

DOI: 10.17650/2222-1468-2022-12-3-71-85



Микробиота полости рта у больных раком орофарингеальной области с акцентом на *Candida* spp.

Н.С. Багирова¹, И.Н. Петухова¹, З.В. Григорьевская¹, А.В. Сытов¹, П.В. Слукин², Е.А. Горемыкина^{2,3}, О.Е. Хохлова^{2,3}, Н.К. Фурсова^{2,3}, А.Э. Казимов¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24;

²ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора; Россия, Московская обл., 142279 пос. Оболенск, территория «Квартал А», 24;

³ФГБОУ ВО «Пушкинский государственный естественно-научный институт»; Россия, Московская область, 142290 Пушкино, проспект Науки, 3

Контакты: Наталия Сергеевна Багирова nbagirova@mail.ru

Введение. Процессы взаимосвязи 2 компонентов микробиоты – бактериального и грибкового – представляют интерес как диагностические и прогностические маркеры при выборе тактики лечения онкологических больных.

Цель исследования – изучить микробиоту полости рта у первичных больных плоскоклеточным раком орофарингеальной области до и после оперативного вмешательства с целью поиска биомаркеров для рационального выбора антифунгальных препаратов.

Материалы и методы. В хирургическом отделении опухолей головы и шеи Национального медицинского исследовательского центра онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России проведено трехкомпонентное исследование: изучение спектра изолятов *Candida* spp., резистентности штаммов *Candida* spp. к антимикотикам и смывов из полости рта у первичных больных до и после операции. Для идентификации штаммов использовался прибор MALDI-ToF Microflex LT (Biotyper, Bruker Daltonics, Германия), для определения минимальных ингибирующих концентраций антимикотиков – планшеты Sensititre Yeast ONE, Y010 (Trek Diagnostic System, Великобритания). Значения минимальных ингибирующих концентраций оценивались по критериям Европейского комитета по тестированию антимикробной чувствительности (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST) (версия 10.0).

Результаты. Четырехлетнее наблюдение за пациентами, проводившееся в хирургическом отделении опухолей головы и шеи Национального медицинского исследовательского центра онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России, показало, что чаще всего встречается такой вид *Candida*, как *C. albicans* (73,5 % случаев). Резистентность *Candida* spp. к антимикотикам была выявлена только в отношении флуконазола (9,3 % случаев) и микафунгина (8,0 % случаев), в основном у штаммов *C. albicans*. У 31,8 % первичных больных в смывах из полости рта до операции наблюдался рост *Candida* spp. (скорее всего, колонизация тканей). После хирургического вмешательства рост *Candida* spp. отмечен в 36,4 % случаев, только 1 из них расценен как инвазивный микоз. В 54,5 % случаев до и в 72,7 % случаев после операции были зарегистрированы грамотрицательные палочки. После хирургического вмешательства доля энтеробактерий и неферментирующих грамотрицательных палочек статистически значимо увеличилась: 59,1 % против 27,3 % ($p < 0,05$) и 63,6 % против 27,3 % ($p < 0,02$) соответственно. До операции неферментирующие грамотрицательные палочки были представлены только *P. aeruginosa*, после нее спектр неферментирующих грамотрицательных палочек расширился, но доля *P. aeruginosa* по-прежнему была велика – 71,4 %. Ген *ERG11* выявлен только у 1 штамма – *C. albicans*. Ген *FKS1* также обнаружен только у 1 штамма – *C. inconspicua*. Гены факторов патогенности детектированы у 57,1 % штаммов.

Заключение. Хирургическое вмешательство связано с изменением состава бактериального компонента микробиоты, но не грибкового. Наличие у штаммов *Candida* spp. генов факторов патогенности и генов резистентности целесообразно рассматривать в качестве биомаркеров, позволяющих дифференцировать колонизацию и кандидозную инфекцию, которые можно использовать для рационального выбора антифунгальных препаратов при профилактике и лечении инвазивного кандидоза, особенно когда нет критериев интерпретации полученных значений минимальных ингибирующих концентраций антимикотиков.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак полости рта, *Candida* spp., микробиота, резистентность, *ERG11*, *FKS1*, факторы патогенности

Для цитирования: Багирова Н.С., Петухова И.Н., Григорьевская З.В. и др. Микробиота полости рта у больных раком орофарингеальной области с акцентом на *Candida* spp. Опухоли головы и шеи 2022;12(3):71–85. DOI: 10.17650/2222-1468-2022-12-3-71-85

Oral microbiota in patients with oropharyngeal cancer with an emphasis on *Candida* spp.

N.S. Bagirova¹, I.N. Petukhova¹, Z.V. Grigorievskaya¹, A.V. Sytov¹, P.V. Slukin², E.A. Goremykina^{2,3}, O.E. Khokhlova^{2,3}, N.K. Fursova^{2,3}, A.E. Kazimov¹

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia;

²State Scientific Center of Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor; 24 Territory of "Quarter A", Moscow Region, village Obolensk 142279, Russia;

³Pushchinsky State Natural Science Institute; 3 Prospekt Nauki, Moscow Region, Pushchino 142290, Russia

Contacts: Nataliya Sergeevna Bagirova nbagirova@mail.ru

Introduction. Interactions between the 2 microbiota components – bacteria and fungi – are of interest as diagnostic and prognostic markers in selection of treatment tactics for oncological patients.

