

СТРУКТУРА СООБЩЕСТВА ГРИБОВ РОДА *CANDIDA* В РОТОГЛОТКЕ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

А.Д. Воропаев², Д.А. Екатеринчев², Ю.В. Несвижский², В.В. Зверев², С.С. Афанасьев¹, Е.В. Волчкова², М.С. Афанасьев², Е.В. Буданова², Р.Е. Бошьян², Е.И. Лиханская¹, Ю.Н. Урбан¹, М.Э. Сулейманова², В.А. Воропаева², Ю.С. Филина³

¹ ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия

² ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия

³ ГБУЗ Инфекционная клиническая больница № 2 г. Москвы, Москва, Россия

Резюме. В настоящее время практически отсутствует информация о структуре сообщества грибов рода *Candida*, способных становиться этиологическим фактором кандидозного поражения ВИЧ-инфицированных пациентов. Цель работы — исследование структуры сообщества грибов рода *Candida*, колонизирующих ротоглотку ВИЧ-инфицированных пациентов с клиническими проявлениями орофарингеального кандидоза. Проведено микробиологическое исследование ротоглотки 31 ВИЧ-инфицированного пациента (51,6% мужчин и 48,4% женщин) с клиническими проявлениями орофарингеального кандидоза, проходивших стационарное лечение в КИБ № 2 г. Москвы в период 2015–2017 гг. В ходе исследования мы подтвердили разнообразие видов грибов рода *Candida*, обнаруживаемых в ротоглотке ВИЧ-инфицированных пациентов. Всего было выделено 52 изолята грибов рода *Candida*, среди которых преобладали *C. albicans* (57,7%). Из non-*albicans* видов с наибольшей частотой встречались *C. glabrata* (21,1%). «Минорные» компоненты были представлены *C. tropicalis* (11,5%) и *C. krusei* (9,6%). *C. albicans* и *C. glabrata* были чувствительны к полиенам, а минорные компоненты сообщества — к Итраконазолу и Клотримазолу. Подавляющее число штаммов были резистентны к Флуконазолу. Было обнаружено, что сообщество грибов рода *Candida* имеет определенную архитектуру. Микроб может присутствовать в биотопе ротоглотки ВИЧ-инфицированных пациентов как монокультура и как ассоциация: гомогенная, состоящая из штаммов одного вида, или гетерогенная, образованная несколькими видами. У 18 пациентов (58,1%) грибы рода *Candida* были выделены в виде монокультуры, а у 13 (41,9%) — в форме ассоциаций, сформированных 34 изолятами (65,4% от общего числа), из которых 16 (30,8%) были выделены из гомогенных ассоциаций и 18 (34,6%) — из гетерогенных. Двухкомпонентных ассоциаций было 9 (69,2%), а состоявших из трех и более компонентов — 4 (30,8%). Оказалось, что архитектура рассматриваемого сообщества во многом определяется его видовым составом, что подтверждает ранее полученные данные. Наиболее часто образовывали ассоциации *C. krusei* (100%) и *C. albicans* (73,3%). При этом *C. albicans* чаще всего (72,7%)

Адрес для переписки:

Несвижский Юрий Владимирович
119991, Россия, Москва, ул. Трубетская, 8/2, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России.
Тел.: 8 (916) 889-88-75.
E-mail: nesviz@mail.ru

Contacts:

Yuri V. Nesvizhsky
119991, Russian Federation, Moscow, Trubetskaya str., 8/2, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University.
Phone: +7 (916) 889-88-75.
E-mail: nesviz@mail.ru

Для цитирования:

Воропаев А.Д., Екатеринчев Д.А., Несвижский Ю.В., Зверев В.В., Афанасьев С.С., Волчкова Е.В., Афанасьев М.С., Буданова Е.В., Бошьян Р.Е., Лиханская Е.И., Урбан Ю.Н., Сулейманова М.Э., Воропаева В.А., Филина Ю.С. Структура сообщества грибов рода *Candida* в ротоглотке ВИЧ-инфицированных пациентов // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 4. С. 737–744. doi: 10.15789/2220-7619-TSO-1450

Citation:

Voropaev A.D., Yekaterinchev D.A., Nesvizhsky Yu.V., Zverev V.V., Afanasiev S.S., Volchkova E.V., Afanasiev M.S., Budanova E.V., Boshjan R.E., Likhanskaya E.I., Urban Y.N., Suleymanova M.E., Voropaeva V.A., Filina Yu.S. The structure of the oropharyngeal genus *Candida* fungi community in HIV-infected patients // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 4, pp. 737–744. doi: 10.15789/2220-7619-TSO-1450

формировали гомогенный тип ассоциаций. Чувствительность грибов рода *Candida* к антимикотическим препаратам зависела также от архитектуры их сообщества. Так, *C. albicans* в условиях гетерогенных ассоциаций проявляла широкий спектр резистентности.

