

Сведения об авторах:

Лежейко Татьяна Викторовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клинической генетики; тел.: (495)1090393, доб. 3338; 89651387699; e-mail: Lezheiko@list.ru

Тихонов Денис Витальевич, научный сотрудник, отдел юношеской психиатрии; тел.: (495)1090393, доб. 5407; 89035383287; e-mail: denvt@list.ru

Жело Вера Кабраель, ассистент кафедры психиатрия, судебно-психиатрический эксперт; тел.: (8652)991785; 89624514111; e-mail: alalikk@gmail.com

Габаева Марина Владимировна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории клинической генетики; тел.: (495)1090393, доб. 3338; 89035359524; e-mail: gabaeva@yandex.ru

Коровайцева Галина Ивановна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической генетики; тел.: (495)1090393, доб. 3339; 89035359020; e-mail: korovaitseva@mail.ru

Боев Олег Игоревич, кандидат медицинских наук, заведующий кафедрой психиатрии, главный врач; тел.: (8652)991785; 89283214202; e-mail: skkpb1@stavpb.ru

Голимбет Вера Евгеньевна, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией клинической генетики; тел.: (495)1090393, доб. 3300; 89035315835; e-mail: Golimbet@mail.ru

© Коллектив авторов, 2021

УДК 579:616.31:616.988

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2021.16089>

ISSN – 2073-8137

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ МИКРОБНОЙ ФЛОРЫ РОТОГЛОТКИ И УРОВНЯ ЭНДОТОКСЕМИИ У БОЛЬНЫХ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ

А. Г. Суладзе¹, Т. И. Твердохлебова¹, А. Н. Матузкова¹,
Н. Ю. Пшеничная², Д. В. Донцов³, А. В. Алешукина¹, А. А. Рындич¹

¹ Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

² Национальный исследовательский медицинский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний, Москва, Российская Федерация

³ Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

ASSESSMENT OF THE STATE OF THE MICROBIAL FLORA OF THE OROPHARYNX AND THE LEVEL OF ENDOTOXEMIA IN PATIENTS WITH HIV INFECTION

Suladze A. G.¹, Tverdokhlebova T. I.¹, Matuzkova A. N.¹,
Pshenichnaya N. Yu.², Dontsov D. V.³, Aleshukina A. V.¹, Ryndich A. A.¹

¹ Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology, Rostov-on-Don, Russian Federation

² National Research Medical Center of Phthisiopulmonology and Infectious Diseases, Moscow, Russian Federation

³ Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

Проведена оценка состава микрофлоры слизистой ротоглотки и биохимических маркеров эндотоксемии с определением содержания LPS-P в крови у 100 ВИЧ-позитивных пациентов, получавших антиретровирусную терапию. Выявлена интенсивная колонизация слизистой ротоглотки условно-патогенной микробной флорой в высоких количественных титрах и более чем 14-кратное превышение уровня LPS-P. Добавление к терапии на 4 недели аминодигидрофталазиндиона натрия («Галавит») обеспечило достоверное снижение концентрации LPS-P в крови и нормализацию микробного состава слизистой ротоглотки у большинства пациентов с ВИЧ.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, микрофлора, эндотоксемия, иммунокоррекция

The composition of the microflora of the oropharyngeal mucosa and biochemical markers of endotoxemia were evaluated with the determination of the content of LPS-P in the blood of 100 HIV-positive patients receiving antiretroviral therapy. Intensive colonization of the oropharyngeal mucosa by conditionally pathogenic microbial flora in high quantitative titers and more than 14-fold excess of the LPS-P level was revealed. The addition of sodium aminodihydrophthalazinedione («Galavit») to therapy for 4 weeks provided a significant decrease in the concentration of LPS-P in the blood and normalization of the microbial composition of the oropharyngeal mucosa in most patients with HIV.

