



Renāta Vīksne (Klāģiņa)

Biofilmu nozīme recidivējoša tonsilīta un paratonsilārā abscesa patogēnēzē un klīniskajā norisē

Promocijas darba kopsavilkums zinātnes doktora grāda
“zinātnes doktors (*Ph. D.*)” iegūšanai

Nozaru grupa – medicīnas un veselības zinātnes

Nozare – klīniskā medicīna

Apakšnozare – otorinolaringoloģija

Rīga, 2023



RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Renāta Vīksne (Klāģiņa)

ORCID 0000-0001-9855-5546

Biofilmu nozīme recidivējoša tonsilīta
un paratonsilārā abscesa patoģenēzē
un klīniskajā norisē

Promocijas darba kopsavilkums zinātnes doktora grāda
“zinātnes doktors (*Ph. D.*)” iegūšanai

Nozaru grupa – medicīnas un veselības zinātnes

Nozare – klīniskā medicīna

Apakšnozare – otorinolaringoloģija

Rīga, 2023

Promocijas darbs izstrādāts Rīgas Stradiņa universitātes Otorinolaringoloģijas un Bioloģijas un mikrobioloģijas katedrā, Latvijā

Promocijas darba vadītājas:

Dr. med. profesore **Juta Kroiča**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Dr. med. asociētā profesore **Ligija Kīse**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Oficiālie recenzenti:

Dr. med. profesore **Ilze Akota**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Dr. biol. profesore **Una Riekstiņa**,
Latvijas Universitāte

Dr. med. profesors **Eugenijus Lesinskas**,
Viļņas Universitātes slimnīcas *Santaros* klīnika, Lietuva

Promocijas darbs tiks aizstāvēts klīniskās medicīnas promocijas padomes atklātā sēdē 2023. gada 23. novembrī plkst. 15.00 Hipokrāta auditorijā, Dzirciema ielā 16, Rīgas Stradiņa universitātē un attālināti, tiešsaistes platformā *Zoom*

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU tīmekļa vietnē:
<https://www.rsu.lv/promocijas-darbi>

Promocijas padomes sekretāre:

Dr. med. profesore **Ingrīda Čēma**

Satura rādītājs

Darbā izmantotie saīsinājumi.....	5
Ievads.....	8
Pētījuma mērķis.....	11
Darba uzdevumi	11
Darba hipotēze	12
Darba novitāte	12
Personīgais ieguldījums	12
Ētiskie aspekti	13
1. Materiāli.....	14
2. Metodes.....	19
2.1. Mikroorganismu identifikācija	19
2.2. Biofilmu noteikšana, izmantojot kristālvioleto metodi	19
2.3. Biofilmu aprēķins	20
2.4. Antibakteriālās jutības noteikšana	21
3. Statistiskā analīze	22
4. Rezultāti	24
4.1. Mikroorganismu kolonizācijas, biofilmu veidošanas un antibakteriālās jutības analīze RT un PTA pacientiem	24
4.1.1. Pacientu dati	24
4.1.2. Izolēto mikroorganismu daudzveidība	25
4.1.3. Biofilmas	26
4.1.4. Antibakteriālā jutība.....	29
4.2. Uz aukslēju mandeļu virsmas un aukslēju mandeļu kriptās esošo patogēno mikroorganismu novērtējums pacientiem ar RT	32
4.3. No veselu indivīdu aukslēju mandeļu kriptām iegūto patogēno mikroorganismu biofilmu veidošanas, antibakteriālās jutības novērtējums	34
4.3.1. Veselo indivīdu dati.....	34
4.3.2. Izolēto mikroorganismu daudzveidība	35
4.3.3. Biofilmas	36
4.3.4. Antibakteriālā jutība.....	38
4.4. <i>Staphylococcus aureus</i> kolonizācijas novērtējums pacientiem, kuriem veikta tonsilektomija RT dēļ.....	40

5. Diskusija	46
5.1. Mikroorganismu kolonizācijas, biofilmu veidošanas un antibakteriālās jutības analīze RT un PTA pacientiem.....	47
5.2. Uz aukslēju mandeļu virsmas un aukslēju mandeļu kriptās esošo patogēno mikroorganismu novērtējums pacientiem ar RT	51
5.3. No veselu indivīdu aukslēju mandeļu kriptām iegūto patogēno mikroorganismu biofilmu veidošanas, antibakteriālās jutības novērtējums	52
5.4. <i>Staphylococcus aureus</i> kolonizācijas novērtējums pieaugušajiem pacientiem, kuriem tiek veikta tonsilektomija RT dēļ.....	55
5.5. Darba kritiskais vērtējums.....	57
5.6. Darba noslēdzošā rindkopa	58
Secinājumi.....	60
Publikāciju, ziņojumu un patentu saraksts par promocijas darba tēmu	61
Literatūras saraksts	61
Pateicības.....	72

Darbā izmantotie saīsinājumi

Abreviatūra	Nosaukums angļu vai latīņu valodā	Nosaukums latviešu valodā
Ae	<i>Acinetobacter ewoffi</i>	
Aju	<i>Acinetobacter junii</i>	
Ajo	<i>Acinetobacter johnsoni</i>	
<i>A. johnsoni</i>	<i>Acinetobacter johnsoni</i>	
AK	<i>Amikacin</i>	Amikacīns
AMP	<i>Ampicillin</i>	Ampicilīns
AMS	<i>Ampicillin/sulbactam</i>	Ampicilīns/sulbaktāms
Ap	<i>Acinetobacter pittii</i>	
<i>A. pittii</i>	<i>Acinetobacter pittii</i>	
AUG	<i>Amoxicillin/clavulanic acid</i>	Amoksicilīns/klavulānskābe
ASO	<i>Antistreptolysin O</i>	Antistreptolizīns O
BP	<i>Benzylpenicillin</i>	Benzilpenicilīns
C	<i>Chloramphenicol</i>	Hloramfenikols
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	
CAZ	<i>Ceftazidime</i>	Ceftazidīms
CD	<i>Climdamycin</i>	Klindamicīns
CIP	<i>Ciprofloxacin</i>	Ciprofloksacīns
CRP	<i>C-reactive protein</i>	C reaktīvais proteīns
CRO	<i>Ceftriaxone</i>	Ceftriaksons
CTX	<i>Cefotaxime</i>	Cefotaksīms
D	<i>Nasal vestibule/Vestibulum nasi</i>	Deguna priekštelpa
E	<i>Erythromycin</i>	Eritromicīns
ESBL	<i>Extended spectrum beta-lactamase</i>	Paplašināta spektra beta-laktamāze
EUCAST	<i>European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i>	Eiropas antimikrobiālās jutības noteikšanas komisija
ETP	<i>Ertapenem</i>	Ertapenēms
FOX	<i>Cefoxitin</i>	Cefoksitīns
GM	<i>Gentamicin</i>	Gentamicīns
<i>H. influenzae</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	
HIV	<i>Human immunodeficiency virus</i>	Cilvēka imūndeficīta vīruss

I	<i>Intermediate resistant</i>	Jutīgs paaugstinātā koncentrācijā
IMP	<i>Imipenem</i>	Imipenēms
J	<i>Sensitive</i>	Jutīgs
K	<i>Crypt</i>	Kripta
Kp	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
LB	<i>Luria-Bertani broth</i>	Lurija-Bertani buljons
LEU	<i>White blood cells</i>	Leikocīti
LEV	<i>Levofloxacin</i>	Levofloksacīns
MALDI-TOF MS	<i>Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry</i>	Ar matricas asistētā lāzera desorbcijas/ionizācijas lidojuma laika masas spektometrija
MEM	<i>Meropenem</i>	Meropenēms
MRSA	<i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>	Metecilīna rezistentais <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	<i>Methicillin-sensitive Staphylococcus aureus</i>	Metecilīna jutīgais <i>Staphylococcus aureus</i>
NK	<i>Negative control</i>	Negatīvā kontrole
NOR	<i>Norfloxacin</i>	Norfloksacīns
<i>N. subflava</i>	<i>Neisseria subflava</i>	
OB	<i>Optical density</i>	Optiskais blīvums
OB _r	<i>Optical density`s cut-off value</i>	Optiskā blīvuma robežvērtība
P	<i>Armpit</i>	Paduse
PSKUS	<i>Pauls Stradiņš Clinical University Hospital</i>	Paula Stradiņa klīniskās universitātes slimnīca
Pa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
<i>P. intermedia</i>	<i>Prevotella intermedia</i>	
PTA	<i>Peritonsillar abscess</i>	Paratonsilārs abscess
R	<i>Resistant</i>	Rezistents
RSU	<i>Rīga Stradiņš University</i>	Rīgas Stradiņa universitāte
RT	<i>Recurrent tonsillitis</i>	Recidivējošs tonsilīts
S	<i>Female</i>	Sieviete
Sa	<i>Staphylococcus aureus</i>	
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	
<i>S. agalactiae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	

<i>S. anginosus</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>	
<i>S. dysgalactiae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	
<i>S. epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
<i>S. pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	
<i>S. pyogenes</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>	
<i>S. viridans</i>	<i>Streptococcus viridans</i>	
SKI	<i>Interquartile range</i>	Starpkvartīļu intervāls
SN	<i>Standard deviation</i>	Standartnovirze
Spp.	<i>Species</i>	Sugas
SI	<i>Serratia liquefaciens</i>	
<i>S. liquefaciens</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>	
SXT	<i>Trimethoprim/sulfamethoxazole</i>	Trimetoprimis/sulfametoksazols
SV	<i>International unit</i>	Starptautiskā vienība
TE	<i>Tonsillectomy</i>	Tonsilektomija
TZP	<i>Piperacillin/tazobactam</i>	Piperacilīns/tazobaktāms
TSB	<i>Tryptic Soy Broth</i>	Triptozes sojas buljons
V	<i>Male</i>	Vīrietis
Ž	<i>Throat</i>	Žāva

Ievads

Recidivējošs tonsilīts (RT) ir aukslēju mandeļu recidivējošs iekaisums, ko izraisa pārsvarā vai vienīgi baktērijas (Zautner et al., 2010; Cavalcanti et al., 2019; Buname et al., 2021). Tonsilīta paasinājuma epizodes raksturo paaugstināta ķermeņa temperatūra, sāpes rīklē un sāpīga rīšana, žāvas apsārtums, aukslēju mandeļu pietūkums ar aplikumu vai bez tā un kakla limfadenopātija (Buname et al., 2021). Starp tonsilīta paasinājuma epizodēm var saglabāties diskomforts rīklē, detrita pastiprināta krāšanās aukslēju mandeļu kriptās, halitoze un kakla limfadenopātija (bin Abu Bakar et al., 2018). RT diagnozi nosaka klīniski, balstoties uz anamnēzes datiem (Windfuhr et al., 2016a; Sykes et al., 2020). RT diagnozi var noteikt, ja 12 mēnešu periodā ir vairāk nekā divas atsevišķas tonsilīta epizodes (Burton et al., 2014). Tonsilīta paasinājumu laikā ārstēšanā lieto antibiotikas (Windfuhr et al., 2016a; Katkowska et al., 2017). Tonsilektomija ir indicēta pacientiem ar RT, ja ir septiņas tonsilīta paasinājuma epizodes gada laikā vai piecas tonsilīta paasinājumu epizodes gada laikā divus gadus pēc kārtas, vai trīs tonsilīta paasinājumu epizodes gada laikā trīs gadus pēc kārtas (Paradise et al., 1984; Sykes et al., 2020).

Iekaisums no aukslēju mandeļu audiem var izplatīties uz blakusesošiem paratonsilāriem audiem un izveidot abscesu paratonsilārā telpā (Windfuhr et al., 2016a; Peter Sell et al., 2023). Paratonsilārs abscess (PTA) ir tonsilīta biežākā strutainā komplikācija (Klug, 2017). PTA diagnozi nosaka, ņemot vērā anamnēzes un pacienta apskates datus. Pacientam ar PTA raksturīgs drudzis, vienpusējas sāpes rīklē, neskaidra runa, dažreiz trisms, kakla descendējošo limfmezglu iesaiste iekaisuma procesā (Klug, 2017). Apskatē PTA raksturīgs vienpusējs gļotādas apsārtums un palpatori blīvs un sāpīgs pietūkums paratonsilārā un piegulošo mīksto aukslēju rajonā (Slouka et al., 2020). PTA visbiežāk ir vienpusējs. PTA ārstēšanā ir nepieciešama antibakteriālā terapija un ķirurģiska ārstēšana – abscesa incīzija un drenāža vai tonsilektomija akūtā kārtā

(Windfuhr et al., 2016b; Klug, 2017). Vēl joprojām nav skaidri iemesli, kādēļ konservatīvā terapija mēdz būt neefektīva.

RT epizodes samazina dzīves kvalitāti, ir finansiāli zaudējumi darbnespējas un medicīnas izdevumu dēļ (Windfuhr et al., 2016b; Tzelnick et al., 2020). Atkārtotu antibakteriālās terapijas kursu risks ir antibakteriālās rezistences veicināšana. Ķirurģiskās ārstēšanas un anestēzijas lietošanā ir tādi potenciālie riski kā asiņošana, asiņu aspirācija, blakusesošo struktūru ievainojums, ilgstoša brūču dzīšana u. c. (Windfuhr et al., 2016b).

Nesekmīgas antibakteriālās terapijas iemesli ir vairāki, piemēram, grūtības identificēt tonsilītu izraisošās baktērijas, zema antibiotiku koncentrācija aukslēju mandeļu audos, patogēna saglabāšanās intracelulāri epitēlija vai makrofāgiem līdzīgās antigēnprezentējošās šūnās, iesaistīto patogēnu specifiski antibakteriālās rezistences mehānismi vai biofilmu veidošanās (Pichichero & Casey, 2007; Zautner et al., 2010; bin Abu Bakar et al., 2018). Ir veikti vairāki pētījumi, kas raksturo RT un PTA etioloģijā iesaistīto patogēnu spektru, etioloģija bieži ir polimikrobiāla (Zautner et al., 2010; Klug, 2017). Aukslēju mandeļu paraugu mikrobioloģisko analīzi un etioloģiskā ierosinātāja identificēšanu apgrūtina liela mikroorganismu daudzveidība no normālās orālās mikrobiotas (Windfuhr et al., 2016a; Dickinson et al., 2020). Aukslēju mandelēs ir lielākā mikrobiālā daudzveidība ar nozīmīgām individuālām atšķirībām (Aas et al., 2005; Jorgensen et al., 2015; Ivaska et al., 2020). Aukslēju mandeļu virsmu klāj normālā orālā mikrobiota, kas parasti nav iesaistīta aukslēju mandeļu iekaisumu etioloģijā, kaut gan autoinfekcija ar orālo mikrobiotu ir iespējama (Windfuhr et al., 2016a; Haq et al., 2017). Vietās ar augstu bakteriālo kolonizāciju ir jāizvērtē izdalīto baktēriju klīniskā un etioloģiskā nozīme (Vaikjārv et al., 2016). Aukslēju mandeļu iekaisumu etioloģijā prevalē aukslēju mandeļu parenhīmā vai kriptās mītošās baktērijas, nevis virsmā esošās baktērijas (Khadiikar & Ankle, 2016). Aukslēju mandeļu kriptas ir šauras, zarotas ejas

aukslēju mandeļu audos. Mikrobioloģiskai analīzei paraugi no aukslēju mandeļu kriptām tiek uzskatīti par precīzākiem un atbilstošākiem salīdzinājumā ar aukslēju mandeļu virsmas uztriepēm (Haq et al., 2017; Dickinson et al., 2020).

RT pacientu aukslēju mandeļu audos ir augsta *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) prevalence, *S. aureus* tiek uzskatīts par RT galveno etioloģisko faktoru (Brook & Foote, 2006; Zautner et al., 2010; Katkowska et al., 2017; Kostić et al., 2022). Neskatoties uz to, nav skaidra šī patogēna loma RT paasinājumu patoģenēzē, abscesu veidošanā un antibakteriālās rezistences veidošanā. Mikrobioloģisko analīzi apgrūtina *S. aureus* asimptomātiska nēsāšana (Chmielowiec-Korzeniowska et al., 2020). *S. aureus* spēj iegūt plaša spektra antibakteriālo rezistenci, tomēr RT pētījumos *S. aureus* neuzrāda augstu antibakteriālo rezistenci un tiek pētīti citi aizsardzības mehānismi, piemēram, biofilmu veidošanās (bin Abu Bakar et al., 2018; Cavalcanti et al., 2019; Katkowska et al., 2020; Kostić et al., 2022). *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) noturīgu biofilmu veidošanas spējas ir apstiprinātas pētījumos. Pateicoties *K. pneumoniae* biofilmām, tās spēj kolonizēt elpceļus, aizdegumi, mandeles (Alasil et al., 2013; Wang et al., 2020).

Tiek uzskatīts, ka RT patoģenēzē ir iesaistītas biofilmas veidojošās baktērijas (Kostić et al., 2022). Pētījumos, izmantojot skenējošo elektronmikroskopu, konstatēta statistiski nozīmīga biofilmu klātbūtne RT pacientu grupā salīdzinājumā ar kontroles grupu, attiecīgi 80 % (16/20) un 45 % (9/20) (Woo et al., 2012). Baktērijas, kas atrodas daudzslāņainā, nobriedušā biofilmā, ir pasargātas no saimniekorganisma imūnās sistēmas aizsargmehānismiem – makrofāgiem un antivielām, kā arī tās nerasniedz antibiotikas (Archer et al., 2011; Lister & Horswill, 2014; Hamilos, 2019). Biofilmu īpašības izskaidro patogēnu spēju izdzīvot aukslēju mandeļu audos, neskatoties uz atkārtotiem antibakteriālās terapijas kursiem (Archer et al., 2011; Lister & Horswill, 2014; Moormeier & Bayles, 2017). RT paasinājumus

izskaidro ar brīvo planktonisko baktēriju klātbūtni, bet hroniskos simptomus starp tonsilīta paasinājuma epizodēm ar kriptās un biofilmu kolonijās esošām baktērijām, kuras ilgstoši spēj rezistēt saimniekorganisma imūnajai aizsargsistēmai (bin Abu Bakar et al., 2018).

Pētījuma mērķis

Identificēt RT un PTA etioloģiskos aģentus aukslēju mandeļu kriptās un parenhīmā, noteikt to antibakteriālo rezistenci un spēju veidot biofilmas un izvērtēt to nozīmi RT un PTA patoģenēzē un klīniskajā norisē.

Darba uzdevumi

Promocijas darba mērķa sasniegšanai izvirzīti šādi uzdevumi:

1. Izdalīt un identificēt RT un PTA pacientu aukslēju mandeļu kriptās esošos mikroorganismus, izvērtēt izdalīto *S. aureus* un *K. pneumoniae* biofilmu veidošanas spēju, antibakteriālo jutību un to lomu tonsilīta recidīvu un PTA attīstībā.
2. Salīdzināt baktēriju klātbūtni RT pacientu aukslēju mandeļu virsmas un aukslēju mandeļu kriptu materiālā, izvērtēt to lomu RT etioloģijā.
3. Identificēt un raksturot nozīmīgāko rīkles un elpceļu patogēnu klātbūtni veselu indivīdu aukslēju mandeļu kriptās.
4. Izvērtēt un salīdzināt *S. aureus* kolonizācijas biežumu un klīnisko nozīmi RT pacientiem tonsilektomijas materiālā un *S. aureus* nēsāšanu vienu gadu pēc operācijas.

Darba hipotēze

RT un PTA etioloģiskie ierosinātāji lokalizējas aukslēju mandeļu kriptās vai parenhīmā, nevis mandeļu virsmā, un RT un PTA klīniskajā norisē būtiska nozīme ir baktēriju veidam un dažādībai, to biofilmas veidošanas spējai un antibakteriālai rezistencei.