Ключевые слова: грибы рода *Candida*, структура микробного сообщества, архитектура микробного сообщества, ВИЧ-инфицированные пациенты, орофарингеальный кандидоз, антимикотикорезистентность.

THE STRUCTURE OF THE OROPHARYNGEAL GENUS *CANDIDA* FUNGI COMMUNITY IN HIV-INFECTED PATIENTS

Voropaev A.D.^b, Yekaterinchev D.A.^b, Nesvizhsky Yu.V.^b, Zverev V.V.^b, Afanasiev S.S.^a, Volchkova E.V.^b, Afanasiev M.S.^b, Budanova E.V.^b, Boshjan R.E.^b, Likhanskaya E.I.^a, Urban Y.N.^a, Suleymanova M.E.^b, Voropaeva V.A.^b, Filina Yu.S.^c

^a *Gabrichesky Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation*

^b *I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation*

^c *The Infectious Hospital No. 2 of the city of Moscow, Moscow, Russian Federation*

Abstract. At the present time virtually no data are available about the structure of the genus *Candida* fungus able to target HIV-infected patients and serve as an etiological factor of candidiasis. The aforementioned shaped the aim of the study: to examine structure of the *Candida* genus community colonizing the oropharynx in HIV-infected patients with clinical manifestations of oropharyngeal candidiasis. There was conducted a microbiological study of the oropharynx in 31 HIV-infected patients (51.6% males and 48.4% females) with clinical manifestations of oropharyngeal candidiasis treated at Moscow Infectious Clinic No. 2 inpatient department in the years 2015–2017. We confirmed the diversity of the oropharyngeal *Candida* spp. community found in HIV-infected patients. Total 52 isolates of the genus *Candida* were isolated. *C. albicans* dominated in 57.7% cases, whereas *C. glabrata* prevailed (21.1%) among non-albicans species. Minor components were represented by *C. tropicalis* (11.5%) and *C. krusei* (9.6%). *C. albicans* and *C. glabrata* were sensitive to polyenes, whereas minor community components — to itroconazole and clotrimazole. The vast majority of fungal strains were resistant to fluconazole. The genus *Candida* community reveals a unique architecture so that any member may exist in the oropharyngeal biotope of HIV-infected patients as a monoculture or in association: homogeneous, consisting of a single species strains, or heterogeneous, formed by several species. *Candida* fungi in 18 patients (58.1%) were isolated as a monoculture, whereas in 13 (41.9%) subjects — in association consisting of 34 isolates (65.4% of total number), of which 16 (30.8%) and 18 (34.6%) were isolated from homogeneous and heterogeneous associations, respectively. There were identified 9 two-component associations (69.2%), and 4 (30.8%) consisting of three or more components. It turned out that pattern of the examined community was mainly determined by species composition that agrees with previous data. Most common associations were presented by *C. krusei* (100%) and *C. albicans* (73.3%). Upon that, most often *C. albicans* (72.7%) formed a homogeneous type of associations. Sensitivity of *Candida* fungi to antimycotic drugs also depended on the architecture of related community. *C. albicans* isolates in heterogeneous associations revealed a wide range of resistance acquired by contact with non-albicans species.

Key words: fungi of the genus *Candida*, structure of the microbial community, architectonics of the microbial community, HIV-infected patients, oropharyngeal candidiasis, antimycotic resistance.

Введение

Кандидозное поражение тканей и органов при ВИЧ-инфекции, к которому относится орофарингеальный кандидоз, — закономерный этап развития прогрессирующего иммунодефицитного состояния, связанного с поражением системы общего и местного (локального) иммунитета. Кандидоз обусловлен массивным разрастанием популяции грибов рода *Candida* на поверхности слизистых ротоглотки, что становится заметно невооруженным глазом [15]. Сегодня известно о разнообразии видового спектра грибов рода *Candida*, которые могут одновременно поразить организм ВИЧ-инфицированного пациента [5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 21,

22]. Однако практически отсутствует информация о структуре сообщества этих грибов у данного контингента пациентов.

Ранее было показано, что микробиом желудочно-кишечного тракта имеет определенную структурную упорядоченность [1]. В частности, большинство микробов, как в пристеночной области, так и в фекалиях, формируют устойчивые ассоциации, компонентный состав которых зависит от их анатомической локализации. В то же время сведений об архитектуре сообщества грибов рода *Candida*, обнаруживаемых у ВИЧ-инфицированных пациентов с орофарингеальным кандидозом, немного, хотя известно, что данные грибы могут выделяться в виде коизолятов [10, 19].

