

DOI: 10.37988/1811-153X_2021_3_40

А.А. Спиридонова,
зав. отделением клинической
микробиологии

А.Б. Чухловин,
д.м.н., профессор, зав. лабораторией
трансплантологии

И.Б. Баранова,
врач челюстно-лицевой хирург
консультативно-диагностического
отделения НИИ детской онкологии,
гематологии и трансплантологии

А.П. Григорьянц,
к.м.н., доцент кафедры пропедевтики
стоматологических заболеваний

И.Н. Антонова,
д.м.н., профессор, зав. кафедрой
пропедевтики стоматологических
заболеваний, директор НИИ стоматологии
и челюстно-лицевой хирургии

М.Д. Владовская,
к.м.н., заведующая больничным регистром
НИИ детской онкологии, гематологии
и трансплантологии

Л.С. Зубаровская,
д.м.н., профессор, руководитель
отдела детской онкологии,
гематологии и трансплантологии
НИИ детской онкологии, гематологии
и трансплантологии

Б.В. Афанасьев,
д.м.н., профессор, зав. кафедрой
гематологии, трансфузиологии
и трансплантологии, директор НИИ
детской онкологии, гематологии
и трансплантологии

ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова,
197022, Санкт-Петербург, Россия

Динамика аэробной микробиоты полости рта у пациентов после интенсивной химиотерапии и трансплантации гемопоэтических клеток

Реферат. Динамика изменений микробиоты полости рта после интенсивной химиотерапии и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) изучена мало. **Цель работы** — оценка частоты выявления аэробных микроорганизмов из полости рта до начала терапии и в течение первых 120 суток после ТГСК. **Материалы и методы.** Исследовали состав и временную динамику аэробной микрофлоры полости рта (ротоглотки) у 419 пациентов в возрасте от 1 года до 76 лет с онкогематологическими и неопухолевыми заболеваниями, которым выполнялась интенсивная цитостатическая терапия с последующей аллогенной ТГСК. Взятие образцов, культивирование бактерий проводили до начала химиотерапии и в сроки до 120—150 суток после ТГСК. Анализ проводился для 4 возрастных групп: от 1—5 до 22 лет и старше. **Результаты.** По данным 1472 культур, позитивные результаты культивирования получены в 66,0% образцов. Наиболее часто выявлялись *S. viridans*, *S. epidermidis*, *Neisseria spp.*, *K. pneumoniae*, *Corynebacterium spp.* Частота выявления *K. pneumoniae*, как и среднее число микробных видов в одной культуре, были повышены у взрослых больных (старше 22 лет) по сравнению с пациентами детского и молодого возраста. После интенсивной терапии и ТГСК отмечено резкое снижение выявляемости *S. viridans*, *Corynebacterium spp.*, *Neisseria spp.* и среднее число микробных ассоциаций в культурах в течение первого месяца после лечения, очевидно, в связи с ранней эффективной антибактериальной терапией. В то же время частота выявления *K. pneumoniae* со слизистой ротоглотки после ТГСК не снижалась и затем достоверно возрастала в течение 2—4 мес после ТГСК, что согласовывалось с развитием поздних инфекционных осложнений и выявлением полирезистентных штаммов *Klebsiella* в других видах биоматериала. При исследовании материала из лунок зубов (51 образец) в течение 0—2 мес после ТГСК показан преимущественный рост *S. viridans*, *S. epidermidis*, *Neisseria*, *Pseudomonas spp.*, *Klebsiella spp.*, что не отличалось от результатов исследования материала из других зон полости рта. **Выводы.** Комбинированный эффект цитостатической терапии на иммунную систему пациентов в сочетании с массивной антибиотикотерапией сопровождается временным истощением основных классов микробиоты слизистой рта. При восстановлении иммунной системы наблюдается селективный рост, очевидно, резистентных аэробных штаммов *Klebsiella*. Полный анализ спектра микробиоты после ТГСК, включая анаэробные организмы, следует проводить посредством мультиплексной ПЦР или NGS-секвенирования гена 16S rRNA.

Ключевые слова: онкогематология, химиотерапия, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, слизистая оболочка рта, факторы риска

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Спиридонова А.А., Чухловин А.Б., Баранова И.Б., Григорьянц А.П., Антонова И.Н., Владовская М.Д., Зубаровская Л.С., Афанасьев Б.В. Динамика аэробной микробиоты полости рта у пациентов после интенсивной химиотерапии и трансплантации гемопоэтических клеток. — *Клиническая стоматология*. — 2021; 24 (3): 40—46. DOI: 10.37988/1811-153X_2021_3_40

А.А. Spiridonova,
head of the Clinical microbiology Department

А.В. Chukhlovin,
Grand PhD in Medical Sciences, professor
of the Transplantology Lab

И.В. Baranova,
oral and maxillofacial surgeon
of the Consulting and diagnostic Department
at the Pediatric oncology, hematology, and
transplantology research Institute

Time course of oral aerobic microbiota in the patients after intensive chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation

Abstract. There are few data on time course of oral microbiota after intensive chemotherapy and hematopoietic stem transplantation (HSCT). The aim of present study was to evaluate detection frequency of aerobic microorganisms from oral cavity before therapy and within initial 120 days after HSCT. **Materials and methods.** We studied composition and time course of aerobic microbiota

A.P. Grigoriants,

PhD in Medical Sciences, associate professor of the Dentistry diseases propaedeutics Department

I.N. Antonova,

Grand PhD in Medical Sciences, professor of the Dentistry diseases propaedeutics Department, director of the Dentistry and oral and maxillofacial surgery research Institute

M.D. Vladovskaya,

PhD in Medical Sciences, hospital registry chief at Pediatric oncology, hematology, and transplantology research Institute

L.S. Zubarovskaya,

PhD in Medical Sciences, professor of the Pediatric oncology, hematology, and transplantology research Institute

B.V. Afanasyev,

PhD in Medical Sciences, professor of the Hematology, transfusiology and transplantology Department, director of the Pediatric oncology, hematology, and transplantology research Institute

Pavlov University, 197022, Saint-Petersburg, Russia

in oral cavity (oropharyngeal area) in 419 patients aged from 1 to 76 years with, mostly, oncohematological diseases, who underwent intensive chemotherapy with subsequent allogeneic HSCT. Sampling of biological material for routine bacteriological studies was carried out before chemotherapy and within 120 days after HSCT. Data analysis was performed for 4 age groups: from 1—5 to over 22 years old. **Results.** Positive findings were obtained in 66% of cases after analyzing 1472 cultures. Most common species were as follows: *S. viridans*, *S. epidermidis*, *Neisseria spp.*, *K. pneumoniae*, *Corynebacterium spp.* Detection rate for *K. pneumoniae*, like as average number of microbial species per culture was increased in adult patients (over 22 years) as compared to pediatric and young patients. Following intensive therapy and HSCT, pronounced decrease in detection rates was revealed for *S. viridans*, *Corynebacterium spp.*, *Neisseria spp.*, as well as mean number of microbial associations in cultures within first month after treatment, most probably, due to early effective antibacterial prophylaxis. Meanwhile, detection rates of *K. pneumoniae* from oropharyngeal mucosa did not decrease, followed by significant increase for 2—4 months after HSCT, thus being concordant with later development of infectious complications and evidence of polyresistant *Klebsiella* strains in other infected sites. Sampling from alveolar sockets was performed in 51 specimens within 0 to 2 months after HSCT showing predominant growth of *S. viridans*, *S. epidermidis*, *Neisseria*, *Pseudomonas spp.*, *Klebsiella spp.*, thus showing no differences from results yielded in other oral samples. **Conclusions.** Combined effect of cytostatic therapy upon immune response, along with antibiotic therapy, was accomplished by transient exhaustion of main classes of oral microbiota. Upon recovery of immune system, selective outgrowth of, most likely, resistant *Klebsiella* strains is observed. Full-spectrum microbiota analysis after HSCT, including anaerobic organisms, should be studied, e.g., by multiplex PCR or NGS of 16S rRNA gene.

Key words: oncohematology, chemotherapy, hematopoietic stem cell transplantation, bacterial cultures, oral mucosa, risk factors

FOR CITATION:

Spiridonova A.A., Chukhlovina A.B., Baranova I.B., Grigoriants A.P., Antonova I.N., Vladovskaya M.D., Zubarovskaya L.S., Afanasyev B.V. Time course of oral aerobic microbiota in the patients after intensive chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation. *Clinical Dentistry (Russia)*. 2021; 24 (3): 40—46 (In Russ.). DOI: 10.37988/1811-153X_2021_3_40

ВВЕДЕНИЕ

Нормальная и патогенная микробиота слизистых поверхностей является объектом многочисленных исследований. Колонизация слизистых оболочек обычно определяется путем посевов в стандартных аэробных культурах, которые выявляют, как правило, сапрофитные и оппортунистические микроорганизмы. В частности, всесторонне изучена аэробная микробиота нормальной слизистой оболочки полости рта [1, 2]. Комплекс микроорганизмов с раннего детства присутствует в полости рта в качестве комменсальной микробиоты, находясь в симбиозе с организмом хозяина и подавляя колонизацию патогенных бактериальных штаммов, что описывается в обширном обзоре [1]. Наиболее часто с полости рта и слизистой ротоглотки высеивают аэробные микробы: грампозитивные стрептококки (в том числе *Streptococcus viridans*), *Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacteriae spp.*, *Neisseria spp.* и др. Кроме того, полость рта и, особенно, слизистая десен содержат многообразную анаэробную флору, представленную сотнями видов, большинство которых можно выявить только с помощью ДНК-диагностики [3].