Aim. To study microbiota of the oral cavity in patients with primary squamous cell carcinoma of the oropharyngeal area before and after surgical intervention to find biomarkers for rational selection of antifungal drugs.

Materials and methods. At the Surgical Department of Head and Neck Tumors of the N.N. Blokhin National Research Center of Oncology, three-component study was performed: investigations of spectrum of *Candida* spp. isolates, *Candida* spp. strains' resistance to antifungals, and oral washes in primary patients before and after surgery. MALDI-ToF Microflex LT (Biotyper, Bruker Daltonics, Germany) was used for strain identification; Sensititre Yeast ONE, Y010 (Trek Diagnostic System, United Kingdom) plates were used for determination of minimal inhibiting concentrations of antifungals. Values of minimal inhibiting concentrations were evaluated based on the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) criteria (version 10.0).

Results. Four-year observation of patients at the surgical department of head and neck tumors of the N.N. Blokhin National Research Center of Oncology showed that the most common species of *Candida* is *C. albicans* (73.5 % of cases). *Candida* spp. resistance to antifungals was detected only for fluconazole (9.3 % of cases) and micafungin (8.0 % of cases), mostly among *C. albicans* strains. In 31.8 % of primary patients, oral washes prior to surgery showed growth of *Candida* spp. (probably, tissue colonization). After surgical intervention, *Candida* spp. growth was detected in 36.4 % of cases, only 1 of which was diagnosed as invasive mycosis. In 54.5 % of cases before and in 72.7 % of cases after surgery, gram-negative rods were detected. After surgical intervention, percentage of enterobacteria and non-fermenters significantly increased: 59.1 % versus 27.3 % ($p < 0.05$) and 63.6 % versus 27.3 % ($p < 0.02$), respectively. Prior to surgery, non-fermenting gram-negative bacteria were represented only by *P. aeruginosa*; after surgery, the spectrum of non-fermenting gram-negative bacteria became wider but percentage of *P. aeruginosa* remained high: 71.4 %. *ERG11* gene was identified only in 1 strain: *C. albicans*. *FKS1* gene also was identified only in 1 strain: *C. inconspicua*. Virulence factor genes were detected in 57.1 % of strains.

Conclusion. Surgical intervention is associated with changes in bacterial microbiota but not fungal microbiota. Presence of virulence factor genes and resistance genes in *Candida* spp. strains should be considered a biomarker allowing to differentiate between colonization and candida infection and can be used for rational selection of antifungal drugs in prevention and treatment of invasive candidiasis, especially in the absence of criteria for interpretation of measured minimal inhibiting concentrations of antifungals.

Keywords: oropharyngeal squamous cell carcinoma, *Candida* spp., microbiota, resistance, *ERG11*, *FKS1*, pathogenic factors

For citation: Bagirova N.S., Petukhova I.N., Grigorievskaya Z.V. et al. Oral microbiota in patients with oropharyngeal cancer with an emphasis on *Candida* spp. Opuholi golovy i shei = Head and Neck Tumors 2022;12(3):71–85. (In Russ.). DOI: 10.17650/2222-1468-2022-12-3-71-85

Введение

Два микробных сообщества – бактериальное и грибковое – формируются вследствие воздействия разных факторов [1]. Показано, что у здоровых людей пол и возраст связаны с разнообразием только бактериального компонента микробиоты, но не грибкового. Также выявлено, что бактериально-грибковые взаимодействия в полости рта у здоровых людей ограничены. По результатам разных исследований к основным родам бактерий, формирующим состав здоровой бактериальной микробиоты полости рта, относят *Neisseria*, *Streptococcus* и *Haemophilus*. Интересно, что в разных странах доминируют различные роды, например в Ки-

тае – *Neisseria*, в Канаде – *Veillonella* [1, 2]. Некоторые виды бактерий полости рта (*S. salivarius*, *S. intermedius*, *S. mitis*, *Rothia* spp., непатогенные подвиды *Neisseria* и др.) имеют алкогольдегидрогеназу, которая отвечает за продукцию канцерогенных соединений. *P. aeruginosa* чаще регистрируется у больных плоскоклеточным раком полости рта, а *S. mitis*, *R. mucilaginosa* и *H. parainfluenzae* преобладают у здоровых людей. *P. aeruginosa* способна вызывать разрывы ДНК в эпителиальных клетках. С учетом других факторов, связанных со значительной воспалительной активностью *P. aeruginosa*, можно предположить, что это обусловлено активацией процесса канцерогенеза [3].

Грибковый компонент микробиоты полости рта здоровых людей изучен значительно меньше, чем бактериальный. Есть сведения, что в Японии, США и Китае *Candida* spp. доминирует в составе микробиоты полости рта здоровых людей [1, 4, 5]. *Candida* spp. составляет значительную долю микробиоты полости рта. Кислая среда обитания оптимальна для жизнедеятельности этого рода микромицетов, что предопределяет его синергидные взаимоотношения с ацидогенными бактериями, например лактобактериями. Прочие роды микромицетов, приобретенные из окружающей среды, также могут присутствовать в полости рта, но в значительно меньших концентрациях и короткое время, что можно объяснить неподходящими для них условиями обитания. Метаболическая заторможенность прочих видов жизнеспособных микромицетов и конкуренция с бактериальной частью микробиоты за питательные вещества предопределяют доминирующую роль *Candida* spp. в полости рта.

