

Уфимцева М.А.¹, Сабитов А.У.¹, Савченко Н.В.¹, Подымова А.С.¹,
Ворошилина Е.С.¹, Бочкарёв Ю.М.¹, Гордон Е.О.²

DOI 10.25694/URMJ.2020.04.14

Особенности микробиоты кожи у ВИЧ-инфицированных детей

¹ ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г.Екатеринбург; ² ГБУЗ СО «Свердловский областной центр профилактики и борьбы со СПИД», г. Екатеринбург

Ufimtseva M.A., Sabitov A.U., Savchenko N.V., Podymova A.S., Voroshilina E.S., Bochkarev Yu.M., Gordon E.A.

Skin microbiota in HIV-positive children

Резюме

На 01.07.2019 года в Свердловской области наблюдаются 1 000 детей с ВИЧ-инфекцией в возрасте от 0 до 18 лет. Исследования, посвящённые изучению распространенности дерматозов у ВИЧ-инфицированных детей, указывают на высокий уровень встречаемости вирусных, грибковых и бактериальных инфекций кожи, по сравнению с ВИЧ-отрицательными детьми. Глобальный проект Human Microbiome Project обосновал уникальность микробиома человека, и свидетельствует о том, что в будущих исследованиях необходимо изучить влияние иммунитета человека на формирование моделей разнообразия микробиома. Целью данного исследования явилась оценка частоты встречаемости *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus spp.*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis/Candida parapsilosis* в составе микробиоты кожи у ВИЧ-инфицированных детей методом полимеразной цепной реакции. Актуальность. На диспансерном наблюдении в РФ состоит более 11 тысяч ВИЧ-инфицированных детей и подростков. Одной из проблем, снижающих их качество жизни, является возникновение инфекций кожи и слизистых оболочек. При этом, нормальная микрофлора кожи играет важную роль в поддержании гомеостаза и местного иммунитета. Описание. Исследована структура микробиоты кожи у ВИЧ-инфицированных детей в сравнении с микробиотой ВИЧ-отрицательных детей для оценки потенциального влияния степени иммунодефицита на микробную обсеменённость. Изучены бактериальные и грибковые компоненты микробиоты с участков здоровой кожи. Заключение. В структуре микробиоты ВИЧ-положительных детей отмечается повышенное разнообразие грибов видов *Candida non-albicans* (*Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis/Candida parapsilosis*) в сочетании с *S.aureus*, что может быть причиной инфекционных дерматозов, несмотря на неопределяемую вирусную нагрузку и отсутствие иммунодефицита

Ключевые слова: микробиота кожи, ВИЧ, дети, ПЦР в реальном времени

Для цитирования: Уфимцева М.А., Сабитов А.У., Савченко Н.В., Ворошилина Е.С., Бочкарёв Ю.М., Гордон Е.О.

Особенности микробиоты кожи у ВИЧ-инфицированных детей, Уральский медицинский журнал, №04 (187) 2020, с. 94—97, DOI 10.25694/URMJ.2020.04.14

Summary

On 01.07.2019, more than 1,000 children were diagnosed with HIV infection in the Sverdlovsk region. Studies on the prevalence of dermatoses in HIV-positive children indicate a high incidence of viral, fungal and bacterial infections of the skin, compared with HIV-negative children. The skin is the environment in which a diverse community of microorganisms (microbiota) lives. The Global Human Microbiome Project proved the uniqueness of the human microbiome, and suggests to study the effect of human immunity on the formation of microbiome diversity models. The purpose of this study was to assess the incidence of *S. aureus*, *S. spp.*, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis / C. parapsilosis* as a part of skin microbiota in HIV-positive children by polymerase chain reaction. Relevance. According to departmental monitoring for 2018, more than 11 thousand HIV-infected children and adolescents are at dispensary observation. One of the problems that reduce their quality of life is the occurrence of infections of the skin and mucous membranes. At the same time, normal skin microflora plays an important role in maintaining homeostasis and local immunity. Most skin manifestations of HIV infection in children occurs regardless of the degree of immunodeficiency and viral load. Description. The structure of skin microbiota in 49 HIV-positive children was studied

in comparison with the microbiota of HIV-negative children to assess the potential effect of the degree of immunodeficiency on microbial contamination. The bacterial and fungal components of microbiota from areas of healthy skin. Conclusion. An increased variety of *Candida non-albicans* species in combination with *S.aureus* is noted, which suggests that the skin is a reservoir for the recurring fungal and bacterial infections observed in HIV-positive children