Основой химиотерапии злокачественных новообразований является интенсивная цитостатическая химиотерапия. У онкогематологических пациентов это лечение сочетается с трансплантацией гемопоэтических

клеток (ТГСК). Цитотоксическая терапия вызывает глобальную миелосупрессию и воспаление слизистых оболочек полости рта — мукозит, который ведет к ухудшению качества жизни и проблемам с питанием пациентов [4, 5]. В течение 1—2 недель после ТГСК развивается выраженная лимфо- и нейтропения, что сопровождается реактивацией эндогенных вирусов, а также оппортунистических бактерий и других нозокомиальных патогенов, которые могут колонизировать слизистые оболочки пациента, замещая нормальную микробиоту, приводя к локальному дисбактериозу [6]. Поэтому на фоне тяжелой нейтропении у этих пациентов могут возникать локальные инфекции и сепсис. Так, в ранней работе С. Мarena и соавт. (2001), проведенной в группе из 143 пациентов показано, что больничные инфекции после ТГСК возникали в 25% случаев, особенно септицемия (43%) и респираторные инфекции [7]. Предполагается наличие ряда патогенетических связей между активацией патогенной микробиоты и развитием мукозита слизистой рта после химиотерапии [8].

В большинстве онкогематологических клиник бактериологические исследования биологических образцов назначаются по клиническим показаниям, например в связи с фебрильной нейтропенией, подозрением на сепсис или наличием очагов инфекции. Ранее были попытки проводить регулярную микробиологическую диагностику после ТГСК, однако она не давала

значительных преимуществ для принятия клинических решений [9]. Большинство таких работ касается реакции или реинфекции различными вирусами, особенно герпесвирусами, парвовирусом В19 и т.д. Исследования бактериальных инфекций проводятся главным образом с целью изоляции культивируемых аэробных бактериальных штаммов, выявления их специфических токсинов и оценки антибиотикорезистентности клинических изолятов, в частности *Pseudomonas spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Clostridium difficile* или энтеропатогенных линий *E. coli*.

В известной нам литературе имеется только несколько работ, касающихся микробного ландшафта слизистой оболочки полости рта на различных этапах после ТГСК [9]. В большинстве случаев эти исследования имеют эпидемиологическую направленность, т.е. оценивают относительную частоту патогенных микроорганизмов у пациентов после трансплантации и их потенциальную значимость в развитии клинически актуальных инфекционных состояний [10]. Лишь единичные работы касаются временной динамики аэробных микроорганизмов у больных в ранние сроки после сочетанной химио- и антибиотикотерапии и ТГСК.

Цель настоящего исследования — оценка частоты выявления отдельных видов аэробной микробиоты в мазках со слизистой полости рта, взятых до ТГСК и на протяжении последующих 4 месяцев. Мы изучали направленность изменений для наиболее часто высеваемых микроорганизмов ротоглотки и показали наличие дисбиоза доминирующей микробиоты ротовой полости в ранние сроки после ТГСК (до 1 мес) и возможности ее замещения патогенными микроорганизмами в более поздние сроки (до 3–4 мес).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Провели анализ результатов микробиологических исследований клинических образцов биоматериала со слизистой оболочки ротоглотки 419 пациентов в возрасте от 1 года до 76 лет с онкогематологическими и неопухолевыми заболеваниями, которым с 2013 по 2020 г. выполнялась интенсивная цитостатическая химиотерапия с последующей аллогенной ТГСК. Взятие образцов для получения бактериальных культур осуществляли до начала химиотерапии и в сроки до 120 суток после ТГСК. Аллогенная ТГСК проводилась главным образом по поводу острого и хронического миелоидного лейкоза, острого лимфобластного лейкоза, а также тяжелой апластической анемии, плазмноклеточной дисплазии, первичного миелофиброза. Миелоаблативное кондиционирование выполнено у 61% больных, немиелоаблативное — в 39%. Костный мозг был использован как источник стволовых клеток в 48% случаев, и периферические стволовые клетки — у 52% больных. ТГСК выполнялась от родственных HLA-совместимых доноров (18%), от родственных гаплоидентичных (24%) или неродственных HLA-совместимых доноров (58%). Больные или их близкие родственники подписывали

письменное согласие на их участие в научной программе и использование их личных медицинских данных для научной оценки.

В процессе выполнения ТГСК пациенты получали режим антибиотикопрофилактики, предусматривающий внутривенное введение фторхинолонов (при возможности переход на пероральный прием) с Д+1 до Д+60. С этой целью также назначали амоксициллин, в частности пациентам детского возраста. При фебрильной нейтропении эмпирически назначались антибиотики широкого спектра действия, а в дальнейшем, при выявлении резистентных штаммов в различных биоматериалах, пациентам вводили антибиотики перорально или системно, в соответствии с параметрами чувствительности *in vitro* микробных штаммов. Препараты дозировали согласно инструкциям производителей, в соответствии с возрастом и массой тела пациентов.

Мазки со слизистых для бактериологических исследований брали из области ротоглотки. Последовательный сбор образцов проводился до ТГСК и в сроки до 120 суток, согласно клиническим назначениям лечащих врачей. Посевы биоматериала из полости рта выполняли в плановом порядке у всех реципиентов после алло-ТГСК в период их нахождения в стационаре, а также у всех пациентов с эпизодами фебрильной нейтропении. Учитывали результаты культур в сроки с Д–60 по Д–1 до ТГСК (обозначали как период 0), а также в течение 1-го месяца после ТГСК с Д0 по Д+30 (период 1), 2-го месяца с Д+31 по Д+60 (период 2), 3-го месяца с Д+61 по Д+90 (период 3) и 4-го месяца с Д+91 по Д+120 (период 4).

