимального метода лечения ХТ и сегодня остается актуальной. Нарушение микробиоты слизистых оболочек миндалин играет значительную роль в патогенезе хронического тонзиллита [9]. Поэтому оценку эффективности различных способов лечения хронического тонзиллита следует проводить с учетом состояния микробиоты слизистых оболочек миндалин.

Цель работы — определение эффективности применения поливалентного пиобактериофага

по результатам количественных и качественных показателей микрофлоры ротоглотки у пациентов с хроническим тонзиллитом компенсированной формы для оптимизации консервативного лечения.

МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Проведено нерандомизированное экспериментальное клиническое исследование 126 пациентов, проходивших амбулаторное лечение на базе общества с ограниченной ответственностью (ООО) «Центр оториноларингологии — хирургия головы и шеи» (г. Москва). Также в исследования включены 34 условно здоровых добровольца, проходивших обязательную диспансеризацию согласно приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации от 27 апреля 2021 г. № 404 н «Об утверждении порядка проведения профилактического медицинского осмотра и диспансеризации определенных групп взрослого населения».

Критерии соответствия

Критерии включения

Для основной группы и группы сравнения — пациенты с диагностированным хроническим тонзиллитом компенсированной формы вне обострения в возрасте от 18 до 35 лет, подписавшие письменное согласие на участие в исследовании после ознакомления с его протоколом. Для контрольной группы: пациенты без патологии небных миндалин в анамнезе, без сопутствующей патологии, острых воспалительных заболеваний дыхательной системы и полости рта, без наличия очагов хронической инфекции, подписавшие письменное согласие на участие в исследовании после ознакомления с его протоколом.

Критерии невключения

Пациенты с хроническим тонзиллитом декомпенсированной формы, с заболеваниями щитовидной железы, онкологической патологией, возраст старше 35 и младше 18 лет, алкоголизм, наркомания.

Критерии исключения

Аллергические реакции на препараты исследования, острые воспалительные заболевания дыхательной системы и полости рта, нарушение пациентом выполнения рекомендаций врача.

Условия проведения

Отбор и обследование пациентов проводилось на базе ООО «Центр оториноларингологии — хирургия головы и шеи». Статистическая обработка полученных данных осуществлялась на кафедре лор-болезней ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Продолжительность исследования

Включение в исследование, обследование, лечение и анализ полученных данных пациентов проводились с октября с 2018 по май 2021 г.

Описание медицинского вмешательства

В основной группе санация лакун небных миндалин проводилась на аппарате «Тонзиллор ММ» с воздействием низкочастотного ультразвука ежедневно № 10. Применяли аппликатор для небных миндалин со сменной воронкой на конце и волновод со скошенным торцом. Каждую миндалину подвергали воздействию низкочастотной ультразвуковой волной через стерильную воду в течение 30 секунд, при этом давление в воронке аппликатора было 0,3 мг/см². Каждому пациенту назначались ирригации поливалентным пиобактериофагом по 10 мл 3 раза в день на каждую небную миндалину с последующим проглатыванием. Курс лечения составлял 14 дней. Во второй группе сравнения пациентам проводилась только санация лакун небных миндалин на аппарате «Тонзиллор ММ» № 10 ежедневно без применения поливалентного пиобактериофага.

Исходы исследования**Основной исход исследования**

Оценивались качественные и количественные характеристики микрофлоры ротоглотки на момент включения в исследование и через 3 месяца после проведенного лечения.

Дополнительный исход исследования

Дополнительные исходы дизайном исследования не предусмотрены.

Анализ в подгруппах

Пациенты с хроническим тонзиллитом компенсированной формы в стадии ремиссии были разделены на 2 группы методом случайной выборки

в зависимости от назначенного лечения. Первую основную группу ($n = 67$) составили пациенты, которым выполнялась санация лакун небных миндалин на аппарате «Тонзиллор ММ», озвучивание проводилось через стерильную воду, также назначался поливалентный пиобактериофаг. Во второй группе сравнения ($n = 62$) наблюдаемым выполнялась санация лакун небных миндалин на аппарате «Тонзиллор ММ», озвучивание через стерильную воду без применения поливалентного пиобактериофага. 3 пациента были исключены из исследования по причине нарушения рекомендаций врача (2 — в основной группе, 1 — в группе сравнения). Таким образом, в анализ были включены результаты обследования 65 пациентов в основной группе и 61 пациента в группе сравнения.

Также в исследование включена контрольная группа здоровых добровольцев без патологии небных миндалин в анамнезе, без сопутствующей патологии, острых воспалительных заболеваний дыхательной системы и полости рта, без наличия очагов хронической инфекции.

Методы регистрации исходов

Всем пациентам, включенным в исследование, был проведен осмотр лор-органов, оценены общеклинические лабораторные показатели (клинический анализ крови, антистрептолизин-О, С-реактивный белок, ревматоидный фактор), а также взят мазок на аэробную и факультативно-анаэробную бактериальную флору с определением чувствительности к расширенному спектру antimicrobных препаратов и бактериофагам. Забор материала производился натошак зондом, плотно прижимая его к поверхности небных миндалин, в коллектор с транспортной средой Amies с углем. Посев на микрофлору выполнялся с использованием селективных хромогенных питательных сред (колумбийский агар с кровью, солевой агар, среда Сабуро), обогащенных ростовыми факторами, производства BIO-RAD (США) и автоматической идентификацией выделенных микроорганизмов методом масс-спектрометрии MALDI-TOF на анализаторе VITEK MS (Biomerieux, Франция). Определение чувствительности к антибиотикам и бактериофагам выполнялось классическим диско-диффузионным методом с автоматическим считыванием результата на анализаторе Adagio (BIO-RAD, США).