Keywords: HIV-infection, microflora, endotoxemia, immunocorrection

Для цитирования: Суладзе А. Г., Твердохлебова Т. И., Матузкова А. Н., Пшеничная Н. Ю., Донцов Д. В., Алешукина А. В., Рындиш А. А. ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ МИКРОБНОЙ ФЛОРЫ РОТОГЛОТКИ И УРОВНЯ ЭНДОТОКСЕМИИ У БОЛЬНЫХ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2021;16(4):375-378. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2021.16089>

For citation: Suladze A. G., Tverdokhlebova T. I., Matuzkova A. N., Pshenichnaya N. Yu., Dontsov D. V., Aleshukina A. V., Ryndich A. A. ASSESSMENT OF THE STATE OF THE MICROBIAL FLORA OF THE OROPHARYNX AND THE LEVEL OF ENDO-TOXEMIA IN PATIENTS WITH HIV INFECTION. *Medical News of North Caucasus*. 2021;16(4):375-378. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2021.16089> (In Russ.)

АДФ-На – аминоксигидрофталазиндион натрия
АРТ – антиретровирусная терапия
ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

УПМО – условно-патогенные микроорганизмы
CD4+ – Т-хелперы
LPS-P – липополисахарид-связывающий протеин

Повсеместная распространенность и неуклонный рост заболеваемости относят ВИЧ-инфекцию в разряд одной из наиболее актуальных медико-социальных проблем человечества [1, 2]. Как известно, клетками-мишенями ВИЧ являются, прежде всего, Т-хелперы (CD4+), количественная и функциональная недостаточность которых сопровождается развитием прогрессирующего иммунодефицитного состояния [3]. На фоне выраженной иммунной супрессии, спровоцированной ВИЧ, происходит активация условно-патогенной микробной флоры и, как следствие, возникновение воспалительных процессов в различных органах с тенденцией к генерализации [4]. К ранним и наиболее частым оппортунистическим проявлениям ВИЧ-инфекции относят такие орофарингеальные синдромы, как кандидоз полости рта, язвенное поражение слизистых оболочек, творожистый налет на миндалинах, активация онкогенных вирусов папилломы человека и др. [5].

В работах ряда авторов указывается, что качественный и количественный состав микробной флоры слизистой ротоглотки у больных, инфицированных ВИЧ, претерпевает существенные изменения, в том числе и среди пациентов, принимающих антиретровирусные препараты. Так, имеются сведения, что патологически активный рост в ротовой полости *Fusobacter*, *Porphyromonas*, *Prevotella* и др. может вызывать системную эндотоксемию у данной категории пациентов [6, 7].

Физиологически детерминированную роль в процессах распознавания, связывания, транспортировки и антигенной презентации иммунокомпетентным клеткам эндотоксина и прочих патоген-ассоциированных молекулярных комплексов бактерий и микроскопических грибов играет в организме человека LPS-P, сывороточная концентрация которого используется для количественной оценки уровня эндотоксемии и является диагностическим маркером манифестированного либо субклинически протекающего воспалительного процесса при ряде инфекционных и неинфекционных заболеваний [8, 9].

Цель исследования – оценить у больных ВИЧ-инфекцией, получающих АРТ, состав микрофлоры слизистой ротоглотки и биохимических маркеров эндотоксемии на фоне применения иммуномодулятора.

Материал и методы. Для реализации поставленных задач в исследование было включено 100 ВИЧ-позитивных пациентов в возрасте от 30 до 45 лет без каких-либо клинических проявлений воспалительных заболеваний полости рта и ротоглотки. Необходимым условием участия в исследовании явилось информированное согласие пациентов и продолжительность проводимой АРТ от 12 и более месяцев. Назначенная АРТ соответствовала современным стандартам веде-

ния больных ВИЧ-инфекцией – <http://rushiv.ru/docs/national-recs/kr-17/klinicheskie-rekomendatsii-vich-infektsiya-u-vzroslyh/>.

Все участники исследования методом рандомизации были распределены на две группы. Пациенты 1-й группы (n=50), помимо стандартной АРТ, дополнительно получали АДФ-На («Галавит», ООО «Сэлвим», Россия) по схеме: сублингвально по 2 таблетки 2 раза в сутки, 10 дней; затем – 2 таблетки 2 раза через сутки, 10 дней. Больные 2-й группы (n=50) принимали только антиретровирусные препараты.