Показано, что при раке орофарингеальной области бактериально-грибковые сообщества неопухоловой ткани и ткани со злокачественным поражением различаются; такие различия отмечаются и в зависимости от стадии опухолевого процесса [6]. Появляются данные, свидетельствующие о взаимодействии этих 2 компонентов микробиоты, на которое влияют многие факторы [7]. Изучение грибкового и бактериального сообществ у онкологических больных с целью выявления пациентов с повышенным риском развития рака на основе различий в составе этих компонентов, т.е. определение причинно-следственных связей между дисбиозом полости рта и раком орофарингеальной области вызывает все больший интерес [8, 9]. Показано, что имеют место различия в микробиоте здоровых людей и онкологических больных. Что касается непосредственно грибковой составляющей микробиоты, спектр различных видов микромицетов у пациентов со злокачественными новообразованиями отличается скудным составом [10, 11].

Рак головы и шеи занимает 6-е место в структуре злокачественных новообразований в мире. Наиболее часто встречается рак полости рта и ротоглотки. В последние годы возрос интерес к изучению связи между микробиомом человека и его потенциальной ролью в канцерогенезе. Значение микробиома в развитии рака орофарингеальной области не было исследовано в полной мере. Дрожжевые грибы *Candida* spp., особенно *C. albicans*, входят в состав микробиоты здоровых людей, но также являются этиологическим агентом многих осложнений у иммунокомпрометированных больных [12, 13]. По данным E. Shay и соавт., *Candida* spp. был доминирующим родом в грибковой микробиоте полости рта как у пациентов с плоскоклеточным раком полости рта, так и у здоровых людей [8], что подтверждают и другие исследователи. *Candida* spp. свойственна

фенотипическая пластичность при изменении условий существования, когда может происходить выключение одной группы генов и включение других групп, определяющих степень вирулентности штамма [14, 15].

На степень вирулентности *Candida* spp. влияет ряд факторов: способность штамма к образованию биопленок, а также факторы патогенности (способность к адгезии, продукции группы ферментов гидролаз, протеолитических ферментов и проч.). Установлено, что в биопленках присутствие *C. albicans* увеличивает биомассу бактериального компонента и повышает уровень его метаболической активности [9, 13, 16]. Возможно, у здоровых людей слизистые колонизированы *Candida* spp., которые не обладают патогенностью, но в условиях стационара под воздействием различных факторов, связанных с особенностями как онкологического заболевания, так и специфического противоопухолевого лечения, штаммы проявляют фенотипическую изменчивость, приобретая факторы патогенности.

Предполагается, что разделение микотипов полости рта на микотипы с низкой и высокой концентрациями *Candida* spp. может иметь диагностическое и прогностическое значение в качестве фактора риска развития кандидоза при проведении химиотерапевтического лечения у больных раком [17]. Роль микотипов с разной концентрацией *Candida* spp. как фактора риска развития кандидоза у пациентов с орофарингеальным раком при хирургическом лечении неизвестна. Нельзя не учитывать и последствия взаимодействия микробиома и бактериома, которые также мало изучены. P.I. Diaz и соавт. показали, что при проведении противоопухолевого лечения у онкологических больных с кандидозом орофарингеальной области не отмечалось изменений в структуре микробиома, но имело место повышение концентрации *Candida* spp., которое сочеталось с увеличением количества ацидурических бактерий (ацидурических стрептококков *Streptococcus oralis* и *S. mutans*, лактобактерий и проч.) [17]. Ряд исследований подтвердили гипотезу, согласно которой взаимодействие *Candida* spp. с ацидофильными бактериями связано с повышенной вирулентностью микромицетов, что способствует патогенезу [18–21].

Отмечено, что в опухолевой ткани при плоскоклеточном раке полости рта по сравнению с тканью доброкачественных опухолей наблюдается значительно более активный рост *C. albicans* [22]. A. Vesty и соавт. сравнили состав микробиоты полости рта и продукцию воспалительных цитокинов у пациентов с плоскоклеточным раком головы и шеи, у больных со стоматологической патологией и у здоровых лиц. Оказалось, что бактериальный компонент микробиоты у больных раком орофарингеальной области в значительной степени отличался по составу от бактериального компонента здоровых людей, но таких различий не наблюдалось у пациентов с раком и стоматологическими нарушениями.

В микобиоме всех 3 групп преобладал род *Candida*, причем *C. albicans* составлял ≥ 96 % у большинства пациентов с раком орофарингеальной области. Показано, что наблюдается значительная разница в структуре микобиоты у больных плоскоклеточным раком полости рта и у больных со стоматологическими нарушениями, у которых встречался значительно более широкий спектр грибов. Кроме того, установлена корреляционная зависимость между чрезмерным ростом *C. albicans* и повышением продукции воспалительных цитокинов — интерлейкина 1 β и интерлейкина 8. Состав микробиоты полости рта можно рассматривать в качестве вероятного диагностического биомаркера рака этой области [23]. Установлено, что *Candida* spp. обладает способностью превращать этанол в ацетальдегид — мутагенное соединение, а отдельные штаммы *Candida* spp. продуцируют мощный канцероген NBMA (N-nitrosobenzylmethylamine). *C. albicans* и другие виды бактерий часто выделяют из очагов лейкоплакии слизистой полости рта (хронический гиперпластический кандидоз, также называемый кандидозной лейкоплакией) и из очагов дисплазии эпителия полости рта. Нитрозамины, вырабатываемые *Candida* spp., могут беспрепятственно взаимодействовать с предраковыми поражениями тканей полости рта, увеличивая риск развития злокачественного новообразования. Показано, что *Candida* spp., выделенные из таких поражений, способны вырабатывать нитроамины значительно более активно, чем штаммы, выделенные из здоровой ткани [13, 24, 25].