Для комплексной оценки микробиоты небных миндалин по степени дисбиоза использовали критерии, предложенные А.С. Журавлевым и соавт., 2014 г.¹

¹ Журавлев А.С., Мани Х., Демина Е.В. Особенности противомикробных эффектов различных способов лечения больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом. *Экспериментальна і клінічна медицина*. 2014; 1 (62): 99–104.

Таблица 1. Критерии, характеризующие микробиоценоз небных миндалин
Table 1. States of tonsillar microbiotic structure

Микроорганизмы	Кол-во микроорганизмов при дисбиотических нарушениях, lg КОЕ/г			
	эубиоз	дисбиоз 1-й ст.	дисбиоз 2-й ст.	дисбиоз 3-й ст.
Аутохтонные бактерии	<6,0	>6,0	3,0–8,0	<4,0
Гноеродные кокки	-	<4,0	>4,0	>6,0
Аллохтонные бактерии	-	-	<4,0	>4,0
Дрожжеподобные и плесневые грибы	-	-	<4,0	>4,0

Статистический анализ

Принципы расчета статистической выборки

Предварительный расчет выборки не проводился.

Методы статистического анализа данных

Статистическая обработка данных полученных результатов исследования проводилась с помощью методов хи-квадрат Пирсона, Фридмана, Манна — Уитни, Краскела — Уоллиса, с использованием статистической программы SPSS 23. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Сравнение по половому составу было выполнено с помощью критерия хи-квадрат (χ^2) Пирсона анализом произвольных таблиц сопряженности.

Для сравнения количественных показателей (возраст) применяли непараметрический критерий Краскела — Уоллиса. Для сравнительного анализа в исследуемых группах применяли непараметрический критерий Манна — Уитни и Краскелла — Уоллиса.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Участники исследования

Группы были однородны по полу и возрасту (рис. 1, 2). Количество женщин основной группы составило 46,2% ($n = 30$), мужчин — 53,8% ($n = 35$). Средний возраст женщин составил $26,2 \pm 6,1$ года, мужчин — $27,3 \pm 4,1$ года.

В группе сравнения женщин — 54,1% ($n = 33$), мужчин — 45,9% ($n = 28$). Средний возраст женщин — 26,7 года, мужчин — 27,1 года. В контрольной группе женщин — 58,8% ($n = 20$), средний возраст — 26,8 года, мужчин — 41,2% ($n = 14$), средний возраст — 27,4 года. Дизайн исследования представлен на рис. 3.

Основные результаты исследования

В процессе работы в группах с хроническим тонзиллитом (ХТ) нами было идентифицировано 16 различных микроорганизмов с поверхности слизистой оболочки небных миндалин. Видовой состав микроорганизмов слизистых оболочек миндалин обследованных пациентов значимо ($p < 0,05$) отличался от показателей контрольной группы (табл. 2).

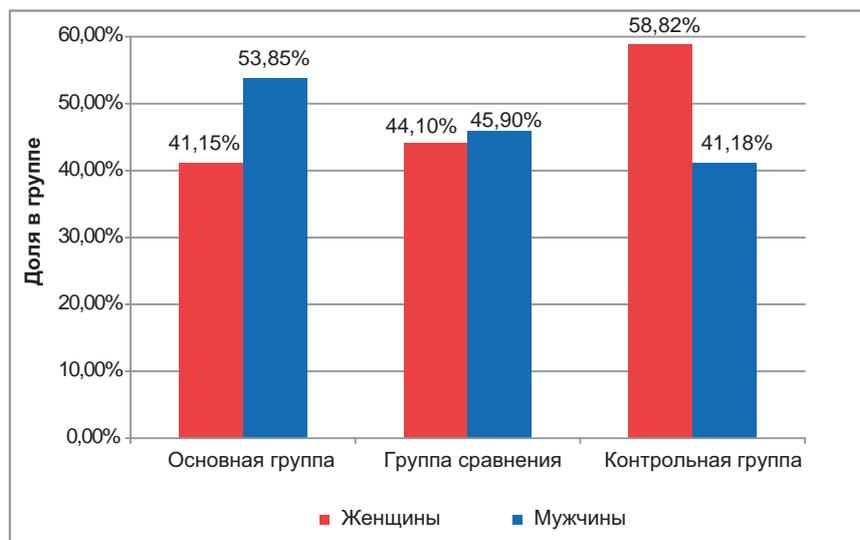


Рис. 1. Гендерные доли в исследуемых группах.
Fig. 1. Cohort gender structure.