Клинико-лабораторный мониторинг пациентов проводили дважды: в день первичного обращения (1-й визит) и через четыре недели на приеме планового диспансерного осмотра (2-й визит).

Микробный состав слизистой ротоглотки изучали с помощью автоматического микробиологического анализатора VITEK 2 Compact 60 («bio-Merieux», Франция). Забор проб для исследования выполняли с задней стенки ротоглотки.

Идентификацию УПМО дополнительно осуществляли методом непрямой MALDI-TOF-масс-спектрометрии на масс-спектрометре Microflex Biotyper MALDI-TOF («Bruker Daltonics», Германия).

В качестве контроля качества и количественного состава микрофлоры слизистой ротоглотки сплошным методом была сформирована группа из 40 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту с наблюдавшимися пациентами.

Уровень LPS-P в сыворотке крови определяли методом твердофазного ИФА с использованием тест-системы Human LBP ELISA KIT, Product N: НК 315 («Nycult-biotechnology», Нидерланды).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием электронной программы SPS StatisticsBase 2.0 («IBM», США). Межгрупповые различия оценивали методом однофакторного дисперсионного анализа по t-критерию Стьюдента. Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$. При оценке связи между показателями использовали линейный коэффициент корреляции Пирсона (r).

Результаты и обсуждение. Рандомизированные по случайному признаку пациенты 1-й и 2-й групп по исходным клинико-лабораторным характеристикам (пол, возраст, стадии ВИЧ-инфекции, количество CD4+ в сыворотке крови, наличие сопутствующих заболеваний и пр.) оказались практически идентичными (во всех случаях $p > 0,05$).

У 32,0 % от общей когорты наблюдавшихся пациентов микробный состав слизистой ротоглотки не имел статистически значимых отличий в сравнении с практически здоровыми лицами контрольной группы и был представлен преимущественно такими УПМО, как коагулазонегативные стафилококки – 22,5 %, ко-

риневактерии – 21,5 % и α-гемолитические стрептококки – 19,5 %.

Остальные 68,0 % пациентов имели существенные отклонения в виде колонизации различных представителей УПМО в количестве 3–4 Ig КОЕ/г и выше. Так, была зафиксирована высокая высеваемость α-гемолитических стрептококков (*St. salivarius*, *St. mitis* и пр.) в 48,0 % случаев, коагулазонегативных стафилококков (*S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus* и пр.) – в 32,4 %, коринебактерий – 24,5 %, *Staphylococcus aureus* – 22,5 %, *Streptococcus pneumoniae* – 17,6 %, нейссерий (*Neisseria flavescens*, *Neisseria perflava*, *Neisseria mucosa* и пр.) – 16,7 %, β-гемолитических стрептококков (*St. pyogenes*, *St. agalactiae* и пр.) – 13,7 %, энтеробактерий (роды *Escherichia*, *Klebsiella*) – 10,8 %, неферментирующих бактерий (*Acinetobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Chryseobacterium* spp.) – 10,8 %, негемолитических стрептококков – в 4,0 % случаев. У 19,6 % больных ВИЧ-инфекцией были выделены дрожжеподобные грибы рода *Candida* (*Candida albicans*, гораздо реже – *Candida cruzei*).

Также с помощью непрямой MALDI-TOF-масс-спектрометрии у наблюдавшихся пациентов были идентифицированы редко встречающиеся разновидности бактерий, такие как *Ervinia* spp., *Gemella haemolysus*, *Massilia timona*, *Pannonibacter phragmitus*, *Weissella minor*.

В общей сложности удалось выявить 59 микробных культур, причем в подавляющем большинстве они были представлены двух- и более компонентными сообществами.

Сравнительный анализ исходного состава микробной флоры слизистой ротоглотки вполне закономерно не выявил статистически значимых отличий между пациентами 1-й и 2-й групп в начале исследования (во всех случаях $p > 0,05$) (рис.).