Биоматериалы проходили стандартную обработку, их высевали и культивировали в аэробных условиях на селективных агаровых средах. Чувствительность клинических изолятов к антибиотикам определяли посредством диск-диффузионных тест-систем, определяющих чувствительность к основным и резервным антибиотикам.

При исследовании бактериальных культур в анализ включали до 9 наиболее часто выявляемых видов микроорганизмов, выявление или отсутствие которых фиксировали в таблицах. Исходя из числа видов (1, 2, 3, и т.д.), одновременно выявляемых в культурах (микробных ассоциаций), определяли среднее число микробных видов по возрастным группам или срокам после ТГСК.

Статистический анализ включал пациентов по крайней мере с одним результатом до ТГСК и двумя результатами в течение 4 месяцев после трансплантации. Все клинические характеристики пациентов, параметры ТГСК, кондиционирующей терапии, посттрансплантационных осложнений и результатов культивирования бактерий собирали из больничной отчетности. Статистическую обработку проводили с применением непараметрического однофакторного анализа, используя χ^2 -критерий и коэффициент корреляции Спирмена для оценки достоверности различий между выборками. В некоторых сериях использовали параметрический тест Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Бактериальный спектр у пациентов до и после ТГСК

Общий массив данных включал результаты посевов 1472 культур мазков слизистой рта при 66,0% позитивных тестов. Один вид микробов выявлен в 682 (46,3%) образцах; 2 вида — в 252 (17,1%) случаях, и 3 вида — в 38 (2,6%) образцах. Частота преобладающих бактериальных видов со слизистой ротовой полости отражена в таблице. Наиболее часто определяли *S. viridans* (45,9%), *S. epidermidis* (12,1%), *Neisseria spp.* (10,6%), *K. pneumoniae* (6,1%), *Corynebacterium spp.* (4,5%) и *Rothia mucilaginosa* (2,2%). По статистическим причинам в дальнейший анализ были взяты только наиболее часто встречающиеся микробные виды, а также *Pseudomonas spp.* Более редко, менее чем в 2% культур, встречались *S. faecalis*, *S. faecium*, *E. coli*, *Acinetobacter* и др.

В целом по всему массиву проб частота высеваемости *K. pneumoniae* была повышена у пациентов старше 22 лет (7,2 против 3,6%, $p=0,005$), как и среднее число микробных видов в бактериальных культурах ($0,93 \pm 0,02$ у взрослых против $0,78 \pm 0,04$ у пациентов детского и молодого возраста; $p=0,0001$).

Частота выделения микробов в зависимости от сроков после трансплантации

Встречаемость различных микроорганизмов на слизистых полости рта в большой степени зависела от периода после ТГСК. Так, после интенсивной цитостатической и антибиотикотерапии и ТГСК в первый месяц после ТГСК отмечено резкое снижение высеваемости *S. viridans*, *Corynebacterium spp.*, *Neisseria spp.* и среднее число микробных ассоциаций в культурах ротоглотки (см. таблицу). Эти изменения можно объяснить эффективной ранней антибактериальной профилактикой пациентов (ципрофлоксацин, бисептол и др.) начиная с периода кондиционирования.

В дальнейшем численность указанных микробных популяций восстанавливалась полностью или частично (рис. 1). При этом высеваемость *K. pneumoniae* в образцах из полости рта достоверно и длительно возрастала

Частота выявления основных групп микроорганизмов полости рта до ТГСК и в течение первого месяца после ТГСК [Detection frequency of the prevalent oral microorganisms before and within first month after HSCT]

	Суммарная выборка (n=1472)		До ТГСК (n=224)		До 30 сут. после ТГСК (n=256)		p
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
<i>S. viridans</i>	576	45,9	133	59,4	60	23,4	<0,00001
<i>S. epidermidis</i>	178	12,1	18	8,0	24	9,4	0,60
<i>Neisseria spp.</i>	156	10,6	30	13,4	11	4,3	0,0004
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	89	6,1	3	1,3	12	4,7	0,04
<i>Corynebacterium spp.</i>	66	4,5	9	4,0	2	0,8	0,02
<i>Rothia mucilag.</i>	32	2,2	11	4,9	3	1,2	0,02
<i>E. faecalis</i>	25	1,7	3	1,3	10	3,9	0,08
<i>S. aureus</i>	23	1,6	3	1,3	3	1,2	0,87
<i>Pseudomonas spp.</i>	20	1,4	0	0	8	3,1	0,008
Число видов:							
0		34,0% (500)		29,0% (65)		55,5% (142)	<0,00001
1		46,3% (682)		50,0% (112)		35,6% (91)	
2		17,1% (252)		18,3% (41)		7,8% (20)	
3		2,6% (38)		2,7% (6)		1,2% (3)	

Примечание. Указаны уровни достоверности различий p между показателями до и после ТГСК (применяли статистический χ^2 -критерий).