Взаимодействие бактериома и микобиома, возможно, играет определенную роль в стимуляции и прогрессировании процесса канцерогенеза. Пока ученые не могут однозначно ответить, являются ли изменения микробиоты у онкологических больных следствием развития рака или его причиной, поскольку это не просто, учитывая многообразие всех процессов и их взаимовлияние. Взаимодействие бактериома и микобиома — малоизученная тема. Возможно, одним из следствий сосуществования 2 видов микробиоты является включение в процесс патогенеза различных заболеваний, в том числе онкологических, учитывая сложный, многокомпонентный процесс канцерогенеза.

Таким образом, процессы взаимосвязи 2 компонентов микробиоты — бактериального и грибкового — представляют интерес для исследователей в качестве диагностических и даже прогностических маркеров при выборе тактики лечения онкологических больных.

Цель исследования — изучить микробиоту полости рта у первичных больных плоскоклеточным раком орофарингеальной области до и после оперативного вмешательства с целью поиска биомаркеров для рационального выбора антифунгальных лекарственных средств.

Материалы и методы

В хирургическом отделении опухолей головы и шеи Национального медицинского исследовательского центра онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России (НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина) проведено трехкомпонентное исследование, в ходе которого изучены:

- таксономическая структура изолятов *Candida* spp., выделенных из биоматериалов пациентов с 01.01.2018 по 31.12.2021;
- уровни резистентности штаммов *Candida* spp. к антифунгальным препаратам (АФП), выделенных из биоматериалов пациентов с 01.01.2018 по 31.12.2021, а также генов резистентности;
- смывы из полости рта у первичных больных плоскоклеточным раком орофарингеальной области до и после оперативного вмешательства с 23.03.2021 по 31.05.2021 с определением состава микробиоты полости рта, резистентности штаммов *Candida* spp., генов резистентности и факторов патогенности.

Смывы из полости рта получали от больных при полоскании полости рта в течение 20 с 20 мл 0,9 % физиологического раствора с последующим посевом на искусственные питательные среды (плотные среды на чашках Петри: 5 % кровяной, шоколадный, желточно-солевой агары, агары Эндо, Сабуро; среды обогащения — сахарный бульон (мясопептонный бульон + 1 % раствор глюкозы). Идентификацию микроорганизмов до вида проводили с помощью масс-спектрометрического анализа белковой фракции микробной клетки на приборе MALDI-ToF Microflex LT (Biotyper, Bruker Daltonics, Германия).

Определение минимальных ингибирующих концентраций (МИК) амфотерицина В, флуконазола, вориконазола, позаконазола, анидулафунгина и микафунгина выполняли на планшетах Sensititre Yeast ONE, YO10 (Trek Diagnostic System, Великобритания) в соответствии с инструкцией производителя. Анализ чувствительности к АФП проводили в отношении тех видов *Candida*, по которым разработаны критерии оценки МИК (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei* и *C. tropicalis*). Для оценки полученных значений МИК использовались клинические пограничные значения (clinical breakpoint, CBP), рекомендованные Европейским комитетом по тестированию антимикробной чувствительности (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST) (breakpoint tables for interpretation of MICs for antifungal agents, version 10.0). В исследуемых штаммах были определены гены, ассоциированные с факторами патогенности и резистентности к АФП. Выделение ДНК проводили с помощью комплекта реагентов для экстракции ДНК из клинического материала «АмплиПрайм ДНК-сорб-В» («ИнтерЛабСервис», Москва, Россия) согласно инструкции производителя. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) выполняли с использованием реактивов Thermo Fisher

Таблица 1. Праймеры для амплификации генов патогенности и резистентности штаммов *Candida spp.*Table 1. Primers for gene amplification pathogenicity and resistance genes of *Candida spp.*

