

Состав микрофлоры ротоглотки при ВИЧ-инфекции

Суладзе Александр Георгиевич, кандидат медицинских наук, начальник центра
Матузкова Анна Николаевна, врач-инфекционист
Южный Округной центр по профилактике и борьбе со СПИДом
Ростовского научно-исследовательского института микробиологии и паразитологии

Как известно, состав микробиома ротоглотки у ВИЧ-инфицированных лиц претерпевает существенные изменения даже на фоне проводимой им антиретровирусной терапии (АРТ) [1]. С целью коррекции нарушений микробиоты ротоглотки в данном случае представляется перспективным изучение эффективности применения препаратов с противовоспалительным и иммуномодулирующим действием. В клинических исследованиях было показано положительное влияние аминодигидрофталазиндиона натрия (АДФНа) на нормализацию показателей иммунного статуса при целом ряде неинфекционных заболеваний [2].

Цель работы – изучение особенностей состава микробиоты ротоглотки и системного воспаления у больных ВИЧ-инфекцией на фоне АРТ и оценка возможности их коррекции АДФНа.

Материалы и методы. Методической основой настоящей работы послужил ряд исследований проведенных на кафедре инфекционных болезней РостГМУ [3–10]. В исследовании приняли участие 100 больных ВИЧ-инфекцией в возрасте 35–40 лет. Все пациенты в течение не менее 1 года получали АРТ, назначенную в соответствии с современными стандартами лечения ВИЧ-инфекции. Пациенты были рандомизированы на 2 равные группы ($n_1, n_2=50$). Клинико-лабораторное обследование пациентов проводили исходно (1-й визит) и через 4 нед. (2-й визит) при плановом диспансерном наблюдении.

Пациентам 1-й группы при 1-м визите дополнительно к стандартной АРТ назначали сублингвальные таблетки АДФНа: по 2 таблетки 2 раза в день в течение 10 дней, затем по 2 таблетки 2 раза через сутки в течение 10 дней. Эффективность терапии оценивали при 2-м визите через 4 нед. наблюдения по результатам динамики концентрации LBP и изменений микробиома ротоглотки.

Исследование концентрации LPS-связывающего белка (LBP), как диагностического биомаркера эндотоксемии у больных ВИЧ-инфекцией, проводили методом ИФА.

Показатели, характеризующие состав и наличие изменений микрофлоры слизистой оболочки задней стенки глотки, определяли на бактериологическом анализаторе VITEK-2 compact (BioMerieux, Франция) и дискодиффузионным методом. Использовали стандартную методику забора мазков с дальнейшим проведением качественно-количественного анализа состава выделенных микроорганизмов. Во время забора материала со слизистой оболочки ротоглотки ни у одного пациента не было клинических проявлений заболеваний полости рта и ротоглотки. Кроме того, ни один из участников исследования не получал одновременного симптоматического или профилактического лечения, в том числе антибактериаль-

ными или противогрибковыми препаратами. Для выделения микроорганизмов применяли дифференциально-диагностические среды: кровяной агар, Сабуро, Эндо, желточно-солевой агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, г. Оболонск, Россия), UriSelect-4 (Bio-Rad Laboratories Inc., США). Идентификацию условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) проводили на базе MS Microflex Biotyper MALDI-ToF (Bruker, Германия).

Группа сравнения была сформирована из 30 практически здоровых лиц сопоставимого возраста и пола.

Результаты исследования. При рассмотрении качественного и количественного состава микрофлоры общей когорты пациентов в нашем исследовании у 32,0% выявлены представители УПМ в количестве, не превышающем контрольных значений для здоровых лиц. Доминирующими микроорганизмами в биотопе были коагулазоотрицательные стафилококки (*Staphylococcus epidermidis* и др.) – 22,5%, коринеформные бактерии (*Corynebacterium*) – 21,5%, альфа-гемолитические стрептококки – 19,5% и *Neisseria flavescens* – 6,7%.

У остальных 68,0% больных выявлены нарушения микробного состава слизистой оболочки ротоглотки. Всего выделено 59 культур. Чаще всего (в 51,7% случаев) выявляли ассоциации бактерий: двух- (33,3%), трех- (13,3%), четырех- и более компонентные (5,1%).

Среди УПМ с избыточным ростом преобладали стрептококки альфа-гемолитические – 48,0%, коагулазоотрицательные – 32,4%, коринеформные бактерии (*Corynebacterium*) – 24,5%, *Staphylococcus aureus* – 22,5% и пневмококки (*S. pneumoniae*) – 17,6%. С большой частотой (13,7%) выявляли микроорганизмы рода *Streptococcus* группы А, обладающие β -гемолитической активностью (*S. pyogenes*, *S. agalactiae* и др.). Альфа-гемолитические стрептококки были представлены *S. salivarius*, *S. mitis*, *S. viridans*, *S. mutans*, *S. ovaries*. У 17,6% больных был выделен *Streptococcus pneumoniae*, у 4,0% – негемолитические стрептококки. В единичных случаях выделяли *Streptococcus anginosus*, *S. oralis* и *S. peroris*.