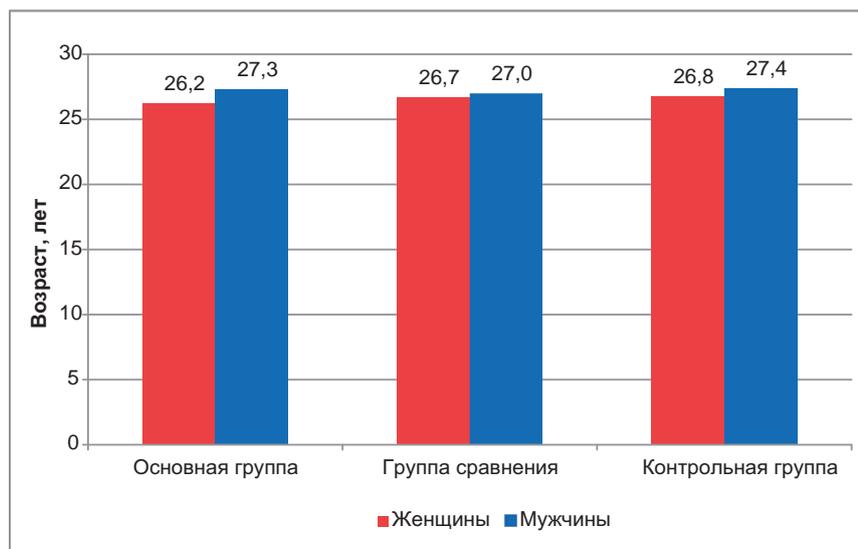


Рис. 2. Средний возраст мужчин и женщин в исследуемых группах.
Fig. 2. Mean gender age in study cohorts.



Рис. 3. Схема проведения исследования.
Fig. 3. Experimental design.

У пациентов с ХТ изучаемый биотоп активно колонизировали представители *Streptococcus pyogenes* в группе 1 — 61,5% (40 пациентов) и в группе 2 — 60,7% (37 пациентов), *Staphylococcus aureus* в группе 1 — у 43,1% (28 пациентов) и в группе 2 — у 42,6% (26 пациентов). В группах пациентов с ХТ энтерокок-

ков, которых в настоящее время рассматривают как этиологический фактор гнойно-воспалительных заболеваний, персистировали в 2 раза чаще, чем в контрольной группе.

Выявлен расширенный видовой состав микрофлоры слизистых оболочек миндалин при ХТ за счет представителей моракселл, стомато-

Таблица 2. Видовой состав бактериологического посева на микрофлору из ротоглотки у пациентов в исследуемых группах на момент включения**Table 2.** Baseline species composition of oropharyngeal microflora inoculates in study cohorts

Представители микроорганизмов	Основная группа (n = 65)		Группа сравнения (n = 61)		Контрольная группа (n = 34)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
<i>Streptococcus pyogenes</i>	40	61,5*	37	60,7*	2	5,9
<i>Staphylococcus aureus</i>	28	43,1*	26	42,6*	0	0,0
<i>Neisseria spp.</i>	27	41,5	26	42,6	12	35,3
<i>Enterococcus spp.</i>	25	38,5*	24	39,3*	6	17,6
<i>Haemophilus spp.</i>	20	30,8*	19	31,1*	5	14,7
<i>Moraxella spp.</i>	12	18,5*	10	16,4*	0	0,0
<i>Fusobacterium spp.</i>	8	12,3*	7	11,5*	10	29,4
<i>Candida spp.</i>	8	12,3*	8	13,1*	8	23,5
<i>Corynebacterium spp.</i>	5	7,7*	4	6,6*	6	17,6
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	6	9,2*	5	8,2*	0	0,0
<i>Veillonella spp.</i>	5	7,7*	5	8,2*	14	41,2
<i>Enterobacteriaceae</i> ¹	10	15,4*	9	14,8*	0	0,0
<i>Lactobacillus spp.</i>	10	15,4*	8	13,1*	0	0,0
<i>Bacteroides spp.</i>	4	6,2*	4	6,6*	0	0,0
<i>Stomatococcus spp.</i>	7	10,8*	6	9,8*	0	0,0
<i>Aerococcus viridans</i>	5	7,7*	4	6,6*	10	29,4

Примечание: ¹ — *Enterobacteriaceae* — представители родов *Klebsiella*, *Citrobacter* и *Escherichia coli*; * — статистически значимые различия ($p < 0,05$) при сравнении с контрольной группой.

Note: ¹ — *Enterobacteriaceae* — *Klebsiella*, *Citrobacter* genera and *Escherichia coli*; * — statistical significance ($p < 0.05$) vs. control cohort.

кокков, грамотрицательных анаэробов, энтеробактерий и грибов. При этом следует отметить снижение частоты выделения представителей резидентной микрофлоры (коринебактерии, аэрококки, лактобактерии), которые присущи данной микробиоте в группе контроля.

Анализ плотности колонизации грамположительными кокками также позволил выявить значительные отличия от значений, полученных в контрольной группе, $p < 0,05$ (табл. 3).

По данным ряда авторов, при снижении количества лактобацилл в микробиоте патогенные свойства стафилококков и энтеробактерий растут. Эта тенденция прогрессирует при наличии ХТ² [10, 11].

При изменении видового и/или количественного состава физиологической микрофлоры различных биотопов возникает состояние дисбиоза. К развитию и прогрессированию стоматологических и воспалительных лор-заболеваний приводит дисбиоз слизистой оболочки органов полости рта и глотки вследствие нарушения колонизационной резистентности и расстройств местного иммунитета [12, 13].

Нами установлено, что микробиота слизистых оболочек небных миндалин состояла из многокомпонентных ассоциаций аэробной, факультативно-анаэробной и анаэробной микрофлоры.

Полученные результаты совпадают с данными других авторов. Необходимо отметить, что ряд авторов основное значение в патогенезе ХТ предоставляет *Str. pyogenes* [13, 14], а другие авторы — *S. aureus* [15]. Несмотря на существующие разногласия, все авторы сходятся во мнении о доминантной роли гемолитической стрептококковой инфекции в патогенезе ХТ.