Key words: skin microbiota, HIV, children, RT-PCR

For citation: Ufimtseva M.A., Sabitov A.U., Savchenko N.V., Podymova A.S., Voroshilina E.S., Bochkarev Yu.M., Gordon E.A., Skin microbiota in HIV-positive children, Ural Medical Journal, №04 (187) 2020, p. 94—97, DOI 10.25694/URMJ.2020.04.14

Введение

К началу 2018 года в Российской Федерации (РФ) зарегистрировано более 10 тысяч ВИЧ-инфицированных детей. За весь период наблюдения к концу декабря 2018 г. в РФ родилось 191 882 детей от ВИЧ-инфицированных матерей, у 10 822 из них была подтверждена ВИЧ-инфекция. На 01.07.2019 года в Свердловской области у 1 000 детей установлен диагноз ВИЧ-инфекции (Сборник информационный материалов ГБУЗ СО «ОЦ СПИД»). Исследования, посвященные изучению распространенности дерматозов у ВИЧ-инфицированных детей, указывают на высокий уровень встречаемости вирусных, грибковых и бактериальных инфекций кожи, по сравнению с ВИЧ-отрицательными детьми [1]. Dias et al. (2012) определили профиль дерматозов у детей, живущих с ВИЧ в Fundação de Medicina Tropical do Amazonas, сделав вывод о том, что у детей с ВИЧ/СПИД наблюдается больше неинфекционных дерматозов, чем в популяции здоровых детей. По данным авторов, наиболее часто регистрировался атопический дерматит (22,9%) [2].

В коже вырабатывается широкий спектр гормонов, нейротрансмиттеров и цитокинов, которые могут потенциально влиять на состояния всего организма. Микробиота кожи играет неотъемлемую роль в дифференцировке кератиноцитов и в системе местного иммунитета кожи человека. Примером этого могут быть данные, подтверждающие изменение состояния микробиоты у больных сахарным диабетом, у лиц, получающих лучевую, системную глюкокортикостероидную, иммуносупрессивную и цитостатическую терапию [3], а также влияние дисбиоза микробиома кожи, наблюдаемого у детей с первичным иммунодефицитом, на увеличение числа рецидивов кожных заболеваний [4]. Глобальный проект Human Microbiome Project обосновал уникальность микробиома человека, и свидетельствует о том, что в будущих исследованиях необходимо изучить зависимость микробного состава от среды обитания, вклад микробиома в развитие заболеваний человека, а также влияние иммунитета и генетики человека на формирование моделей разнообразия микробиома [5].

По данным обзора C Navarrete-Dechent et al (2015) основную группу бактерий, вызывающих кожные инфекции, составляют грамположительные виды; из них основным является *Staphylococcus*. Уровень заболеваемости инфекциями кожи, вызванными бактериями *Staphylococcus* среди ВИЧ-инфицированных пациентов составляет 8,2% по сравнению с 3% в популяции лиц без ВИЧ [6]. С начала эпидемии ВИЧ-инфекции грибы рода

Candida были определены в качестве маркера иммунной недостаточности [7]. Кроме того, это самая частая оппортунистическая инфекция. Обычно диагностируется *Candida albicans*, также встречаются *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* и *C. parapsilosis* [8].

Как отмечают Е.Р. Аравийская и др. (2016), для изучения микробиома кожи использовался трудоёмкий культуральный метод, который, к тому же, занимал большое количество времени. На данном этапе развития науки представляется возможным использование более точных генетических методов диагностики, обладающих высокой чувствительностью и специфичностью идентификации инфекционного агента, а также в несколько раз сокращающих сроки получения результата, по сравнению с культуральным методом [9].