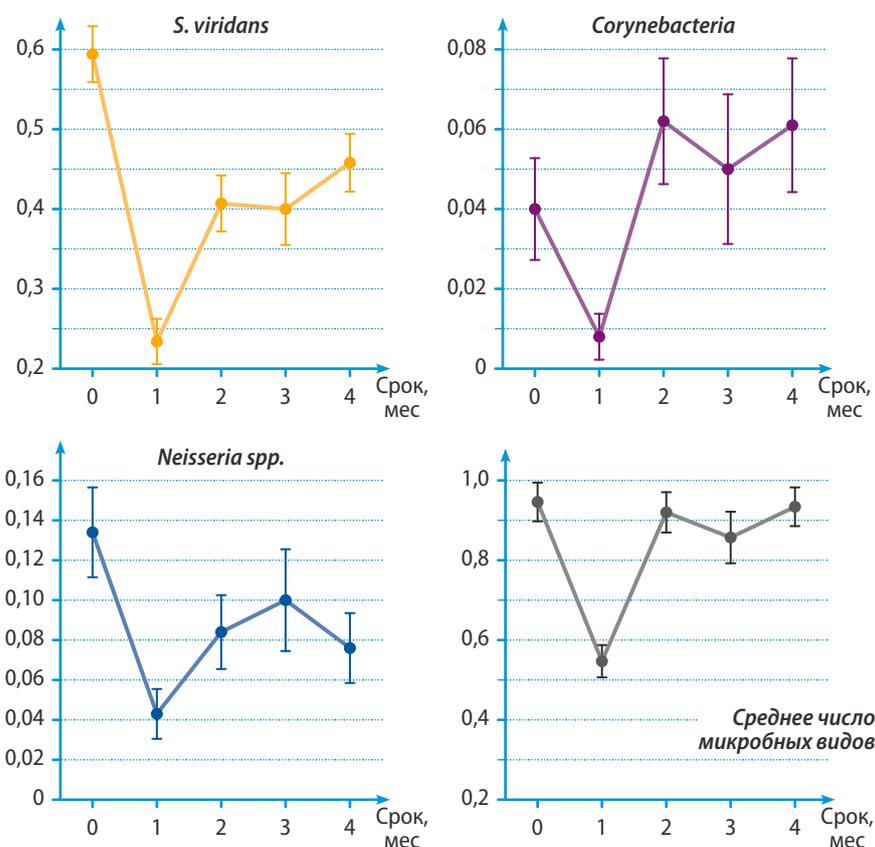


Рис. 1. Частота выявляемости *S. viridans*, *Neisseria spp.*, *Corynebacteria* и среднее число микробных видов в бактериальных культурах мазков слизистой рта в течение 1—4 мес после ТГСК

[Fig. 1. Detection frequency of *S. viridans*, *Neisseria spp.*, *Corynebacteria*, and average numbers of microbial species in bacterial cultures from oral mucosa smears within 1—4 months after HSCT]

в течение последующих 2–4 мес после ТГСК (рис. 2). Этот рост колонизации слизистой по срокам совпадал с периодом тяжелых инфекционных осложнений и селекцией антибиотикорезистентных штаммов *Klebsiella*.

Бактериальные патогены в местах экстракции зубов

По клиническим показаниям, в связи с местными воспалительными процессами, в различные сроки до и после ТГСК (от Д–17 до Д+55) забирали материал из лунок зубов для микробиологических исследований (всего 55 бактериологических посевов). Установлен рост *S. viridans* (59% посевов), *S. epidermidis* (27% случаев), *Neisseria* (23%), *Pseudomonas spp.* (9%), *Klebsiella spp.* (9%), *Candida spp.* (16%), *S. aureus* (5%).

Таким образом, спектр высеваемых микроорганизмов в лунках зубов до и после ТГСК был сходен с бактериальным разнообразием на слизистой ротовой полости (см. таблицу). Из них *Klebsiella spp.* и *P. aeruginosa* известны как патогенные агенты, способные вызывать местное гнойное воспаление в госпитальных условиях. Интересно, что число видов бактерий в этих локусах было достаточно высоким: 1 вид был показан в 27% случаев, ассоциация 2 видов — в 41% случаев, 3 вида — в 9% образцов. 23% посевов из лунок зубов были стерильными.

ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе мы оценивали частоту выявления и временную динамику аэробных микроорганизмов слизистой полости рта от больных, которым проводилась аллогенная ТГСК. Нами проведен анализ большой выборки бактериальных культур, изолированных из ротоглотки, по сравнению с предварительной серией наших исследований, где оценивались суммарные результаты менее многочисленной выборки мазков с ротоглотки и языка [11].