В настоящем исследовании установлено, что уменьшение титра нормальной микрофлоры зависит от роста количества патогенных бактерий и грибов. Это свидетельствовало об усилении дисбиотических нарушений. До проведения лечения эубиотическое состояние микробиоценоза поверхностей небных миндалин не зарегистрировано ни у одного пациента в противовес контрольной группе, где нормоценоз диагностирован у 88,2% обследованных ($p < 0,001$). У 61,7% больных состояние

² Wade W., Thompson H., Rybalka A., Vartoukian S. Uncultured Members of the Oral Microbiome. *J. Calif. Dent. Assoc.* 2016; 44 (7): 447–456.

Таблица 3. Плотность микробной колонизации на слизистой оболочке небных миндалин на момент включения в исследование

Table 3. Baseline microbial colonisation density on palatine tonsillar mucosa

Представители микроорганизмов	Основная группа (n = 65)	Группа сравнения (n = 61)	Контрольная группа (n = 34)
	lg КОЕ/г (M ± m)		
<i>Str. pyogenes</i>	7,6 ± 0,3*	7,8 ± 0,4*	4,5 ± 0,2
<i>S. aureus</i>	6,5 ± 0,4*	6,8 ± 0,3*	0
<i>Neisseria spp.</i>	8,4 ± 0,4*	8,3 ± 0,7*	4,6 ± 0,3
<i>Enterococcus spp.</i>	6,7 ± 0,9*	6,8 ± 0,8	3,5 ± 0,3
<i>Haemophilus spp.</i>	8,3 ± 0,4*	8,4 ± 0,6*	3,9 ± 0,3
<i>Moraxella spp.</i>	7,5 ± 0,6	7,3 ± 0,5	0
<i>Fusobacterium spp.</i>	3,2 ± 0,2	3,4 ± 0,3	0
<i>Candida spp.</i>	3,3 ± 0,2	3,5 ± 0,4	0
<i>Corynebacterium spp.</i>	4,4 ± 0,6	4,3 ± 0,5	4,1 ± 0,6
<i>Peptostreptococcus spp.</i>	3,4 ± 0,4	3,6 ± 0,5	3,5 ± 0,4
<i>Veillonella spp.</i>	3,6 ± 0,3	3,8 ± 0,4	3,5 ± 0,2
<i>Enterobacteriaceae</i> ¹	3,2 ± 0,3	3,3 ± 0,1	3,2 ± 0,2
<i>Lactobacillus spp.</i>	3,4 ± 0,2	3,5 ± 0,5	3,6 ± 0,4
<i>Bacteroides spp.</i>	3,6 ± 0,4	3,5 ± 0,8	0
<i>Stomatococcus spp.</i>	4,1 ± 0,9	4,2 ± 0,4	0
<i>Aerococcus viridans</i>	3,7 ± 0,2	3,6 ± 0,3	3,8 ± 0,2

Примечание: ¹ — *Enterobacteriaceae* — представители родов *Klebsiella*, *Citrobacter* и *E. coli*; * — статистически значимые различия ($p < 0,05$) при сравнении с контрольной группой.

Note: ¹ — *Enterobacteriaceae* — *Klebsiella*, *Citrobacter* genera and *Escherichia coli*; * — statistical significance ($p < 0.05$) vs. control cohort.

микробиологии обследованного биотопа соответствовало критериям дисбиоза 2-й степени (табл. 4).

Видовой состав микробиоты небных миндалин у пациентов групп 1 и 2 через 3 месяца после лечения изменялся незначительно. До санации выявляли 16 видов микроорганизмов, после санации — 12. Однако наблюдалось значительное изменение плотности микробной колонизации.

Проведенное лечение в группах с ХТ оказало положительное влияние на микробиоценоз изучаемого биотопа в сравнении как с исходными показателями, так и с показателями контрольной группы ($p < 0,05$). При этом лучшие результаты выявлены в группе 1, т.е. применение пиобактериофага в 2,7 раз чаще приводило к селективному противомикробному действию, чем санация на аппарате «Тонзиллор ММ» ($p < 0,01$). Это подтверждает статистически значимое ($p < 0,05$) снижение популяционного уровня *Str. pyogenes*, *S. aureus*, некоторых видов энтеробактерий. Эффективность применения пиобактериофага в терапии хронического тонзиллита наглядно подтверждается результатами, которые были получены через 3 месяца после лечения (рис. 4).

Удельный вес пациентов, у которых через 3 месяца после лечения сохранились дисбиотическая картина 2–3-й степени при санации на аппарате «Тонзиллор ММ», составил 47,5% (29 человек), а при использовании пиобактериофага таких пациентов было 7,7% (5 человек) ($p < 0,01$).

На слизистых оболочках миндалин в группе, где использовался пиобактериофаг, не выявлена персистенция энтеробактерий, облигатных анаэробных бактерий. Напротив, частота выделения и плотность популяции представителей автохтонной микрофлоры (*S. mitis*, *S. oralis*, *S. salivarius*, *A. viridans*, *Corynebacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*) возрастала в 2,6–4,3 раза ($p < 0,05$). У пациентов группы 2, наоборот, в динамике отмечалось ухудшение микробиологической картины, проявившееся в изменении соотношения грамположительных и грамотрицательных аллохтонных бактерий в сторону увеличения плотности популяции последних, а также повышении удельного веса изолятов дрожжеподобных грибов рода *Candida*.