Однако через 4 недели у больных, получавших дополнительно АДФ-На, было зафиксировано достоверное снижение удельного веса пациентов, имевших избыточный рост колоний УПМО (74,0±6,2 % исходно и 49,9±7,1 % через 4 недели; $p < 0,05$). Между тем в группе пациентов, получавших только стандартную АРТ, статистически значимых изменений в динамике не наблюдалось ($p > 0,05$).

При сравнении видового состава микробной флоры слизистой ротоглотки в динамике было установлено, что только в 1-й группе больных ВИЧ-

инфекцией отмечалось за 4 недели достоверное снижение удельного веса пациентов с колонизацией в высоком титре *Staphylococcus aureus* (26,0±6,2 % исходно и 10,0±4,2 % через 4 недели; $p < 0,05$) и дрожжеподобных грибов рода *Candida* (16,0±5,2 % исходно и 4,0±2,8 % через 4 недели; $p < 0,05$), а также β-гемолитических стрептококков. Кроме того, через 4 недели дополнительного приема АДФ-На колонизация дрожжеподобными грибами рода *Candida* у больных 1-й группы стала отмечаться достоверно реже, чем у пациентов 2-й группы ($p < 0,05$) (рис.).

Стоит отметить также и достоверное снижение удельного веса больных 1-й группы с зафиксированным выделением со слизистой ротоглотки энтеробактерий (12,0±4,6 % исходно и 2,0±2,0 % через 4 недели; $p < 0,05$) и ацинетобактерий (8,0±3,8 % исходно и 0,0 % через 4 недели; $p < 0,05$). В группе же пациентов, получавших только стандартную АРТ, существенных изменений в частоте выявления энтеробактерий и ацинетобактерий в эти сроки не наблюдалось ($p > 0,05$).

Исходный уровень LPS-P в сыворотке крови у пациентов 1-й и 2-й групп не имел между собой статистически значимых отличий, составляя соответственно 85,9±3,8 мкг/мл и 86,3±4,8 мкг/мл ($p > 0,05$), при этом в обоих случаях достоверно превышал таковой у лиц, не страдавших ВИЧ-инфекцией (6,2±1,53 мкг/л; $p < 0,001$). Через 4 недели контроля существенное снижение сывороточной концентрации LPS-P было выявлено только в группе больных, получавших дополнительно АДФ-На (85,9±3,8 мкг/мл исходно и 70,9±4,6 мкг/мл через 4 недели ($p < 0,05$)).

В целом у наблюдавшихся пациентов отмечалась удовлетворительная переносимость АДФ-На, поскольку в 1-й группе участников исследования не было зафиксировано каких-либо дополнительных нежелательных эффектов в сравнении с больными, получавшими только стандартную АРТ.

В ходе проведенного исследования у 11 % больных ВИЧ-инфекцией, получающих АРТ, на слизистой ротоглотки был зафиксирован рост неферментирующих бактерий (*Acinetobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Chryseobacterium* spp.) – основного этиологического фактора нозокомиального инфицирования и рецидивизирующего течения инфекций средних и нижних дыхательных путей при вторичной иммуносупрессии [10, 11]. С другой стороны, выделенные с

той же частотой у наблюдавшихся пациентов бактерии семейства энтеробактерий (роды *Escherichia*, *Klebsiella*) *Enterococcus* spp., а также β-гемолитических стрептококков могут вызывать, как известно, острые и хронические воспалительные заболевания, в том числе в условиях отделений интенсивной терапии [11, 12].