Род *Staphylococcus* в большинстве случаев был представлен *Staphylococcus aureus*, а также коагулазоотрицательными стафилококками. Выявлено большое разнообразие коагулазонегативных стафилококков: *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. succinus*.

Избыточный рост *Neisseria* отмечен у 16,7% пациентов. В большинстве случаев были выделены *Neisseria flavescens*, реже – *Neisseria perflava*, *Neisseria subflava*, *Neisseria mucosa*.

Частота выявления микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae* в биотопе ротоглотки составила 10,8%. Это семейство было представлено преимущественно бактериями рода *Escherichia*, реже (в 1% случаев) – энтерококками и *Klebsiella*.

В 10,8% случаев определяли микроорганизмы из группы неферментирующих бактерий: *Acinetobacter*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Chryseobacterium* spp. *P. aeruginosa*, обладающая высокой резистентностью к действию антибактериальных препаратов, была выделена только у 1% больных. Также редко выделяли *Chryseobacterium* spp. (у 1% больных). При изучении чувствительности к антибактериальным препаратам этих бактерий в 50% случаев выявлена устойчивость ко всем антибиотикам и бактериофагам.

С помощью масс-спектрометрии у больных ВИЧ-инфекцией были выделены редко встречающиеся микроорганизмы: *Gemella haemolysans*, *Massilia timonae*, *Ervinia* spp., *Pannonibacter phragmitetus* и *Weissella minor*.

Грибковая микрофлора выявлена у 19,6% больных и представлена дрожжеподобными грибами рода *Candida*. У подавляющего большинства пациентов была выделена *Candida albicans*. Также среди представителей грибковой микрофлоры в единичных случаях были обнаружены *Candida cruzei*. У 1 пациента был обнаружен род дрожжей *Pichia* семейства *Saccharomycetaceae*.

При сравнении видового и количественного состава основных представителей резидентной аэробной и факультативной аэробной групп микроорганизмов, выделенных из ротоглотки перед началом исследования в обеих группах, достоверных различий не обнаружено.

При исследовании через 4 нед. в 1-й группе пациентов отмечено снижение доли пациентов с избыточным ростом УПМ с $74,0 \pm 6,2$ до $49,9 \pm 7,1\%$ ($p < 0,05$). Во 2-й группе в этот же период достоверных отличий не зарегистрировано.

Через 4 нед. наблюдения у пациентов 1-й группы снизилась частота регистрации избыточного роста бета-гемолитических стрептококков (*S. pyogenes*, *S. agalactiae* и др.) с $20,0 \pm 5,7\%$ при первом визите до $6,0 \pm 3,4\%$ при втором ($p < 0,05$). При повторном визите было зарегистрировано также снижение частоты выявления *Staphylococcus aureus* и дрожжеподобных грибов рода *Candida* в количестве более 10^3 КОЕ/мл.

Примечательно, что в 1-й группе снизилась и частота выявления энтеробактерий с $12,0 \pm 4,6\%$ на старте лечения АДФНа до $2,0 \pm 2,0\%$ через 4 нед. наблюдения, а также ацинетобактерий с $8,0 \pm 3,8\%$ до 0 соответственно. При этом во 2-й группе между данными о частоте выявления энтеробактерий и *Acinetobacter*, полученными при 1-м и 2-м визитах, достоверных отличий не выявлено.

Концентрация LBP до начала лечения в 1-й и 2-й группах составляла $85,9 \pm 3,8$ и $86,3 \pm 4,8$ мкг/мл соответственно при референсных значениях у здоровых лиц $6,2 \pm 1,53$ мкг/л ($p < 0,01$). При исследовании через 4 нед. в 1-й группе отмечено снижение LBP до $70,9 \pm 4,6$ мкг/мл ($p < 0,05$), во 2-й группе достоверных изменений содержания LBP в динамике заболевания не выявлено.

Литература:

1. Noguera-Julian, M. Oral microbiome in HIV-associated periodontitis / M. Noguera-Julian, Y. Guillen, J. Peterson // *Medicine*. – 2017. – N96. – e5821.