Эубиотическое состояние микробиоты после санации на аппарате «Тонзиллор ММ» выявлено у 19,7% пациентов, тогда как в группе 1 нормоценоз диагностировали у 63,1% обследованных ($p < 0,001$).

Дополнительные результаты исследования

Дополнительные результаты дизайном исследования не предусмотрены и не выявлялись.

Нежелательные явления

Не выявлены.

ОБСУЖДЕНИЕ**Резюме основного результата исследования**

Проведенное исследование свидетельствует об эффективности и целесообразности применения пиобактериофага для лечения хронического тонзиллита прежде всего с микробиологических позиций.

Обсуждение основного результата исследования

Местный состав микроорганизмов способен меняться с течением времени, однако среди

наиболее агрессивных и распространенных инфекционных агентов выделяют стрептококки, стафилококки, различные вирусы, реже — хламидии и микоплазмы. Ведущим этиологическим фактором является β -гемолитический стрептококк группы А (БГСА), который обнаруживают примерно в 30–60% случаев при установленном диагнозе ХТ. Однако в последнее время изменилось отношение к факторам патогенности БГСА в связи с обнаружением его способности формировать биопленки, причем в условиях *in vitro* была доказана их чрезвычайная антибактериальная резистентность [16].

В норме представители микрофлоры ротоглотки человека являются сапрофитами или условно-патогенными микроорганизмами. Последние в зависимости от внешних и внутренних факторов могут изменять свои функции и становиться причиной развития и существования неспецифического инфекционного процесса [17]. Поэтому на сегодня

Таблица 4. Состояние микробиоты слизистых оболочек миндалин через 3 месяца
Table 4. Microbiotic state of tonsillar mucosa past 3 months

Состояние микробиоты	Основная группа (n = 65)		Группа сравнения (n = 61)		Контрольная группа (n = 34)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Эубиоз	42	64,6	6	9,8	31	91,2
Дисбиоз 1-й степени	18	27,7	26	42,6	3	8,8
Дисбиоз 2-й степени	5	7,7	24	39,3	0	0,0
Дисбиоз 3-й степени	0	0,0	5	8,2	0	0,0

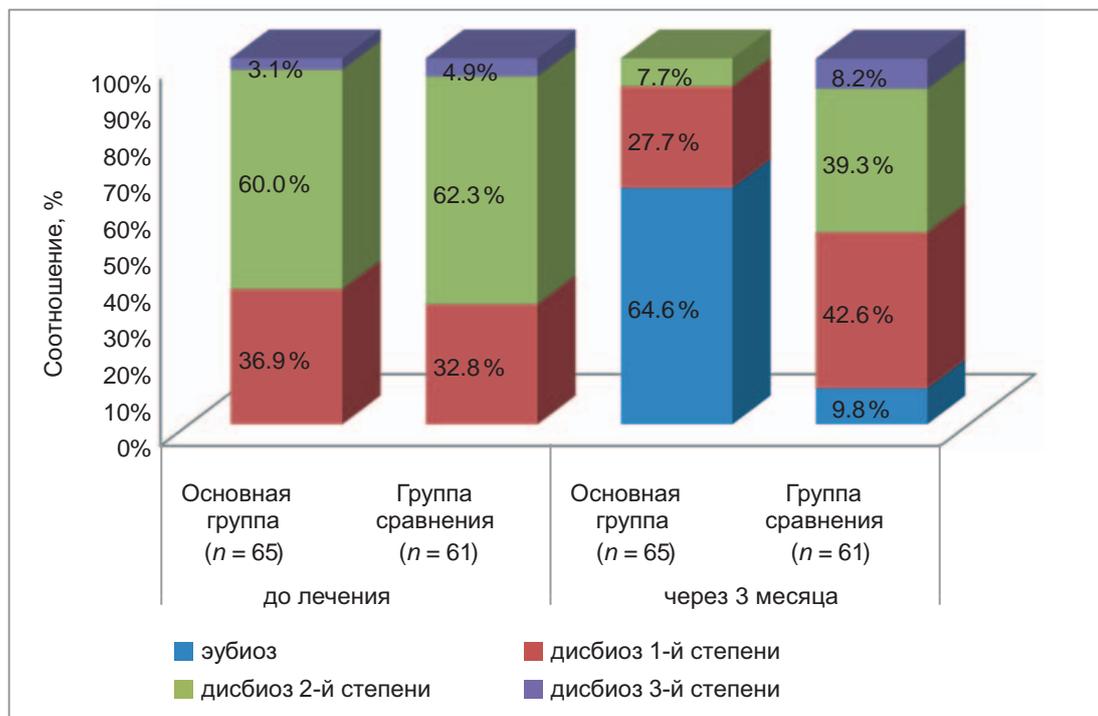


Рис. 4. Динамика состояния микробиоты слизистых оболочек небных миндалин.
Fig. 4. Microbiotic dynamics of palatine tonsillar mucosa.

остаётся актуальным вопрос о трактовке результатов микробиологического исследования в его количественном и качественном аспекте, особенно в случаях микробных ассоциаций.

Проведенное лечение в группах с ХТ оказало положительное влияние на микробиоценоз изучаемого биотопа в сравнении как с исходными показателями, так и с показателями контрольной группы ($p < 0,05$). При этом лучшие результаты выявлены в группе 1, т.е. применение пиобактериофага в 2,7 раз чаще приводило к селективному противомикробному действию, чем санация на аппарате «Тонзиллор ММ» ($p < 0,01$). Это подтверждает статистически значимое ($p < 0,05$) снижение популяционного уровня *Str. pyogenes*, *S. aureus*, некоторых видов энтеробактерий.