Динамическое наблюдение за пациентами в течение 4 недель позволило установить положительное воздействие АДФ-На на состояние микробиома слизистой ротоглотки в виде снижения удельного веса таких УПМО, как *Staphylococcus aureus*, дрожжеподобные грибы

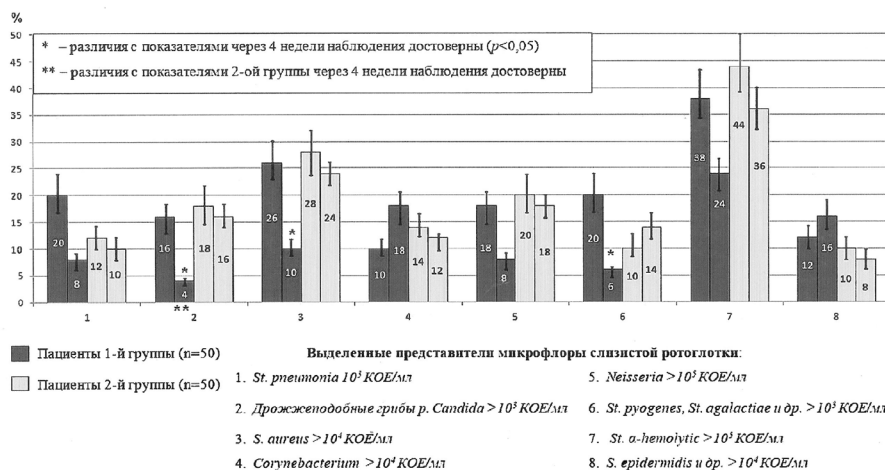


Рис. Сравнительный анализ видового и количественного состава микрофлоры слизистой ротоглотки у больных ВИЧ-инфекцией 1-й и 2-й групп в начале и через 4 недели исследования (M±m)

рода *Candida*, энтеробактерии и ацинетобактерии, β -гемолитические стрептококки, а также сывороточный уровень LPS-P, в сравнении с больными, получавшими только стандартную АРТ, что подтверждает возможность использования препарата с профилактической целью у иммунокомпрометированных пациентов [13].

Заключение. Современная АРТ не обеспечивает у больных, страдающих ВИЧ-инфекцией, полную нормализацию видового и количественного состава микробной флоры слизистой ротоглотки, а также концентрацию LPS-P в сыворотке крови на физиологическом уровне. Дополнительное применение

АДФ-На у пациентов с ВИЧ, получающих АРТ, сопровождается достоверным снижением сывороточной концентрации LPS-P и избыточного бактериального роста ряда представителей УПМО слизистой ротоглотки (*Staphylococcus aureus*, β -гемолитические стрептококки, а также дрожжеподобные грибы рода *Candida*, энтеробактерии и ацинетобактерии). Дальнейшее изучение механизмов реализации терапевтического эффекта АДФ-На у больных ВИЧ-инфекцией представляется перспективным направлением в оптимизации стандартной АРТ.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература/References