Darba novitāte

Veikta plaša RT un PTA etioloģisko ierosinātāju identifikācija, izmantojot *MALDI-TOF MS* un *VITEK-2 Compact* iekārtu. Optimālai un precīzai aukslēju mandeļu kriptu parauga iegūšanai izgatavota, patentēta un pirmo reizi izmantota punktēšanas biopsijas adata (Klagisa et al., 2021a). Veikts veselo indivīdu aukslēju mandeļu mikrobiotas pētījums. Izvērtēta biofilmu veidojošo izolātu klātbūtne RT un PTA pacientiem un izvērtēta to saistība ar antibakteriālo rezistenci. Pirmo reizi veikts RT pacientu monitorings gadu pēc tonsilektomijas, izvērtēta ķirurģiskās terapijas efektivitāte.

Personīgais ieguldījums

Darba autore veikusi visu pētījumā iesaistīto veselo indivīdu un pacientu apskati, atlasī, konsultāciju, ārstēšanu un operācijas, ņēmusi aukslēju mandeļu biopsijas un ieguvusi pacientu materiālu bakterioloģiskai izvērtēšanai, personīgi veikusi visu paraugu bakterioloģisko izmeklēšanu (mikroorganismu izdalīšanu un identifikāciju, antimikrobiālās jutības un biofilmu veidošanas noteikšanu), analizējusi iegūtos datus un sagatavojusi materiālus biopsijas adatas patenta ieguvei (patents Nr.: LVP2020000055).

Ētiskie aspekti

Pētījums veikts saskaņā ar Helsinku deklarāciju, un pētījumu apstiprinājusi Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komiteja 2017. gada 30. novembrī, atļauja Nr. 49/30.11.2017., un 2020. gada 10. septembrī, atļauja Nr. 6-1/09/22. Visi pētījumā iekļautie pacienti un veselie brīvprātīgie parakstīja informētas piekrišanas veidlapu līdzdalībai pētījumā.

1. Materiāli

Prospektīvā pētījumā, iekļaujot RT un PTA pacientus un veselos indivīdus (sk. 1.1. attēlu), veikta medicīniskā apskate, apkopoti dati par viņu veselību, aukslēju mandeļu iekaisumiem, epizodēm un to biežumu, lietoto antibakteriālo terapiju. Veikts aukslēju mandeļu mikrobioloģiskais izvērtējums: identificēta mikroorganismu daudzveidība, izvērtēta to antibakteriālā jutība un spēja veidot biofilmas, salīdzināts aukslēju mandeļu paraugu iegūšanas veids – ar punkcijas metodi no aukslēju mandeļu kriptām un iztriepe no aukslēju mandeļu virsmas. Izvērtēta *S. aureus* sastopamība pacientiem vienu gadu pēc tonsilektomijas. Aukslēju mandeļu paraugi iegūti Paula Stradiņa klīniskās universitātes slimnīcas (PSKUS) Otorinolaringoloģijas klīnikā. Mikrobioloģiskie pētījumi veikti Rīgas Stradiņa universitātes Bioloģijas un mikrobioloģijas katedras laboratorijā un PSKUS Bakterioloģijas laboratorijā.

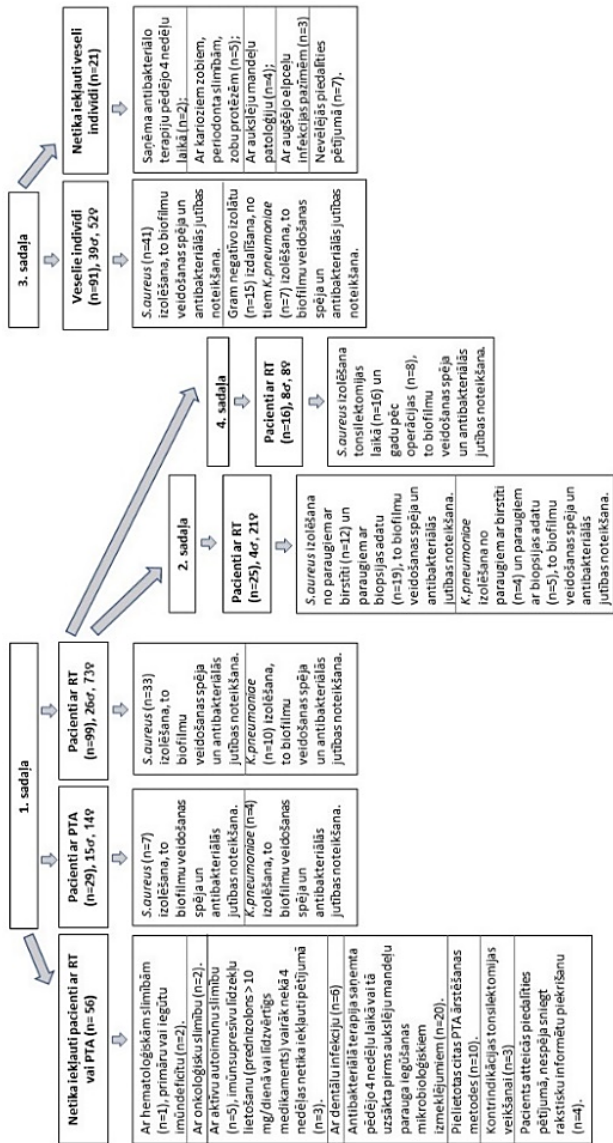
RT un PTA pacienti tika iekļauti pētījumā laika posmā no 2018. līdz 2020. gadam, kad saņēma terapiju PSKUS Otorinolaringoloģijas klīnikā. Iekļaušanas kritēriji bija šādi: RT vai PTA diagnoze, saņemta ķirurģiska ārstēšana (abpusēja tonsilektomija), nav saņemta antibakteriālā terapija pēdējo četrus nedēļus laikā. RT definēts atbilstoši *Paradise* kritērijiem kā septiņas tonsilīta epizodes gada laikā, piecas tonsilīta epizodes gada laikā divus gadus pēc kārtas vai trīs tonsilīta epizodes gadā trīs gadus pēc kārtas, neskatoties uz saņemto atbilstošo antibakteriālo terapiju (*Paradise et al., 1984; Windfuhr et al., 2016a, 2016b*). PTA tika diagnosticēts klīniski, balstoties uz pacientu sūdzībām un apskates datiem: paratonsilārā rajona un mīksto aukslēju vienpusējs, palpatori blīvs un sāpīgs piemilzums ar žāvas gļotādas hiperēmiju, dažreiz trismu, kakla limfadenopātiju, kakla sāpēm, neskaidru runu, drudzi. RT un PTA abscesa diagnoze noteikta PSKUS pēc sertificēta otorinolaringologa konsultācijas.

Visiem pacientiem ar RT tika veikta abpusēja tonsilektomija plānveida kārtā un pēdējā tonsilīta paasinājuma epizode ne agrāk kā četras nedēļas pirms operācijas. Visiem PTA pacientiem tika veikta abpusēja tonsilektomija akūtā kārtā tonsilīta paasinājuma laikā.

Pētījumā netika iekļauti pacienti ar hematoloģiskām slimībām (trombocitopēniju vai koagulopātiju), primāru vai iegūtu imūndeficītu, ar dentālu infekciju, ja antibakteriālā terapija saņemta pēdējo četru nedēļu laikā vai tā uzsākta pirms aukslēju mandeļu parauga iegūšanas mikrobioloģiskiem izmeklējumiem, ja lietotas citas PTA ārstēšanas metodes, piemēram, PTA incīzija un drenāža, vai bija kontraindikācijas tonsilektomijas veikšanai (kontraindikācijas operācijai vai vispārējai anestēzijai), vai pacients atteicās piedalīties pētījumā, nespēja sniegt rakstisku informētu piekrišanu. Pacienti ar onkoloģisku slimību, aktīvu autoimūnu slimību, imūnsupresīvu līdzekļu lietošanu (prednizolons > 10 mg/dienā vai līdzvērtīgs medikaments) vairāk nekā četras nedēļas netika iekļauti pētījumā. Par pacientu blakusslimībām informācija iegūta no ģimenes ārsta nosūtījuma, jo otorinolaringologs ir sekundārās veselības aprūpes speciālists, un pēc sertificēta otorinolaringologa un anesteziologa konsultācijas PSKUS.

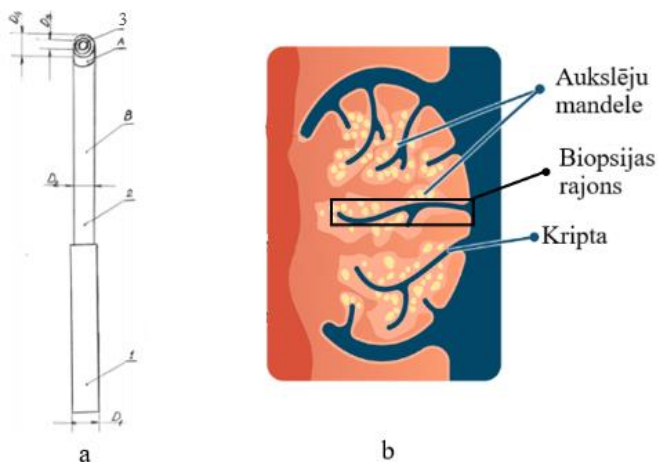
Pētījumā iekļautie veselie indivīdi bija Rīgas Stradiņa universitātes Medicīnas fakultātes studenti. Studenti iesaistīti pētījumā no 2019. gada 1. oktobra līdz 31. decembrim, kad apmeklēja otorinolaringoloģijas mācību ciklu. Pētījumā iekļautie studenti bija bez blakusslimībām, bez aukslēju mandeļu patoloģijas, bez augšējo elpceļu infekcijas pazīmēm pētījuma norises laikā un nebija saņēmuši antibakteriālo terapiju vismaz četras nedēļas līdz dalībai

pētījumā, balstoties uz studentu sniegto informāciju par viņu veselības stāvokli. Pētījumā netika iekļauti studenti, kas pirms dalības pētījumā saņēmuši antibakteriālo terapiju pēdējo četru nedēļu laikā, ar karioziem zobiem, periodonta slimībām, zobu protēzēm, balstoties uz studentu sniegto informāciju par viņu veselības stāvokli, vai kuri nevēlējās piedalīties pētījumā.



1.1. attēls. Pētījuma shēma

Paraugi mikrobioloģiskai analīzei tika iegūti šādi: ar sterilu birstīti no aukslēju mandeļu kriptām (*Kito brush*, references numurs 0640, Kaltek srl, Padova, Itālija) (2. un 3. sadaļa); ar sterilu punktēšanas biopsijas adatu aukslēju mandeļu audu fragments ar kriptu un tās saturu tonsilektomijas laikā (1., 2., 4. sadaļa); ar sterilu vates kociņu no deguna priekšstelpas (latīniski *vestibulum nasi*), padusēm un aukslēju mandeļu nišām pēc tonsilektomijas (4. sadaļa). Aukslēju mandeļu audu fragmenta iegūšanai pētniecības nolūkos tika izstrādāta punktēšanas biopsijas adata ar pagarinātu, liektu rokturi un apļveida asmeni, kura izmēri piemēroti optimāla lieluma parauga iegūšanai (sk. 1.2. attēlu), patents Nr.: LVP2020000055 (Klagisa et al., 2021a).



1.2. attēls. **Biopsijas adatas (a) un aukslēju mandeles biopsijas rajona (b) shēma**

Punktēšanas adata sastāv no asmeņa (3) un turētāja (2) ar divām daļām (A) un (B), kas savā starpā veido 125° leņķi.

Iegūtie paraugi tika ievietoti *Amies* transporta barotnēs un 24 stundu laikā istabas temperatūrā nogādāti uz laboratoriju.

2. Metodes

2.1. Mikroorganismu identifikācija

Iegūtie paraugi aerobos apstākļos tika kultivēti 36 ± 1 °C 24–48 h uz Kolumbijas asins agara, Mannīta sāls agara, *MacConcey* agara un *Sabouraud* dekstrozes agara barotnēm (*Liofilchem*, Itālija). Anaerobu mikroorganismu kultivēšanai izmantota *Brucellas* asins agara barotne anaerobā maisiņu sistēmā, kas inkubēta 36 ± 1 °C līdz piecām diennaktīm. *Streptococcus pneumoniae* kultivēšanai izmantota Kolumbijas asins agara barotne ar optohīna disku, kas inkubēta 36 ± 1 °C 24–48 h ar CO₂ indikatoru. *Haemophylus* spp. kultivēšanai izmantota šokolādes agara barotne, kas inkubēta CO₂ inkubatorā 36 ± 1 °C 24–48 h ar oleandomicīna disku. Izdalītām fūrultūrām veikta krāsošana pēc Grama un mikroskopēšana. Mikroorganismu identifikācija veikta, izmantojot *Microflex LT* (*Bruker Daltonics flexAnalysis* 3.4 versija, *Bruker Daltonics GmbH & Co. KG*, Brēmene, Vācija) ar matricas asistētā lāzera desorbeijas/ionizācijas lidojuma laika masas spektrometra (*MALDI-TOF MS*) sistēmu vai izmantojot *VITEK-2 Compact* iekārtu (*BioMérieux, Marcy-l'Étoile*, Francija).

Normālā orālā mikrobiota tika definēta atbilstoši Eiropas Klīniskās mikrobioloģijas un infekcijas slimību biedrības nostādnēm (Cornaglia & Courcol, 2012).

2.2. Biofilmu noteikšana, izmantojot kristālvioleto metodi

Izdalītie grampozitīvie izolāti tika iesēti triptozes sojas buljonā (TSB) ar 1 % glikozi, gramnegatīvie izolāti tika iesēti Lurija-Bertani (LB) buljonā, inkubēti 37 °C 16–18 h. Uzsētie TSB un LB buljoni atšķaidīti ar sterilu attiecīgi TSB vai LB buljonu attiecībā 1:100. Tad 150 µL atšķaidītā buljona sterilā manierē ar multikanālu pipeti pārnesti sterilā 96 bedrīšu plātē (*Thermo*

Scientific™ Nunc MicroWell 96-Well Microplates, flat bottom, Thermo Fisher Scientific, Roskilde, Dānija). Katrā platē bija 11 izolāti un viena negatīvā kontrole (sterils buljons), astoņas bedrītes katram izolātam, katrs eksperiments veikts trijās platēs. Uzsētās plates inkubētas aerobos apstākļos 37 °C 48 h. Pēc inkubācijas visas plašu bedrītes tika iztukšotas, neizmantojot pipeti, saudzīgi izlejot šķidrumu klīnisko atkritumu maisā. Katra plates bedrīte tika izskalota trīs reizes ar sterilu 250 µL 0,9 % fizioloģisko šķīdumu. Pēc mazgāšanas veikta krāsošana ar kristālvioleto šķīdumu, katrā bedrītē pievienojot 150 µL 0,1 % kristālvioletā šķīduma. Pēc 15 minūtēm krāsa tika saudzīgi izlieta un katra bedrīte mazgāta trīs reizes ar 250 µL destilēta ūdens. Beigās katrai bedrītei pievienoja 150 µL 96 % etanola. Pēc tam ar mikroplates spektrofotometru tika izmērīti bedrīšu optiskie blīvumi (OB), izmantojot 570 nm viļņa garumu (*Tecan Infinite F50*, Mannedorfa, Šveice, ar *Magellan™* lasītāja vadības un datu analīzes programmatūru V 6.6) (Reisner et al., 2006).

2.3. Biofilmu aprēķins

Tika aprēķinātas katra izolāta OB vidējās vērtības un izteiktas skaitļos. Optiskā blīvuma robežvērtība (OBr) tika definēta kā trīs standartnovirzes (SN) virs negatīvās kontroles vidējā OB, un tā tika aprēķināta katrai platei atsevišķi. Izolāti tika sadalīti šādi: $OB \leq OBr$ = biofilmas neveidojošs izolāts, $OBr < OB \leq 2 \times OBr$ = vājas biofilmas veidotājs, $2 \times OBr < OB \leq 4 \times OBr$ = mērenas biofilmas veidotājs un $4 \times OBr < OB$ = stingras biofilmas veidotājs (Stepanović et al., 2007).

2.4. Antibakteriālās jutības noteikšana

Antibakteriālās jutības testēšana tika veikta ar *Kirby-Bauer* disku difūzijas metodi. Vienu nakti kultivētas kultūras tika suspendētas fizioloģiskā šķīdumā līdz 0,5 *McFarland* vienībām (*McFarland Densitometer DEN-1*, *Biosan*, Latvija). Suspensijas tika vienmērīgi inokulētas uz *Mueller-Hinton* agara (*Oxid*, Lielbritānija) virsmas, izmantojot sterilu vates kociņu. Uz inokulētām agara barotnēm tika novietoti standartizēti antimikrobiālo vielu noteiktā koncentrācijā saturoši diski. *S. aureus* izolātiem izmantoti šādi diski: cefoksitīns 30 µg, ceftriaksons 30 µg, benzilpenicilīns 1 SV, ampicilīns 2 µg, ampicilīns/sulbaktāms 10 µg/10 µg, amoksicilīns/klavulānskābe 20 µg/10 µg, norfloksacīns 10 µg, amikacīns 30 µg, eritromicīns 15 µg, klindamicīns 2 µg un hloramfenikols 30 µg (*Liofilchem*, Itālija). *K. pneumoniae* un *Serratia liquefaciens* (*S. liquefaciens*) izolātiem izmantoti šādi diski: amoksicilīns/klavulānskābe 20 µg/10 µg, piperacilīns/tazobaktāms 30 µg/6 µg, cefotaksīms 5 µg, ceftazidīms 10 µg, ertapenēms 10 µg, imipenēms 10 µg, meropenēms 10 µg, ciprofloksacīns 5 µg, gentamicīns 10 µg un trimetoprim/sulfametoksazols 1,25 µg/23,75 µg (*Liofilchem*, Itālija). *Acinetobacter* spp. izolātiem izmantoti šādi diski: imipenēms 10 µg, amikacīns 30 µg, gentamicīns 10 µg, trimetoprim/sulfametoksazols 1,25 µg/23,75 µg, ciprofloksacīns 5 µg un levofloksacīns 5 µg (*Liofilchem*, Itālija). Plates inkubētas 16–18 h, 36 ± 1 °C. Pēc inkubācijas tika izmērīts baktēriju audzes aiztures zonas diametrs ap katru no antibiotiku diskiem atbilstoši Eiropas Antimikrobiālās jutības noteikšanas komisijas rekomendācijām (*EUCAST Clinical breakpoints and dosing of antibiotics* (Versija 10.0, Janvāris 2020) (Anonymous, 2020).

3. Statistiskā analīze

Ar *Kolmogorov-Smirnov* testu tika pārbaudīta datu atbilstība normālsadalījumam. Normāli sadalītu datu centrālās tendences raksturotas, izmantojot vidējās vērtības ar SN, savukārt normālam sadalījumam neatbilstoši dati raksturoti, izmantojot mediānās vērtības ar starpkvartiļu intervālu (SKI).