Ограничения исследования

Небольшой объем выборки исследования не позволяет уверенно экстраполировать полученные результаты на генеральную совокупность.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сравнительный анализ количественных показателей персистенции отдельных представителей микробиоты слизистой оболочки миндалин (частота выделения, плотность микробной колонизации) показал у пациентов с хроническим тонзиллитом существенное увеличение представителей стафилококков, β -гемолитических стрептококков, грамотрицательных анаэробных бактерий, энтеробактерий, а также грибов в сравнении с контрольной группой ($p < 0,05$).

Проведенное лечение положительно отразилось на состоянии микробиоты в сравнении с контрольной группой, однако лучший эффект установлен при применении поливалентного пиобактериофага. На основании микробиологического исследования отмечалась стабильность достигнутых результатов при динамическом наблюдении за пациентами. В группе пациентов, которым выполняли санацию на аппарате «Тонзиллор ММ», через 3 месяца наблюдается дисбиотическая картина 2–3-й степени у 47,5% (29 человек), а при использовании пиобактериофага таких пациентов было 7,7% (5 человек) ($p < 0,01$).

офага таких пациентов было 7,7% (5 человек) ($p < 0,01$).

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации, одобрено независимым Этическим комитетом федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ул. им. Митрофана Седина, д. 4, г. Краснодар, Россия), протокол № 71 от 23.11.2018 г. Перед началом исследования все пациентки подтвердили свое участие письменным информированным добровольным согласием.

COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS

The study complies with the standards of the Declaration of Helsinki and was approved by the Committee for Ethics of Kuban State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation (Mitrofana Sedina str., 4, Krasnodar, Russia), Minutes No. 71 of 23.11.2018. All patients provided a free written informed consent to participate in the trial.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии спонсорской поддержки при проведении исследования.

FINANCING SOURCE

The authors declare that no funding was received for this study.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражает благодарность кафедре лор-болезней ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России и клинике оториноларингологии-хирургия головы и шеи за предоставленные материалы и сотрудничество.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are thankful to the Chair of ENT Diseases of Kuban State Medical University and Otorhinolaryngology Centre for Head and Neck Surgery for providing materials and collaboration.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Борисова О.Ю., Алешкин В.А., Пименова А.С., Крюков А.И., Кунельская Н.Л., Гуров А.В., Шадрин Г.Б., Товмасын А.С., Ефимов Б.А., Кафарская Л.И. Микробный состав микрофлоры ротоглотки у больных с тонзиллярной патологией. *Инфекция и иммунитет*. 2015; 5(3): 225–232. DOI: 10.15789/2220-7619-2015-3-225-232
2. Цыркунов В.М., Рыбак Н.А., Васильев А.В., Рыбак Р.Ф. Микробиологические и морфологические аспекты хронического тонзиллита. *Инфекционные болезни*. 2016; 14(1): 42–47. DOI: 10.20953/1729-9225-2016-1-42-47
3. Начаров П., Рязанцев С. Этиологическая и патогенетическая диагностика хроническо-