Целью данного исследования явилась оценка частоты встречаемости *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus spp.*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis/Candida parapsilosis* в составе микробиоты кожи у ВИЧ-инфицированных детей методом полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в реальном времени.

Материалы и методы

Проведено клинико-лабораторное обследование 49 ВИЧ-инфицированных детей, из них 18 мальчиков и 31 девочка в возрасте от 3 месяцев до 17 лет 6 месяцев (7±5,1 лет), находящихся на диспансерном наблюдении в ГБУЗ СО «ОЦ СПИД».

В представленной выборке у 76% детей наблюдалось отсутствие иммунодефицита, при котором количество CD4-лимфоцитов являлось равным нормальным значениям относительно возраста ребенка; умеренный иммунодефицит наблюдался в 5% случаев, тяжёлый иммунодефицит установлен у 18% детей. Из всех пациентов постоянно принимали антиретровирусную терапию 89%, неопределяемая вирусная нагрузка на момент исследования была достигнута у 91% среди детей, получающих терапию в течение 24 недель и более. У всех детей установлен перинатальный путь заражения.

Было отобрано 65 образцов смывов с кожи от ВИЧ-инфицированных детей. Все образцы смывов были поделены на две группы: 1 группа - смывы с поражённой кожи, полученные от ВИЧ-инфицированных детей, 2 группа - смывы с межлопаточной области у ВИЧ-инфицированных детей, не имеющих видимых проявлений заболеваний кожи. Таким образом у 5 детей были взяты смывы с двух локализаций, и одного ребёнка – с

трёх. Материал для исследования собирали в микроцентрифужную пробирку, содержащую физиологический раствор. Хранение и транспортировку материала проводили согласно действующим нормативным документам [10]. ДНК *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus Spp.*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis/C.parapsilosis* выделяли методом ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с использованием комплекта реагентов для научного применения и детектирующего амплификатора ДТ-96 согласно инструкции производителя («ДНК-Технология», Россия).

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программы Microsoft Excel 2016 (Microsoft, USA). Для определения уровня статистической значимости (p) использовался точный тест Фишера. Статистически значимыми считались различия при уровне $p < 0,05$.

Разработано информированное согласие пациента, законного представителя (в отношении несовершеннолетнего, не достигшего возраста, установленного частью 2 ст. 54 ФЗ от 21.11.2011 г. № 323-ФЗ) на проведение исследования, диагностических и лечебных мероприятий. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом Уральского государственного медицинского университета (протокол №10 от 20.12.2019 г.).

Результаты и обсуждение

При клинико-инструментальном обследовании 49 детей заболевания кожи выявлены у 19 (38,8%) детей, из них у 8 (44,4%) мальчиков и у 11 (35,5%) девочек.

Хронические дерматозы зарегистрированы у 8 (16,3%) из 49 обследуемых. Наиболее часто регистрировался атопический дерматит – у 3 (6%) детей, также отмечались себорейный дерматит 2 (2%), ксероз кожи 2 (2%), фолликулярный гиперкератоз 1 (2%).

Инфекционные заболевания кожи были зарегистрированы у 11 (20%) детей. Среди них дерматозов встречались как бактериальные (щелевое импетиго, стрептодермия) – в 4 случаях (8,1%), так и грибковые (кандидоз полости рта, микроспория волосистой части головы) в 4 случаях (8,1%) и вирусные заболевания кожи и слизистых (простой пузырьковый лишай, вирусные бородавки) в 3 (6,1%) случаях. У 5 обследуемых выявлены два и более дерматоза: обнаружены сочетания кандидоза полости рта с простым пузырьковым лишаем, стрептодермией,

щелевым импетиго и себореей волосистой части головы; вирусные бородавки регистрировались у детей с ксерозом кожи.

Статистически значимой зависимости тяжести течения дерматоза от степени иммунодефицита и вирусной нагрузки выявлено не было.

В таблице 1 представлены результаты ПЦР-диагностики в двух сравниваемых группах ВИЧ-инфицированных детей.