Ген Gene	Праймеры Primers	Температура отжига, °C Annealing temperature, °C	Источник Reference
Гены резистентности Resistance genes			
<i>ERG11</i>	5'-ttagtgtttattggattccttggtt-3' 5'-tctcatttcacaccaaataaagatc-3'	61	Y. Xu и соавт., 2008 [26] Y. Xu et al., 2008 [26]
<i>FKS1</i>	5'-atgtcttacgataacaatc-3' 5'-ttagaatgcctttgttagtatag-3'	40	M. Kordalewska и соавт., 2018 [27] M. Kordalewska et al., 2018 [27]
Гены патогенности Pathogenicity genes			
<i>ALS1</i>	5'-gactagtgaaccaacaataaccaga-3' 5'-ccagaagaacagcaggtga-3'	50	R. Shrief и соавт., 2019 [28] R. Shrief et al., 2019 [28]
<i>HWP1</i>	5'-atgactccagctgggtt-3' 5'-tagatcaagaatgcagc-3'	45	R. Shrief и соавт., 2019 [28] R. Shrief et al., 2019 [28]
<i>PLB1</i>	5'-atgattttgcatcattt-3' 5'-agtatctggagctctac-3'	50	R. Shrief и соавт., 2019 [28] R. Shrief et al., 2019 [28]
<i>LIP1</i>	5'-acaaattcactgggcatcaagag-3' 5'-ataagtgcacatggacgttactg-3'	55	F. Stehr, 2004 [29]
<i>SAP4</i>	5'-gctcttgctattgctttatt-3' 5'-taggaaccgttattcttac-3'	49	R. Shrief и соавт., 2019 [28] R. Shrief et al., 2019 [28]
<i>SAP9</i>	5'-atttactccacagtttatatcactgaaggt-3' 5'-ccaccagaaccacccctcagtt-3'	59	A.A. Kadry и соавт., 2018 [30] A.A. Kadry et al., 2018 [30]

Scientific (Уолтем, США): 10 × Taq-буфера с аммонием серноокислым ((NH₄)₂SO₄); 25 мМ раствора хлорида магния (MgCl₂); 10 мМ раствора смеси дезоксирибонуклеозидтрифосфатов (дНТФ); рекомбинантной Taq-полимеразы с концентрацией 5 ед/мкл на приборе «Терцик» («ДНК-Технология», Москва, Россия). Разделение ДНК ПЦР-продуктов осуществляли в электрофоретической камере Wide Mini-Sub Cell GT (Bio-RAD, США), в трис-боратном буфере, в 1,2 % агарозном геле при напряжении 50 В. Гены, ассоциированные с патогенностью и резистентностью, определяли методом ПЦР со специфичными праймерами (табл. 1).

При статистической обработке результатов исследования вычисляли одновыборочный t-критерий Стьюдента. Статистически значимыми считали различия с вероятностью не менее 95 % ($p < 0,05$). Статистические расчеты осуществляли с помощью специальной компьютерной программы, которая разработана группой медицинской кибернетики НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина.

Результаты

Изучение таксономической структуры изолятов *Candida spp.* Был проведен анализ таксономической структуры изолятов *Candida spp.*, выделенных с 01.01.2018 по 31.12.2021 из биоматериалов пациентов, проходив-

ших лечение в хирургическом отделении опухолей головы и шеи НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. За 4-летний период наблюдения из различных биоматериалов (мазок и смыв из полости рта, отделяемое из глубокой раны и опухолевой ткани, мазок из поверхностной раны, аспират из трахеостомы, мокрота, кал (анализ на дисбиоз)) было получено 102 штамма *Candida spp.* (табл. 2).

Таким образом, основным видом *Candida* у пациентов, находившихся в данном отделении, был *C. albicans* (73,5 %).

Изучение уровня резистентности к антифунгальным препаратам изолятов *Candida spp.* Также был определен уровень резистентности к антифунгальным препаратам изолятов *Candida spp.*, выделенных с 01.01.2018 по 31.12.2021 из биоматериалов пациентов, проходивших лечение в хирургическом отделении опухолей головы и шеи НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина.

Анализ чувствительности *Candida spp.* к АФП за 4 года показал, что только 7 штаммов *C. albicans* из 75 и 1 штамм *C. glabrata* из 3 резистентны к флуконазолу. К микафунгину были устойчивы 6 штаммов *C. albicans*. Среди остальных видов *Candida*, по которым можно было интерпретировать полученные значения МИК антимикотиков по критериям EUCAST, резистентных штаммов не выявлено (табл. 3).

Таблица 2. Виды *Candida*, выделенные с 01.01.2018 по 31.12.2021 из различных биоматериалов пациентов, проходивших лечение в хирургическом отделении опухолей головы и шеи Национального медицинского исследовательского центра онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России

Table 2. *Candida* species isolated from various biomaterials from patients in the Surgical Department of Head and Neck Tumors of the National Medical Research Center of Oncology N.N. Blokhin of the Ministry of Health of Russia from 01.01.2018 to 31.12.2021.

Вид <i>Candida</i> (<i>n</i> = 102) <i>Candida</i> species (<i>n</i> = 102)	Количество штаммов, абс. (%) Number of strains abs. (%)
<i>C. albicans</i>	75 (73,5)
<i>C. inconspicua</i>	9 (8,8)
<i>C. lusitaniae</i>	4 (3,9)
<i>C. tropicalis</i>	4 (3,9)
<i>C. kefyr</i>	3 (2,9)
<i>C. krusei</i>	3 (2,9)
<i>C. glabrata</i>	3 (2,9)
<i>C. parapsilosis</i>	1 (1,0)

Таким образом, у больных, проходивших лечение в отделении, резистентность *Candida* spp. к АФП невысока и в основном регистрируется у штаммов *C. albicans*.