- го тонзиллита. *Врач.* 2018; 29(3): 26–29. DOI: 10.29296/25877305-2018-03-06
4. Choi D.H., Park J., Choi J.K., Lee K.E., Lee W.H., Yang J., Lee J.Y., Park Y.J., Oh C., Won H.R., Koo B.S., Chang J.W., Park Y.S. Association between the microbiomes of tonsil and saliva samples isolated from pediatric patients subjected to tonsillectomy for the treatment of tonsillar hyperplasia. *Exp. Mol. Med.* 2020; 52(9): 1564–1573. DOI: 10.1038/s12276-020-00487-6
 5. Alasil S.M., Omar R., Ismail S., Yusof M.Y., Dhabaan G.N., Abdulla M.A. Evidence of Bacterial Biofilms among Infected and Hypertrophied Tonsils in Correlation with the Microbiology, Histopathology, and Clinical Symptoms of Tonsillar Diseases. *Int. J. Otolaryngol.* 2013; 2013: 408238. DOI: 10.1155/2013/408238
 6. Vestby L.K., Grønseth T., Simm R., Nesse L.L. Bacterial Biofilm and its Role in the Pathogenesis of Disease. *Antibiotics (Basel).* 2020; 9(2): 59. DOI: 10.3390/antibiotics9020059
 7. Abu Bakar M., McKimm J., Haque S.Z., Majumder M.A.A., Haque M. Chronic tonsillitis and biofilms: a brief overview of treatment modalities. *J. Inflamm. Res.* 2018; 11: 329–337. DOI: 10.2147/JIR.S162486.
 8. Нестерова, А.А., Вермиенко В.В. Особенности лакунарного микробиома при хроническом тонзиллите у больных с гастроэзофагеальным рефлюксом. *Российская оториноларингология.* 2018; 92(1): 85–92. DOI: 10.18692/1810-4800-2018-1-85-92
 9. Cho S.W., Yang S.K. What Does the Microbiome in the Tonsil Tell Us? *Clin. Exp. Otorhinolaryngol.* 2021; 14(3): 247–248. DOI: 10.21053/ceo.2021.01074
 10. Tansirichaiya S., Reynolds L.J., Roberts A.P. Functional Metagenomic Screening for Antimicrobial Resistance in the Oral Microbiome. *Methods. Mol. Biol.* 2021; 2327: 31–50. DOI: 10.1007/978-1-0716-1518-8_3
 11. Iuchi H., Ohori J., Kiyama S., Imuta N., Nishi J., Kuro-no Y., Yamashita M. Effectiveness of antibacterial agents against cell-invading bacteria such as *Streptococcus pyogenes* and *Haemophilus influenzae*. *BMC Microbiol.* 2021; 21(1): 148. DOI: 10.1186/s12866-021-02217-y
 12. Dumre S.P., Sapkota K., Adhikari N., Acharya D., Karki M., Bista S., Basanyat S.R., Joshi S.K. Asymptomatic throat carriage rate and antimicrobial resistance pattern of *Streptococcus pyogenes* in Nepalese school children. *Kathmandu Univ. Med. J. (KUMJ).* 2009; 7(28): 392–396. DOI: 10.3126/kumj.v7i4.2760
 13. Brietzke S.E., Andreoli S.M. Systematic Review and Meta-analysis of the Change in Pharyngeal Bacterial Cultures After Pediatric Tonsillectomy. *Otolaryngol. Head. Neck. Surg.* 2021; 164(2): 264–270. DOI: 10.1177/0194599820944907
 14. Fischetti V.A., Dale J.B. One More Disguise in the Stealth Behavior of *Streptococcus pyogenes*. *mBio.* 2016; 7(3): e00661-16. DOI: 10.1128/mBio.00661-16
 15. Davies F.J., Olme C., Lynskey N.N., Turner C.E., Sri-skandan S. Streptococcal superantigen-induced expansion of human tonsil T cells leads to altered T follicular helper cell phenotype, B cell death and reduced immunoglobulin release. *Clin. Exp. Immunol.* 2019; 197(1): 83–94. DOI: 10.1111/cei.13282
 16. Fiedler T., Köller T., Kreikemeyer B. *Streptococcus pyogenes* biofilms-formation, biology, and clinical relevance. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2015; 5: 15. DOI: 10.3389/fcimb.2015.00015
 17. Лавренова Г.В., Карпищенко С.А., Шахназаров А.Э., Муратова Е.И. Роль лимфодренажной терапии в комплексном лечении хронического тонзиллита. *Folia Otorhinolaryngologiae Et Pathologiae Respiratoriae.* 2019; 25(1): 108–112. DOI: 10.33848/folior123103825-2019-25-1-108-112

REFERENCES

1. Borisova O.Yu., Aleshkin V.A., Pimenova A.S., Krugov A.I., Kunelskaya N.L., Gurov A.V., Shadrin G.B., Tovmasyan A.S., Efimov B.A., Kafarskaya L.I. Microbial landscape of microflora of a pharynx at patients with tonsillitis pathology. *Russian Journal of Infection and Immunity.* 2015; 5(3): 225–232 (In Russ., English abstract). DOI: 10.15789/2220-7619-2015-3-225-232
2. Tsyrukunov V.M., Rybak N.A., Vasilev A.V., Rybak R.F. Microbiological and morphological aspects of chronic tonsillitis. *Infekcionnye Bolezni.* 2016; 14(1): 42–47 (In Russ., English abstract). DOI: 10.20953/1729-9225-2016-1-42-47
3. Nacharov P., Ryazantsev S. Etiologic and pathogenetic diagnosis of chronic tonsillitis. *Vrach.* 2018; 29(3): 26–29 (In Russ., English abstract). DOI: 10.29296/25877305-2018-03-06
4. Choi D.H., Park J., Choi J.K., Lee K.E., Lee W.H., Yang J., Lee J.Y., Park Y.J., Oh C., Won H.R., Koo B.S., Chang J.W., Park Y.S. Association between the microbiomes of tonsil and saliva samples isolated from pediatric patients subjected to tonsillectomy for the treatment of tonsillar hyperplasia. *Exp. Mol. Med.* 2020; 52(9): 1564–1573. DOI: 10.1038/s12276-020-00487-6
5. Alasil S.M., Omar R., Ismail S., Yusof M.Y., Dhabaan G.N., Abdulla M.A. Evidence of Bacterial Biofilms among Infected and Hypertrophied Tonsils in Correlation with the Microbiology, Histopathology, and Clinical Symptoms of Tonsillar Diseases. *Int. J. Otolaryngol.* 2013; 2013: 408238. DOI: 10.1155/2013/408238
6. Vestby L.K., Grønseth T., Simm R., Nesse L.L. Bacterial Biofilm and its Role in the Pathogenesis of Disease. *Antibiotics (Basel).* 2020; 9(2): 59. DOI: 10.3390/antibiotics9020059
7. Abu Bakar M., McKimm J., Haque S.Z., Majumder M.A.A., Haque M. Chronic tonsillitis and biofilms: a brief overview of treatment modalities. *J. Inflamm. Res.* 2018; 11: 329–337. DOI: 10.2147/JIR.S162486.