Вышеуказанное определило цель настоящей работы: исследование структуры сообщества грибов рода *Candida*, колонизирующих ротоглотку ВИЧ-инфицированных пациентов с клиническими проявлениями орофарингеального кандидоза.

Полученные данные могут иметь важное клиническое значение, в том числе для выбора адекватной антимикотической терапии.

Материалы и методы

Проведено микробиологическое исследование ротоглотки 31 ВИЧ-инфицированного пациента с клиническими проявлениями орофарингеального кандидоза, находившегося на стационарном лечении в КИБ № 2 г. Москвы в период 2015–2017 гг. (13 человек в 2015 г., 18 человек в 2017 г.), из них 51,6% мужчин и 48,4% женщин (медиана возраста составила 38 лет). Возраст пациентов колебался от 20 до 69 лет, 65% составили лица от 20 до 40 лет, как среди женщин, так и среди мужчин. Срок наблюдения за пациентами, к моменту обследования составил в среднем 6 лет с колебаниями от 1 года до 18 лет.

У всех обследованных лиц было получено информированное согласие на использование данных лабораторных анализов в научных целях. Все исследования проведены с согласия Комитета по этике при ГБОУ ВПО ЮУГМУ Минздрава России (протокол № 4 от 25.04.2014) на основании требований Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» от июня 1964 г.

ВИЧ-инфекция у всех пациентов была диагностирована на основании клинико-эпидемиологических данных и подтверждена обнаружением специфических антител/антигенов методом иммуноферментного анализа и лизантного иммунного блоттинга (ИБ) к белкам вируса иммунодефицита человека (Profiblot 48 [TECAN, Швейцария], AutoBlot 3000 [Bio-Rad, США]). Стадия ВИЧ-инфекции устанавливалась в соответствии с клинической классификацией ВИЧ-инфекции по Покровскому В.И. (2001) в модификации 2006 г. [3]. У подавляющего большинства пациентов (77,4%) диагностирована стадия 4В, у 9,7% — 4А, у 9,7% — 4Б и у 3,2% — 3 (субклиническая).

Всем пациентам, включенным в исследование, было проведено стандартное клинико-лабораторное обследование, в том числе определение маркеров вирусных гепатитов и ВИЧ-инфекции, уровня РНК ВИЧ в сыворотке кро-

ви и показателей иммунного статуса, включая количество CD4 клеток/мкл, CD4%, CD8 клеток/мкл, CD8%, CD4/8. Среднее количество CD4⁺-лимфоцитов на момент включения пациентов в исследование составило 265 клеток/мкл, из них данный показатель был менее 350 клеток/мкл у 83,9% лиц, менее 50 клеток/мкл — у 32,2%. Уровень иммунорегуляторного индекса у всех обследованных пациентов CD4/8 был меньше 1,5, что является показателем высокого риска возникновения оппортунистических инфекций.

Для выделения культур *Candida* spp. образцы мазков из ротоглотки, полученные у ВИЧ-инфицированных пациентов, засевали на кровяной агар при помощи тампона, материалы инкубировались в термостате 24 ч при температуре 37°C. Затем производили пересев на селективную среду Сабуро № 2 при помощи микробиологической петли и инкубировали в термостате 24 ч при температуре 37°C. Полученные изоляты культивировались на хромогенном агаре для грибов *Candida* (HiMedia, Индия) в термостате 24 ч при температуре 37°C, а затем производилась ориентировочная дифференцировка грибов по цвету колоний согласно инструкции к дифференциальной среде.

Идентификация проводилась путем микроскопии мазков из культур, окрашенных по Граму, по биохимическим свойствам с помощью коммерческих тест-систем (Remel, Erba Lachema, Чехия) и мультиплексной ПЦР с видоспецифическими праймерами (АмплиСенс, Россия). Выделенные чистые культуры *Candida* spp. хранили на скошенном агаре Сабуро в пробирках при температуре 4–6°C.

Для экстракции ДНК использовали наборы реагентов, рекомендованные ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, в соответствии с инструкцией. Экстракцию ДНК из каждого клинического образца проводили в присутствии внутреннего контрольного образца — ВКО-FL. При использовании форм выпуска набора 4–7 применяли входящий в набор комплект реагентов «ДНК-сорб-АМ». Амплификацию с флуоресцентной детекцией проводили в режиме реального времени с помощью комплекта реагентов «ПЦР-комплект» (вариант FRT-100 F).

