

В.А. Белов

Московский научно-исследовательский институт педиатрии и детской хирургии

Современные методы микробиологической диагностики при обострении хронических и острых формах тонзиллитов у детей

Contacts:

Belov Vladimir Alekseevich, MD, Head of the Department of Otolaryngology of Moscow RI of Pediatrics and Pediatric Surgery

Address: 2, Taldomskaya Street, Moscow, RF, 125412, Tel.: (495) 487-10-51, e-mail: belov_v_a@mail.ru

Article received: 20.02.2012, Accepted for publication: 12.04.2012

В статье обсуждаются иммунологические и микробиологические особенности хронического тонзиллита у детей и приводятся разные подходы к его лечению. Особое внимание уделено вопросам диагностики главного инфекционного агента — β -гемолитического стрептококка группы А. Представлен качественный иммунохроматографический экспресс-тест для выявления антигенов стрептококка группы А Стрептатест (Streptatest). Описаны основные принципы рационального применения антибактериальных препаратов при хроническом тонзиллите у детей.

Ключевые слова: дети, хронический тонзиллит, иммунология, микрофлора, экспресс-тест, Стрептатест, β -гемолитический стрептококк группы А.

Большой интерес клиницистов к проблеме хронического тонзиллита объясняется значительной распространенностью этого заболевания у детей и лиц молодого возраста в совокупности с частыми осложнениями и возможным развитием опосредованных заболеваний. Так, по данным Минздравсоцразвития РФ, заболеваемость детей в возрасте до 14 лет хроническими болезнями миндалин и аденоидов в 2000 г. составила 2976,8 на 100 тыс. населения [1].

Защитная функция миндалин заключается в активном участии в формировании местного и общего иммунитета. Находясь в месте перекреста дыхательного и пищеводного трактов, небные миндалины непосредственно соприкасаются с поступающими в организм антигенами, а их анатомические особенности (извилистое строение, наличие крипт) обеспечивают длительный контакт экзогенного раздражителя с клетками органа для выработки специфических и неспецифических биологически активных веществ и клеточных элементов:

лизоцима, интерферона, интерлейкина, иммуноглобулинов (Ig) классов A, M, G, секреторного IgA, лимфоцитов, плазмоцитов, макрофагов [2–4].

Небные миндалины входят в состав лимфоидно-глоточного кольца Пирогова–Вальдейера. Каждый структурный компонент лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми оболочками (Mucosa Associated Lymphoid Tissue — MALT), играет определенную роль в осуществлении иммунного ответа [3–6]. В свете современных данных, глоточная и небные миндалины ответственны за заселение слизистой оболочки носа и соответствующих отделов пищеварительных и дыхательных путей иммунокомпетентными клетками (В-лимфоцитами), выступают основными продуцентами интерферона, регуляторами интенсивности иммунного ответа и выработки необходимого числа антител [4–6].

В патогенезе хронического тонзиллита существенную роль играет недостаточность системы местного иммунитета.

V.A. Belov

Moscow Scientific Research Institute of Paediatrics and Child Surgery

Modern methods of microbiological diagnostics in acute tonsillitis and chronic tonsillitis exacerbations in children

Immunological and microbiological characteristics of chronic tonsillitis in children and various approaches to its treatment are discussed in this article. The principal attention is paid to diagnostics of the main infectious agent — group A β -hemolytic streptococci. The study represents a qualitative immunochromatography screening test for the group A streptococci antigens detection — Streptatest. The main principles of rational antibacterial treatment in chronic tonsillitis in children are described.

Key words: children, chronic tonsillitis, immunology, microflora, screening-test, Streptatest, group A β -hemolytic streptococci.

Лимфатическое (лимфоаденоидное) глоточное кольцо и лимфоидная ткань глотки в целом имеют особое значение для защиты тканей организма от притока антигенов. Небные миндалины у взрослых относятся к образованиям, участвующим в формировании преимущественно местного иммунитета, т.к. в них преобладают плазматические клетки, секретирующие IgA [4]. У детей эти образования выполняют двойную функцию: судя по клеточному составу, в них интенсивно протекают как общие системные реакции иммунитета, так и менее выраженные местные. Об этом свидетельствует преобладание у детей плазматических клеток, продуцирующих IgG.