8. Nesterova A.A., Vermienko V.V. The specific features of lacunar microbiome in the patients with chronic tonsillitis and gastroesophageal reflux disease. *Russian Otorhinolaryngology*. 2018; 92(1): 85–92 (In Russ., English abstract). DOI: 10.18692/1810-4800-2018-1-85-92
9. Cho S.W., Yang S.K. What Does the Microbiome in the Tonsil Tell Us? *Clin. Exp. Otorhinolaryngol.* 2021; 14(3): 247–248. DOI: 10.21053/ceo.2021.01074
10. Tansirichaiya S., Reynolds L.J., Roberts A.P. Functional Metagenomic Screening for Antimicrobial Resistance in the Oral Microbiome. *Methods. Mol. Biol.* 2021; 2327: 31–50. DOI: 10.1007/978-1-0716-1518-8_3
11. Iuchi H., Ohori J., Kiyama S., Imuta N., Nishi J., Kuro-no Y., Yamashita M. Effectiveness of antibacterial agents against cell-invading bacteria such as *Streptococcus pyogenes* and *Haemophilus influenzae*. *BMC Microbiol.* 2021; 21(1): 148. DOI: 10.1186/s12866-021-02217-y
12. Dumre S.P., Sapkota K., Adhikari N., Acharya D., Karki M., Bista S., Basanyat S.R., Joshi S.K. Asymptomatic throat carriage rate and antimicrobial resistance pattern of *Streptococcus pyogenes* in Nepalese school children. *Kathmandu Univ. Med. J. (KUMJ)*. 2009; 7(28): 392–396. DOI: 10.3126/kumj.v7i4.2760
13. Brietzke S.E., Andreoli S.M. Systematic Review and Meta-analysis of the Change in Pharyngeal Bacterial Cultures After Pediatric Tonsillectomy. *Otolaryngol. Head. Neck. Surg.* 2021; 164(2): 264–270. DOI: 10.1177/0194599820944907
14. Fischetti V.A., Dale J.B. One More Disguise in the Stealth Behavior of *Streptococcus pyogenes*. *mBio*. 2016; 7(3): e00661-16. DOI: 10.1128/mBio.00661-16
15. Davies F.J., Olme C., Lynskey N.N., Turner C.E., Sri-skandan S. Streptococcal superantigen-induced expansion of human tonsil T cells leads to altered T follicular helper cell phenotype, B cell death and reduced immunoglobulin release. *Clin. Exp. Immunol.* 2019; 197(1): 83–94. DOI: 10.1111/cei.13282
16. Fiedler T., Köller T., Kreikemeyer B. *Streptococcus pyogenes* biofilms-formation, biology, and clinical relevance. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2015; 5: 15. DOI: 10.3389/fcimb.2015.00015
17. Lavrenova G.V., Karpishchenko S.A., Shahnazarov A.E., Muratova E.I. The role of lymphatic drainage therapy in complex treatment of chronic tonsillitis. *Folia Otorhinolaryngologiae et Pathologiae Respiratoriae*. 2019; 25(1): 108–112 (In Russ., English abstract). DOI: 10.33848/foliorl23103825-2019-25-1-108-112

ВКЛАД АВТОРОВ

Мисюрин Ю.В.

Разработка концепции — формирование идеи; формулировка и развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — анализ и интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — составление черновика рукописи, его критический пересмотр с внесением ценного замечания интеллектуального содержания; участие в научном дизайне.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Гаделия М.В.

Разработка концепции — формирование идеи; формулировка и развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — анализ и интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — составление черновика рукописи, его критический пересмотр с внесением ценного замечания интеллектуального содержания; участие в научном дизайне.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Проведение статистического анализа — применение статистических, математических, вычислительных или других формальных методов для анализа и синтеза данных исследования.

Ресурсное обеспечение исследования — предоставление пациентов, аппаратных и расходных материалов для проведения лечения.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Misyurina Yu.V.

Conceptualisation — concept statement; statement and development of key goals and objectives.

Conducting research — data analysis and interpretation.

Text preparation and editing — drafting of the manuscript, its critical revision with a valuable intellectual investment; contribution to the scientific layout.

Approval of the final manuscript — acceptance of responsibility for all aspects of the work, integrity of all parts of the article and its final version.

Gadeliya M.V.

Conceptualisation — concept statement; statement and development of key goals and objectives.

Conducting research — data analysis and interpretation.

Text preparation and editing — drafting of the manuscript, its critical revision with a valuable intellectual investment; contribution to the scientific layout.

Approval of the final manuscript — acceptance of responsibility for all aspects of the work, integrity of all parts of the article and its final version.

Statistical analysis — application of statistical, mathematical, computing or other formal methods for data analysis and synthesis.

Resource support of research — provision of patients, equipment and consumables for treatment.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Мисюрина Юлия Викторовна — кандидат медицинских наук; доцент кафедры лор-болезней федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0003-3868-8376>

Гаделия Майя Вячеславовна* — аспирант кафедры лор-болезней федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; лор, сурдолог общества с ограниченной ответственностью «Центр оториноларингологии — хирургия головы и шеи».

<https://orcid.org/0000-0003-2226-2119>

Контактная информация: e-mail: maya.gadeliya@gmail.com; тел.: +7 (918) 235-99-99;

ул. Александра Берлизова, д. 90, г. Краснодар, 350900, Россия.

Yuliya V. Misyurina — Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Chair of ENT Diseases, Kuban State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0003-3868-8376>

Maiya V. Gadeliya* — Postgraduate Student, Chair of ENT Diseases, Kuban State Medical University; Physician (ENT), Audiologist, Otorhinolaryngology Centre for Head and Neck Surgery LLC.

<https://orcid.org/0000-0003-2226-2119>

Contact information: e-mail: maya.gadeliya@gmail.com; tel.: +7 (918) 235-99-99;

Aleksandra Berlizova str., 90, Krasnodar, 350900, Russia.

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author