Atšķirības starp grupām tika noteiktas, izmantojot

- 1) neatkarīgo izlašu *Kruskal-Wallis* testu (piemēram, vecuma atšķirības starp pacientiem RT un PTA grupās, atšķirības starp *S. aureus* četru izolātu biofilmu veidošanās spējām);
- 2) *Pearson χ^2* testu (piemēram, sakarības starp grampozitīvu mikrobu klātbūtni un biofilmu veidošanas spēju);
- 3) *Fisher* eksakto testu (piemēram, sakarības starp *S. aureus*, *K. pneumoniae* identifikāciju birstītes un punktēšanas biopsijas adatas paraugos, sakarības starp tonsilīta recidīvu skaitu un blakusslimībām; tonsilīta recidīvu skaitu un *S. aureus* klātbūtni aukslēju mandeļu biopsijas paraugos vai *K. pneumoniae* klātbūtni aukslēju mandeļu biopsijas paraugos; tonsilīta epizožu skaitu un *S. aureus* biofilmas veidošanas pakāpi vai *K. pneumoniae* biofilmas veidošanas pakāpi; tonsilīta epizožu skaitu un *S. aureus* antibakteriālo rezistenci vai *K. pneumoniae* antibakteriālo rezistenci);
- 4) *Mann-Whitney U* testu (piemēram, atšķirības starp *S. aureus* divu izolātu biofilmu veidošanās spējām);
- 5) *McNemar* testu (metožu salīdzināšana, sakarības starp *K. pneumoniae* un *S. aureus* identifikāciju birstītes un punktēšanas biopsijas paraugos).

Rezultātus uzskatīja par statistiski ticamiem, ja būtiskuma līmeņa (p) vērtība bija $< 0,05$. Statistiskā analīze tika veikta, izmantojot *IBM SPSS Statistics* versiju 26 (Čikāga, IL, ASV) un *Microsoft Excel 10* (*Microsoft, Redmond, Vašingtona, ASV*).

4. Rezultāti

4.1. Mikroorganismu kolonizācijas, biofilmu veidošanas un antibakteriālās jutības analīze RT un PTA pacientiem

Pētījums ir aprakstīts Renātas Klagišas, Kārļa Rāceņa, Renāra Broka, Artas Olgas Balodes, Ligijas Ķīses un Jutas Kroičas rakstā *Analysis of Microorganism Colonization, Biofilm Production, and Antibacterial Susceptibility in Recurrent Tonsillitis and Peritonsillar Abscess Patients. International Journal of Molecular Sciences.* 2022, 23, 10273. doi.org/10.3390/ijms231810273

4.1.1. Pacientu dati

Šajā pētījumā tika iekļauti 128 pacienti, no tiem 29 pacientiem tika diagnosticēts PTA, 99 pacientiem – RT. Pētījuma pacientiem laika posmā no 2018. līdz 2020. gadam tika veikta tonsilektomija PSKUS. RT pacientu grupā tika iekļauti 26 vīrieši (26 %) un 73 (74 %) sievietes vecuma diapazonā no 20 līdz 72 gadiem ar vidējo vecumu 32,94 gadi ($\pm 11,19$). PTA pacientu grupā tika iekļauti 15 (52 %) vīrieši un 14 (48 %) sievietes vecuma diapazonā no 18 līdz 58 gadiem ar vidējo vecumu 32,4 gadi ($\pm 12,2$). Pacientu vecuma un dzimuma attiecības ir norādītas 4.1. tabulā.

Pētāmās populācijas raksturojums

Parametrs		RT	PTA	p vērtība
Dzimums	Vīrieši, n (%)	26 (26 %)	15 (52 %)	p = 0,061
	Sievietes, n (%)	73 (74 %)	14 (48 %)	p = 0,061
Vecums	Vecums (intervāls, vidējais ± SN), gadi	20–72, 32,94 ± 11,19	18–58, 32,4 ± 12,2	p = 0,279
	Vecums (mediāna, SKI), gadi	31, 10	31, 16	–
Laboratoriskie rādītāji	CRP, mediāna, mg/L	1,17	85,5	p < 0,001
	LEU, mediāna, × 10 ⁹ /L	6,52	12,97	p < 0,001

SN – standartnoviē; SKI – starpkvartīļu intervāls; CRP – C reaktīvais proteīns; LEU – leikocīti; RT – recidivējošs tonsilīts; PTA – paratonsilārs abscess.

Saskaņā ar mūsu datiem RT grupā dominēja sievietes, savukārt PTA grupā dzimumu attiecība bija līdzsvarotāka (sk. 4.1. tabulu). Vecuma atšķirības starp pacientiem RT un PTA grupās nebija (neatkarīgo izlašu *Kruskal-Wallis* tests, p = 0,617). Pacientiem ar PTA tika konstatēts paaugstināts leikocītu skaits (LEU) un C reaktīvā proteīna (CRP) līmenis asins paraugos, un pacientiem ar RT bija LEU un CRP līmenis normas robežās. Šīs atšķirības bija statistiski nozīmīgas.

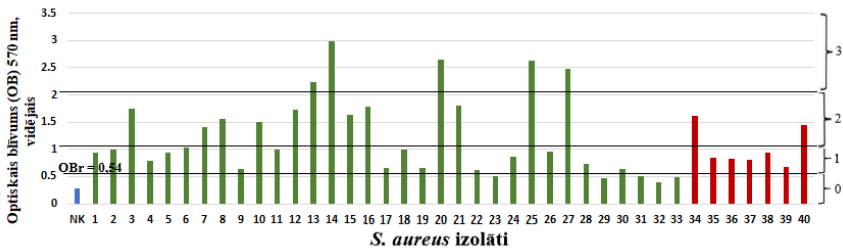
4.1.2. Izolēto mikroorganismu daudzveidība

No 128 pārbaudītajiem pacientu paraugiem pozitīvs kultivēšanas rezultāts (vismaz 1 patogēns vai potenciālais patogēns) tika atklāts 60 pacientiem (60,6 %) RT grupā un 24 pacientiem (82,8 %) PTA grupā (*Pearson* χ^2 tests, p = 0,027). Vislielākā mikroorganismu daudzveidība tika konstatēta pacientiem ar RT. Kultivēšanas rezultāts bija negatīvs, t. i., tika atrasta tikai normālā orālā mikrobiota 39 pacientiem (39,4 %) RT grupā un 5 pacientiem (17,2 %) PTA grupā. Neatkarīgi no pacientu grupas visbiežāk izdalītā patogēnā baktērija bija *S. aureus*, kas tika izolēta kā vienīgais mikroorganisms vai kopā ar citiem potenciāli patogēniem mikroorganismiem. RT grupā *S. aureus* tika izolēts 33 no

99 (33,3 %) gadījumiem, un PTA grupā tika izolēts 7 no 29 (24,14 %) gadījumiem. Grampozitīvās baktērijas dominēja, bet vismaz viena gramnegatīva baktērija tika atklāta 22 no 99 (22,2 %) pacientiem RT grupā un 8 no 29 (27,6 %) pacientiem PTA grupā. Visizplatītākā gramnegatīvā baktērija bija *K. pneumoniae*; tā tika izolēta 10 no 99 (10,1 %) RT gadījumiem un 4 no 29 (13,4 %) PTA gadījumiem. Tika izolētas *Candida* sugas, un tās dominēja pacientiem ar PTA, kur tās konstatētas 14 no 29 (48,3 %) gadījumiem un pārsvarā kā monokultūras (*Fisher tests*, $p < 0,001$).

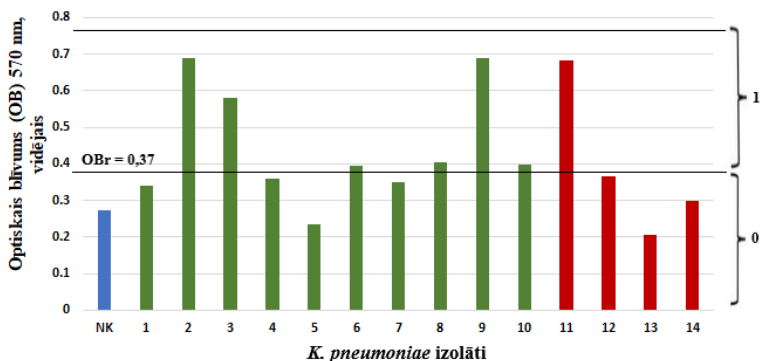
4.1.3. Biofilmas

Vismaz 1 biofilmu veidojošs izolāts tika konstatēts 37 no 99 (37,4 %) RT un 8 no 29 (27,6 %) PTA gadījumiem (*Pearson χ^2 tests*, $p = 0,332$). Mērenas vai stingras biofilmas veidojoši izolāti tika konstatēti 16 no 37 RT gadījumiem un 2 no 8 PTA gadījumiem. RT grupā starp 33 *S. aureus* izolātiem 5 bija stingru, 8 bija mērenas un 15 bija vājas biofilmas veidotāji, bet 5 biofilmas neveidoja vispār. PTA grupā no 7 *S. aureus* izolātiem 2 bija vājas biofilmas veidotāji un 5 bija biofilmas neražojoši izolāti. RT grupā no 10 *K. pneumoniae* izolātiem 6 bija vājas biofilmas veidotāji un 4 bija biofilmas neveidojoši izolāti. PTA grupā no 4 *K. pneumoniae* izolātiem 1 bija vājš biofilmas veidojošs un 3 bija biofilmas neveidojoši izolāti. Visu *S. aureus* un *K. pneumoniae* izolātu biofilmu vidējie optiskie blīvumi (OB) ir apkopoti 4.1. un 4.2. attēlā.



4.1. attēls. *S. aureus* izolātu biofilmas veidošanās spēja uz mikroplātēm pacientiem ar RT un pacientiem ar PTA

Zaļie stabiņi (1–33) apzīmē RT pacientus. Sarkanie stabiņi (34–40) apzīmē pacientus ar PTA. Stabiņi attēlo OB vidējās vērtības (mērīts pie 570 nm viļņa garuma). TSB ar 1 % glikozi izmantots kā negatīvā kontrole (NK, zilais stabiņš). Ar horizontālām līnijām ir atzīmēta OB robežvērtība (OBr) un biofilmas veidošanas līmeņi: 0 – biofilmas neražotāji; 1 – vāji biofilmas ražotāji; 2 – mērenas biofilmas ražotāji; 3 – stingras biofilmas ražotāji.



4.2. attēls. *K. pneumoniae* izolātu biofilmas veidošanas spēja uz mikroplātēm pacientiem ar RT un pacientiem ar PTA

Zaļie stabiņi (1–10) apzīmē RT pacientus. Sarkanie stabiņi (11–14) apzīmē pacientus ar PTA. Stabiņi attēlo OB vidējās vērtības (mērītas pie 570 nm viļņa garuma). LB barotne kā negatīva kontrole (NK, zilais stabiņš). Ar horizontālām līnijām ir atzīmēta robežvērtība (OBr) un biofilmas veidošanas līmeņi: 0 – biofilmas neražotāji; 1 – vājas biofilmas ražotāji.

Tika konstatēta statistiski nozīmīga sakarība starp grampozitīvu baktēriju klātbūtni un biofilmas veidojošo fenotipu RT grupā un PTA grupā. Ja klātesošs ir grampozitīvs mikrobs, visticamāk, būs biofilmu veidojošs fenotips (*Pearson* χ^2 tests, $p < 0,001$). Netika konstatētas statistiski nozīmīgas sakarības starp gramnegatīviem mikrobiem, *Candida* spp. klātbūtni, blakusslimībām, tonsilīta epizodēm vai PTA slimības vēsturē un biofilmu veidojošo celmu RT vai PTA grupā. Lai gan netika konstatētas statistiski nozīmīgas sakarības starp biofilmu veidojošo izolātu klātbūtni vai *S. aureus* biofilmu veidojošo izolātu klātbūtni un pacientu grupu, PTA grupā bija mazāk biofilmu veidojošo variantu, salīdzinot ar RT grupu (sk. 4.2. tabulu).

4.2. tabula

Pacientu mikrobioloģisko datu salīdzinājums RT un PTA grupā

Pacientu mikrobioloģiskie dati		RT grupa	PTA grupa	p vērtība
Izdališanas biežums	<i>S. aureus</i> , n (%)	33/99 (33,33 %)	7/29 (24,14 %)	p = 0,347
	<i>K. pneumoniae</i> , n (%)	10/99 (10,10 %)	4/29 (13,79 %)	p = 0,519
	<i>Candida</i> spp., n (%)	8/99 (8,08 %)	14/29 (48,28 %)	p < 0,001
Biofilmas, vidējais OB	<i>S. aureus</i> biofilmas, vidējais OB	1,24	1,02	p = 0,929
	<i>K. pneumoniae</i> biofilmas, vidējais OB	0,44	0,39	p = 0,322
Biofilmas veidojoši izolāti	Biofilmas veidojoši izolāti, n	37	8	p = 0,111
	<i>S. aureus</i> biofilmas veidojoši izolāti, n	28	7	p = 0,642
	<i>S. aureus</i> mērenu un stingru biofilmu veidojoši izolāti, n (%)	13/33 (39,39 %)	2/7 (28,57 %)	p = 0,691
	<i>K. pneumoniae</i> mērenu un stingru biofilmu veidojoši izolāti, n	0	0	–

4.2. tabulas turpinājums

Pacientu mikrobioloģiskie dati		RT grupa	PTA grupa	p vērtība
Sakarības starp mainīgajiem pa grupām	Grampozitīvs mikrobs un biofilmu veidojošs izolāts	p < 0,001	p < 0,001	–
	Gramnegatīvs mikrobs un biofilmu veidojošs izolāts	p = 0,227	p > 0,999	–
	<i>Candida</i> spp. un biofilmu veidojošs izolāts	p > 0,999	p = 0,215	–
	Blakusslimības un biofilmu veidojošs izolāts	p = 0,759	p = 0,540	–
	Tonsilītu epizodes un biofilmu veidojošs izolāts	p = 0,313	p = 0,738	–
	PTA slimības vēsturē un biofilmu veidojošs izolāts	p = 0,091	p = 0,640	–

4.1.4. Antibakteriālā jutība

S. aureus izolāti bija jutīgi pret cefoksitīnu, ceftriaksonu, ampicilīnu/sulbaktāmu, amoksicilīnu/klavulānskābi, amikacīnu, eritromicīnu, klindamicīnu un hloramfenikolu, jutīgi pret ciprofloksacīnu paaugstinātā koncentrācijā, bet rezistenti pret benzilpenicilīnu un ampicilīnu. *S. aureus* 1 izolāts tika identificēts kā meticilīna rezistentais *S. aureus* (MRSA), jo bija rezistents pret cefoksitīnu. *S. aureus* izolāti, kas bija rezistenti pret benzilpenicilīnu, ampicilīnu un vismaz vienu citu antibiotiku, attēloti 4.3. un 4.4. tabulā kopā ar biofilmas veidošanas spēju. Rezistentie izolāti pārsvarā bija biofilmu neveidojoši vai vājas biofilmas ražotāji. Neviens no *K. pneumoniae* izolātiem nebija paplašināta spektra beta-laktamāzes ražotājs.

S. aureus antibakteriālā jutība un biofilmu veidošanas spēja

Antibiotikas	RT pacientu <i>S. aureus</i> izolāti (n = 33)			PTA pacientu <i>S. aureus</i> izolāti (n = 7)		
	Rezis- tentie izolāti (n)	Biofilma 0 vai 1	Biofilma 2 vai 3	Rezis- tentie izolāti (n)	Biofilma 0 vai 1	Biofilma 2 vai 3
BP, AMP, CIP*	20/33	12/20	8/20	5/7	4/5	1/5
BP, AMP, CIP*, CD*	1/33	1	–	–	–	–
CIP*	9/33	5/9	4/9	2/7	1/2	1/2
BP, AMP, CIP*, E	1/33	–	1	–	–	–
CIP*, E	1/33	1	–	–	–	–
FOX, CRO, BP, AMP, AMS, AUG, CIP*	1**/33	1	–	–	–	–

FOX, cefoksitīns; CRO, ceftriaksons; BP, benzilpenicilīns; AMP, ampicilīns; AMS, ampicilīns/sulbaktāms; AUG, amoksicilīns/klavulānskābe; CIP, ciprofloksacīns; E, eritromicīns; CD, klindamicīns. * Jūtīgs paaugstinātā koncentrācijā; ** MRSA; katra antibiotiku rezistence tika noteikta atsevišķi.

***S. aureus* izolātu antibakteriālā jutība
un biofilmu veidošanas spējas pa pacientu grupām**

Pacientu grupa	Biofilmu veidošanas spēja	Antibakteriālā rezistence pret BP un AMP	Antibakteriālās rezistences nav vai rezistence tikai pret vienu antibiotiķi	p vērtība
RT grupa	Biofilmu neveido vai ir vāja biofilma	14	6	p = 0,590
	Mērena vai stingra biofilma	9	4	p > 0,999
PTA grupa	Biofilmu neveido vai ir vāja biofilma	4	1	p > 0,999
	Mērena vai stingra biofilma	1	1	p > 0,999
PTA + RT grupa	Biofilmu neveido vai ir vāja biofilma	18	7	p = 0,590
	Mērena vai stingra biofilma	10	5	p > 0,999

BP, benzilpenicilīns; AMP, ampicilīns. Katra antibiotiku rezistence tika noteikta atsevišķi; 0 – biofilmas neražotāji; 1 – vāji biofilmas ražotāji; 2 – mēreni biofilmas ražotāji; 3 – spēcīgi biofilmas ražotāji.

Kopsavilkums. RT un PTA gadījumā biežāk tika izdalīts *S. aureus*, 33,3 % RT pacientu un 24,14 % PTA pacientu. *K.pneumoniae* izdalīja salīdzinoši retāk – attiecīgi 10,1 % un 13,4 %. Biofilmu veidojošie izolāti RT gadījumā sasniedza 37,4 % un PTA gadījumā 27,6 %. *S. aureus* RT un PTA gadījumā ir jutīgi pret empīrisku antibakteriālu terapiju, ar izteiktu jutību pret amoksicilīnu ar klavulānskābi un klindamicinīnu. *S. aureus* 1 izolāts tika identificēts kā MRSA.

4.2. Uz aukslēju mandeļu virsmas un aukslēju mandeļu kriptās esošo patogēno mikroorganismu novērtējums pacientiem ar RT

Pētījums ir aprakstīts Renātas Klagišas, Jutas Kroičas un Ligijas Ķīses rakstā *S. aureus and K. pneumoniae on the Surface and within Core of Tonsils in Adults with Recurrent Tonsillitis. Medicina* 2021, 57(10), 1002; <https://doi.org/10.3390/medicina57101002>

Šajā pētījumā tika iekļauti 25 pieauguši pacienti, kuriem diagnosticēts RT un kuriem no 2020. gada augusta līdz 2020. gada septembrim tika veikta tonsilektomija PSKUS. Pētījumā iekļautie pacienti bija 4 vīrieši un 21 sieviete vecuma diapazonā no 20 līdz 71 gadam ar mediāno vecumu 31 gads. No Rīgas bija 17 pacienti, no Jelgavas 3 pacienti, no citām Latvijas pilsētām (Engures, Bauskas, Salaspils, Limbažiem un Tukuma) 5 pacienti.

S. aureus tika identificēts ar birstīti ņemtus paraugos 12 gadījumos un ar punktēšanas biopsijas adatas paraugos 9 gadījumos. *Fisher* eksaktais tests uzrādīja statistiski nozīmīgu sakarību starp *S. aureus* identifikāciju no birstītes un punktēšanas biopsijas adatas paraugos ($p = 0,004$). *K. pneumoniae* tika identificēta ar birstīti ņemtus paraugos 4 gadījumos un 5 gadījumos ar punktēšanas biopsijas adatas paraugos. *Fisher* eksaktais tests uzrādīja statistiski nozīmīgu sakarību starp *K. pneumoniae* identifikāciju birstītes un punktēšanas biopsijas paraugos ($p < 0,001$). *McNemar* tests, kas lietots, lai salīdzinātu divu metožu precizitāti, statistiski nozīmīgas atšķirības neuzrādīja.