Staphylococcus spp. выявлен в 18 (36,7%) образцах. В том числе у детей без патологии кожи в 9 (33,3%) из 30 случаев (9 человек). У детей с хроническими дерматозами в 9 (47,3%) (9 человек) из 19 случаев. *S. aureus* выявлен в 4 смывах, три из которых были сделаны с очагов поражения кожи (щелевое импетиго, стрептококковое импетиго носогубного треугольника, кандидоз полости рта). Во всех смывах с поражённых участков кожи были найдены грибы рода *Candida*. В 2 (10,5%) смывах были обнаружены грибы *C. non-albicans* (*C. krusei*, *C. tropicalis/C. parapsilosis*), устойчивые к стандартно применяемым антимикотическим препаратам.

Наши результаты демонстрируют повышенную бактериальную и грибковую колонизацию кожи, а также большее разнообразие видов *Candida non-albicans* у ВИЧ-инфицированных детей, то есть в случае, когда условно-патогенные микроорганизмы могут явиться причиной инфекционных дерматозов. Несмотря на то, что среди исследуемой выборки не проводился анализ приёма антимикотических препаратов, обнаружение *Candida non-albicans*, возможно, связано с использованием флуконазола, противогрибкового препарата с низкой токсичностью, который широко используется в профилактике и лечении кандидоза. По данным литературы, применение данного препарата может привести к устойчивости *C. albicans* и к распространению менее восприимчивых к флуконазолу видов *Candida*, таких как *C. glabrata*, *C. tropicalis* и *C. krusei* [8]. Кроме того, коинфекция некоторых видов *C. albicans* и *S. aureus* может привести к инфекционному синергизму с повышенной токсичностью и усиленным воспалительным ответом. [11].

По данным CH Shiboski et al. (2011) инфекционные дерматозы у ВИЧ-инфицированных детей протекают тяжелее и имеют более длительное течение, чем у детей с сохранённым иммунитетом, однако, детальный анализ факторов риска возникновения инфекционных дерматозов

Таблица 1. Результаты ПЦР-диагностики смывов с кожи ВИЧ-инфицированных детей

Группы пациентов	Исследуемые микроорганизмы					
	S.spp.	S.aureus	C.albicans	C.glabrata	C.krusei	C.tropicalis/ C.parapsilosis
1 ГРУППА ВИЧ+ (заболевания кожи, 19 человек)	47,3%	5,3%	31,5%	0%	5,3%	10,5%
2 ГРУППА ВИЧ+ (30 человек)	33,3%	10%	3,3%	0%	0%	0%

у ВИЧ-инфицированных пациентов не проводили [12]. Более того, дерматозы у ВИЧ-инфицированных детей резистентны к стандартным методам терапии, что обуславливает необходимость изучения микробиоты кожи и её взаимодействия с факторами врожденного и приобретенного иммунного ответа.

К ограничениям данного исследования относится небольшой размер выборки пациентов и отсутствие группы контроля, в связи с чем планируется продолжение изучения состава микробиоты кожи с расширением спектра анализируемых микроорганизмов, увеличением группы ВИЧ-положительных детей и последующим сравнением результатов с контрольной группой ВИЧ-отрицательных детей.

Выводы

1. Структура микробиоты непораженной кожи ВИЧ-инфицированных детей и в очагах поражения кожи у ВИЧ-отрицательных детей достоверно не отличается. При воспалении у ВИЧ-инфицированных детей выявляется другая патогенная флора.

2. Патогенные микроорганизмы, такие как *S. aureus*, могут бессимптомно колонизировать кожу ребенка и являться причиной заболевания только в контексте микробных сообществ и иммунных факторов кожи. Следствием этого утверждения является то, что дисбиоз микробного сообщества может функционировать как этиологический агент. Присутствие условно-патогенных стафилококков и дрожжеподобных грибов в составе микробиоты кожи

и большее разнообразие выявленных видов *Candida spp.*, наблюдаемая у детей, живущих с ВИЧ-инфекцией, может быть основной причиной частых рецидивов кожных заболеваний, несмотря на неопределяемую вирусную нагрузку и отсутствие иммунодефицита.