Подробная информация о процедуре проведения ПЦР-исследования в зависимости от типа используемого оборудования, а также по анализу и интерпретации изложена в методических рекомендациях ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора «Исследование клинического материала на наличие ДНК воз-

будителей ИППП и других инфекций органов репродукции методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией» [2].

Чувствительность к антимикотическим препаратам определяли стандартным диско-диффузионным методом. Использовали бумажные диски (Oxoid, Великобритания) диаметром 6 мм, пропитанные антимикотическими препаратами, и плотную питательную среду Мюллера–Хинтон, содержащую 2% глюкозы и 0,5 мкг/мл красителя метиленового синего. Для приготовления инокулюма использовали суточные культуры исследуемых *Candida* spp. Мутность инокулюма соответствовала 0,5 ед. по Мак-Фарланду (1×10^6 – 5×10^6 клеток/мл).

Посев инокулюма проводили не позднее чем через 15 минут с момента его приготовления. Стерильный хлопковый тампон несколько раз погружали в инокулюм, затем переносили в чашку Петри со средой Мюллера–Хинтон и растирали по всей поверхности среды, постепенно вращая тампон для получения роста «газоном» и полного впитывания инокулюма в среду.

Диски с антимикотическими препаратами наносили стерильным пинцетом на поверхность засеянной чашки, слегка придавливая для получения наибольшей площади соприкосновения со средой. Инкубировали при температуре 35°C 18–24 ч. Учет результатов проводили по диаметру зоны задержки роста.

Результаты исследования подвергали стандартной статистической обработке с помощью программы Statistica 6.0. Использовали непараметрические методы: Манна–Уитни и хи-квадрат Пирсона. Критерием статистической достоверности получаемых данных считали общепринятую в медицине величину $p < 0,05$ [4].

Результаты

Из ротоглотки ВИЧ-инфицированных пациентов с клиническими проявлениями оральнo-фарингеального кандидоза было выделено 52 изолята грибов рода *Candida*, среди которых доминирующее положение занимали *C. albicans* (57,7%) (табл. 1). Из non-albicans видов с наибольшей частотой встречалась *C. glabrata* (50,0%, или 21,1% от общего числа). Минорные компоненты были представлены *C. tropicalis* (27,3%, или 11,5% от общего числа) и *C. krusei* (22,7%, или 9,6% от общего числа). Корреляционный анализ показал, что *C. albicans* устойчиво конкурировала в биотопе ротоглотки с *C. glabrata* ($r = -0,573$) и совокупностью минорных компонентов ($r = 0,829$).

У 18 пациентов (58,1%) грибы рода *Candida* были выделены в виде монокультуры, а у 13 (41,9%) — в форме ассоциаций. Последние были сформированы 34 изолятами (65,4% от общего числа), из которых 16 (30,8%) были выделены

Таблица 1. Частота выявления и видовой спектр грибов рода *Candida* в ротоглотке ВИЧ-инфицированных пациентов

Table 1. Frequency of detection and species spectrum of *Candida* fungi in oropharyngeal of HIV-infected patients

Виды грибов Fungi species	Всего Total	Монокультура Monoculture		Ассоциации Association					
				Всего Total		Гомогенные Homogeneous		Гетерогенные Heterogeneous	
		абс. abs.	%	абс. abs.	%	абс. abs.	%	абс. abs.	%
<i>C. albicans</i>	30	8	26,7	22	73,3	16	53,3	6	20,0
<i>C. glabrata</i>	11	7	63,6	4	36,4	0	0,0	4	36,4
<i>C. tropicalis</i>	6	3	50,0	3	50,0	0	0,0	3	50,0
<i>C. krusei</i>	5	0	0,0	5	100,0	0	0,0	5	100,0
Итого Total	52	18	34,6	34	65,4	16	30,8	18	34,6
В том числе <i>C. non-albicans</i> Including <i>C. non-albicans</i>	22	10	45,5	12	54,5	0	0,0	12	54,5
В том числе минорные компоненты сообщества Including minor components of the community	11	3	27,3	8	72,7	0	0,0	8	72,7

из гомогенных ассоциаций и 18 (34,6%) — гетерогенных. Двухкомпонентных ассоциаций было 9 (69,2%), а состоявших из трех и более компонентов — 4 (30,8%).

В целом сообщества *C. albicans*, *C. glabrata* и *C. krusei* существенно различались между собой по архитектуре ($p < 0,01$). Выделенные виды грибов рода *Candida* с разной частотой образовывали ассоциации. Наиболее выражено это было в сообществе *C. krusei* (100%) и *C. albicans* (73,3%), что существенно отличало их от *C. glabrata* (36,4%, $p < 0,05$). В то же время *C. tropicalis* практически не отличалась по данной характеристике от остальных видов.