S. aureus, kas izdalīti no punktēšanas biopsijas adatas paraugiem, tika noteikta biofilmu veidošanas spēja (sk. 4.5. tabulu). No 9 *S. aureus* izolātiem 5 bija biofilmu veidojoši, 2 izolāti bija stingru biofilmu veidotāji, 3 izolāti bija vāju biofilmu veidotāji, bet 4 no 9 *S. aureus* izolātiem biofilmu neveidoja.

No 5 *K. pneumoniae* izolātiem 4 bija vāju biofilmu veidotāji un 1 no 5 *K. pneumoniae* bija biofilmu neveidojošs izolāts (sk. 4.5. tabulu).

**Ar punktēšanas biopsijas adatu tonsilektomijas laikā iegūto
S. aureus un *K. pneumoniae* biofilmu veidošanas
un antibakteriālās jutības raksturojums**

Izolāts	Biofilmas		Antibakteriālā jutība			
	Biofilmas veidojoši izolāti (n)	Biofilmas neveidojoši izolāti (n)	BP	AMP	CIP	E
Sa	5 (9)	4 (9)	R 7 (9)	R 7 (9)	I 9 (9)	0 (9)
Kp	4 (5)	1(5)	R 5 (5)	R 5 (5)	0 (5)	R 5 (5)

Sa, *S. aureus*; Kp, *K. pneumoniae*; BP, benzilpenicilīns; AMP, ampicilīns; CIP, ciprofloksacīns; E, eritromicīns, R, rezistents; I, jutīgs paaugstinātā koncentrācijā.

S. aureus un *K. pneumoniae* izolātiem, kas identificēti punktēšanas biopsijas adatu paraugos, tika noteikta antibakteriālā jutība. No 9 *S. aureus* izolātiem 7 bija rezistenti pret benzilpenicilīnu un ampicilīnu; 5 no 7 izolātiem bija biofilmu veidotāji. Visi *S. aureus* izolāti bija jutīgi uz ampicilīnu/sulbaktāmu, amiksicilīnu/klavulānskābi, amikacīnu, eritromicīnu, klindamicīnu, hloramfenikolu un uz ciprofloksacīnu paaugstinātā koncentrācijā. Visi *K. pneumoniae* izolāti bija rezistenti uz benzilpenicilīnu, ampicilīnu un eritromicīnu, bet jutīgi uz ampicilīnu/sulbaktāmu, amiksicilīnu/klavulānskābi, piperacilīnu/tazobaktāmu, ceftazidīmu, cefotaksīmu, ceftriaksonu, meropenēmu, imipenēmu, amikacīnu un ciprofloksacīnu.

Nebija statistiski nozīmīgas sakarības starp tonsilīta recidīvu skaitu un blakusslimībām (*Fisher* eksaktais tests, $p = 0,542$); tonsilīta recidīvu skaitu un *S. aureus* klātbūtni auslēju mandeļu biopsijas paraugos (*Fisher* eksaktais tests, $p = 0,260$) vai *K. pneumoniae* klātbūtni auslēju mandeļu biopsijas paraugos (*Fisher* eksaktais tests, $p > 0,999$); tonsilīta epizožu skaitu un *S. aureus* biofilmas veidošanas pakāpi (*Fisher* eksaktais tests, $p = 0,238$) vai *K. pneumoniae* biofilmas veidošanas pakāpi (*Fisher* eksaktais tests, $p = 0,617$); tonsilīta epizožu skaitu un *S. aureus* antibakteriālo rezistenci (*Fisher* eksaktais

tests, $p = 0,294$) vai *K. pneumoniae* antibakteriālo rezistenci (*Fisher* eksaktais tests, $p > 0,999$).

Tonsilektomijas operācijas materiāls tika nosūtīts histopatoloģiskai izmeklēšanai. Visiem pacientiem histopatoloģiskā izmeklējuma slēdziens bija hronisks nespecifisks tonsilīts.

Kopsavilkums. No aukslēju mandeļu virsmas iegūtais materiāls ir ar zemāku ticamību, jo ir bagātīgi kontaminēts ar orālo mikrobiotu. Biežākie RT ierosinātajī *S. aureus* un *K. pneumoniae* tika izdalīti gan no aukslēju mandeļu virsmas, gan no aukslēju mandeļu kriptām. No kriptām izdalītās grampozitīvās (5 no 9) un gramnegatīvās (4 no 5) baktērijas bija biofilmas veidojošie izolāti.

4.3. No veselu indivīdu aukslēju mandeļu kriptām iegūto patogēno mikroorganismu biofilmu veidošanas, antibakteriālās jutības novērtējums

Pētījums ir aprakstīts Renātas Vīksnes, Kārļa Rāceņa, Renāra Broka, Artas Olgas Balodes, Ligijas Ķīses un Jutas Kroičas rakstā *In Vitro Assessment of Biofilm Production, Antibacterial Resistance of Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, and Acinetobacter spp. Obtained from Tonsillar Crypts of Healthy Adults. Microorganisms*. 2023; 11(2):258. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020258>

4.3.1. Veselo indivīdu dati

Pētījuma grupā tika iekļautas 52 sievietes (57 %) un 39 vīrieši (43 %) vecumā no 19 līdz 29 gadiem (vidēji $21,2 \pm 1,41$ gads, mediānais vecums 21 gads).

4.3.2. Izolēto mikroorganismu daudzveidība

No 91 dalībnieka paraugiem pozitīvs kultivēšanas rezultāts (vismaz 1 patogēns vai potenciālais patogēns) tika konstatēts 54 dalībnieku paraugos (59,3 %) (sk. 4.6. tabulu).

4.6. tabula

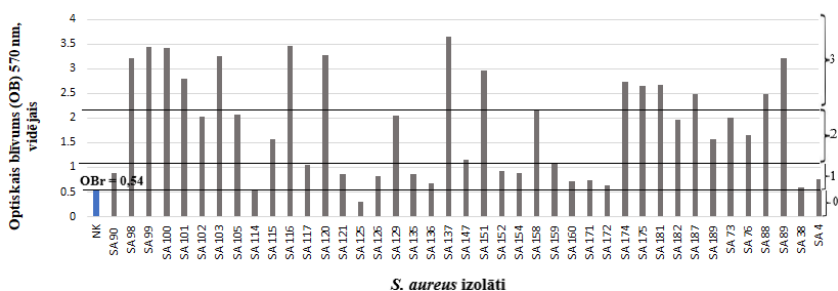
Mikroorganismi, kas izolēti no 91 vesela indivīda aukslēju mandeļu kriptām

Izolētu baktēriju kombinācijas	Skaitis (n)
Normālā orālā mikrobiota	37
<i>S. aureus</i> + normālā orālā mikrobiota	20
<i>S. aureus</i>	16
<i>S. aureus</i> + <i>A. junii</i>	2
<i>S. aureus</i> + <i>K. pneumoniae</i>	1
<i>S. aureus</i> + <i>Candida</i> spp. + <i>S. viridans</i>	1
<i>S. aureus</i> + <i>K. pneumoniae</i> + <i>S. liquefaciens</i> + normālā orālā mikrobiota	1
<i>K. pneumoniae</i>	5
<i>P. aeruginosa</i>	2
<i>A. pittii</i>	2
<i>A. johnsonii</i>	1
<i>S. liquefaciens</i>	1
<i>S. dysgalactiae</i>	1
<i>A. ewofii</i> + normālā orālā mikrobiota	1

Kultivēšanas rezultāts bija negatīvs, t. i., bija tikai normālā orālā mikrobiota, 37 dalībnieku paraugos (40,7 %) (sk. 4.6. tabulu). Visbiežāk izolētā patogēnā baktērija bija *S. aureus*, kas tika izolēta kā vienīgais mikroorganisms vai kopā ar citiem potenciāli patogēniem mikroorganismiem 41 dalībnieka paraugā (45 %) (sk. 4.6. tabulu). Dominēja grampozitīvas baktērijas, bet vismaz 1 gramnegatīva baktērija tika konstatēta 16 paraugos (17,6 %). Starp gramnegatīvajām baktērijām *K. pneumoniae* bija visizplatītākā, un tā tika izolēta 7 paraugos.

4.3.3. Biofilmas

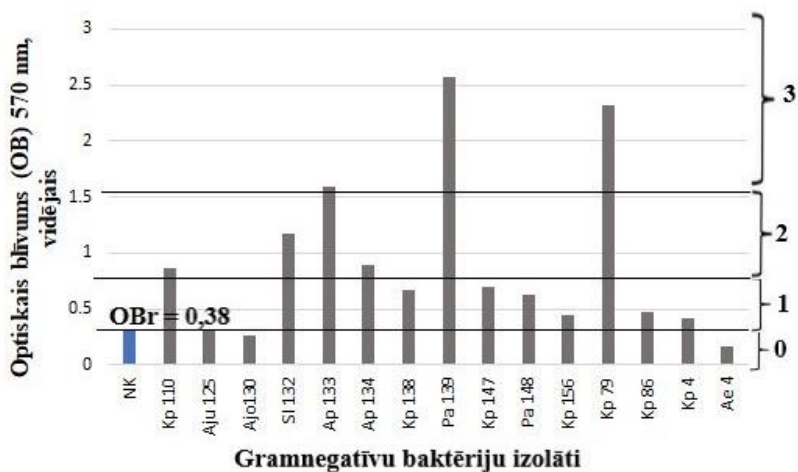
Biofilmu veidošanas spēja tika novērota 41 *S. aureus* izolātam un 15 gramnegatīvu baktēriju izolātiem. *S. aureus* pārsvarā bija biofilmas veidojoši varianti: 25 no 41 (61 %) *S. aureus* izolāti bija vidēji vai spēcīgi biofilmas veidotāji, un 14 no 41 (34,1 %) *S. aureus* izolāti bija vāji biofilmas veidotāji, bet 2 no 41 (4,9 %) biofilmas neveidoja (sk. 4.3. attēlu).



4.3. attēls. *S. aureus* 41 izolāta biofilmas veidošanas spēja uz mikroplatēm

Stabiņi attēlo OB vidējās vērtības (mērītas pie 570 nm viļņa garuma). TSB ar 1 % glikozi izmantots kā negatīvā kontrole (NK). Numurs apzīmē dalībnieku; burti norāda izolātu: Sa – *Staphylococcus aureus*. Ar horizontālām līnijām ir atzīmēta robežvērtība (OBr) un biofilmas veidošanas līmeņi: 0 – biofilmas neražotāji; 1 – vāji biofilmas ražotāji; 2 – mērenas biofilmas ražotāji; 3 – stingras biofilmas ražotāji.

Gramnegatīvo baktēriju vidū 6 no 15 (40 %) baktērijām bija vidējas vai spēcīgas biofilmas ražotājas, un 6 no 15 (40 %) izolātiem bija vāji biofilmas ražotāji, bet 3 no 15 (20 %) izolātiem biofilmas neveidoja (sk. 4.4. attēlu).



4.4. attēls. Gramnegatīvu baktēriju 15 izolātu biofilmas ražošanas spēja uz mikroplātēm

Stabiņi attēlo OB vidējās vērtības (mērītas pie 570 nm viļņa garuma). LB barotne izmantota kā negatīva kontrole (NK). Numurs apzīmē dalībnieku; burti norāda izolātu: Kp – *Klebsiella pneumoniae*; Aju – *Acinetobacter junii*; Ajo – *Acinetobacter johnsoni*; Sl – *Serratia liquefaciens*; Ap – *Acinetobacter pittii*; Pa – *Pseudomonas aeruginosa*; Ae – *Acinetobacter ewoffi*. Robežvērtība (OBr) un biofilmas ražošanas līmeņi ir atzīmēti ar horizontālām līnijām: 0 – biofilmas neražotāji; 1 – vāji biofilmas ražotāji; 2 – mēreni biofilmas ražotāji; 3 – spēcīgi biofilmas ražotāji.

Pētījuma dalībnieku mikrobioloģisko datu kopsavilkums ir parādīts 4.7. tabulā. Bija statistiski nozīmīga saistība starp grampozitīvu baktērijas klātbūtni un biofilmas veidošanas fenotipu. Ja ir grampozitīvs mikrobs, visticamāk, būs biofilmas veidojošais fenotips (*Pearson* χ^2 tests, $p < 0,001$) (sk. 4.7. tabulu).

Pētījuma dalībnieku mikrobioloģisko datu apkopojums

Mikrobioloģiskie dati		Rezultāts	p vērtība
Izdalīšanas biežums	Tikai normālā orālā mikrobiota, n (%)	37/91 (40,7 %)	–
	Grampozitīvi izolāti, n	43	–
	Gramnegatīvi izolāti, n	17	–
Biofilma, vidējais OB	<i>S. aureus</i> biofilmas, vidējais OB	1,89	–
	Gramnegatīvu mikrobu biofilmas, vidējais OB	0,95	–
Biofilmu veidojoši celmi	Biofilmu veidojoši izolāti, n	51	–
	<i>S. aureus</i> biofilmu veidojoši izolāti, n	39	–
	Gramnegatīvu mikrobu biofilmu veidojoši izolāti, n	12	–
	Stingru un mērenu biofilmu veidojoši izolāti, n	31	–
Sakarības starp mainīgajiem	Grampozitīvs mikrobs un biofilmu veidojošs izolāts	–	p < 0,001
	Gramnegatīvs mikrobs un biofilmu veidojošs izolāts	–	p = 0,808

4.3.4. Antibakteriālā jutība

Pārbaudītie *S. aureus* izolāti bija jutīgi pret cefoksitīnu, ceftriaksonu, ampicilīnu/sulbaktāmu, amoksicilīnu/klavulānskābi, norfloksacīnu, amikacīnu, klindamicīnu, hloramfenikolu, bet rezistenti pret benzilpenicilīnu un ampicilīnu 75,6 % un eritromicīnu 14,6 % gadījumu (sk. 4.8. tabulu). No izolētajiem *S. aureus* izolātiem 1 bija MRSA, jo bija rezistents pret cefoksitīnu.

**Antibakteriālā rezistence starp *S. aureus* izolātiem,
kas izolēti no veselīem indivīdiem**

Izolāts	Izolāti (n)	Antibakteriālā rezistence (%)										
		FOX	CRO	BP	AMP	AMS	AUG	NOR	AK	E	CD	C
Sa	41	2,4	2,4	75,6	75,6	2,4	2,4	2,4	2,4	14,6	0	4,9

Sa, *S. aureus*; FOX, cefoksitīns; CRO, ceftriaksons; BP, benzilpenicilīns; AMP, ampicilīns; AMS, ampicilīns/sulbaktāms; AUG, amoksicilīns/klavulānskābe; NOR, norfloksacīns; AK, amikacīns; E, eritromicīns; CD, klindamicīns; C, hloramfenikols.

Gramnegatīvās baktērijas bija jutīgas pret visām pārbaudītajām antibiotikām (sk. 4.9. tabulu). Tikai 1 *Acinetobacter junii* izolāts bija rezistents pret amikacīnu. Neviens no izolētajiem *K. pneumoniae* variantiem nebija paplašināta spektra beta-laktamāzes (ESBL) ražotājs. Netika konstatētas statistiski nozīmīgas korelācijas starp antibakteriālo jutību un biofilmas veidošanas spēju.

Antibakteriālā rezistence starp *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Serratia liquefaciens* un *Acinetobacter* spp., kas izolēti no veselīem indivīdiem

Izolāti	Izolāti (n)	Antibakteriālā rezistence (%)											
		AUG	TZP	CTX	CAZ	ETP	IMP	MEM	CIP	GM	SXT	AK	LEV
Kp	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	–	–
Pa	2	–	0	–	0	–	0	0	0	–	–	0	–
A. spp.	5	–	–	–	–	–	0	–	0	0	0	20	0
Sl	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	–	–

Kp, *Klebsiella pneumoniae*; Pa, *Pseudomonas aeruginosa*; A, *Acinetobacter*; Sl, *Serratia liquefaciens*; AUG, amoksicilīns/klavulānskābe; TZP, piperacilīns/tazobaktāms; CTX, cefotaksīms; CAZ, ceftazidīms; ETP, ertapenēms; IMP, imipenēms; MEM, meropenēms; CIP, ciprofloksacīns; GM, gentamicīns; SXT, trimetoprimis/sulfametoksazols; AK, amikacīns; LEV, levofloksacīns.

Kopsavilkums. Veselu cilvēku aukslēju mandeles kolonizē pārsvarā grampozitīvie mikroorganismi, *S. aureus* 45 % gadījumu. Kolonizē arī gramnegatīvie mikroorganismi, piemēram, *K. pneumoniae* 7 %, *Acinetobacter* spp. 5,5 %. Šie ierosinātie var būt oportūnistiskās infekcijas etioloģijā. Pierādīts, ka 95 % no identificētajiem *S. aureus* ir biofilmu veidojošie izolāti. Biofilmas ir veselu cilvēku audus kolonizējošo patogēno baktēriju dabiski eksistējošā forma. Gramnegatīvās baktērijas biofilmas veidoja ievērojami retāk. Visas izdalītās baktērijas no veselu cilvēku aukslēju mandelēm bija jutīgas pret antibiotikām.

4.4. *Staphylococcus aureus* kolonizācijas novērtējums pacientiem, kuriem veikta tonsilektomija RT dēļ

Pētījums ir aprakstīts Renātas Klagišas, Kārļa Rāceņa, Renāra Broka, Ligijas Ķīses un Jutas Kroičas rakstā *Evaluation of Staphylococcus aureus Colonization in Adult Patients Undergoing Tonsillectomy for Recurrent Tonsillitis. Pathogens* 2022, 11, 427. <https://doi.org/10.3390/pathogens11040427>

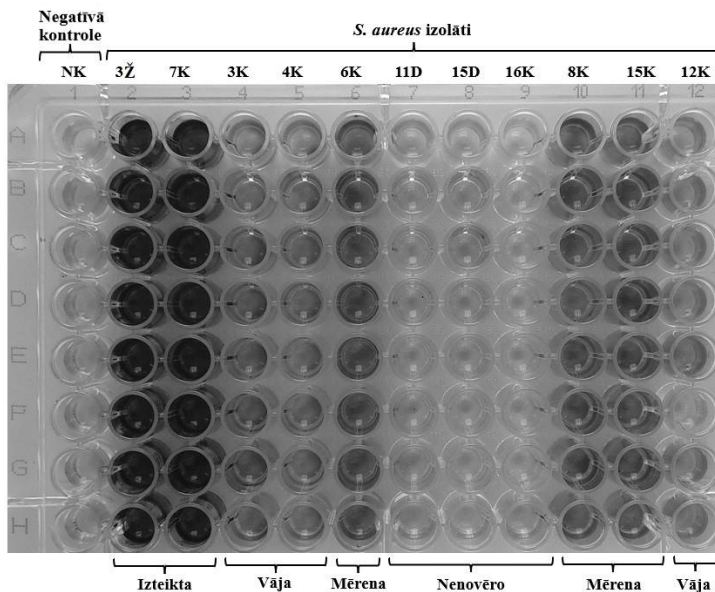
Pētījumā tika iekļauti 16 pacienti, no kuriem 8 bija sievietes un 8 vīrieši vecumā no 21 līdz 50 gadiem ar vidējo vecumu 29 gadi ($\pm 7,23$). Rīgā dzīvoja 7 pacienti, pārējie – citās Latvijas pilsētās.

No aukslēju mandeļu kriptām visbiežāk izdalītā baktērija bija *S. aureus*, kas bija vienīgais izdalītais mikroorganisms 6 pacientiem un kopā ar normālo orālo mikrobiotu vai citiem potenciāli patogēniem mikroorganismiem 10 pacientiem. Tika izolēti 16 *S. aureus* izolāti un pārbaudītas biofilmas veidošanas spējas, un 15 no 16 bija biofilmas veidojoši izolāti. Turklāt 1 no izolātiem bija stingras biofilmas veidotājs, 5 no 16 izolātiem bija mērenas un 9 no 16 bija vājas biofilmas veidotājs, un 1 *S. aureus* izolāts biofilmu neveidoja.