Цитотоксическое повреждение эпителия полости рта после проведенной интенсивной кондиционирующей терапии и последующая ТГСК приводят к глубокой лейкопении, что считается ключевой предпосылкой увеличения бактериальной колонизации, главным образом из-за локального дефицита гранулоцитов, которые в норме мигрируют в очаг инфекции. Общая частота позитивных микробных культур со слизистой ротоглотки составила 66%. В то же время культивирование мазков из полости рта, взятых в различные сроки до и после ТГСК (от Д–60 до Д+120) показало существенное снижение числа культивируемой микробиоты в течение первого месяца после ТГСК. Такое подавление роста нормальной микробиоты легко можно объяснить

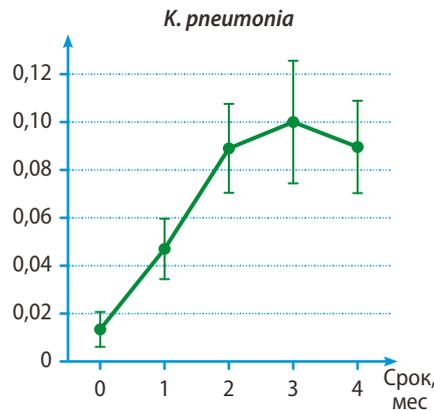


Рис. 2. Динамика выявления *K. pneumonia* в бактериальных культурах мазков слизистой рта до ТГСК и в течение 1–4 мес после трансплантации [Fig. 2. Time course of *K. pneumonia* detection in bacterial cultures from oral mucosa smears before HSCT and 1–4 months later]

высокой активностью антибактериальной химиотерапии, которую традиционно назначают в период интенсивного противоопухолевого лечения [12, 13]. До начала или интенсивной цитостатической терапии (режима кондиционирования) пациентам, особенно при персистирующей бактериальной инфекции, назначается плановая антиинфекционная профилактика. Характер антиинфекционной терапии и назначение конкретных антибиотиков после ТГСК определяется главным образом наличием системных инфекционных осложнений и/или наличием микробных штаммов, резистентных к антибиотикам.

В настоящей работе нам удалось подтвердить падение высеваемости *S. viridans*, *Neisseria spp.* и *Corynebacteria*

в ранние сроки после ТГСК, что свидетельствует о высокой эффективности используемых методов профилактики бактериальных инфекций, в частности препаратов левофлоксацина и бисептола, применяемых с целью деконтаминации желудочно-кишечного тракта и респираторной системы. Следует, однако, отметить, что в ранние сроки после ТГСК мы не обнаружили существенного подавления *Klebsiella spp.* и *E. coli*, источниками которых прежде всего являются кишечник и мочевая система. Скорее всего, причиной колонизации этими патогенами является высокая частота их антибиотикорезистентных штаммов в организме пациентов после ТГСК. Подобные штаммы имеют тенденцию к полирезистентности в отношении антибиотиков. Общеизвестно, что внутрибольничные инфекции часто вызываются резистентными штаммами, требующими существенных затрат на лекарственное лечение посттрансплантационных осложнений, в том числе инфекций слизистых оболочек.

Относительно низкие уровни выявления *Klebsiella* в ранние сроки после ТГСК также можно объяснить относительной чувствительностью большинства видов эндогенных бактерий к обычной антибиотикопрофилактике бактериальных инфекций. В более поздние сроки (2–3 мес) антибиотикотерапия, адаптированная по чувствительности микробиоты у пациентов с пролонгированными и поздними инфекционными осложнениями, может вызвать селекцию штаммов *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *E. coli* и др., например с повышенной активностью генов лактамазы, что показано в клинических изолятах, выделяемых после ТГСК.

Повышенная частота выделения *Klebsiella* со слизистой рта в сроки 2–3 мес после ТГСК согласуется с более высокой частотой детекции этого микроба в других биоматериалах у пациентов после ТГСК. По результатам этого исследования, изоляты *Klebsiella*, выделенные в эти сроки у пациентов, проявляют полирезистентность

к антибиотикам [14], что доказывает селекцию этих штаммов в процессе массивной антибиотикотерапии онкогематологических пациентов.

Разработка терапевтических стратегий против резистентных грамотригативных бактерий включает создание схем комбинированной антибиотикотерапии [15].

При этом данные настоящей работы не показали достоверных различий по частоте выделения и составу микробиоты в ротоглотке и лунках после удаления зубов при общей частоте позитивных культур 77%, что предполагает участие других классов микробиоты (скорее всего анаэробных микробов пародонта), которые подлежат специальному изучению у пациентов со стоматологическими проблемами, особенно у пациентов средней возрастной группы [16].

Микробные ассоциации из 2–3 микробных видов были обнаружены во многих образцах (20% и более на слизистой и 50% в лунках после экстракции зубов). Можно рассматривать эти ассоциации как маркер нарушенного антимикробного иммунитета после ТГСК. Кроме того, воспаление слизистой оболочки рта (мукозит) после химиотерапии в ряде случаев может быть связано с ранней активацией вируса простого герпеса [17].

В этом аспекте роль бактериальных инфекций полости рта в развитии раннего мукозита, инфекционных поражений дыхательной системы и иммунной реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) пока не ясна [18]. Однако на протяжении последнего десятилетия выраженность нарушений кишечного микробиома и слизистой кишечника при воздействии антибиотиков широкого спектра действия становится все более очевидной, что находит клиническое подтверждение как при инфекционных осложнениях, так и при острой РТПХ [19–21].