Анализ характера ассоциаций показал, что *C. albicans* чаще всего образуют ассоциации гомогенного типа (72,7%). Остальные виды грибов формировали только гетерогенные ассоциации, что существенно отличало сообщество *C. non-albicans* от *C. albicans* ($p < 0,001$).

Выделенные из ротоглотки ВИЧ-инфицированных пациентов грибы рода *Candida* были исследованы на чувствительность к основным группам антимикотических препаратов (табл. 2). В соответствии с полученными данными наиболее эффективными оказались препараты полиенового ряда, в том чис-

ле Нистатин (90,4%), наименьшей эффективностью отличались триазолы, в том числе Флуконазол (23,1%). Детальный анализ выявил межвидовые различия. Так, Нистатин был наиболее эффективен в отношении *C. albicans* и *C. glabrata*. *C. tropicalis* оказались чрезвычайно чувствительны к Итраконазолу (100%), а *C. krusei* — к Итраконазолу и Клотримазолу (по 80,0%). Резистентность к Флуконазолу наиболее часто регистрировалась у *C. albicans* (23,3%) и *C. tropicalis* (40,0%). *C. glabrata* были слабо чувствительны к Итраконазолу (9,1%), а *C. krusei* — к Кетоконазолу и Флуконазолу (по 40,0%). Тем не менее среди выделенных видов грибов рода *Candida* мы не обнаружили изолятов, полирезистентных к препаратам азолового ряда или даже панрезистентных. В целом исследованные изоляты, в том числе группа *C. non-albicans*, статистически не различались по спектру чувствительности к тестируемым антимикотическим препаратам. В то же время минорные компоненты изучаемого сообщества в совокупности были более чувствительны к Итраконазолу (90,9%).

Анализ зависимости чувствительности к антимикотическим препаратам от архитектуры сообщества грибов рода *Candida* обнаружил опре-

Таблица 2. Эффективность антимикотических препаратов различных фармакологических групп в отношении *Candida* spp., выделенных из ротоглотки

Table 2. Effectiveness of antimycotic medicines of different pharmacological groups in relation to *Candida* spp., isolated from the oropharyngea

Виды грибов Fungi species	Имидазолы Imidazole				Триазолы Triazole				Полиены Polyenes			
	Кетоконазол Ketoconazole		Клотримазол Clotrimazole		Итраконазол Itraconazole		Флуконазол Fluconazole		Нистатин Nystatin		Амфотерицин В Amphotericin B	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
<i>C. albicans</i>	16	53,3	18	60,0	10	33,3	7	23,3	29	96,7	24	80,0
<i>C. glabrata</i>	6	54,5	4	36,4	1	9,1	3	27,3	11	100,0	5	45,5
<i>C. tropicalis</i>	4	66,7	5	83,3	6	100,0	0	0,0	4	66,7	4	66,7
<i>C. krusei</i>	2	40,0	4	80,0	4	80,0	2	40,0	3	60,0	3	60,0
Итого Total	28	53,8	31	59,6	21	40,4	12	23,1	47	90,4	36	69,2
В том числе <i>C. non-albicans</i> Including <i>C. non-albicans</i>	12	54,5	13	59,1	11	50,0	5	22,7	18	81,8	12	54,5
В том числе минорные компоненты сообщества Including minor components of the community	6	54,5	9	81,8	10	90,9	2	18,2	7	63,6	7	63,6

деленные межвидовые различия. Так, *C. albicans* во всех формах организации сообщества были чувствительны к полиенам, и, в частности, к Нистатину, а резистентны к Флуконазолу. При этом *C. albicans*, выделенные из гомогенных ассоциаций, проявили минимальную чувствительность к Флуконазолу, а из гетерогенных — сразу к трем препаратам: Клотримазолу, Итраконазолу и Флуконазолу.

Все изоляты *C. glabrata* были также чувствительны к Нистатину. Но их монокультуры были чрезвычайно устойчивы к Итраконазолу и Амфотерицину В, а изоляты, выделенные из ассоциаций, — к Флуконазолу и Клотримазолу. Как монокультуры, так и образующие ассоциации *C. tropicalis* были в 100% случаев резистентны к Флуконазолу, но чувствительны к Итраконазолу. Помимо этого, все монокультуры *C. tropicalis* угнетались имидазолами.

Сравнение монокультур *C. albicans* и *C. glabrata* показало их существенное различие по чувствительности к амфотерицину В (соответственно 100 и 28,6%, $p < 0,01$). Выделенные из гетерогенных ассоциаций изоляты *C. albicans* и *C. krusei* значительно различались по чувствительности к Клотримазолу и Итраконазолу (в обоих случаях соответственно 16,7 и 80,0%, $p < 0,01$).