Заключение. Восстановление микроэкологии ротоглотки имеет важное клиническое значение в предотвращении дальнейшего распространения множества ассоциированных между собой микроорганизмов, предупреждая генерализацию и хронизацию патологических очагов инфекции. В нашем исследовании в 10,8% случаев выявлены представители группы неферментирующих бактерий (*Acinetobacter*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Chryseobacterium* spp.), играющие основную роль в развитии внутрибольничных инфекций, особенно у иммунокомпрометированных лиц. Каждый из выделенный вид микроорганизмов из группы неферментирующих бактерий способен вызывать рецидивирующие инфекции нижних дыхательных путей у больных с выраженным иммунодефицитным состоянием, особенно при многократных курсах антибиотикотерапии. С такой же частотой (10,8%) у пациентов в ротоглотке присутствовали представители семейства *Enterobacteriaceae*, способные вызывать заболевания желудочно-кишечного тракта, геморрагический колит, гемолитико-уремический синдром, инфекции мочевыводящих и желчевыводящих путей, сепсис.

Следует обратить внимание и на выделение в 1% случаев редкого возбудителя оппортунистических микозов – дрожжей рода *Pichia*. В настоящее время они встречаются у пациентов с ослабленным иммунитетом. Таким образом, в большинстве случаев микрофлора ротоглотки больных ВИЧ-инфекцией даже на фоне АРТ имеет существенные различия с составом микробиоты аналогичной локализации у здоровых лиц. Потенциально опасным является наличие представителей оппортунистических инфекций, практически не встречающихся у здоровых лиц. С таким составом микробиоты ротоглотки вполне согласуется и высокий уровень LBP, основной функцией которого является связывание эндотоксинов бактерий.

Проведенное исследование продемонстрировало положительное влияние АДФНа на течение ВИЧ-инфекции при добавлении его к стандартной схеме АРТ. Это выразилось в более быстром снижении уровня маркера антиэндотоксиновой защиты LBP, а также числа потенциальных патогенов в микробиоте ротоглотки – бета-гемолитических стрептококков, *Staphylococcus aureus*, дрожжеподобных грибов рода *Candida*, энтеробактерий и ацинетобактерий. Вероятно, способность этого препарата оказывать непосредственное или опосредованное влияние на системный воспалительный ответ при ВИЧ-инфекции, в условиях подавления репликации ВИЧ с помощью АРТ, обусловила его позитивное влияние на течение ВИЧ-инфекции. Для определения продолжительности выявленных эффектов, целесообразности и кратности повторных курсов лечения иммуномодулирующими препаратами на фоне АРТ требуются дальнейшие исследования.

2. Покровский, А.В. Прогностическое значение провоспалительных цитокинов при ингаляционном применении галавита в комплексном лечении ХОБ / А.В. Покровский, Л.А. Мхитарова, В.Н. Царёв // Вестник Дагестанской государственной медицинской академии. – 2014. – №1. – С. 19-23.
3. Амбалов, Ю.М. Роль комбинированной противовирусной терапии в патогенезе нарушений функционального состояния сердечно-сосудистой системы у больных хроническим гепатитом С / Ю.М. Амбалов, Н.В. Дубина, Д.В. Донцов и др. // Кубанский научный медицинский вестник. – 2012. – Т. 131, № 2. – С. 14-19.
4. Амбалов, Ю.М. Современные представления о проблеме гематологических осложнений комбинированной противовирусной терапии хронического гепатита С / Ю.М. Амбалов, Д.В. Донцов, Н.И. Мамедова // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – №5. – С. 502.
5. Донцов, Д.В. Нейтропения у больных хроническим гепатитом С, получающих комбинированную противовирусную терапию. Клинические проявления. Особенности патогенеза / Д.В. Донцов, Ю.М. Амбалов, Н.И. Мамедова // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – №5. – С. 479.
6. Донцов, Д.В. Оценка степени активности хронического гепатита С / Д.В. Донцов, Ю.М. Амбалов, В.В. Васильева // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – № 6. – С. 6.
7. Донцов, Д.В. Роль изменений ряда показателей функционального состояния сердечно-сосудистой системы в клинике и патогенезе хронического гепатита С / Д.В. Донцов, Ю.М. Амбалов, Н.Н. Алексеева // Фундаментальные исследования. – 2012. – №2. – С. 290-293.
8. Амбалов, Ю.М. Способы прогнозирования гематологических осложнений комбинированной противовирусной терапии у больных хроническим гепатитом С / Ю.М. Амбалов, Д.В. Донцов, М.А. Пройдаков // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 5. – С. 48.
9. Амбалов, Ю.М. Изменения белкового спектра плазмы крови у больных хроническим гепатитом С, получающих модифицированную аутогемотерапию / Ю.М. Амбалов, Д.В. Донцов, Е.Б. Романова, В.В. Карташев // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6. – С. 243.
10. Курдин, А.А. с соавт., Клинико-патогенетическое значение повышения кислотности кожных покровов у больных гриппом и другими острыми респираторно-вирусными инфекциями // Актуальные вопросы инфекционной патологии Юга России: материалы II Межрегионального научно-практического форума (Краснодар, 22–24 мая 2017 г.). – Краснодар, 2017. – С. 81-82.