Gadu pēc tonsilektomijas 8 *S. aureus* izolāti tika izdalīti 6 no 16 pacientiem – kultūrās no žāvas 3 no 16 pacientiem, no deguna priekšelpas 4 no 16 pacientiem un no padušu paraugiem 1 no 16 pacientiem. No žāvas paraugiem 1 no 3 bija stingru biofilmu ražotājs un 2 no 3 *S. aureus* izolāti bija vājas biofilmas ražotāji. No deguna priekšelpas paraugiem 1 no 4 bija mērenas biofilmas ražotājs, 1 no 4 bija vājas biofilmas ražotājs un 2 no 4 *S. aureus* izolāti biofilmu neveidoja. No padušu paraugiem 1 *S. aureus* izolāts biofilmu neveidoja. Tikai 1 pacientam bija *S. aureus* žāvas, deguna un padušu paraugos, un tas bija vājas biofilmas ražotājs.

S. aureus tika izolēts tikai tonsilektomijas laikā 10 pacientiem. Šajos gadījumos *S. aureus* bija RT izraisītājs. Pēc tonsilektomijas *S. aureus* bija žāvā vai deguna priekšelpā, bet *S. aureus* celmiem tika konstatētas dažādas biofilmas veidošanās pakāpes 4 pacientiem. Šajos gadījumos pacientiem bija nosliece uz *S. aureus* kolonizāciju. *S. aureus* ar vienādu biofilmas ražošanas spēju tika izolēts no aukslēju mandelēm tonsilektomijas laikā un vienu gadu pēc tonsilektomijas no žāvas, deguna priekšelpas un padusēm 2 pacientiem. Šajos gadījumos *S. aureus* bija daļa no pacientu mikrobiotas.

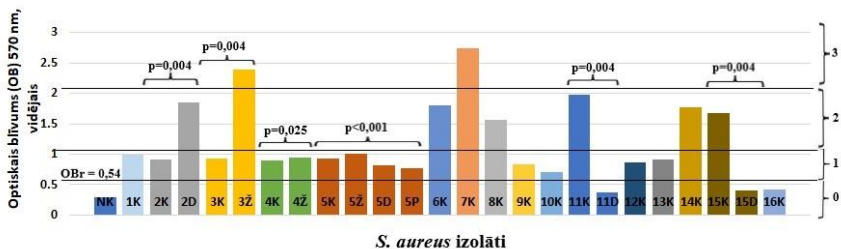
4.5. attēlā parādīta 11 *S. aureus* izolātu biofilmas veidošanās 96 bedrīšu mikroplatēs. Kristālvioletā absorbcija ir proporcionāla adhēzijas šūnām un biofilmas koncentrācijai.



4.5. attēls. *S. aureus* izolātu biofilmas veidošanas 96 bedrīšu mikroplatē

Platē 11 izolāti un negatīvā kontrole (sterils buljons) ar 8 iedobēm katram izolātam. Krāsošana veikta ar kristālviolate, kas atšķir izteiktu (3Ž, 7K), mērenu (6K, 8K, 15K), vāju (3K, 4K, 12K) biofilmas veidošanas pakāpi un biofilmas veidošanos nenovēro (11D, 15D, 16K).

Kristālviolate krāsa, kas pievienota šūnām, kuras veido biofilmas uz mikroplatēm, tika mērīta kvantitatīvi. Baktēriju biofilmas optiskais blīvums (OB) tika mērīts pie 570 nm viļņa garuma ar mikroplates spektrofotometru. Katra izolāta OB vērtība bija izteikts kā skaitlis. Visas izdalīto izolātu biofilmu vidējās OB vērtības ir apkopotas 4.6. attēlā.



4.6. attēls. *S. aureus* 24 izolātu biofilmas veidošanas spēja uz mikroplatēm

Stabiņi attēlo OB vidējās vērtības (mērītas pie viļņa garuma 570 nm). TSB ar 1 % glikozi kā negatīvā kontrole (NK). Robežvērtība (OBr) un biofilmu veidošanas pakāpes ir atzīmētas ar horizontālām līnijām: 0 – biofilmas neražotāji; 1 – vāji biofilmas ražotāji; 2 – mērenas biofilmas ražotāji; 3 – stingras biofilmas ražotāji. Atšķirības starp *S. aureus* izolātu biofilmu veidošanās spējām bija analizētas, izmantojot *Mann-Whitney U* testu 2 izolātu analīzei un *Kruskal-Wallis* testu 4 izolātu analīzei, un ir atzīmētas p vērtības.

S. aureus izolāta kods – numurs apzīmē pacientu un burts – parauga iegūšanas vietu (K – krietas; Ž – rīkle; D – deguna priekštelpa; P – paduses).

Pret benzilpenicilīnu un ampicilīnu bija rezistenti 14 izolāti. Kā MRSA tika identificēts 1 izolāts, jo bija rezistents pret cefoksitīnu. Visi izolāti bija jutīgi pret ciprofloksacīnu paaugstinātā koncentrācijā, savukārt 1 izolāts bija arī jutīgs pret klindamicīnu paaugstinātā koncentrācijā (sk. 4.10. tabulu).

Antibiotiku rezistence starp *S. aureus*, kas izolēti no pacientiem ar RT

		Antibiotikas										
		FOX	CRO	BP	AMP	AMS	AUG	CIP	AK	E	CD	C
<i>S. aureus</i> izolāti	1K	J	J	R	R	J	J	I	J	J	J	J
	2K	J	J	J	J	J	J	I	J	J	J	J
	2D	J	J	R	R	J	J	I	J	J	J	J
	3K	J	J	R	R	J	J	I	J	J	J	J
	3Ž	J	J	J	J	J	J	I	J	J	J	J
	4K	R	R	R	R	R	R	I	J	J	J	J
	4Ž	J	J	R	R	J	J	I	J	J	J	J
	5K	J	J	R	R	J	J	I	J	J	J	J
	5Ž	J	J	J	J	J	J	I	J	J	J	J
	5D	J	J	J	J	J	J	I	J	J	J	J
	5P	J	J	J	J	J	J	I	J	J	J	J
	6K	J	J	R	R	J	J	I	J	J	J	J
	7K	J	J	R	R	J	J	I	J	J	J	J
	8K	J	J	R	R	J	J	I	J	J	J	J
	9K	J	J	R	R	J	J	I	J	J	J	J
	10K	J	J	R	R	J	J	I	J	J	J	J
11K	J	J	J	J	J	J	I	J	J	J	J	
11D	J	J	J	J	J	J	I	J	J	J	J	
12K	J	J	R	R	J	J	I	J	J	J	J	
13K	J	J	R	R	J	J	I	J	J	I	J	
14K	J	J	J	J	J	J	I	J	J	J	J	
15K	J	J	R	R	J	J	I	J	J	J	J	
15D	J	J	R	R	J	J	I	J	J	J	J	
16K	J	J	J	J	J	J	I	J	J	J	J	

FOX, cefoksitīns; CRO, ceftriaksons; BP, benzilpenicilīns; AMP, ampicilīns; AMS, ampicilīns/sulbaktāms; AUG, amoksicilīns/klavulānskābe; CIP, ciprofloksacīns; AK, amikacīns; E, eritromicīns; CD, klindamicīns; C, hloramfenikols. J, jutīgs; R, rezistents; I, jutīgs paaugstinātā koncentrācijā.

Kopsavilkums. No aukslēju mandeļu kriptām izdalītie *S. aureus* bija ar augstāku biofilmas veidošanas kapacitāti salīdzinājumā ar izolātiem no citām ķermeņa vietām. Gadu pēc tonsilektomijas *S. aureus* netika izdalīts 10 no 16 pacientiem. Tonsilektomija ievērojami samazina *S. aureus* nēsāšanu un ir efektīva RT ārstēšanas metode.

5. Diskusija

Pasaulē plaši tiek pētīti RT patoģenēzes mehānismi, tiek veikti pētījumi gan mikrobioloģijas, gan imunoloģijas jomā, meklējot objektīvus biomarkierus, lai identificētu pacientus ar RT. Pašreizējās RT diagnostikas metodes balstās tikai uz klīnisko ainu un mikrobioloģiskiem izmeklējumiem, kuri neatspoguļo situāciju mandeļaudos. Šobrīd galvenais izšķirošais faktors, izskatot indikācijas tonsilektomijai, tiek izmantots tonsilītu biežums iepriekšējo trīs gadu laikā (*Paradise* kritēriji). Objektīvu biomarkieru neesamības dēļ grūtības ir klīniskajā praksē, piemēram, paiet 1–3 gadi, līdz noteikta RT diagnoze un lemts par tonsilektomijas nepieciešamību, kā arī zinātnē RT pacientu pētījumā iekļaušanas kritēriji balstās anamnēzes datos, ierakstos medicīniskajā dokumentācijā.

Veicot literatūras analīzi, secinājām, ka ir vairāki pētījumi, kuros salīdzināti RT pacientu un veselo indivīdu dati, bet nozīmīgas atšķirības netika atrastas, un veikti PTA plaši mikrobioloģiski pētījumi, bet bez salīdzinošās grupas. Promocijas darbā tādēļ tika pētītas trīs grupas: RT, PTA pacienti un veselie indivīdi.

RT patoģenēze nav pilnībā skaidra, tomēr zināms, ka tajā iesaistītas baktērijas ar antibiotiķu tolerances mehānismiem. Mūsu darbā ar punktēšanas biopsijas adatu tika iegūts RT un PTA pacientu mandeļaudu paraugi, izvairoties no normālās orālās mikrobiotas, un veikta to bakterioloģiska testēšana objektīvu marķieru atrašanai.

Izaicinoša ir bakterioloģiskā izmeklēšana no vietām ar augstu kolonizāciju, pozitīvs kultivēšanas rezultāts bija 60 (60,6 %) RT pacientiem, 24 (82,8 %) PTA pacientiem un 54 (59,3 %) veseliem indivīdiem. Pētāmajās grupās bija plaša mikroorganismu daudzveidība, dominēja grampozitīvi mikroorganismi un visbiežāk izdalītā patoģenā baktērija bija *S. aureus*, vienīgi PTA grupai konstatēja *Candida* spp. augstu izdalīšanas biežumu. *S. aureus* izolātiem plaša antibakteriālā rezistence netika konstatēta nevienā no pētāmajām

grupām, bet izteiktas biofilmu veidošanas spējas novēroja *S. aureus* izolātiem no veselo indivīdu mandeļaudiem. Jādomā, ka gļotādu biofilmas ir baktēriju dabiskas pastāvēšanas forma un neliecina par tonsilopātiju atšķirībā no pētījumiem par biofilmām, kas saistītas ar medicīniskajām protēzēm vai svešķermeņiem.

Antibakteriālā testēšana veikta atbilstoši *EUCAST* standartiem, izolāti testēti uz daudziem antibiotiķiem, lai raksturotu izolātu antibakteriālo rezistenci, neskatoties uz to, ka klīniskajā praksē RT terapijā tādus antibiotiķus nelieto, piemēram, *S. aureus* gadījumā cefoksitīns, lai raksturotu rezistenci pret meticilīnu, un gramnegatīvu baktēriju gadījumā meropenēms, lai lemtu par turpmāko testēšanu uz karbapenemāzēm.

5.1. Mikroorganismu kolonizācijas, biofilmu veidošanas un antibakteriālās jutības analīze RT un PTA pacientiem

RT un PTA ir slimības ar dažādu klīnisko ainu, slimības gaitu un prognozēm. Abām slimībām ir kopīgās iezīmes, pirmkārt, tās ir bieži sastopamas otorinolaringologa praksē, otrkārt, to etioloģiskais faktors visbiežāk ir baktērijas, un, treškārt, antibakteriālās terapijas neefektivitātes gadījumā abas slimības var veiksmīgi ārstēt ķirurģiski. Veiksmīgas ārstēšanas plāns abām infekciju slimībām var būt saistīts ar līdzīgu etioloģiju (Zautner et al., 2010).

Streptococcus pyogenes (*S. pyogenes*) ir biežākais akūta bakteriāla tonsilīta ierosinātājs imūnkompetentiem pieaugušajiem. Ir pieņemts, ka ir akūta tonsilīta viens etioloģiskais faktors, bet RT etioloģija ir multifaktoriāla divu un vairāku baktēriju sugu klātbūtne (Babaiwa, 2013; Katkowska et al., 2017). Mūsu pētījumā tika novērots, ka pacientiem ar RT bija liela mikroorganismu dažādība, dominēja polikultūras. Šāda atrade ir novērota arī citām slimībām, piemēram, gingivīta slimību gadījumos (Jorgensen et al., 2015).

Mūsu pētījumā *Streptococcus* spp. izdalīšanas biežums bija zems, RT gadījumā tika izdalīti 17 streptokoku izolāti, bet PTA gadījumā – trīs streptokoku izolāti. *S. pyogenes* izolāti bija izdalīti kopā ar citiem mikroorganismiem četriem pacientiem ar RT, bet netika izdalīti nevienam pacientam ar PTA. Arī citos pētījumos RT pacientiem ir konstatēts zems streptokoku (1,7–5 %) izolācijas biežums, ir pierādīts, ka uz aukslēju mandeļu virsmas tie satopami biežāk nekā mandeļaudos (Strylo et al., 2007; Alasil et al., 2013). RT patogēnēzē *S. pyogenes* loma ir pārvērtēta vai samazinājusies gadu gaitā (Lindroos, 2000; Zautner et al., 2010; Kostić et al., 2022). RT un PTA pacientiem ātro streptokoku testu izmantošana un antistreptolizīna O (ASO) noteikšana nav lietderīga sakarā ar zemu *S. pyogenes* īpatsvaru. Mikroorganismu izdalīšanas biežums atkarīgs no parauga iegūšanas veida. Zautner et al. (2010) pētījumā tika analizētas aukslēju mandeļu šūnu suspensijas un konstatēts, ka *S. aureus* prevalē pacientiem ar RT (57,7 %), bet *S. pyogenes* – pacientiem ar PTA (20,2 %) (Zautner et al., 2010). Vaikjārv et al. (2016) pētījumā tika atspoguļots, ka PTA abscesa gadījumā aukslēju mandeļu nišu biopsijas ir labāks materiāls mikrobioloģiskai analīzei nekā PTA strutu materiāls, jo vienā materiālā tie atklāj vairāk baktēriju (Vaikjārv et al., 2016). *Streptococcus* spp. bija biežākais patogēns gan aukslēju mandeļu nišu biopsiju, gan strutu paraugos, bet *Staphylococcus* spp. bija biežākais patogēns aukslēju mandeļu nišu biopsiju paraugos, strutu paraugos stafilokokus nekonstatēja vispār (Vaikjārv et al., 2016). Mūsu pētījumā izvēlējāmies aukslēju mandeļu kriptu biopsijas, lai iegūtais materiāls būtu informatīvs un RT un PTA grupas būtu savstarpēji salīdzināmas.

Mūsu pētījumā *Streptococcus anginosus* (*S. anginosus*) bija atklāts tikai RT pacientiem, bet nevienam PTA pacientam. Cits pētījums pierādīja, ka *S. anginosus* grupas baktērijas sastopamas biežāk pacientiem ar PTA atkārtēšanos nekā pacientiem ar PTA izārstēšanos. Pētījuma autori *S. anginosus* grupas baktērijas klātbūtne saistāma ar PTA atjaunošanos (Wikstén et al., 2017).

Mūsu pētījumā tika konstatēts augsts *Candida* spp. biežums. RT pacientiem *Candida* spp. bija izolētas 8,08 % (n = 8) gadījumu, bet PTA pacientiem 48,23 % (n = 14) gadījumu. Citos pētījumos bija konstatēts *Candida* spp. zemāks izdalīšanas biežums. *Katkowska et al. (2017)* pētījumā konstatēja *Candida* spp. RT pacientu mandeļaudu paraugos 2,5 % gadījumu, aukslēju mandeļu virsmas paraugos 8,3 % gadījumu, iztriepē no žāvas pirms tonsilektomijas 9,3 % gadījumu (*Katkowska et al., 2017*). *Zautner et al. (2010)* savā pētījumā ziņoja, ka RT pacientu mandeļaudos *Candida* spp. sastopama 12,8 % gadījumu, bet PTA pacientiem – 4,9 % gadījumu (*Zautner et al., 2010*). *Slouka et al. (2020)* ziņoja, ka PTA strutu aspirātos 2,3 % gadījumu konstatētas *Candida* spp. (*Slouka et al., 2020*). Mūsu pētījuma rezultāti līdzinās rezultātiem, ko *Jokinen et al. (1976)* aprakstījis savā pētījumā, kur 147 pacientiem ar hronisku tonsilītu *Candida albicans (C. albicans)* konstatēta 41,4 % gadījumu, bet veseliem indivīdiem *C. albicans* izdalīšanas biežums bija 51,5 % (*Jokinen et al., 1976*). Sakarā ar tik augstu izdalīšanas biežumu tika novērtēta arī sēnīšu patoģenitāte, izmantojot paraugu histoloģisku izmeklēšanu. Histoloģiskā izvērtēšanā netika atklātas sēnīšu patoģenitātes pazīmes, jo sēnītes bija atrodamas tikai aukslēju mandeļu kriptās, bez granulomatoza iekaisuma ap tiem (*Jokinen et al., 1976*). Citā pētījumā novērtēts aukslēju mandeļu mikobioms starp indivīdiem ar cilvēka imūndeficīta vīrusu (HIV) un indivīdiem bez tā (*Fukui et al., 2018*). Aukslēju mandeļu mikobioms būtiski neatšķiras starp indivīdiem ar HIV un indivīdiem bez HIV infekcijas (*Fukui et al., 2018*). Balstoties uz mūsu pētījuma rezultātiem, varam secināt, ka *Candida* spp. varētu būt mikrobioloģiskais indikators PTA grupā. *Candida* spp. var būt procesa hroniskas norises indikators, kad, pirmkārt, jāatrisina pamatproblēma, kas var būt bakteriāla vai strukturāla, un, otrkārt, būtu apsverama antifungāla terapija tikai tad, ja pamatproblēma nepadodas antibakteriālai terapijai.

Šajā pētījumā gramnegatīvi mikroorganismi neieņēma nozīmīgu lomu. *K. pneumoniae* ir pazīstama kā stingru biofilmu veidotāja (Wang et al., 2020), bet mūsu pētījumā *K. pneumoniae* bija ne tikai reti konstatēta, bet uzrādīja arī zemas biofilmu veidošanas spējas. Neviens no *K. pneumoniae* izdalītajiem celmiem nebija stingru biofilmu veidotājs. Ir zināms, ka *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*) var tikt izdalīta no mandeļaudiem, bet mūsu pētījumā *H. influenzae* tika izdalīta tikai divos gadījumos RT pacientu grupā. Netika konstatēta statistiski nozīmīga saistība starp gramnegatīvu mikroorganismu un biofilmu producējoša celma klātbūtni mandeļaudos nedz pacientiem ar RT, nedz pacientiem ar PTA.

Pacientiem ar PTA A grupas *Streptococcus* spp. bija biežāk izdalīts ziemā un pavasarī nekā vasarā (Klug, 2017). Sezonālas atšķirības mūsu pētījumā netika konstatētas. Tādi iekaisuma rādītāji kā leikocīti, CRP bija statistiski nozīmīgi paaugstināti PTA pacientiem, salīdzinot ar RT pacientiem. PTA pacienti tika iekļauti pētījumā akūta iekaisuma stadijā, tas izskaidro augstos iekaisuma rādītājus.