Отчетливая анамнестическая связь с ангинами и острыми респираторными вирусными инфекциями свидетельствует о том, что начало хронического тонзиллита и его последующее развитие обусловлено инфекционными факторами. В генезе хронического тонзиллита существенную роль играют микроорганизмы и их ассоциации, поэтому все первоначальные попытки установить тяжесть процесса в миндалинах и прогнозировать возможные осложнения были связаны с проведением бактериологических исследований и серологических тестов на наличие антител к микробным антигенам [4].

Микрофлора небных миндалин и полости рта играет ведущую роль в формировании хронического тонзиллита. Наличие гнойного или казеозного отделяемого в лакунах небных миндалин отмечается у большого числа обследованных, что позволяет отнести этот признак к наиболее патогномичным для хронического тонзиллита.

Тактика лечения хронического тонзиллита должна учитывать характер клинического течения заболевания (латентное течение или обострение) и его форму. Общая терапия (антибиотики) применяется только при обострениях хронического тонзиллита. Вне обострения отношение к антибиотикотерапии при хроническом тонзиллите однозначно отрицательное, т.к. антибиотики нарушают микрофлору полости рта и желудочно-кишечного тракта [4].

Отрицательные последствия неправильного выбора антибиотиков и сроков лечения состоят в сохранении возбудителей в очаге воспаления и появлении резистентной флоры с последующей хронизацией острого процесса.

Главным инфекционным агентом как при остром, так и при хроническом тонзиллите считают β -гемолитический стрептококк группы А (БГСА) [4, 7, 8]. БГСА-тонзиллит опасен развитием тяжелых осложнений, которые подразделяют:

- на ранние инфекционные, проявляющиеся в первые дни заболевания: паратонзиллярный абсцесс, лимфаденит, гнойные средний отит и синусит;
- поздние неинфекционные, развивающиеся через несколько нед после обострения хронического тонзиллита или ангины: гломерулонефрит и ревматическая лихорадка (ревматизм) и др.

Для диагностики стрептококковой инфекции проводятся сбор эпидемиологических данных и лабораторные исследования: бактериологический анализ мазка с миндалин и глотки, экспресс-тест на наличие БГСА [9].

Точная этиологическая диагностика возможна только с помощью культурального исследования или экспресс-теста, выявляющего β -гемолитический стрептококк группы А в мазке из ротоглотки [10]. Техника забора мазка для культурального исследования оказывает существенное влияние на чувствительность метода [11]. Мазок берут с поверхности миндалин с помощью тампона. Процедуру нельзя выполнять вскоре после приема пищи, т.к. во время еды микроорганизмы механически удаляются со слизистой оболочки. Материал не может считаться репрезентативным, если взят после начала антибактериальной терапии.

Неправильная транспортировка клинического материала в лабораторию снижает чувствительность метода исследования. Материал транспортируется при комнатной температуре. Если время от взятия мазка до посева на питательную среду не превышает 2 ч, можно не использовать транспортные среды, и тампон помещают в стерильную пробирку. Если время превышает 2 ч, то необходимо использовать транспортную среду. Недопустимо хранить мазок более 24 ч [12].

Идентификация β -гемолитического стрептококка группы А проводится на основании морфологических особенностей роста, фенотипических характеристик и антигенной структуры микроорганизма (серологический метод). Гемолитическая реакция стрептококков на кровяном агаре является основной для идентификации.

СЕРОЛОГИЧЕСКАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ

На основании антигенных свойств полисахарида клеточной стенки (группового полисахарида) было выделено 13 серогрупп. Серологическая идентификация БГСА основана на выявлении антигена серогруппы А. Поскольку полисахаридный антиген не является поверхностной структурой клеточной стенки, предварительно необходимо его экстрагировать. После экстракции проводится реакция взаимодействия антигена с антителом, которая визуализируется либо по изменению цвета (иммуноферментный анализ, иммунохроматография, оптический иммунный анализ), либо по видимой агглютинации (коаггутинация или латекс-агглютинация), либо по другим изменениям в зависимости от конкретной тест-системы [13].