Обсуждение

В ходе исследования микотической части микробиоты ротоглотки ВИЧ-инфицированных пациентов с клиническими проявлениями орофарингеального кандидоза мы подтвердили разнообразие видов грибов рода *Candida*, вовлеченных в патогенез заболевания, и доминирующую позицию *C. albicans* [5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 21, 22]. При этом было обнаружено, что сообщество грибов данного рода имеет разнообразную архитектуру. Микроб может присутствовать в биотопе ротоглотки ВИЧ-инфицированных пациентов как монокультура или ассоциация коизолятов, что согласуется с ранее полученными данными [10, 19] и подтверждает ранее выдвинутый тезис об определенной структурной организации микробных сообществ, населяющих биотопы тела человека [1]. Мы показали, что указанные ассоциации могут быть не только гетерогенными, состоящие из грибов различных видов, но и гомогенными, включающими только один вид. Кроме того, оказалось, что архитектура рассматриваемого сообщества во многом определяется его видовым составом. Наибольшую склонность к формированию ассоциаций имели *C. albicans*

и *C. krusei*. При этом именно *C. albicans* чаще образует гомогенный тип.

В ходе исследования мы установили видовую зависимость чувствительности грибов рода *Candida* к антимикотическим препаратам. При этом явным фаворитом по эффективности в отношении *C. albicans* и *C. glabrata* были полиены, в том числе Нистатин, а для вторичных компонентов сообщества — Клотримазол и Итраконазол. Бесспорно наилучшим препаратом для всех исследованных изолятов оказался Флуконазол. Факт распространения приобретенной устойчивости к азолам, особенно в популяции ВИЧ-инфицированных пациентов, отмечается многими исследователями [6, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17, 18, 20, 21].

Примечательно, что архитектура сообщества грибов рода *Candida* в значительной степени определяла чувствительность к антимикотическим препаратам. Так, *C. albicans* в условиях гетерогенных ассоциаций проявляет широкий спектр резистентности. Для *C. glabrata* этот эффект был менее выражен.

Таким образом, можно сделать следующие выводы:

1. грибы рода *Candida* присутствуют в биотопе ротоглотки ВИЧ-инфицированных пациентов с симптомами орофарингеального кандидоза в виде монокультуры или ассоциаций: гомогенных или гетерогенных;
2. наиболее часто образуют ассоциации *C. albicans* и *C. krusei*, при этом *C. albicans* чаще формирует ассоциации гомогенного типа;
3. чувствительность грибов рода *Candida* к антимикотическим препаратам зависит от архитектуры сообщества;
4. изоляты *C. albicans*, выделенные из гетерогенных ассоциаций, обладают мультирезистентностью к препаратам азолового ряда.

Установленные факты еще раз указывают на необходимость тщательного подбора антимикотических средств для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов. Кроме того, обнаруженная в ходе исследования гетерогенность грибов рода *Candida*, высеваемых из ротоглотки ВИЧ-инфицированных пациентов, по видовому составу, структуре сообщества и чувствительности к антимикотическим препаратам позволила нам предположить, что орофарингеальный кандидоз нельзя рассматривать как результат внутрибольничного инфицирования, которое должно вести к закономерной синхронизации характеристик исследуемого микробного сообщества в популяции пациентов, а грибы рода *Candida* не несут эпидемической опасности.