Таким образом, эффекты сочетанного противоопухолевого и антибактериального лечения пациентов после ТГСК заслуживают дальнейших исследований, особенно клинические корреляции с мукозитом и РТПХ верхних отделов желудочно-кишечного тракта, которые могут иметь микробный и вирусный инфекционный

компонент. В настоящей работе не обнаружено подобных корреляций с аэробной микробиотой. Существенные изменения орального микробиоценоза, вызванные иммунотоксической терапией и антибактериальным лечением могут обеспечивать рост других бактериальных патогенов (например, *Klebsiella*), которые следует в дальнейшем изучать современными методами мультиплексной ПЦР ДНК и секвенирования следующего поколения (NGS), прежде всего для оценки баланса анаэробных патогенных бактерий в различные сроки после ТГСК.

ВЫВОДЫ

1. Комбинированное воздействие цитостатической терапии на кроветворную и иммунную систему пациентов в сочетании с антиинфекционной профилактикой сопровождается снижением частоты детекции основных видов нормальной аэробной микробиоты слизистой рта.
2. В сроки после 1 мес после ТГСК отмечается селективный рост потенциально резистентных штаммов микробов.
3. Состав микробиоты в местах экстракции зубов пациентов сопоставим с таковым в остальной части слизистой рта, что предполагает возможное участие анаэробных (некультивируемых) бактерий в развитии последующей патологии зубов и десен после ТГСК.
4. Анализ полного спектра микробиоты после ТГСК, включая анаэробные организмы, заслуживает дальнейших исследований, в том числе посредством секвенирования гена *16S rRNA*. Эти результаты могут стать основой для рациональной антибактериальной терапии при ТГСК.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 01.12.2020 **Принята в печать:** 16.07.2021

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Received: 01.12.2021 **Accepted:** 16.07.2021

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

.....

1. Hull M.W., Chow A.W. Indigenous microflora and innate immunity of the head and neck. — *Infect Dis Clin North Am.* — 2007; 21 (2): 265–82. PMID: 17561071
2. Hegde M.C., Kumar A., Bhat G., Sreedharan S. Oral Microflora: A Comparative Study in HIV and Normal Patients. — *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg.* — 2014; 66 (Suppl 1): 126–32. PMID: 24533371
3. Aas J.A., Paster B.J., Stokes L.N., Olsen I., Dewhirst F.E. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. — *J Clin Microbiol.* — 2005; 43 (11): 5721–32. PMID: 16272510
4. Grigoriants A.P., Rabinowitch I.M., Chukhlovina A.B. Stomatological problems and infectious complications after hematopoietic stem cell transplantation. — *Cellular Therapy and Transplantation.* — 7 (2): 10–19. DOI: 10.18620/ctt-1866-8836-2018-7-2-10-19
5. Чухловин А.Б., Григорьянц А.П. Особенности проявлений патологии слизистой оболочки полости рта после интенсивной химиолучевой терапии (обзор). — *Клиническая стоматология.* — 2018; 3 (87): 39–43. [Chukhlovina A.B., Grigoriants A.P. Pathology of oral mucosa after intensive chemoradiotherapy (review). — *Clinical Dentistry (Russia).* — 2018; 3 (87): 39–43 (In Russ.). DOI: 10.37988/1811–153X_2018_3_39
6. Chukhlovina A.B., Pankratova O.S. Opportunistic microflora at unusual sites: marker pathogens in severe post-transplant immune deficiency. — *Cellular Therapy and Transplantation.* — 2017; 6 (4): 28–41. DOI: 10.18620/ctt-1866-8836-2017-6-4-28-41
7. Marena C., Zecca M., Carenni M.L., Bruschi A., Bassi M.L., Olivieri P., Azzaretti S., Locatelli F. Incidence of, and risk factors for, nosocomial infections among hematopoietic stem cell transplantation recipients, with