Таблица 3. Количество резистентных штаммов *Candida* spp. к антифунгальным препаратам, %

Table 3. The number of resistant strains of *Candida* spp. to antifungal drugs, %

Вид <i>Candida</i> <i>Candida</i> species	Всего штаммов Total strains	Амфотерицин В Amphotericin B	Флуконазол Fluconazol	Вориконазол Voriconazol	Позаконазол Pozaconazol	Анидулафунгин Anidulafungin	Микафунгин Micafungin
<i>C. albicans</i>	75	0	9,3	0	0	0	8,0
<i>C. glabrata</i>	3	0	33,3	Н/д* N/d*	Н/д N/d	0	0
<i>C. inconspicua</i>	9	Н/д N/d	Н/д N/d	Н/д N/d	Н/д N/d	Н/д N/d	Н/д N/d
<i>C. kefyr</i>	3	Н/д N/d	Н/д N/d	Н/д N/d	Н/д N/d	Н/д N/d	Н/д N/d
<i>C. krusei</i>	3	0	Н/д** N/d**	Н/д N/d	Н/д N/d	0	Н/д N/d
<i>C. lusitaniae</i>	4	Н/д N/d	Н/д N/d	Н/д N/d	Н/д N/d	Н/д N/d	Н/д N/d
<i>C. parapsilosis</i>	1	0	0	0	0	0	0
<i>C. tropicalis</i>	4	0	0	0	0	0	Н/д N/d

Примечание. Н/д — нет данных; н/д* — нет данных в связи с отсутствием критериев оценки минимальной ингибирующей концентрации; н/д** — нет данных в связи с тем, что у *C. krusei* имеется природная резистентность к флуконазолу.

Note. N/d — no data; n/d* — no data, since there are no criteria for assessing the minimum inhibitory concentration; n/d** — no data due to the fact that *C. krusei* has a natural resistance to fluconazole.

Исследование смывов из полости рта у первичных больных плоскоклеточным раком орорфарингеальной области до и после оперативного вмешательства. В 2021 г. у 22 первичных больных плоскоклеточным раком орорфарингеальной области (8 мужчин старше 50 лет и 14 женщин от 34 до 81 года) были исследованы 44 смыва из полости рта (22 — непосредственно перед операцией и 22 — через 7 дней после нее). Пациенты старше 60 лет составили 59,1 % (13/22). Характеристика больных представлена в табл. 4 и 5.

У 7 (31,8 %) из 22 пациентов до операции в смывах полости рта выявлен рост *Candida* spp. (в количестве от единичных колоний до 10⁴ колониеобразующих единиц (КОЕ/мл)), при этом все случаи были расценены как колонизация тканей. Следует заметить, что у 3 больных, у которых до операции *Candida* spp. при посеве смывов из полости рта не выделялись, после оперативного вмешательства они регистрировались, но в очень небольшом количестве (единичные колонии). У 2 пациентов после хирургического вмешательства произошла смена вида *Candida* или ассоциация из нескольких видов дополнилась новым видом.

Летальный исход зарегистрирован у 1 пациента, у которого послеоперационный период осложнился двусторонним гнойным эндобронхитом, плевритом, двусторонней полисегментарной пневмонией, рецидивирующей мочевого инфекции. До операции *Candida* spp. в смывах из полости рта не были выявлены,

Таблица 4. Характеристика больных раком оророфарингеальной области, у которых получен рост *Candida* spp. в смывах из полости ртаTable 4. Characteristics of patients with cancer of the oropharyngeal region, in which the growth of *Candida* spp. in oral lavage