Список литературы/References

1. Богданова Е.А., Несвижский Ю.В. Архитектоника микробного сообщества желудочно-кишечного тракта // Вестник РАМН. 2010. № 11. С. 38–42. [Bogdanova E.A., Nesvizhsky Yu.V. Architectonics of gastrointestinal microbial community. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2010, no. 11, pp. 38–42. (In Russ.)] doi: 10.18821/1560-9529-2017-22-6-311-319
2. Исследование клинического материала на наличие ДНК возбудителей ИППП и других инфекций органов репродукции методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией: методические рекомендации. М.: ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, 2006. 138 с. [Examining of clinical material for DNA of sexually transmitted infections and other reproductive organs infections pathogens by hybrid fluorometric PCR: methodological recommendations. Moscow: Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor, 2006. 138 p. (In Russ.)]
3. Инструкция по заполнению годовой формы федерального государственного статистического наблюдения № 61 «Сведения о контингентах больных ВИЧ-инфекцией»: приложение к Приказу Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 17 марта 2006 г. № 166. [Completion guidelines for the annual federal state statistical survey form No. 61 “Data on HIV-infected patients cohorts”: a supplement for Order No. 166 on 17.03.2006 of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation. (In Russ.)] URL: <https://base.garant.ru/12145892> (15.11.2020)
4. Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. М.: Медицина, 1975. 295 с. [Urbach V.Yu. Statistical analysis in biological and medical research. Moscow: Medicine, 1975. 295 p. (In Russ.)]
5. Шевяков М.А. Антибиотик-ассоциированная диарея и кандидоз кишечника: возможности лечения и профилактики // Антибиотики и химиотерапия. 2004. Т. 49, № 10. С. 26–29. [Shevyakov M.A. Antibiotic-associated diarrhea and candidiasis of an intestine: possibilities of treatment and prophylaxis. *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*, 2004, vol. 49, no. 10, pp. 26–29. (In Russ.)]
6. Ambe N.F., Longdoh N.A., Tebid P., Bobga T.P., Nkfusai C.N., Ngwa S.B., Nsai F.S., Cumber S.N. The prevalence, risk factors and antifungal sensitivity pattern of oral candidiasis in HIV/AIDS patients in Kumba District Hospital, South West Region, Cameroon. *Pan. Afr. Med. J.*, 2020, vol. 36: 23. doi: 10.11604/pamj.2020.36.23.18202
7. Awoyeni A., Olaniran O., Odetoyin B., Hassan-Olajokun R., Olopade B., Afolayan D., Adekunle O. Isolation and evaluation of *Candida* species and their association with CD4⁺ T cells counts in HIV patients with diarrhea. *Afr. Health Sci.*, 2017, vol. 17, no. 2, pp. 322–329. doi: 10.4314/ahs.v17i2.5
8. Berkow E.L., Lockhart S.R. Fluconazole resistance in *Candida* species: a current perspective. *Infect. Drug Resist.*, 2017, no. 10, pp. 237–245. doi: 10.2147/IDR.S118892
9. Bhattacharya S., Sae-Tia S., Fries B.C. Candidiasis and mechanisms of antifungal resistance. *Antibiotics (Basel)*, 2020, vol. 9, no. 6: 312. doi: 10.3390/antibiotics9060312
10. Clark-Ordóñez I., Callejas-Negrete O.A., Aréchiga-Carvajal E.T., Mouriño-Pérez R.R. *Candida* species diversity and antifungal susceptibility patterns in oral samples of HIV/AIDS patients in Baja California, Mexico. *Med. Mycol.*, 2017, vol. 55, no. 3, pp. 285–294. doi: 10.1093/mmy/myw069
11. Cleveland A.A., Farley M.M., Harrison L.H., Stein B., Hollick R., Lockhart S.R., Magill S.S., Derado G., Park B.J., Chiller T.M. Changes in incidence and antifungal drug resistance in candidemia: results from population-based laboratory surveillance in Atlanta and Baltimore, 2008–2011. *Clin. Infect. Dis.*, 2012, vol. 55, no. 10, pp. 1352–1361. doi: 10.1093/cid/cis697
12. Cleveland A.A., Harrison L.H., Farley M.M., Hollick R., Stein B., Chiller T.M., Lockhart S.R., Park B.J. Declining incidence of candidemia and the shifting epidemiology of *Candida* resistance in two US metropolitan areas, 2008–2013: results from population-based surveillance. *PLoS One*, 2015, vol. 10, no. 3: e0120452. doi: 10.1371/journal.pone.0120452
13. Enoch D.A., Yang H., Aliyu S.H., Micallef C. The changing epidemiology of invasive fungal infections. *Methods Mol. Biol.*, 2017, no. 1508, pp. 17–65. doi: 10.1007/978-1-4939-6515-1_2
14. Goulart L.S., Souza W.W.R., Vieira C.A., Lima J.S., Olinda R.A., Araújo C. Oral colonization by *Candida* species in HIV-positive patients: association and antifungal susceptibility study. *Einstein (Sao Paulo)*, 2018, vol. 16, no. 3: eAO4224. doi: 10.1590/S1679-45082018AO4224
15. Gow N.A., Brown A.J., Odds F.C. Fungal morphogenesis and host invasion. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2002, vol. 5, pp. 366–371. doi: 10.1016/S1369-5274(02)00338-7
16. Hager C.L., Ghannoum M.A. The mycobiome in HIV. *Curr. Opin. HIV AIDS*, 2018, vol. 1, no. 13, pp. 69–72. doi: 10.1097/COH.0000000000000432
17. Jung I.Y., Jeong S.J., Kim Y.K., Kim H.Y., Song Y.G., Kim J.M., Choi J.Y. A multicenter retrospective analysis of the antifungal susceptibility patterns of *Candida* species and the predictive factors of mortality in South Korean patients with candidemia. *Medicine (Baltimore)*, 2020, vol. 99, no. 11: e19494. doi: 10.1097/MD.00000000000019494
18. Lamichhane K., Adhikari N., Bastola A., Devkota L., Bhandari P., Dhungel B., Thapa Shrestha U., Adhikari B., Banjara M.R., Rijal K.R., Ghimire P. Biofilm-producing *Candida* species causing oropharyngeal candidiasis in HIV patients attending Sukraraj Tropical and Infectious Diseases Hospital in Kathmandu, Nepal. *HIV AIDS (Auckl.)*, 2020, no. 12, pp. 211–220. doi: 10.2147/HIV.S255698
19. Olson M.L., Jayaraman A., Kao K.C. Relative ABUNDANCES of *Candida albicans* and *Candida glabrata* in in vitro coculture biofilms impact biofilm structure and formation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2018, vol. 84, no. 8: e02769-17. doi: 10.1128/AEM.02769-17
20. Osaigbovo I.I., Lofor P.V., Oladele R.O. Fluconazole resistance among oral *Candida* isolates from people living with HIV/AIDS in a Nigerian Tertiary Hospital. *J. Fungi (Basel)*, 2017, vol. 3, no. 4: 69. doi: 10.3390/jof3040069