- impact on procedure-related mortality. — *Infect Control Hosp Epidemiol*. — 2001; 22 (8): 510–7. PMID: 11700879
8. **Laheij A.M.G.A., de Soet J.J., von dem Borne P.A., Kuijper E.J., Kraneveld E.A., Loveren C., Raber-Durlacher J.E.** Oral bacteria and yeasts in relationship to oral ulcerations in hematopoietic stem cell transplant recipients. — *Support Care Cancer*. — 2012; 20 (12): 3231–40. PMID: 22531876
 9. **Czirók E., Prinz G.Y., Dénes R., Reményi P., Herendi A.** Value of surveillance cultures in a bone marrow transplantation unit. — *J Med Microbiol*. — 1997; 46 (9): 785–91. PMID: 9291891
 10. **Вавилов В.Н., Аверьянова М.Ю., Бондаренко С.Н., Станчева Н.В., Зубаровская Л.С., Афанасьев Б.В.** Бактериальные инфекции в раннем периоде после трансплантации аллогенного костного мозга. — *Терапевтический архив*. — 2015; 87 (7): 88–93. [Vavilov V.N., Averyanova M.Yu., Bondarenko S.N., Stancheva N.V., Zubarovskaya L.S., Afanasyev B.V. Bacterial infections in the early period after allogeneic bone marrow transplantation. — *Therapeutic Archive*. — 2015; 87 (7): 88–93 (In Russ.)]. eLIBRARY ID: 24251366
 11. **Chukhlovin A.B., Spiridonova A.A., Baranova I.B., Grigoriants A.P., Vladovskaya M.D., Zubarovskaya L.S., Afanasyev B.V.** Common bacterial cultures from oral mucosa after hematopoietic stem cell transplantation: dependence on the patient characteristics and therapeutic factors. — *Cellular Therapy and Transplantation*. — 2019; 8 (4): 49–56. DOI: 10.18620/ctt-1866-8836-2019-8-4-49-56
 12. **Bergmann O.J.** Alterations in oral microflora and pathogenesis of acute oral infections during remission-induction therapy in patients with acute myeloid leukaemia. — *Scand J Infect Dis*. — 1991; 23 (3): 355–66. PMID: 1909053
 13. **Jones L.R., Toth B.B., Keene H.J.** Effects of total body irradiation on salivary gland function and caries-associated oral microflora in bone marrow transplant patients. — *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. — 1992; 73 (6): 670–6. PMID: 1437034
 14. **Чухловин А.Б., Спиридонова А.А., Владовская М.Д., Казанцев И.В., Козлов А.В., Геворгян А.Г., Быкова Т.А., Зубаровская Л.С., Афанасьев Б.В.** Факторы бактериурии у детей и молодых пациентов после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. — *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. — 2020; 19 (2): 54–60. [Chukhlovin A.B., Spiridonova A.A., Vladovskaya M.D., Kazantsev I.V., Kozlov A.V., Gevorgyan A.G., Bykova T.A., Zubarovskaya L.S., Afanasyev B.V. Factors of bacteriuria in children and young adults following hematopoietic stem cell transplantation. — *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology*. — 2020; 19 (2): 54–60 (In Russ.)]. eLIBRARY ID: 43055672
 15. **Fritzenwanker M., Imirzalioglu C., Herold S., Wagenlehner F.M., Zimmer K.P., Chakraborty T.** Treatment Options for Carbapenem-Resistant Gram-Negative Infections. — *Dtsch Arztebl Int*. — 2018; 115 (20–21): 345–52. PMID: 29914612
 16. **Чухловин А.Б., Соловьева А.М., Матело С.К., Кобыясова И.В., Морозова Е.Б., Хохлачева А.В., Тепляков Б.Г., Сысоев К.А., Константинова В.Е., Матело Л.Н., Тотолян А.А.** Микробные маркеры заболеваний пародонта и их практическая значимость в стоматологии. — *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. — 2007; 144 (10): 427–31. [Chuhlovin A.B., Solov'eva A.M., Matelo S.K., Kobiyasova I.V., Morozova E.B., Hohlacheva A.V., Teplyakov B.G., Sysoev K.A., Konstantinova V.E., Matelo L.N., Totolyan A.A. Microbial markers of periodontal disease and their practical significance in dentistry. — *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. — 2007; 144 (10): 427–31 (In Russ.)]. eLIBRARY ID: 9578485
 17. **Pankratova O.S., Chukhlovin A.B., Shiryayev S.N., Eismont Y.A., Vavilov V.N., Zubarovskaya L.S., Afanasyev B.V.** Herpesviruses and oral ulcerations in hematopoietic SCT recipients. — *Bone Marrow Transplant*. — 2013; 48 (10): 1364–5. PMID: 23686096
 18. **Beckman M.F., Morton D.S., Mougeot F.B., Mougeot J-L.C.** Allogenic stem cell transplant-associated acute graft versus host disease: a computational drug discovery text mining approach using oral and gut microbiome signatures. — *Support Care Cancer*. — 2021; 29 (4): 1765–79. PMID: 33094358
 19. **Blijlevens N.M., Donnelly J.P., De Pauw B.E.** Mucosal barrier injury: biology, pathology, clinical counterparts and consequences of intensive treatment for haematological malignancy: an overview. — *Bone Marrow Transplant*. — 2000; 25 (12): 1269–78. PMID: 10871732
 20. **Weber D., Jenq R.R., Peled J.U., Taur Y., Hiergeist A., Koestler J., Dettmer K., Weber M., Wolff D., Hahn J., Pamer E.G., Herr W., Gessner A., Oefner P.J., Brink M.R.M., Holler E.** Microbiota disruption induced by early use of broad-spectrum antibiotics is an independent risk factor of outcome after allogeneic stem cell transplantation. — *Biol Blood Marrow Transplant*. — 2017; 23 (5): 845–52. PMID: 28232086
 21. **Goloshchapov O.V., Kucher M.A., Chukhlovin A.B.** Gut microbiome in hematopoietic stem cell transplantation: patient- and treatment-related factors. — *Cell Ther Transplant*. — 2018; 7 (4): 16–28. DOI: 10.18620/ctt-1866-8836-2018-7-4-16-28