3. Детализация сведений о структуре микробиоты кожи и её взаимодействии с факторами иммунитета может быть полезна при создании профильных средств для базового ухода за кожей уязвимых групп пациентов. Если к методам наружной терапии, направленным на элиминацию патогенных агентов, прибавить методы, способствующие поддержанию микробного гомеостаза, то риск развития заболеваний кожи, вызванных устойчивыми бактериями, может быть снижен. ■

Уфимцева Марина Анатольевна, заведующий кафедрой дерматовенерологии, д.м.н., профессор, Сабитов Алейбай Усманович, заведующий кафедрой инфекционных болезней, д.м.н., профессор, Савченко Наталья Викторовна, аспирант кафедры кожных и венерических болезней, Бочкарев Юрий Михайлович, доцент кафедры дерматовенерологии, к.м.н. Ворошилина Екатерина Сергеевна, профессор кафедры микробиологии, д.м.н., Гордон Евгения Олеговна, врач-педиатр, ГБУЗ СО «Свердловский областной Центр профилактики и борьбы со СПИД». Адрес для корреспонденции: Савченко Наталья Викторовна, e-mail: savchn@yandex.ru, г. Екатеринбург, ул. Репина 3, 620028

Литература:

1. Duko B, Geja E, Zewude M, Mekonen S. Prevalence and associated factors of depression among patients with HIV/AIDS in Hawassa, Ethiopia, cross-sectional study. *Ann Gen Psychiatry*. 2018;17:45. doi:10.1186/s12991-018-0215-1
2. Dias ED, Cunha Mda G, Talhari S. The profile of the dermatoses in children with the HIV virus at the Fundação de Medicina Tropical do Amazonas. *An Bras Dermatol*. 2012 May-Jun;87(3):396-402.
3. Muszer M., Noszczyńska M., Kasperkiewicz K., Skurnik M. Human Microbiome: When a Friend Becomes an Enemy. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2015; 63 (4): 287–98.
4. Oh J, Freeman AF. The altered landscape of the human skin microbiome in patients with primary immunodeficiencies. *Genome Res*. 2013;23(12):2103–2114. doi:10.1101/gr.159467.113
5. Proctor, LM, Creasy, HH, Fettweis, JM et al. Имезгративный человеческий микробиомный проект. *Nature* 569, 641–648 (2019). doi.org/10.1038/s41586-019-1238-8
6. Gallant JE, Moore D, Chaisson RE. Prophylaxis for opportunistic infections. *Annals of Internal Medicine*, 1995, 122(9):730–731.
7. Navarrete-Dechent C, Ortega R, Fich F, Concha M. Dermatologic manifestations associated with HIV/AIDS. *Rev Chilena Infectol*. 2015 Feb;32 Suppl 1:S57-71. doi: 10.4067/S0716-10182015000100005.
8. Wu PF, Liu WL, Hsieh MH, et al. Epidemiology and antifungal susceptibility of candidemia isolates of non-albicans *Candida* species from cancer patients. *Emerg Microbes Infect*. 2017;6(10):e87. doi:10.1038/em.2017.74
9. Аравийская Е.П., Соколовский Е.В. Микробиом: новая эра в изучении здоровой и патологически измененной кожи. *Вестник дерматологии и венерологии* 2016; (3): 102–109.
10. Методические указания МУ 4.2.2039-05 "Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории" (утв. и введены в действие Главным государственным санитарным врачом РФ 23 декабря 2005 г.)
11. Peters BM, Noverr MC. *Candida albicans-Staphylococcus aureus* polymicrobial peritonitis modulates host innate immunity. *Infect Immun*. 2013; 81(6):2178-89.
12. Shiboski CH, Webster-Cyriaque JY, Ghannoum M, Greenspan JS, Dittmer D; Oral HIV/AIDS Research Alliance, Subcommittee of the AIDS Clinical Trial Group. Overview of the oral HIV/AIDS Research Alliance Program. *Adv Dent Res*. 2011;23(1):28–33. doi:10.1177/0022034511399084