21. Pfaller M.A., Rhomberg P.R., Messer S.A., Jones R.N., Castanheira M. Isavuconazole, micafungin, and 8 comparator antifungal agents' susceptibility profiles for common and uncommon opportunistic fungi collected in 2013: temporal analysis of antifungal drug resistance using CLSI species-specific clinical breakpoints and proposed epidemiological cutoff values. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 2015, vol. 82, no. 4, pp. 303–313. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2015.04.008
22. Spalanzani R.N., Mattos K., Marques L.I., Barros P.F.D., Pereira P.I.P., Paniago A.M.M., Mendes R.P., Chang M.R. Clinical and laboratorial features of oral candidiasis in HIV-positive patients. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 2018, vol. 51, no. 3, pp. 352–356. doi: 10.1590/0037-8682-0241-2017

Авторы:

Воропаев А.Д., аспирант кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия;

Екатеринчев Д.А., аспирант кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия;

Несвижский Ю.В., д.м.н., профессор, профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия;

Зверев В.В., академик РАН, д.б.н., профессор, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия;

Афанасьев С.С., д.м.н., профессор, главный научный сотрудник ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;

Волчкова Е.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой инфекционных болезней ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия;

Афанасьев М.С., д.м.н., профессор кафедры клинической аллергологии и иммунологии ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия;

Буданова Е.В., к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия;

Бошьян Р.Е., к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия;

Лиханская Е.И., к.б.н., руководитель лаборатории микробиологии и профилактики кишечных инфекций ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;

Урбан Ю.Н., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии ФБУН Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;

Сулейманова М.Э., студентка ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия;

Воропаева В.А., студентка ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия;

Филина Ю.С., к.м.н., врач-инфекционист ГБУЗ Инфекционная клиническая больница № 2 г. Москвы, Москва, Россия.

Authors:

Voropaev A.D., PhD Student, Department of Microbiology, Virology and Immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation;

Yekaterinchev D.A., PhD Student, Department of Microbiology, Virology and Immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation;

Nesvizhsky Yu.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Professor of the Department of Microbiology, Virology and Immunology I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation;

Zverev V.V., RAS Full Member, PhD, MD (Biology), Professor, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation;

Afanasiev S.S., PhD, MD (Medicine), Professor, Head Researcher, Gabrichevsky Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

Volchkova E.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Infectious Diseases, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation;

Afanasiev M.S., PhD, MD (Medicine), Professor of the Department of Clinical Allergology and Immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation;

Budanova E.V., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Microbiology, Virology and Immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation;

Boshjan R.E., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Microbiology, Virology and Immunology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation;

Likhanskaya E.I., PhD (Biology), Head of the Laboratory of Microbiology and Prophylaxis of Intestinal Infections, Gabrichevsky Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

Urban Y.N., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Clinical Microbiology and Biotechnology, Gabrichevsky Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

Suleymanova M.E., Student, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation;

Voropaeva V.A., Student, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation;

Filina Yu.S., PhD (Medicine), Infectologist, The Infectious Hospital No. 2 of the city of Moscow, Moscow, Russian Federation.

Поступила в редакцию 08.04.2020
Отправлена на доработку 23.05.2020
Принята к печати 15.07.2021

Received 08.04.2020
Revision received 23.05.2020
Accepted 15.07.2021