S. aureus izolāti uzrādīja rezistenci pret benzilpenicilīnu un ampicilīnu, kas ir novērots arī citos pētījumos. Piemēram, *Katowska et al. (2017)* pētījumā RT pacientu *S. aureus* izolāti bija rezistenti pret penicilīnu 79 % gadījumu un pret ampicilīnu 63,2 % gadījumu, bet viens *S. aureus* izolāts bija MRSA (*Katowska et al., 2017*). Pētījumā nenovērojām sakarību starp antibakteriālo rezistenci un biofilmu veidošanās intensitāti. Lai gan vairākos pētījumos apgalvots, ka intensīva biofilmu veidošanās ir saistāma ar izteiktāku antibakteriālo rezistenci, *Ma et al. (2019)* savā pētījumā demonstrēja, ka palielināta biofilmu veidošanās rezultējas ar pretēju efektu, antibakteriālā tolerance samazinās (*Ma et al., 2019*). Mūsu pētījuma dati neapstiprina hipotēzi, ka PTA pacientu uzsējumos dominē biofilmu veidojošie izolāti. Tieši otrādi, PTA pacientu uzsējumos no septiņiem *S. aureus* izolātiem divi bija vāju biofilmu

veidotāji, bet pieci bija biofilmu neveidojoši izolāti. Šie rezultāti liecina, ka izdalītie *S. aureus* varētu būt savvaļas tipa izolāti, nevis endogēnas infekcijas ierosinātāji.

Biofilmas tiek raksturotas kā baktēriju kopiena, ko apņem pašu ražotā ārpusšūnu polimēru vielas matrica (Forson et al., 2020). Tiek veikti pētījumi, lai izprastu mijiedarbību starp mikroorganismiem biofilmās. Mijiedarbība starp *C. albicans* un *Staphylococcus* spp. acīmredzot ir savstarpēji sinerģiska, un par to tiek ziņots arvien vairāk (Schnurr et al., 2021). Pētījumu dati liecina, ka sēnīšu šūnas spēj modulēt antibiotiķu darbību un baktērijas var ietekmēt antifungālo aktivitāti jauktās sēnīšu un baktēriju biofilmās (Adam et al., 2002). Prostaglandīns E2, ko izdala *C. albicans*, veicina *S. aureus* augšanu jauktās biofilmās (Krause et al., 2015). Aukslēju mandeļu hronisks iekaisums var tikt skaidrots ar baktēriju kopienas aizsargājošo mijiedarbību un lielu mikroorganismu daudzveidību.

5.2. Uz aukslēju mandeļu virsmas un aukslēju mandeļu kriptās esošo patogēno mikroorganismu novērtējums pacientiem ar RT

Mikroorganismu sastopamības biežums uz aukslēju mandeļu virsmas, aukslēju mandeļu kriptās un mandeļaudos, iegūto kultūru rezultātu precizitāte ir analizēta daudzos pētījumos (Brook et al., 1980; Lindroos, 2000; Khadilkar & Ankle, 2016; Sarkar et al., 2017; Dickinson et al., 2020). Tonsilīta ierosinātāja precīza identifikācija ļauj uzlabot antibakteriālās terapijas izvēli, un iespējams izvairīties no plānveida tonsilektomijas (Sarkar et al., 2017). Pētījumā liela uzmanība tika veltīta *S. aureus* analīzei, jo tas bija visbiežāk izdalītais patogēns, un arī citos pētījumos pierādīts, ka *S. aureus* ir būtiska loma RT patoģenēzē, jo *S. aureus* spēj uzturēties gan gļotādas biofilmās, gan pastāvēt intracelulāri (Zautner et al., 2010; Zautner, 2012; Stepińska et al., 2014; Cavalcanti et al.,

2019). *K. pneumoniae* noturīgu biofilmu veidošanas spējas ir apstiprinātas pētījumos. Pateicoties *K. pneumoniae* biofilmām, tās spēj kolonizēt elpceļus, aizdegumi, mandeles (Alasil et al., 2013; Wang et al., 2020). Sarkar et al. (2017) savā pētījumā konstatēja, ka *S. aureus*, A grupas β-hemolītiskie streptokoki un *Klebsiella* spp. ir biežākie izolāti paraugos gan no aukslēju mandeļu virsmas, gan mandeļaudu biopsijas, ar augstāku minēto mikroorganismu klātbūtni mandeļaudos (Sarkar et al., 2017). Mūsu pētījumā tika pierādīts, ka *S. aureus* bija biežāk sastopams paraugos, kas iegūti no aukslēju mandeļu kriptām ar birstīti, bet *K. pneumoniae* – mandeļaudos, kas iegūti ar punktēšanas biopsijas adatu.

5.3. No veselu indivīdu aukslēju mandeļu kriptām iegūto patogēno mikroorganismu biofilmu veidošanas, antibakteriālās jutības novērtējums

Mutes dobumā un rīklē ir daudzas nišas baktēriju kolonizācijai. Tā kā aukslēju mandeļu infekcija, visticamāk, rodas no baktērijām, kas atrodas aukslēju mandeļu kriptās vai parenhīmā, nevis no tām, kas atrodas uz virsmas, mēs pētījām aukslēju mandeļu kriptu mikrobiotu kā visnozīmīgāko cēloni tonsilopātijas attīstībā (Khadiolkar & Ankle, 2016; de Martin et al., 2021). Veselo indivīdu pētījumā mēs izolējām un analizējām nozīmīgus rīkles un elpceļu patogēnus – *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) un *Acinetobacter* spp. (Hamilos, 2019; Zaatout, 2021).

Staphylococcus spp. primārā ekoloģiskā niša ir nāsis, tomēr mutes dobums ir nozīmīgs šo baktēriju rezervuārs, un dažiem pieaugušajiem pacientiem novēro mutes dobuma kolonizāciju (Kearney et al., 2020). Albrich & Harbarth (2008) pētījumā organisma citu rajonu, izņemot degunu (angliski *extranasal*), kolonizācijas vietas bija saistītas ar pastāvīgu *S. aureus* nēsāšanu (Albrich & Harbarth, 2008). Pētījumā, ko Amerikas Savienotās Valstīs veica

Hansons et al. (2018), tika ziņots, ka 6,2 % pieaugušo *S. aureus* nēsāja tikai deguna priekšelpā, 18,6 % tikai rīkles mutes daļā (latīniski *oropharynx*) un 19,8 % abās vietās (Hanson et al., 2018). Ir ziņots, ka studentu populācijās *S. aureus* mutes dobumā nēsātāju skaits sasniedz no 17 līdz 48 % (Smith et al., 2003; Blomqvist et al., 2015). Veseliem Zviedrijas zobārstniecības studentiem *S. aureus* izplatība bija 44,6 %; starp tiem MRSA netika atklāts (Blomqvist et al., 2015). Konstatēts, ka veselības aprūpes darbiniekiem MRSA ir 23,7 % (Albrich & Harbarth, 2008). Citu autoru pētījumos minēts, ka MRSA izplatība veseliem nēsātājiem svārstās no 1,5 līdz 26 % (Petti & Polimeni, 2011; Roberts et al., 2011; Laheij et al., 2012). Mūsu pētījumā iesaistītiem veseliem indivīdiem *S. aureus* bija visizplatītākais izolētais patogēns; tas tika izolēts 45 % gadījumu, un MRSA tika izolēts 1,1 % gadījumu, kas atbilst iepriekš veikto pētījumu rezultātiem.

Jeong et al. (2007) pētījumā *K. pneumoniae* tika izolēts no RT pacientu aukslēju mandeļu serdes paraugiem 6,7 % gadījumu, bet no aukslēju mandeļu hipertrofijas pacientu – 1,5 % gadījumu (Jeong et al., 2007). Mūsu iegūtie dati parādīja, ka *K. pneumoniae* bija sastopams arī veselu cilvēku aukslēju mandeļu kriptās 7,7 % gadījumu.

Vairākos pētījumos ir analizēta ekstracelulārā vai intracelulārā *P. aeruginosa* loma periodontālu vai plaušu slimību izcelsmē (Mirzaei et al., 2020; Li et al., 2021). Citos pētījumos ir ziņots par 1,4–3,8 % *P. aeruginosa* izplatību RT pacientu aukslēju mandeļu paraugos (Loganathan et al., 2006; Jeong et al., 2007; Al Ahmary et al., 2012) un 0,9 % izplatību aukslēju mandeļu paraugos pacientiem ar aukslēju mandeļu hipertrofiju (Jeong et al., 2007). Mūsu pētījums parādīja, ka *P. aeruginosa* bija sastopama 2,2 % gadījumu veselu indivīdu aukslēju mandeļu kriptās. Starp *Acinetobacter* izolātiem *Acinetobacter baumannii* netika atklāts. Patogēna izolācijas no aukslēju mandeļu paraugiem daudzveidība un izplatība var atšķirties atkarībā no paraugu ņemšanas metodes,

piemēram, mandeļu virsmas uztriepes var būt mazāk informatīvas nekā mandeļu kriptu materiāls (Klagisa et al., 2021b).

Aukslēju mandeļu kriptas ir piemērota vieta biofilmas veidošanai. Aukslēju mandeļu kriptas spēj uzkrāt detrītu, un tā mineralizācija izraisa tonsilolītu veidošanos (Ferguson et al., 2014). Tonsilolītiem raksturīgas dinamiskas biofilmas, kas līdzīgas dentālām biofilmām (Stoodley et al., 2009). Mūsu pētījums parādīja, ka veseliem cilvēkiem 61 % *S. aureus* izolātu un 40 % gramnegatīvo baktēriju izolātu piemita mērenas vai izteiktas biofilmas veidošanas spējas. Mūsu pētījums apstiprināja, ka biofilmas veidošanās ir daļa no normāla baktēriju dzīvesveida un ka biofilmas var pastāvēt veselu indivīdu aukslēju mandelēs. Penesyan et al. (2021) pētījumā biofilma tika aprakstīta kā galvenais mikrobu dzīvesveids; biofilmas veic svarīgu funkciju, mikrobiem nodrošinot aizsargājošu vidi, kurā tiek ģenerēta genotipiskā un fenotipiskā daudzveidība (Penesyan et al., 2021). Slimiem un veseliem indivīdiem biofilmas īpašības var atšķirties. Chervinets et al. (2021) ziņoja, ka periodontīta pacientu mutes dobuma mikrobiotai bija lielāka spēja pieķerties gļotādās šūnām nekā veseliem cilvēkiem, kā arī novēroja pastiprinātu spēju veidot biofilmas un uzrādīt patogēnās īpašības (Chervinets et al., 2021).

Etioloģiskā aģenta lokalizācija biofilmās var veicināt rezistenci pret antibiotikām. Antibiotiku rezistence ir *S. aureus* galvenā problēma, īpaši MRSA. Ir ziņots par pieaugošu MRSA izplatību veseliem nēsātājiem, zobārstniecības studentu deguna paraugos sastopams līdz 21 % (Roberts et al., 2011). Mazāk zināma ir MRSA izplatība mutes dobumā; Tika pārbaudītas subgingivālās vietas un mēles virsma, un MRSA netika atklāta (Koukos et al., 2015). Mūsu pētījums aukslēju mandeļu paraugos atklāja vienu (1, 1 %) MRSA izolātu. Veseliem indivīdiem bija augsts *S. aureus* izolātu skaits ar rezistenci pret benzilpenicilīnu un ampicilīnu, tomēr neviens izolāts nebija rezistents pret klindamicīnu. Dati, kas iegūti par *S. aureus* antibakteriālo rezistenci, atbilst *Katkowska et al. (2017)*

pētījuma rezultātiem (Katkowska et al., 2017). Klindamicīnu plaši izmanto zobārstniecībā, un daudzas klīnikas ir aizstājušas ar to penicilīnus (oksacilīnu un metecilīnu); klindamicīns tiek noteikts arī alerģijas pret beta-laktāmiem gadījumā (Blomqvist et al., 2015).

Ir izvirzīta hipotēze, ka infekciozajiem izolātiem ir atšķirīgs virulences arsenāls nekā tiem izolātiem, kas kolonizē veselus indivīdus (Blomqvist et al., 2015). Tomēr pētījumi nav pierādījuši, piemēram, ka *S. aureus* izolāti, kas izdalīti no infekcijas skarta mutes dobuma un infekcijām neskarta mutes dobuma, pārstāv dažādas fenotipisko un genotipisko īpašību apakšgrupas (Blomqvist et al., 2015). Tāpēc ir secināts, ka klasiskās oportūnistiskās infekcijas attīstās saimnieka un mikroorganisma nesabalansētas mijiedarbības rezultātā un ka infekcijas slimība turpinās tik ilgi, kamēr pastāv imūnkompromitēts stāvoklis (Blomqvist et al., 2015).

Vēlētos izcelt dažas šī pētījuma stiprās puses. Mēs izmantojām birstītes kā alternatīvu, neinvazīvu metodi aukslēju mandeļu paraugu savākšanai, izvairoties no nepieciešamības izmantot traumatisku metodi, lai iegūtu mandeļaudu paraugus. Tāpēc pētījumā varējām iekļaut veselus indivīdus bez aukslēju mandeļu slimību pazīmēm.

5.4. *Staphylococcus aureus* kolonizācijas novērtējums pieaugušajiem pacientiem, kuriem tiek veikta tonsilektomija RT dēļ

S. aureus kolonizācijas dominējoša ekoloģiska niša ir deguna priekštelpa, citas ķermeņa vietas, kas var tikt kolonizētas, ir paduses, cirkšņi, rikle (Peacock et al., 2001). Samazinot *S. aureus* nēsāšanu deguna priekštelpā, izmantojot topiskos antibakteriālos līdzekļus, samazinās *S. aureus* nēsāšana arī citās vietās (Reagan, 1991). *S. aureus* spēj viegli atkārtoti kolonizēt deguna priekštelpu, rīkli un citas ķermeņa vietas dažus mēnešus pēc antibakteriālās terapijas (Mody et al.,

2003; Coates et al., 2009). *S. aureus* nēsātājiem infekciju biežums ir augstāks nekā pacientiem, kuri nav *S. aureus* nēsātāji. Nēsātāji parasti ir inficēti ar to pašu celmu, ar ko bija kolonizēti (Lister & Horswill, 2014). Mūsu pētījumā vienu gadu pēc tonsilektomijas RT pacientiem tika novērtēta *S. aureus* klātbūtne rīklē, padusēs, deguna priekšstelpā.

S. aureus nēsāšanu ietekmē gan bakteriāli, gan saimniekorganisma faktori. Stafilokoku infekcijas galvenie riska faktori ir vecums, blakusslimības vai imūndeficīts, ģenētiskie faktori, tiešs kontakts ar veselības aprūpes iestādi vai hospitalizācija (Chmielowiec-Korzeniowska et al., 2020). Pacienti, kuri iekļauti šajā pētījumā, bija jauni indivīdi (vidējais vecums 29 gadi) bez tādiem *S. aureus* riska faktoriem kā HIV infekcija, insulīnkarīgs cukura diabēts, pastāvīga peritoneālā vai hemodialīze, intravenozo narkotiku lietošana (Peacock et al., 2001; Chang et al., 2021; Ding et al., 2021; Wu et al., 2021). Arī citos pētījumos, kuros analizēti tonsilektomijas pacienti, vidējais vecums bija 28 gadi (Witsell et al., 2008; Senska et al., 2015).

Pētījumā uzmanība tika veltīta izdalīto *S. aureus* izolātu veidotās biofilmas novērtēšanai. *S. aureus* izolātiem, kas izdalīti no aukslēju mandeļu kriptām, novērtotas izteiktākas biofilmas, salīdzinot ar *S. aureus* izolātiem, kas izdalīti no citām ķermeņa daļām. Biofilmas veidojošie *S. aureus* izolāti galvenokārt tika izdalīti no aukslēju mandeļu kriptām un bija jutīgi pret lielāko daļu testēto antibiotiku. *S. aureus* izdalītais viens variants tika identificēts kā MRSA, jo uzrādīja rezistenci pret cefoksitīnu. MRSA bija vājas biofilmas ražojošs izolāts. MRSA tika izolēts no 25 gadus vecas sievietes bez blakusslimībām, kura slimoja ar RT, pēdējo triju gadu laikā bija piecas tonsilīta epizodes. Pēc tonsilektomijas MRSA vairs nekonstatēja. MRSA RT pacientiem atklāts arī citos pētījumos. *Katkowska et al.* (2017, 2020) pētījumos Polijā MRSA izolāts tika izdalīts no aukslēju mandelēm vienam no 118 pieaugušajiem un diviem no 73 bērniem, kuriem tika veikta tonsilektomija (*Katkowska et al.*,

2017, 2020). Biofilmu veidošanās un antibakteriālā rezistence MRSA un meticilīna jutīgais *S. aureus* (MSSA) ir neskaidrs (Senobar Tahaei et al., 2021). Vides faktori, piemēram, temperatūra, pH, glikozes līmenis, barotnes sastāvs u. c., ietekmē baktēriju biofilmu veidošanos. Tādēļ šie faktori jāņem vērā biofilmu pētījumos. Lai dažādu pētījumu rezultāti būtu savstarpēji salīdzināmi, vides faktoriem un biofilmu analīzes metodei jābūt vienādei vai ļoti līdzīgai (Liu et al., 2020). Ir nozīmīgi analizēt *S. aureus* kolonizāciju, lai izprastu to ierosinātās infekciju slimības. Pētījumā tika novērtēti RT pacienti un mikrobioloģiskās testēšanas rezultāti vienu gadu pēc tonsilektomijas. Mūsu pētījumā 10 pacientiem gadu pēc tonsilektomijas *S. aureus* netika konstatēts, tādēļ varam secināt, ka tonsilektomija novērš bakteriālu kolonizāciju viena gada periodā.

5.5. Darba kritiskais vērtējums

Cilvēku aukslēju mandeļu virsma un kriptas satur lielu patogēnu dažādību un ir augstā koncentrācijā. RT epizodes atkārtojas, neskatoties uz efektīvu konservatīvo terapiju akūtā periodā, kā arī var komplikēties par PTA. Pētījuma stiprās puses ir, ka pirmo reizi RT un PTA pacientu aukslēju mandeļu paraugi mikrobioloģiskai analīzei tika iegūti tonsilektomijas laikā ar biopsijas adatu, izslēdzot orālās mikrobiotas ietekmi. Veselo indivīdu paraugi, lai izvairītos no invazīvu manipulāciju veikšanas, tika iegūti ar birstīti no aukslēju mandeļu kriptām. Materiāla ņemšanas atšķirības ierobežoja triju pētījuma grupu savstarpējo salīdzināšanu. Jāpiemin, ka veselie indivīdi bija statistiski nozīmīgi jaunāki, salīdzinot ar RT, PTA pacientiem, vidējais vecums attiecīgi 21 gads un 32 gadi. Pieejamā literatūrā nav datu par mikrobiotas atšķirībām pieaugušajiem šādā vecuma diapazonā. Pirmo reizi tika identificēti bakteriālie faktori, kuri varētu dot ieguldījumu izskaidrojumam, kādēļ atkārtojas tonsilīta paasinājuma epizodes un dažos gadījumos attīstās smaga komplikācija – PTA. Pētījums

nodrošina viena gada izsekojamības periodu ķirurģiski ārstētiem RT pacientiem. Pētījumā tika izvērtēta tonsilektomijas ietekme uz mikrobiotas klātbūtni un *S. aureus* nēsāšanu. Pacientu grupas lielumu ietekmēja vairāki faktori, piemēram, pēcooperācijas pacientu ierobežotās iespējas ierasties no dažādām Latvijas pilsētām uz atkārtotu vizīti Rīgā. PTA pacientu izlases lielumu ietekmēja PTA dažādās ārstēšanas metodes (pacienti, kuriem PTA ārstēšanā lietoja abscesa incīziju, drenāžu un terapiju ambulatori, netika iekļauti pētījumā).