1. Yang X., Li X., Qiao S., Shen Z., Zhou Y. Socioeconomic disparity of immunologic outcome among people living with HIV in Guangxi, China. *AIDS Care*. 2020;8:1-5. <https://doi.org/10.1080/09540121.2020.1738004>
2. Moreno-Coutino G., Sanchez-Cardenas C. D., Bello-Hernandez Y., Fernandez-Martinez R., Arroyo-Escalante S., Arenas R. Isolation of *Malassezia* spp. in HIV-positive patients with and without seborrheic dermatitis. *An. Bras. Dermatol.* 2019;94(5):527-531. <https://doi.org/10.1016/j.abd.2019.09.012>
3. Ingram Z., Taylor M., Okland G., Martin R., Hulme A. E. Characterization of HIV-1 uncoating in human microglial cell lines. *Virology*. 2020;17(1):31. <https://doi.org/10.1186/s12985-020-01301-5>
4. Olalla J., Garcia de Lomas J. M., Chueca N., Perez-Stachowski X., De Salazar A. [et al.]. Effect of daily consumption of extra virgin olive oil on the lipid profile and microbiota of HIV-infected patients over 50 years of age. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(42):e17528. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000017528>
5. Taramasso L., Ricci E., Cascio A., Valsecchi L., Menzaghi B. [et al.]. Positioning of darunavir/cobicistat-containing antiretroviral regimens in real life: results from a large multicentre observational prospective cohort (SCOLTA). *AIDS Res. Ther.* 2019;16(1):21. <https://doi.org/10.1186/s12981-019-0236-0>
6. Tweed C. D., Crook A. M., Dawson R., Diacon A. H., McHugh T. D. [et al.]. Toxicity related to standard TB therapy for pulmonary tuberculosis and treatment outcomes in the REMoxTB study according to HIV status. *BMC Pulm. Med.* 2019;19(1):152. <https://doi.org/10.1186/s12890-019-0907-6>
7. Kistler J. O., Arirachakaran P., Poovorawan Y., Gunnar Dahlen, Wade W. G. The oral microbiome in human immunodeficiency virus (HIV)-positive individuals. *J. Med. Microbiol.* 2015;64(9):1094-1101. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000128>
8. Gonzalez-Quintela A., Alonso M., Campos J., Vizcaino L., Loidi L., Gude F. Determinants of serum concentrations of Lipopolysaccharide-Binding Protein (LBP) in the adult population: the role obesity. *PLoS One*. 2013;8(1):e54600. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054600>
9. Mierzchala M., Krzystek-Korpacka M., Gamian A., Durek G. Quantitative indices of dynamics in concentrations of lipopolysaccharide-binding protein (LBP) as prognostic factors in severe sepsis/septic shock patients--comparison with CRP and procalcitonin. *Clin. Biochem.* 2011;44(5-6):357-363. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2011.01.012>
10. Saran S., Gurjar M., Garg A., Sahu C., Bhaskar B. [et al.]. Uncommon non-fermenting Gram-negative bacillary bacteraemia in ICU patients. *Infect. Dis. (Lond)*. 2020;52(5):372-375. <https://doi.org/10.1080/23744235.2020.1716991>
11. Sidler J. A., Battegay M., Tschudin-Sutter S., Widmer A. F., Weisser M. Enterococci, *Clostridium difficile* and ESBL-producing bacteria: epidemiology, clinical impact and prevention in ICU patients. *Swiss Med. Wkly.* 2014;144:w14009. <https://doi.org/10.4414/smw.2014.14009>
12. Avire N. J., Whiley H., Ross K. A Review of *Streptococcus pyogenes*: Public Health Risk Factors, Prevention and Control. *Pathogens*. 2021;10(2):248. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020248>
13. Svistunov A. A., Makhnach G. K., Bunina D. V., Khorobrykh T. V., Volgin M. V. [et al.]. Administration of the immunomodulatory drug aminodihydrophthalazinedione sodium for prevention of progression pneumonia induced COVID-19. *Ter. Arkh.* 2020;92(11):65-70.

Сведения об авторах:

Суладзе Александр Георгиевич, кандидат медицинских наук, начальник Южного окружного центра по профилактике и борьбе со СПИДом; тел.: 88632346247; e-mail: hivrost@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9051-1220>

Твердохлебова Татьяна Ивановна, доктор медицинских наук, доцент, директор; тел.: 88632349183; e-mail: niimicrodouble@yandex.ru

Матузкова Анна Николаевна, врач-инфекционист поликлинического отделения Южного окружного центра по профилактике и борьбе со СПИДом; тел.: 88632346247; e-mail: matuzkova@yandex.ru

Пшеничная Наталья Юрьевна, доктор медицинских наук, профессор, руководитель международного отдела по организации оказания медицинской помощи; тел.: 84956311515; e-mail: natalia-pshenichnaya@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2570-711X>

Донцов Денис Владимирович, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры инфекционных болезней; тел.: 88632329209; e-mail: d_dontcov@mail.ru

Алешукина Анна Валентиновна, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник, заведующая лабораторией вирусологии, микробиологии и молекулярно-биологических методов исследований; тел.: 88632346247; e-mail: niimicrodouble@yandex.ru

Рындич Антонина Алексеевна, кандидат медицинских наук, сотрудник Южного окружного центра по профилактике и борьбе со СПИДом; тел.: 88632346247; e-mail: hivrost@mail.ru