Паци- ент Patient	Вид <i>Candida</i> до операции Species of <i>Candida</i> before surgery	Вид <i>Candida</i> после операции Species of <i>Candida</i> after surgery	Пол Gender	Возраст, лет Age, years	Диагноз Diagnosis	Исход Outcome
1	<i>C. albicans</i> (10 ³)	<i>C. albicans</i> (10 ³)	М M	59	Рак десны нижней челюсти слева (C03.1), сT4aN0M0, стадия IVA Cancer of the gums of the lower jaw on the left (C03.1), cT4aN0M0, stage IVA	Благоприят- ный Favorable
2	Нет роста <i>Candida</i> spp. No <i>Candida</i> growth	<i>C. inconspicua</i> (10 ¹)	Ж F	70	Рак боковой поверхности языка (C02.1), сT3N1M0, III стадия Cancer of the lateral surface of the tongue (C02.1), cT3N1M0, stage III	Благоприят- ный Favorable
3	<i>C. albicans</i> (10 ¹)	<i>C. albicans</i> (10 ¹)	М M	56	Рак боковой поверхности языка (C02.1), сT1N1N0M0, I стадия Cancer of the lateral surface of the tongue (C02.1), cT1N1N0M0, stage I	Благоприят- ный Favorable
4	Нет роста <i>Candida</i> spp. No <i>Candida</i> growth	<i>C. albicans</i> (10 ¹)	Ж F	42	Рак корня языка (C01), сT2N0M0, II стадия Cancer of the root of the tongue (C01), cT2N0M0, stage II	Благоприят- ный Favorable
5	Нет роста <i>Candida</i> spp. No <i>Candida</i> growth	<i>C. inconspicua</i> (10 ⁶)	Ж F	74	Рак слизистой оболочки альвеолярного отростка верхней челюсти справа с метаста- зами в лимфатические узлы шеи справа (C31.0), сT3N36M0, IVB стадия Cancer of the mucous membrane of the alveolar process of the upper jaw on the right with metastases to the lymph nodes of the neck on the right (C31.0), cT3N3bM0, stage IVB	Летальный Letelis
6	<i>C. albicans</i> (10 ⁴)	Нет роста <i>Candida</i> spp. No <i>Candida</i> growth	Ж F	68	Рак слизистой оболочки нижней челюсти (C41.1) слева, сT2N1M0, III стадия Cancer of the mucosa of the mandible on the left (C41.1), cT2N1M0, stage III	Благоприят- ный Favorable
7	<i>C. albicans</i> (10 ²)	<i>C. albicans</i> (10 ³)	Ж F	75	Рак десны нижней челюсти (C03.1) слева, сT2N0M0, II стадия Cancer of the gums of the lower jaw (C03.1) on the left, cT2N0M0, stage II	Благоприят- ный Favorable
8	<i>C. glabrata</i> (10 ²)	<i>C. lusitaniae</i> (10 ²)	М M	66	Рак левой боковой поверхности языка (C02.1), метастазы в лимфатические узлы шеи слева, T3N1M0, III стадия Cancer of the left lateral surface of the tongue (C02.1), metastases to the lymph nodes of the neck on the left, T3N1M0, stage III	Благоприят- ный Favorable
9	<i>C. albicans</i> (10 ²), <i>C. inconspicua</i> (10 ³)	<i>C. albicans</i> (10 ⁴), <i>C. inconspicua</i> (10 ³), <i>C. kefyr</i> (10 ¹)	М M	56	Рак передней части дна полости рта (C04.0), сT4aN1M0, IV стадия Cancer of the anterior floor of the oral cavity (C04.0), cT4aN1M0, IV stage	Благоприят- ный Favorable
10	<i>C. albicans</i> (10 ²)	Нет роста <i>Candida</i> spp. No <i>Candida</i> growth	Ж F	78	Рак правой боковой поверхности языка (C02.1) с метастазами в лимфатические узлы шеи справа, сT2N1M0, стадия II Cancer of the right lateral surface of the tongue (C02.1) with metastases to the lymph nodes of the neck on the right, T2N1M0, stage II	Благоприят- ный Favorable

Примечание. М – мужской; Ж – женский.

Note. M – male; F – female.

Таблица 5. Характеристика больных раком оророфарингеальной области, у которых не выявлен рост *Candida spp.* в полости ртаTable 5. Characteristics of patients with cancer of the oropharyngeal region, in which growth of *Candida spp.* was not detected

Пациент Patient	Пол Gender	Возраст, лет Age, years	Диагноз Diagnosis	Исход Outcome
1	Ж F	81	Рак боковой поверхности языка (C02.1) слева, T2N1M0, III стадия Cancer of the lateral surface of the tongue (C02.1) on the left, T2N1M0, stage III	Благоприятный Favorable
2	Ж F	36	Рак боковой поверхности языка (C02.1) слева, T2N0M0, II стадия Cancer of the lateral surface of the tongue (C02.1) on the left, T2N0M0, stage II	Благоприятный Favorable
3	Ж F	67	Рак верхнего альвеолярного отростка (C03.0), T3N2M0, IVA стадия Cancer of the superior alveolar process (C03.0), T3N2M0, stage IVA	Благоприятный Favorable
4	М M	65	Рак боковой поверхности языка слева (C02.1), метастазы в лимфатические узлы шеи с 2 сторон, cT4aN2M0, IVA стадия Cancer of the lateral surface of the tongue (C02.1), on the left, metastases in the lymph nodes of the neck from 2 sides, T4aN2M0, stage IVA	Благоприятный Favorable
5	Ж F	62	Рак твердого неба (C05.0), T2N0M0, II стадия Cancer of hard palate (C05.0), T2N0M0, stage II	Благоприятный Favorable
6	Ж F	63	Рак боковой поверхности языка (C02.1) слева, T3N1M0, III стадия Cancer of the lateral surface of the tongue (C02.1) on the left, T3N1M0, stage III	Благоприятный Favorable
7	Ж F	34	Рак слизистой оболочки щеки (C06.0) слева, T3N3M0, IV стадия Cancer of the cheek mucosa (C06.0) on the left, T3N3M0, stage IV	Благоприятный Favorable
8	Ж F	55	Рак десны нижней челюсти (C03.1) справа, T2N0M0, II стадия Cancer of the gums of the lower jaw (C03.1) of the right, T2N0M0, stage II	Благоприятный Favorable
9	М M	51	Рак нижней челюсти (C41.1) справа, N4aN1M0, IV стадия Cancer of the lower jaw (C41.1) on the right, N4aN1M0, stage IV	Благоприятный Favorable
10	М M	68	Рак боковой поверхности языка (C02.1), T3N3bM0, IV стадия Cancer of the lateral surface of the tongue (C02.1), T3N3bM0, stage IV	Благоприятный Favorable
11	М M	52	Рак гортаноглотки (C13.8) с метастазами в лимфатические узлы шеи с 2 сторон, T3N2dM0, IV стадия, рецидив Laryngopharyngeal cancer (C13.8) with metastases in the lymph nodes of the neck from 2 sides, T3N2dM0, stage IV, relapse	Благоприятный Favorable
12	Ж F	69	Рак слизистой оболочки альвеолярного отростка нижней челюсти (C41.1) слева, T2T0M0, II стадия Cancer of the mucosa of the alveolar process of the mandible (C41.1) on the left, T2T0M0, stage II	Благоприятный Favorable

Примечание. М – мужской; Ж – женский.