Baktēriju identifikācijai tika izmantotas laboratorijas iekārtas *VITEK-2 Compact* vai *MALDI-TOF MS* sistēma. Baktēriju biofilmu veidošanos laboratorijas apstākļos ietekmē dažādi faktori, piemēram, temperatūra, pH, glikozes līmenis, barotnes veids. Pētījumā tika izmantota kristālvioletā metode, kas adaptēta pēc *Stepanović et al.*, jo tā ir vienkārša, specifiska, ekonomiski izdevīga un bieži tiek lietota stafilokoku biofilmu kvantitatīvai noteikšanai (*Stepanović et al., 2007*). Svarīgi, ka šo metodi var viegli atkārtot citi pētnieki un pētījumu rezultātus var salīdzināt. Turpmākajos pētījumos ieteicams analizēt baktēriju ģenētiskos faktorus, kam ir nozīmīga loma biofilmas veidošanā. Šāda informācija ļautu precīzāk noteikt baktēriju lomu RT klīniskajā norisē un terapijas izvēlē.

5.6. Darba noslēdzošā rindkopa

Pirmo reizi aukslēju mandeļu kriptu parauga iegūšanai tika izmantota punktēšanas biopsijas adata, lai izslēgtu virspusējo orālās mikrobiotas baktēriju klātbūtni. Punktēšanas biopsijas adata tika patentēta.

Pētījumā tika izdalītas un identificētas RT un PTA pacientu aukslēju mandeļu kriptas kolonizējošās baktērijas, tika izvērtētas to īpašības, kurām varētu būt ietekme uz tonsilīta paasinājuma atkārtošanos un komplikāciju rašanos. Izvērtēta baktēriju biofilmu veidošanas spēja un tās saistība ar antibakteriālo rezistenci, kas ietekmē RT un PTA terapijas izvēli.

Tika pierādīts, ka pretēji pastāvošajiem uzskatiem *S. pyogenes* nav prevalējošais RT un PTA ierosinātājs, līdz ar to būtu jāpārskata streptokoku ātro testu un ASO noteikšanas nepieciešamība šiem pacientiem. Izplatītākais RT ierosinātājs pētītajā populācijā bija *S. aureus* (33,3 %, n = 33/99). PTA pacientu materiālā 48,28 % gadījumu (n = 14/29) tika identificēta *Candida* spp. Iespējams, ka *Candida* spp. klātbūtne var kalpot kā indikators PTA attīstībai. Tika atrasts apstiprinājums arī izvirzītajai hipotēzei, ka RT un PTA gadījumā aukslēju mandeļu kriptās esošiem mikroorganismiem piemīt izteikta biofilmu veidošanas spēja, kas nodrošina hroniskas infekcijas klātbūtni ar iespējamu reaktivāciju. Antibakteriālās rezistences pētījumi liecināja, ka RT un PTA terapijai rekomendētās antibiotikas – benzilpenicilīns un ampicilīns – bija mazefektīvas, jo baktērijas uzrādīja rezistenci. RT un PTA etioloģiskie aģenti bija jutīgi pret amoksicilīnu ar klavulānskābi un klindamicīnu.

Pirmo reizi tika veikts plašs veselo indivīdu aukslēju mandeļu mikrobiotas pētījums. No veselu indivīdu aukslēju mandeļu materiāla 45 % indivīdu tika izdalīts *S. aureus*. Turklāt 95 % gadījumu (n = 39/41) tie bija biofilmu veidojošie izolāti. Veselu indivīdu gadījumā nenovēroja saistību starp biofilmas producēšanas spēju un antibakteriālo rezistenci. Gan *S. aureus* izolāti, gan citas biežāk izolētās baktērijas, *K. pneumoniae* un *P. aeruginosa*, bija jutīgas pret lielāko daļu antibiotiku.

Pirmo reizi tika izvērtēta ķirurģiskās un antibakteriālās ārstēšanas efektivitāte vienu gadu pēc tonsilektomijas. Uzsējumi no žāvas, deguna dobuma un padusēm liecināja, ka *S. aureus* tika izolēts retāk. *S. aureus* un to biofilmas veidošanas spējas noteikšana ir veids, kā identificēt *S. aureus* nēsātājus.

Secinājumi

1. RT pacientu aukslēju mandeļu kriptās ir liela mikroorganismu daudzveidība. *S. aureus* ir visizplatītākais patogēns, kas izolēts no RT pacientu aukslēju mandeļu kriptām, ar izteiktu biofilmu veidošanas spēju. *K. pneumoniae* biofilmas veidošanas pakāpe bija nenozīmīga. No PTA pacientu aukslēju mandeļu kriptām izdalītie baktēriju izolāti biofilmas veido retāk. *S. aureus* RT un PTA gadījumā ir jutīgi pret empīrisku antibakteriālu terapiju, ar izteiktu jutību pret amoksicilīnu ar klavulānskābi un klindamicīnu.
2. RT pacientu aukslēju mandeļu virsmas paraugos ir lielāka baktēriju daudzveidība salīdzinājumā ar kriptu biopsiju materiālu. Aukslēju mandeļu kriptu biopsija ar biopsijas adatu precīzāk atspoguļo RT ierosinātājus, jo izslēdz orālās mikrobiotas klātbūtni. No aukslēju mandeļu kriptām izdalītie *S. aureus* ir biofilmas veidojošie izolāti.
3. Veselu indivīdu aukslēju mandeļu kolonizē *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* un *Acinetobacter* spp u. c. baktērijas. *S. aureus* ir biofilmu veidojošie izolāti. Aukslēju mandeļu kriptas ir nozīmīgs biofilmu producējošo patogēno baktēriju rezervuārs, kam var būt nozīme oportūnistisko tonsilītu etioloģijā.
4. No aukslēju mandeļu kriptām izdalītie *S. aureus* bija biofilmu veidojošie izolāti salīdzinājumā ar *S. aureus*, kuri izdalīti no deguna dobuma un padusēm. Vienu gadu pēc tonsilektomijas RT pacientiem *S. aureus* klātbūtne samazinājās. Tonsilektomija ir efektīva ārstēšanas metode, kura novērš bakteriālo kolonizāciju.

Publikāciju, ziņojumu un patentu saraksts par promocijas darba tēmu

Publikācijas (5):

1. **Viksne, R.**, Polikarpova, K., Jenbajeva, K. 2023. Evaluation of Tonsillectomy Patients and Factors Related to Immediate Tonsillectomy. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural, Exact, and Applied Sciences.* (Izskatīšanas procesā.)
2. **Viksne, R.**, Racenis, K., Broks, R., Balode, A. O., Kise, L., Kroica, J. 2023. *In Vitro* Assessment of Biofilm Production, Antibacterial Resistance of *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter* spp. Obtained from Tonsillar Crypts of Healthy Adults. *Microorganisms*. 11. 258. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020258>
3. **Klagisa, R.**, Racenis, K., Broks, R., Balode, A. O., Kise, L., Kroica, J. 2022. Analysis of Microorganism Colonization, Biofilm Production, and Antibacterial Susceptibility in Recurrent Tonsillitis and Peritonsillar Abscess Patients. *Int. J. Mol. Sci.* 23. 10273. <https://doi.org/10.3390/ijms231810273>
4. **Klagisa, R.**, Racenis, K., Broks, R., Kise, L., Kroica, J. 2022. Evaluation of *Staphylococcus aureus* Colonization in Adult Patients Undergoing Tonsillectomy for Recurrent Tonsillitis. *Pathogens*. 11. 427. <https://doi.org/10.3390/pathogens11040427>
5. **Klagisa, R.**, Kroica, J., Kise, L. 2021. *S. aureus* and *K. pneumoniae* on the Surface and within Core of Tonsils in Adults with Recurrent Tonsillitis. *Medicina*. 57. 1002. <https://doi.org/10.3390/medicina57101002>

Patents (1):

1. **Klagisa, R.**, Kroica, J., Kise, L. 2021. Punktēšanas biopsijas adata. *Latvijas Republikas Patentu valdes oficiālais izdevums "Izgdrojumi, Preču Zīmes un Dizainparaugi"*. 5. 315. ISSN 2255-9655. Patents nr.: LVP2020000055

Referāti un tēzes starptautiskos kongresos un konferencēs (7):

1. **Viksne, R.**, Polikarpova, K., Jenbajeva, K. Evaluation of Tonsillectomy Patients and Factors Related to Immediate Tonsillectomy. *VIII Baltic ENT Congress*. Viļņa, Lietuva, 8.–10. jūnijs, 2023. (Mutisks ziņojums).
2. **Viksne, R.**, Racenis, K., Broks, R., Kroica, J. Bacterial Colonization and the Role of Bacterial Biofilms in the Upper Respiratory Tract. *Rīga Stradiņš University International Conference on Medical and Health Care Science "Knowledge for Use in Practice"*. Rīga, Latvija, 29.–31. marts, 2023. (Mutisks ziņojums).

3. **Klagisa, R.,** Kroica, J., Kise, L., Sumeraga, G., Asare, L. The Associations Between Bacteria, Fungi and Biofilm Production in Patients with Recurrent Tonsillitis and Healthy Controls. *Riga Stradiņš University International Conference on Medical and Health Care Science "Knowledge for Use in Practice"*. Rīga, Latvija. 24.–26. marts, 2021. (Mutisks ziņojums).
4. **Klagisa, R.,** Kroica, J., Kise, L., Sumeraga, G., Asare, L. *Staphylococcus aureus* Colonisation in Patients with Recurrent Tonsillitis. *Riga Stradiņš University International Conference on Medical and Health Care Science "Knowledge for Use in Practice"*. Rīga, Latvija. 24.–26. marts, 2021. (Stenda referāts).
5. **Klagisa, R.,** Balode, A. O., Broks, R., Kroica, J., Kise, L. Assessment of Biofilm Production by Pathogenic Bacteria Isolated from Tonsillar Crypts of Patients with Chronic Tonsillitis. *Riga Stradiņš University International Conference on Medical and Health Care Science "Knowledge for Use in Practice"*. Rīga, Latvija. 1.–3. aprīlis, 2019. (Stenda referāts. Balva par labāko stenda referātu).
6. **Klagisa, R.,** Balode, A. O., Broks, R., Kroica, J., Kise, L. Microbiological Characteristics of Pathogenic Bacteria Isolated from Tonsillar Crypts of Patients with Chronic Tonsillitis. *Daugavpils Universitātes 61. starptautiskā zinātniskā konference*. Daugavpils, Latvija. 11.–12. aprīlis, 2019. (Mutisks ziņojums).
7. **Klagisa, R.,** Balode, A. O., Broks, R., Kroica, J., Kise, L. Microorganisms identified in tonsillar crypts of patients with chronic tonsillitis. *5th Congress of European ORL – HNS*. Brisele, Beļģija. 29. jūnijs – 3. jūlijs, 2019. (Stenda referāts).

Literatūras saraksts

1. Aas, J. A., Paster, B. J., Stokes, L. N., Olsen, I., & Dewhirst, F. E. 2005. Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity. *Journal of Clinical Microbiology*. 43(11), 5721–5732. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.11.5721-5732.2005>
2. Adam, B., Baillie, G. S., & Douglas, L. J. 2002. Mixed species biofilms of *Candida albicans* and *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of Medical Microbiology*. 51(4), 344–349. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-51-4-344>
3. Al Ahmary, M. S., Al Mastour, A. S., & Ghnnam, W. M. 2012. The Microbiology of Tonsils in Khamis Civil Hospital, Saudi Arabia. *ISRN Otolaryngology*. 1–3. <https://doi.org/10.5402/2012/813581>
4. Alasil, S. M., Omar, R., Ismail, S., Yusof, M. Y., Dhabaan, G. N., & Abdulla, M. A. 2013. Evidence of Bacterial Biofilms among Infected and Hypertrophied Tonsils in Correlation with the Microbiology, Histopathology, and Clinical Symptoms of Tonsillar Diseases. *International Journal of Otolaryngology*. 1–11. <https://doi.org/10.1155/2013/408238>
5. Albrich, W. C., & Harbarth, S. 2008. Health-care workers: Source, vector, or victim of MRSA? *The Lancet Infectious Diseases*. 8(5), 289–301. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(08\)70097-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(08)70097-5)
6. Anonymous. 2020. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters. Version 10.0. 34–38, 84–87. Available online: https://www.eucast.org/ast_of_bacteria/previous_versions_of_documents/ (accessed on 12 February 2022)
7. Archer, N. K., Mazaitis, M. J., Costerton, J. W., Leid, J. G., Powers, M. E., & Shirtliff, M. E. 2011. *Staphylococcus aureus* biofilms. *Virulence*. 2(5), 445–459. <https://doi.org/10.4161/viru.2.5.17724>
8. Babaiwa, U. F., Onyeagwara, N. C., Akerele, J. O. 2013. Bacterial tonsillar microbiota and antibiogram in recurrent tonsillitis. *Biomedical Research*. 24 (3):298–302.
9. Bin Abu Bakar, M., McKimm, J., Haque, S. Z., Majumder, A. A., & Haque, M. 2018. Chronic tonsillitis and biofilms: A brief overview of treatment modalities. *Journal of Inflammation Research*. 11, 329–337. <https://doi.org/10.2147/JIR.S162486>
10. Blomqvist, S., Leonhardt, Å., Arirachakaran, P., Carlen, A., & Dahlén, G. 2015. Phenotype, genotype, and antibiotic susceptibility of Swedish and Thai oral isolates of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Oral Microbiology*. 7(1), 26250. <https://doi.org/10.3402/jom.v7.26250>

11. Brook, I., & Foote, P. A. 2006. Isolation of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* from the surface and core of tonsils in children. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 70(12), 2099–2102. <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2006.08.004>
12. Brook, I., Yocum, P., & Shah, K. 1980. Surface vs Core-Tonsillar Aerobic and Anaerobic Flora in Recurrent Tonsillitis. *JAMA*. 244(15), 1696–1698. <https://doi.org/10.1001/jama.1980.03310150032024>
13. Buname, G., Kiwale, G. A., Mushi, M. F., Silago, V., Rambau, P., & Mshana, S. E. 2021. Bacteria Patterns on Tonsillar Surface and Tonsillar Core Tissue among Patients Scheduled for Tonsillectomy at Bugando Medical Centre, Mwanza, Tanzania. *Pathogens*. 10(12), 1560. <https://doi.org/10.3390/pathogens10121560>
14. Burton, M. J., Glasziou, P. P., Chong, L. Y., & Venekamp, R. P. 2014. Tonsillectomy or adenotonsillectomy versus non-surgical treatment for chronic/recurrent acute tonsillitis. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*. 11, CD001802. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001802.pub3>
15. Cavalcanti, V. P., Camargo, L. A. de, Moura, F. S., Fernandes, E. J. de M., Lamaro-Cardoso, J., Braga, C. A. da S. B., & André, M. C. P. 2019. *Staphylococcus aureus* in tonsils of patients with recurrent tonsillitis: Prevalence, susceptibility profile, and genotypic characterization. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 23(1), 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2018.12.003>
16. Chang, G.-H., Lu, A., Yang, Y.-H., Liu, C.-Y., Chang, P.-J., Lee, C.-P., Tsai, Y.-T., Hsu, C.-M., Wu, C.-Y., Shih, W.-T., & Tsai, M.-S. 2021. High Risk of Peritonsillar Abscess in End-Stage Renal Disease Patients: A Nationwide Real-World Cohort Study. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 18(13), 6775. <https://doi.org/10.3390/ijerph18136775>
17. Chervinets, V. M., Chervinets, Yu. V., Leont'eva, A. V., Kozlova, E. A., Stulov, N. M., Belyaev, V. S., Grigoryants, E. O., & Mironov, A. Yu. 2021. The microbiome of oral cavity patients with periodontitis, adhesive and biofilm forming properties. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 66(1), 45–51. <https://doi.org/10.18821/0869-2084-2021-66-1-45-51>
18. Chmielowiec-Korzeniowska, A., Tymczyzna, L., Wlazło, Ł., Nowakowicz-Dębek, B., & Trawińska, B. 2020. *Staphylococcus aureus* carriage state in healthy adult population and phenotypic and genotypic properties of isolated strains. *Postępy Dermatologii I Alergologii*. 37(2), 184–189. <https://doi.org/10.5114/ada.2020.94837>
19. Coates, T., Bax, R., & Coates, A. 2009. Nasal decolonization of *Staphylococcus aureus* with mupirocin: Strengths, weaknesses and future prospects. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 64(1), 9–15. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp159>
20. Cornaglia, G., Courcol, R., Herrmann, J. L. 2012. European manual of clinical microbiology. *Société Franais  Microbiol*. 262, 145–152.

21. De Martin, A., Lütge, M., Stanossek, Y., Engetschwiler, C., Cupovic, J., Brown, K., Demmer, I., Broglie, M. A., Geuking, M. B., Jochum, W., McCoy, K. D., Stoeckli, S. J., & Ludewig, B. 2021. Distinct microbial communities colonize tonsillar squamous cell carcinoma. *Oncoimmunology*. 10(1), 1945202. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2021.1945202>
22. Dickinson, A., Kankaanpää, H., Silén, S., Meri, S., Haapaniemi, A., Ylikoski, J., & Mäkitie, A. 2020. Tonsillar surface swab bacterial culture results differ from those of the tonsillar core in recurrent tonsillitis. *The Laryngoscope*. 130(12). <https://doi.org/10.1002/lary.28403>
23. Ding, M.-C., Tsai, M.-S., Yang, Y.-H., Liu, C.-Y., Tsai, Y.-T., Hsu, C.-M., Wu, C.-Y., Chang, P.-J., Lin, K.-M., & Chang, G.-H. 2021. Patients with comorbid rheumatoid arthritis are predisposed to peritonsillar abscess: Real-world evidence. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 278(10), 4035–4042. <https://doi.org/10.1007/s00405-021-06638-3>
24. Ferguson, M., Aydin, M., & Mickel, J. 2014. Halitosis and the Tonsils: A Review of Management. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*. 151(4), 567–574. <https://doi.org/10.1177/0194599814544881>
25. Forson, A. M., van der Mei, H. C., & Sjollem, J. 2020. Impact of solid surface hydrophobicity and micrococcal nuclease production on *Staphylococcus aureus* Newman biofilms. *Scientific Reports*. 10(1), 12093. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69084-x>
26. Fukui, Y., Aoki, K., Ishii, Y., & Tateda, K. 2018. The palatine tonsil bacteriome, but not the mycobiome, is altered in HIV infection. *BMC Microbiology*. 18(1), 127. <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1274-9>
27. Hahn, J., Barth, I., Wigand, M. C., Mayer, B., Hoffmann, T. K., & Greve, J. 2021. The Surgical Treatment of Peritonsillar Abscess: A Retrospective Analysis in 584 Patients. *The Laryngoscope*. 131(12), 2706–2712. <https://doi.org/10.1002/lary.29677>
28. Hamilos, D. L. 2019. Biofilm Formations in Pediatric Respiratory Tract Infection: Part 1: Biofilm Structure, Role of Innate Immunity in Protection Against and Response to Biofilm, Methods of Biofilm Detection, Pediatric Respiratory Tract Diseases Associated with Mucosal Biofilm Formation. *Current Infectious Disease Reports*. 21(2), 6. <https://doi.org/10.1007/s11908-019-0658-9>
29. Hanson, B. M., Kates, A. E., O'Malley, S. M., Mills, E., Herwaldt, L. A., Torner, J. C., Dawson, J. D., Farina, S. A., Klostermann, C., Wu, J. Y., Quick, M. K., Forshey, B. M., & Smith, T. C. 2018. *Staphylococcus aureus* in the nose and throat of Iowan families. *Epidemiology and Infection*. 146(14), 1777–1784. <https://doi.org/10.1017/S0950268818001644>
30. Haq, S. N., Ayub, Z., & Ahmed, A. 2017. Tonsillar Surface Micro Flora: Does it Truly Represent Pathological Tonsillar Flora? *Journal of the College of Physicians and Surgeons – Pakistan: JCPSP*. 27(1), 23–25.