ТЕСТЫ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ БГСА В МАТЕРИАЛЕ

Недостатками культурального исследования является получение ответа только через 1–2 сут после взятия материала, а также необходимость наличия лаборатории, способной корректно провести такое исследование [13]. Стремление избежать этих недостатков привело к разработке экспресс-тестов, позволяющих выявить β -гемолитический стрептококк группы А непосредственно в мазке из ротоглотки. Все доступные в настоящее время тесты можно разделить на 3 поколения.

Первые два поколения тестов основаны на выявлении антигена группового полисахарида БГСА. Различия состоят в том, что в основе тестов I поколения лежит реакция агглютинации (коаггутинация или латекс-агглютинация), а в основе тестов II поколения — иммуноферментный анализ, иммунохроматография или оптический иммунный анализ.

Тесты III поколения основаны на выявлении специфичных участков ДНК БГСА (ДНК-гибридизация, полимеразная цепная реакция). Тесты разных поколений отличаются по чувствительности и специфичности. Самая низкая чувствительность и специфичность у тестов I поколения — 55 и 90%, соответственно [14]. Значительно выше эти показатели у тестов II поколения — 87 и 97%, соответственно [15–17]. Приведенные характеристики получены при сравнении тестов с культуральными исследованиями. Лишь системы III поколения имеют чувствительность 98% и специфичность 100%, сравнимые с культуральными исследованиями [13, 18]. Чувствительность экспресс-тестов первых двух поколений не является фиксированной величиной и зависит от числа микроорганизмов в материале и выраженности клинической картины. Чем ниже оценка по клинической шкале и чем меньше число БГСА, тем менее чувствительна система [19, 20]. В различных условиях чувствительность экспресс-тестов может колебаться в пределах 10–95%, а специфичность — в пределах 90–100% [10, 21].

В 2010 г. в России зарегистрирован Стрептатест производства французской фармацевтической компании «Dectra» — качественный иммунохроматографический тест для выявления антигенов стрептококка группы А, относится к экспресс-тестам второго поколения. Он представляет собой твердофазный качественный диагностический тест для выявления стрептококка группы А в экстрагирующем растворе, полученном из мазка, взятого из зева. По результатам испытаний, Стрептатест имеет чувствительность 97% и специфичность 95% по сравнению с культуральным исследованием.

Набор состоит из экстрагирующих растворов А (нитрит натрия) и Б (уксусная кислота), которые позволяют выделять специфический антиген стрептококка группы А из образца (мазок из зева).

Тест-полоска имеет мембрану, над которой возникает иммунологическая реакция по «сэндвич»-принципу через хроматографическую систему. На мембрану тест-полоски нанесено поликлональное антитело к антигену стрептококка группы А (иммобилизованное антитело), а на контрольную полоску — экстракционный реагент (стрептавидин). Непосредственно ниже зоны погружения полоски располагается синтетическая матрица, на которой помещены следующие два помеченных реагента:

- поликлональное антитело к специфическому антигену стрептококка группы А, смешанное с частицами пурпурного латекса;
 - биотин, смешанный с частицами пурпурного латекса.
- Эти два помеченных реагента будут переноситься в результате продвижения экстрагирующего раствора.

Образец, содержащий специфический антиген стрептококка группы А, передвигается вдоль нитроцеллюлозной мембраны под действием капиллярных сил и реагирует с поликлональными антителами к специфическому антигену стрептококка группы А, помеченными латексными частицами. Образованный комплекс антиген-антитело продолжает передвигаться в тест-зону, где он фиксируется посредством иммобилизованного антитела, затем материализуется посредством пурпурной полосы в тест-зоне. Появление этой окрашенной полосы означает положительный результат, отсутствие окраски — отрицательный результат. Независимо от результата, образец продолжает передвигаться вдоль мембраны, и пурпурная полоса появляется в соответствующей контрольной зоне в результате захватывания смешанных с частицами латекса молекул биотина со стрептавидином (экстракционный реагент). Наличие этой окрашенной полосы означает правильное течение реакции (достаточное время погружения, проверка реагентов).

Стрептатест позволяет определить как живые, так и неживые микроорганизмы непосредственно в мазке, взятом с небных миндалин пациента, и получить результат тестирования через 5 мин.