31. Ivaska, L. E., Hanif, T., Ahmad, F., Tan, G., Altunbulakli, C., Mikola, E., Silvioniemi, A., Puhakka, T., Akdis, C. A., Toppila-Salmi, S., & Jartti, T. 2020. Tonsillar microbial diversity, abundance, and interrelations in atopic and non-atopic individuals. *Allergy*. 75(8), 2133–2135. <https://doi.org/10.1111/all.14306>
32. Jeong, J. H., Lee, D. W., Ryu, R. A., Lee, Y. S., Lee, S. H., Kang, J. O., & Tae, K. 2007. Bacteriologic Comparison of Tonsil Core in Recurrent Tonsillitis and Tonsillar Hypertrophy. *The Laryngoscope*. 117(12), 2146–2151. <https://doi.org/10.1097/MLG.0b013e31814543c8>
33. Jokinen, K., Pajarre, S., Palva, A., & Sipilä, P. 1976. Mycotic flora in tonsils and adenoids: A microbiological and histological evaluation. *The Journal of Laryngology & Otology*. 90(10), 945–952. <https://doi.org/10.1017/S0022215100082955>
34. Jorgensen, J. H., Pfaller, M. A., Carroll, K. C., & American Society for Microbiology. 2015. Manual of clinical microbiology (11th ed.). *ASM Press*.
35. Katkowska, M., Garbacz, K., Kopala, W., Schubert, J., & Bania, J. 2020. Genetic diversity and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* from recurrent tonsillitis in children. *APMIS*. 128(3), 211–219. <https://doi.org/10.1111/apm.13007>
36. Katkowska, M., Garbacz, K., & Stromkowski, J. 2017. *Staphylococcus aureus* isolated from tonsillectomized adult patients with recurrent tonsillitis. *APMIS*. 125(1), 46–51. <https://doi.org/10.1111/apm.12628>
37. Kearney, A., Kinnevey, P., Shore, A., Earls, M., Poovelikunnel, T. T., Brennan, G., Humphreys, H., & Coleman, D. C. 2020. The oral cavity revealed as a significant reservoir of *Staphylococcus aureus* in an acute hospital by extensive patient, healthcare worker and environmental sampling. *Journal of Hospital Infection*. 105(3), 389–396. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2020.03.004>
38. Khadilkar, M. N., & Ankle, N. R. 2016. Anaerobic Bacteriological Microbiota in Surface and Core of Tonsils in Chronic Tonsillitis. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*. 10(11), MC01–MC03. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/22124.8819>
39. Klagisa, R., Kroica, J., & Kise, L. 2021a. Punch Biopsy Needle. *The Patent Office of the Republic of Latvia, Izgudrojumi, Preču Zīmes un Dizainparaugi*. 5, 315.
40. Klagisa, R., Kroica, J., & Kise, L. 2021b. *S. aureus* and *K. pneumoniae* on the Surface and within Core of Tonsils in Adults with Recurrent Tonsillitis. *Medicina*. 57(10), 1002. <https://doi.org/10.3390/medicina57101002>
41. Klug, T. E. 2017. Peritonsillar abscess: Clinical aspects of microbiology, risk factors, and the association with parapharyngeal abscess. *Danish Medical Journal*. 64(3).
42. Kostić, M., Ivanov, M., Babić, S. S., Tepavčević, Z., Radanović, O., Soković, M., & Ćirić, A. 2022. Analysis of Tonsil Tissues from Patients Diagnosed with Chronic Tonsillitis – Microbiological Profile, Biofilm-Forming Capacity and Histology. *Antibiotics*. 11(12), 1747. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11121747>

43. Koukos, G., Sakellari, D., Arsenakis, M., Tsalikis, L., Slini, T., & Konstantinidis, A. 2015. Prevalence of Staphylococcus aureus and methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in the oral cavity. *Archives of Oral Biology*. 60(9), 1410–1415. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.06.009>
44. Krause, J., Geginat, G., & Tammer, I. 2015. Prostaglandin E2 from Candida albicans Stimulates the Growth of Staphylococcus aureus in Mixed Biofilms. *PLOS ONE*. 10(8), e0135404. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135404>
45. Laheij, A. M. G. A., Kistler, J. O., Belibasakis, G. N., Välimaa, H., de Soet, J. J., & European Oral Microbiology Workshop (EOMW). 2012. Healthcare-associated viral and bacterial infections in dentistry. *Journal of Oral Microbiology*. 4(1), 17659. <https://doi.org/10.3402/jom.v4i0.17659>
46. Lepelletier, D., Pinaud, V., Le Conte, P., Bourigault, C., Asseray, N., Ballereau, F., Caillon, J., Ferron, C., Righini, C., Batard, E., & Potel, G. 2016. Peritonsillar abscess (PTA): Clinical characteristics, microbiology, drug exposures and outcomes of a large multicenter cohort survey of 412 patients hospitalized in 13 French university hospitals. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 35(5), 867–873. <https://doi.org/10.1007/s10096-016-2609-9>
47. Li, Q., Wang, H., Tan, L., Zhang, S., Lin, L., Tang, X., & Pan, Y. 2021. Oral Pathogen Fusobacterium nucleatum Coaggregates With Pseudomonas aeruginosa to Modulate the Inflammatory Cytotoxicity of Pulmonary Epithelial Cells. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 11, 643913. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.643913>
48. Lindroos, R. 2000. Bacteriology of the tonsil core in recurrent tonsillitis and tonsillar hyperplasia – A short review. *Acta Oto-Laryngologica. Supplementum*. 543, 206–208. <https://doi.org/10.1080/000164800454404>
49. Lister, J. L., & Horswill, A. R. 2014. Staphylococcus aureus biofilms: Recent developments in biofilm dispersal. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 4, 178. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00178>
50. Liu, Y., Zhang, J., & Ji, Y. 2020. Environmental factors modulate biofilm formation by Staphylococcus aureus. *Science Progress*. 103(1), 003685041989865. <https://doi.org/10.1177/0036850419898659>
51. Loganathan, A., Arumainathan, U., & Raman, R. 2006. Comparative study of bacteriology in recurrent tonsillitis among children and adults. *Singapore Med J*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16572236/>
52. Ma, D., Mandell, J. B., Donegan, N. P., Cheung, A. L., Ma, W., Rothenberger, S., Shanks, R. M. Q., Richardson, A. R., & Urish, K. L. 2019. The Toxin-Antitoxin MazEF Drives Staphylococcus aureus Biofilm Formation, Antibiotic Tolerance, and Chronic Infection. *MBio*. 10(6), e01658-19. <https://doi.org/10.1128/mBio.01658-19>

53. Mirzaei, R., Mohammadzadeh, R., Sholeh, M., Karampoor, S., Abdi, M., Dogan, E., Moghadam, M. S., Kazemi, S., Jalalifar, S., Dalir, A., Yousefimashouf, R., Mirzaei, E., Khodavidipour, A., & Alikhani, M. Y. 2020. The importance of intracellular bacterial biofilm in infectious diseases. *Microbial Pathogenesis*. 147, 104393. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104393>
54. Mody, L., Kauffman, C. A., McNeil, S. A., Galecki, A. T., & Bradley, S. F. 2003. Mupirocin-Based Decolonization of Staphylococcus aureus Carriers in Residents of 2 Long-Term Care Facilities: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Clinical Infectious Diseases*. 37(11), 1467–1474. <https://doi.org/10.1086/379325>
55. Moormeier, D. E., & Bayles, K. W. 2017. Staphylococcus aureus Biofilm: A Complex Developmental Organism. *Molecular Microbiology*. 104(3), 365–376. <https://doi.org/10.1111/mmi.13634>
56. Paradise, J. L., Bluestone, C. D., Bachman, R. Z., Colborn, D. K., Bernard, B. S., Taylor, F. H., Rogers, K. D., Schwarzbach, R. H., Stool, S. E., Friday, G. A., Smith, I. H., & Saez, C. A. 1984. Efficacy of Tonsillectomy for Recurrent Throat Infection in Severely Affected Children: Results of Parallel Randomized and Nonrandomized Clinical Trials. *New England Journal of Medicine*. 310(11), 674–683. <https://doi.org/10.1056/NEJM198403153101102>
57. Peacock, S. J., de Silva, I., & Lowy, F. D. 2001. What determines nasal carriage of Staphylococcus aureus? *Trends in Microbiology*. 9(12), 605–610. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(01\)02254-5](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(01)02254-5)
58. Penesyan, A., Paulsen, I. T., Kjelleberg, S., & Gillings, M. R. 2021. Three faces of biofilms: A microbial lifestyle, a nascent multicellular organism, and an incubator for diversity. *Npj Biofilms Microbiomes*. <https://doi.org/10.1038/s41522-021-00251-2>
59. Peter Sell, Rubeor, A., & Fort, G. 2023. Peritonsillar Abscess. *Ferri's Clinical Advisor 2023*. 1189–1190. www-clinicalkey-com
60. Petti, S., & Polimeni, A. 2011. Risk of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Transmission in the Dental Healthcare Setting: A Narrative Review. *Infection Control & Hospital Epidemiology*. 32(11), 1109–1115. <https://doi.org/10.1086/662184>
61. Pichichero, M., & Casey, J. 2007. Systematic review of factors contributing to penicillin treatment failure in Streptococcus pyogenes pharyngitis. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 137(6), 851–857. <https://doi.org/doi:10.1016/j.otohns.2007.07.033>
62. Reagan, D. R. 1991. Elimination of Coincident Staphylococcus aureus Nasal and Hand Carriage with Intranasal Application of Mupirocin Calcium Ointment. *Annals of Internal Medicine*. 114(2), 101. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-114-2-101>

63. Reisner, A., Krogfelt, K. A., Klein, B. M., Zechner, E. L., & Molin, S. 2006. In Vitro Biofilm Formation of Commensal and Pathogenic *Escherichia coli* Strains: Impact of Environmental and Genetic Factors. *Journal of Bacteriology*. 188(10), 3572–3581. <https://doi.org/10.1128/JB.188.10.3572-3581.2006>
64. Roberts, M. C., Soge, O. O., Horst, J. A., Ly, K. A., & Milgrom, P. 2011. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from dental school clinic surfaces and students. *American Journal of Infection Control*. 39(8), 628–632. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2010.11.007>
65. Sarkar, S., Sil, A., Sarkar, S., & Sikder, B. 2017. A Comparison of Tonsillar Surface Swabbing, Fine-Needle Aspiration Core Sampling, and Dissected Tonsillar Core Biopsy Culture in Children with Recurrent Tonsillitis. *Ear, Nose & Throat Journal*. 96(6), E29–E32. <https://doi.org/10.1177/014556131709600606>
66. Schnurr, E., Paqué, P. N., Attin, T., Nanni, P., Grossmann, J., Holtfreter, S., Bröker, B. M., Kohler, C., Diep, B. A., Ribeiro, A. de A., & Thurnheer, T. 2021. *Staphylococcus aureus* Interferes with Streptococci Spatial Distribution and with Protein Expression of Species within a Polymicrobial Oral Biofilm. *Antibiotics*. 10(2), 116. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10020116>
67. Senobar Tahaei, S. A., Stájer, A., Barrak, I., Ostorházi, E., Szabó, D., & Gajdács, M. 2021. Correlation Between Biofilm-Formation and the Antibiotic Resistant Phenotype in *Staphylococcus aureus* Isolates: A Laboratory-Based Study in Hungary and a Review of the Literature. *Infection and Drug Resistance*. 14, 1155–1168. <https://doi.org/10.2147/IDR.S303992>
68. Senska, G., Atay, H., Pütter, C., & Dost, P. 2015. Long-Term Results from Tonsillectomy in Adults. *Deutsches Ärzteblatt International*. 112(50), 849–855. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2015.0849>
69. Slouka, D., Hanakova, J., Kostlivy, T., Skopek, P., Kubec, V., Babuska, V., Pecen, L., Topolcan, O., & Kucera, R. 2020. Epidemiological and Microbiological Aspects of the Peritonsillar Abscess. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 17(11), 4020. <https://doi.org/10.3390/ijerph17114020>
70. Smith, A. J., Robertson, D., Tang, M. K., Jackson, M. S., MacKenzie, D., & Bagg, J. 2003. *Staphylococcus aureus* in the oral cavity: A three-year retrospective analysis of clinical laboratory data. *British Dental Journal*. 195(12), 701–703. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.4810832>
71. Stepanović, S., Vuković, D., Hola, V., Bonaventura, G. D., Djukić, S., Ćirković, I., & Ruzicka, F. 2007. Quantification of biofilm in microtiter plates: Overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*. 115(8), 891–899. https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2007.apm_630.x

72. Stepińska, M., Olszewska-Sosińska, O., Lau-Dworak, M., Zielnik-Jurkiewicz, B., & Trafny, E. A. 2014. Identification of intracellular bacteria in adenoid and tonsil tissue specimens: The efficiency of culture versus fluorescent in situ hybridization (FISH). *Current Microbiology*. 68(1), 21–29. <https://doi.org/10.1007/s00284-013-0436-0>
73. Stoodley, P., deBeer, D., Longwell, M., Nistico, L., Hall-Stoodley, L., Wenig, B., & Krespi, Y. P. 2009. Tonsillolith: Not Just a Stone but a Living Biofilm. *Otolaryngology – Head and Neck Surgery*. 141(3), 316–321. <https://doi.org/10.1016/j.otohns.2009.05.019>
74. Sykes, E. A., Wu, V., Beyea, M. M., Simpson, M. T. W., & Beyea, J. A. 2020. Pharyngitis: Approach to diagnosis and treatment. *Canadian Family Physician Medecin De Famille Canadien*. 66(4), 251–257.
75. Syryło, A., Wojdas, A., & Jurkiewicz, D. 2007. Bacterial flora of the tonsillar surface versus tonsillar core in chronic tonsillitis. *Otolaryngologia Polska*. 61(4), 598–601. [https://doi.org/10.1016/S0030-6657\(07\)70493-6](https://doi.org/10.1016/S0030-6657(07)70493-6)
76. Tzelnick, S., Hilly, O., Vinker, S., Bachar, G., & Mizrachi, A. 2020. Long-term outcomes of tonsillectomy for recurrent tonsillitis in adults. *The Laryngoscope*. 130(2), 328–331. <https://doi.org/10.1002/lary.27928>
77. Vaikjärv, R., Kasenõmm, P., Jaanimäe, L., Kivisild, A., Rööp, T., Sepp, E., & Mändar, R. 2016. Microbiology of peritonsillar abscess in the South Estonian population. *Microbial Ecology in Health & Disease*. 27(0). <https://doi.org/10.3402/mehd.v27.27787>
78. Wang, G., Zhao, G., Chao, X., Xie, L., & Wang, H. 2020. The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of Klebsiella pneumoniae. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 17(17). <https://doi.org/10.3390/ijerph17176278>
79. Wikstén, J., Kaltiainen, E., Pitkäranta, A., & Blomgren, K. 2017. Renewal of peritonsillar abscess: Impact of the bacterial species of the infection and clinical features of the patient – A prospective comparative aetiological study. *Clinical Otolaryngology*. 42(6), 1358–1362. <https://doi.org/10.1111/coa.12893>
80. Windfuhr, J. P., Toepfner, N., Steffen, G., Waldfahrer, F., & Berner, R. 2016a. Clinical practice guideline: Tonsillitis I. Diagnostics and nonsurgical management. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 273(4), 973–987. <https://doi.org/10.1007/s00405-015-3872-6>
81. Windfuhr, J. P., Toepfner, N., Steffen, G., Waldfahrer, F., & Berner, R. 2016b. Clinical practice guideline: Tonsillitis II. Surgical management. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 273(4), 989–1009. <https://doi.org/10.1007/s00405-016-3904-x>

82. Witsell, D. L., Orvidas, L. J., Stewart, M. G., Hannley, M. T., Weaver, E. M., Yueh, B., Smith, T. L., & Goldstein, N. A. 2008. Quality of life after tonsillectomy in adults with recurrent or chronic tonsillitis. *Otolaryngology – Head and Neck Surgery*. 138(1_suppl), S1–S8. <https://doi.org/10.1016/j.otohns.2007.08.015>
83. Woo, J. H., Kim, S. T., Kang, I. G., Lee, J. H., Cha, H. E., & Kim, D. Y. 2012. Comparison of tonsillar biofilms between patients with recurrent tonsillitis and a control group. *Acta Oto-Laryngologica*. 132(10), 1115–1120. <https://doi.org/10.3109/00016489.2012.689859>
84. Wu, C.-L., Tsai, M.-S., Lee, T.-J., Wang, Y.-T., Liu, C.-Y., Yang, Y.-H., Tsai, Y.-T., Hsu, C.-M., Wu, C.-Y., Chang, P.-J., & Chang, G.-H. 2021. Type 2 Diabetes Mellitus Increases Peritonsillar Abscess Susceptibility: Real-World Evidence. *Clinical and Experimental Otorhinolaryngology*. 14(3), 347–354. <https://doi.org/10.21053/ceo.2020.02257>
85. Zaatout, N. 2021. Presence of non-oral bacteria in the oral cavity. *Arch. Microbiol.* 203, 2747–2760. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02300-y>
86. Zautner, A. E. 2012. Adenotonsillar Disease. *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery*. 6(2), 121–129.
87. Zautner, A. E., Krause, M., Stropahl, G., Holtfreter, S., Frickmann, H., Maletzki, C., Kreikemeyer, B., Pau, H. W., & Podbielski, A. 2010. Intracellular Persisting *Staphylococcus aureus* Is the Major Pathogen in Recurrent Tonsillitis. *PLoS ONE*. 5(3), e9452. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009452>

Pateicības

Vēlos izteikt visdziļāko pateicību mana promocijas darba vadītājām prof. *Dr. med. Jutai Kroičai* par ieguldīto darbu, pacietību, nenovērtējamu atbalstu un zināšanām un asoc. prof. *Dr. med. Ligijai Ķīsei* par iedrošinājumu, padomiem un konstruktīvu kritiku darba tapšanas laikā.

Īpašu paldies vēlos izteikt manam kolēģim dr. **Kārlim Rācenim** par veltīto laiku un palīdzību publikāciju rakstīšanā, entuziasmu, pētniecisko garu un gaišo prātu, kas bija īpaši vajadzīgs grūtos brīžos. Sirsnīgs paldies RSU Bioloģijas un mikrobioloģijas katedras laborantam **Renāram Brokam** par praktisku palīdzību un padomiem laboratorijas darbā. Paldies doc. *Dr. med. Artai Olgai Balodei* par palīdzību un padomiem mikrobioloģijas jautājumos.

Pateicos viesiem Paula Stradiņa klīniskās universitātes slimnīcas Otorinolaringoloģijas klīnikas kolēģiem un jo īpaši klīnikas vadītājai doc. *Dr. med. Guntai Sumeragai* par iespēju strādāt ar pacientiem, par vērtīgiem padomiem un atbalstu gan praksē, gan zinātnē.

Paldies maniem **pacientiem**, kuri uzticējās un piekrita piedalīties pētījumā.

Paldies doc. *Dr. phys. Lāsmi Asarei* par palīdzību datu statistiskā apstrādē.

Vislielākais paldies manai ģimenei – mammai **Emilijai**, mātai **Ingai** un īpaši vīram **Rūdfam** – par rūpēm, pacietību, sapratni un mīlestību, ko veltījāt.