Антибактериальная терапия в идеале должна быть строго этиотропной и назначаться после установления возбудителя и его чувствительности, но при наличии экстренных клинических показаний может быть назначена эмпирически. Существуют некоторые особенности назначения антибиотиков при остром и обострении хронического тонзиллита.

β-гемолитические стрептококки группы А отличаются высокой чувствительностью к β-лактамам (пенициллины и цефалоспорины) [8, 9]. Альтернативой пенициллину могут быть пероральные цефалоспорины I и II поколений (цефалексин, цефуроксим), амоксициллин. Альтернативные препараты обладают более широким

спектром антимикробной активности и могут влиять на нормальную флору организма. У детей при ангине необходимо воздерживаться от назначения аминопенициллинов в случае подозрения на инфекционный мононуклеоз, поскольку при нем ампициллин и амоксициллин могут вызвать кожную (ампициллиновую) сыпь [8].

Хотя сами β-гемолитические стрептококки группы А не способны формировать резистентность к пенициллинам, многие другие бактерии (стафилококки, анаэробные бактерии), обычно живущие в полости рта и не вызывающие заболеваний, могут продуцировать β-лактамазы. Поэтому у детей, получавших в последние 6 мес антибиотиков, лечение феноксиметилпенициллином и амоксициллином может оказаться неэффективным [9]. В этом случае рекомендуется применение либо ингибиторозащищенных пенициллинов (амоксициллин/клавуланат), либо цефалоспоринов I поколения, которые не разрушаются ферментами этих бактерий (цефалексин, цефадроксил). У пациентов с аллергией на β-лактамы антибиотиками следует применять макролиды (азитромицин, кларитромицин и др.) или клиндамицин [8, 9].

Другие микроорганизмы, поддерживающие хроническое воспаление в небных миндалинах, — *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus viridans*, *Staphylococcus epidermidis* — не чувствительны или слабочувствительны к незащищенным пенициллинам, I поколению макролидов и фторхинолонам, наиболее часто используемым в амбулаторной практике. Отмечена чувствительность указанных микроорганизмов к амоксициллину/клавуланату и современным макролидам (азитромицину, кларитромицину и др.) [8, 9].

Moraxella catarrhalis устойчивы к действию незащищенных пенициллинов (пенициллину, амоксициллину, ампициллину) вследствие продукции β-лактамаз (их продуцируют более 90% штаммов *M. catarrhalis*). Преодолевается эта резистентность при помощи комбинации β-лактамов с их ингибиторами, либо современных макролидов — азитромицина и кларитромицина, которые проявляют высокую активность по отношению к моракселлам. Таким образом, с терапевтической точки зрения, резистентность моракселл большой проблемы не составляет [22]. К тому же следует помнить, что некоторые макролиды, в частности 14- и 15-членные (кларитромицин, азитромицин), оказывают еще и противовоспалительное действие [22].

Вместе с тем в экспериментально-клинических исследованиях убедительно показано, что даже эффективная антибактериальная терапия при несомненной способности обеспечивать клиническую ремиссию не предупреждает прогрессирования заболевания. У детей, особенно младшего возраста, тактика лечения изначально должна быть направлена на сохранение небных миндалин при полной санации носоглотки, полости носа и околоносовых пазух, полости рта и желудочно-кишечного тракта.

Антибактериальная терапия применяется только при обострениях хронического тонзиллита. Неправильный выбор антибиотиков и сроков лечения приводит к сохранению возбудителей в очаге воспаления и появлению резистентной флоры.

Однозначных рецептов лечения больных хроническим тонзиллитом нет. Однако следует признать, что эта очаговая инфекция на фоне снижения иммунитета (например, в результате сахарного диабета, травмы, стресса, хирургического вмешательства, иных локализаций и др.) в любой момент может вызвать у больного крайне тяжелое состояние. Это повышает ответственность врача при оценке эффективности консервативного лечения и расширяет показания к хирургическому лечению.

REFERENCES

1. Zdorov'e naseleniya Rossii i deyatel'nost' uchrezhdenii zdavookhraneniya v 2000 godu (Statisticheskie materialy) [Health Status of Russian population and Medical Service in 2000 (Statistic data)]. Zdravookhranenie Rossiiskoi Federatsii — Healthcare of Russian Federation. 2002; 1: 44.
2. Vel'tishchev Yu. E., Dlin V. V. Ros. vestnik perinatologii i pediatrii. Lektsii, pril. k zhurn. — Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics. Lectures, appendix to the journal. 2007. 78 p.
3. Karpova E. P., Bozhatova M. P. RMZh — Russian Medical Journal. 2010; 1: 8–10.
4. Pluzhnikov M. S. etc. Khronicheskii tonsillit. Klinika i immunologicheskie aspekty [Chronic Tonsillitis. Clinical Picture and Immunological Aspects]. St. Petersburg, Dialog, 2005. 206 p.
5. Bykova V. P. Vestnik otorinolaringologii — Bulletin of Otolaryngology. 2001; 1: 62–63.
6. Brandtzaeg P., Johansen F. Mucosal B cells: phenotypic characteristics, transcriptional regulation, and homing properties. Immunol. Rev. 2005; 206 (8): 32–63.
7. Belov B. S. Lechashchii vrach — Practicing Doctor. 2002; 1–2: 24–28.
8. Kryukov A. I., Luchsheva Yu. V., Balandin A. V. etc. Consilium medicum — Consilium medicum. 2005; 4: 297–300.
9. Geppe N. A., Dronov I. A., Malyavina U. S. Doktor.ru — Doctor.ru. 2008; 1: 53–56.
10. Bisno A. L., Gerber M. A., Gwaltney J. M. et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of group A streptococcal pharyngitis. Clin. Infect. Dis. 2002; 35: 113–125.
11. Rosental M. Pick the right patient, get a good sample to correctly diagnose GAS. Infectious Diseases in Children. 2003; 16: 32.
12. Thomson R. B., Miller J. M. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. In: Murray P. R. et al. editors. Manual of clinical microbiology. 8th ed. Washington: ASM Press. 2003. P. 286–330.
13. Shpynev K. V., Krechikov V. A. Klin. mikrobiol. antimikrob. khimioter. — Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy. 2007; 9 (1): 20–33.
14. Lieu T. A., Fleisher G. R., Schwartz J. S. Clinical evaluation of a latex agglutination test for streptococcal pharyngitis: performance and impact on treatment rates. Pediatr. Infect. Dis. J. 1988; 7: 847–854.
15. Armengol C. E., Schlager T. A., Hendley J. O. Sensitivity of a rapid antigen detection test for group A streptococci in a private pediatric office setting: answering the Red Book's request for validation. Pediatrics. 2004; 113: 924–926.
16. Chapin K. C., Blake P., Wilson C. D. Performance characteristics and utilization of rapid antigen test, DNA probe, and culture for detection of group A streptococci in acute care clinic. J. Clin. Microb. 2002; 40: 4207–4210.
17. Needham C. A., McPhearson K. A., Webb K. H. Streptococcal pharyngitis: impact of high-sensitivity antigen test on physician outcome. J. Clin. Microb. 1998; 36: 3468–3473.
18. Steed L. L., Korgenski K., Daly J. A. Rapid detection of Streptococcus pyogenes in pediatric patient specimens by DNA probes. J. Clin. Microbiol. 1993; 31: 2996–3000.
19. Hall M. C., Kieke B., Gonzales R. et al. Spectrum bias of a rapid antigen detection test for group A beta-hemolytic streptococcal pharyngitis in a pediatric population. Pediatrics. 2004; 114: 182–186.
20. Kurtz B., Kurtz M., Roe M. et al. Importance of inoculum size and sampling effect in rapid antigen detection for diagnosis of Streptococcus pyogenes pharyngitis. J. Clin. Microbiol. 2000; 38: 279–281.
21. Morandi P. A., Deom A., Mauris A. External quality control of direct antigen tests to detect group A streptococcal antigen. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2003; 22: 670–674.
22. Strachunskii L. S., Belousov Yu. B., Kozlov S. N. Prakticheskoe rukovodstvo po antiinfektsionnoi khimioterapii [Manual on Anti-infectious Chemotherapy]. Moscow, 2002. 381 p.