Note. M – male; F – female.

но в послеоперационном периоде из полости рта, мочи, бронхоальвеолярной лаважной жидкости были выделены *C. inconspicua* в количестве $\geq 10^6$ КОЕ/мл, что было расценено как инвазивный кандидоз; антифунгальные препараты не назначались.

Мы также исследовали 14 штаммов *Candida spp.* (в смывах из полости рта) с целью определения их чувствительности к АФП, детекции генов резистентности и факторов патогенности (табл. 6).

Согласно данным, представленным в табл. 6, только 22,2 % (2/9) штаммов *Candida spp.* были устойчивы к флуконазолу, не было изолятов, резистентных к вориконазолу, позаконазолу и анидулафунгину, 77,8 % (7/9) штаммов были устойчивы к микафунгину *in vitro*. Ген *ERG11*, который отвечает за резистентность к три-

азолам (флуконазол, вориконазол, позаконазол), выявлен только у 1 (7,1 %) штамма из 14 – *C. albicans*, причем резистентности ко всем трем триазолам *in vitro* не отмечено. Ген *FKSI*, отвечающий за резистентность к эхинокандинам (анидулафунгин, микафунгин), также выявлен только у 1 штамма – *C. glabrata*, и в данном случае МИК анидулафунгина и микафунгина были достаточно низкими, но интерпретировать результаты не представлялось возможным ввиду отсутствия критериев оценки полученных значений МИК. В таких случаях наличие генов, ответственных за резистентность к лекарственным средствам, может служить маркером, определяющим целесообразность назначения того или иного препарата с целью терапии или профилактики инвазивного микоза. Штаммы, у которых

Таблица 6. Резистентность изолятов *Candida* spp. к антифунгальным препаратам, гены резистентности и факторы патогенностиTable 6. Resistance of *Candida* spp. isolates to antifungal drugs, resistance genes and pathogenicity factors

№ п/п Ordinal number	Вид <i>Candida</i> <i>Candida</i> species	МИК, мг/л MIC, mg/l					Гены резистент- ности Resistance genes		Факторы патогенности Pathogenicity factors						
		Флуко- назол Fluco- nazole	Ворико- назол Vorico- nazole	Позакона- зол Pozaco- nazole	Анидула- фунгин anidula Fungin	Микафун- гин Micafungin	<i>Erg11</i>	<i>Fks1</i>	<i>ALS1</i>	<i>HWP1</i>	<i>SAP9</i>	<i>SAP4</i>	<i>PLB1</i>	<i>LIP1</i>	Гемо- лиз Hemo- lysis
1	<i>C. albicans</i>	2/S	0,015/S	<0,008/S	<0,015/S	0,06/R	—	—	—	+	—	—	—	—	—
2	<i>C. inconspicua</i>	32/IE	0,25/IE	0,015/IE	<0,015/IE	<0,008/IE	—	+	+	—	—	—	—	—	—
3	<i>C. albicans</i>	2/S	0,03/I	<0,008/S	<0,015/S	0,06/R	+	—	—	+	—	—	—	—	—
4	<i>C. albicans</i>	2/S	0,03/I	<0,015/S	<0,015/S	0,06/R	—	—	+	—	—	—	—	—	—
5	<i>C. inconspicua</i>	2/IE	0,03/IE	0,015/IE	<0,015/IE	<0,008/IE	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6	<i>C. albicans</i>	4/I	0,03/S	<0,015/S	<0,015/S	0,06/R	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	<i>C. albicans</i>	4/I	0,03/S	<0,015/S	<0,015/S	0,06/R	—	—	—	—	—	—	—	—	+
8	<i>C. glabrata</i>	32/R	0,5/IE	0,25/IE	<0,015/S	<0,015/S	—	—	—	—	—	—	—	—	+
9	<i>C. lusitaniae</i>	4/IE	0,06/IE	<0,015/IE	<0,015/S	0,12/IE	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	<i>C. albicans</i>	32/R	0,015/S	<0,015/S	<0,015/S	0,03/S	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11	<i>C. albicans</i>	2/S	0,015/S	<0,008/S	<0,015/S	0,06/R	—	—	—	—	—	—	—	—	+
12	<i>C. albicans</i>	2/S	0,015/S	<0,008/S	<0,015/S	0,06/R	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13	<i>C. kefyr</i>	0,25/IE	0,015/IE	0,03/IE	<0,015/IE	0,015/IE	—	—	—	—	—	—	—	+	—
14	<i>C. inconspicua</i>	0,25/IE	0,015/IE	0,015/IE	<0,015/IE	0,03/IE	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Примечание. S — чувствительный штамм; R — резистентный штамм; IE — критерии оценки полученных значений минимальной ингибирующей концентрации (МИК) антифунгального препарата отсутствуют; I — чувствительный штамм при увеличенной экспозиции антифунгального препарата; «+» — обнаружено; «—» — не обнаружено.

Note. S — sensitive strain; R — resistant strain; IE — there are no criteria for evaluating the obtained values of the minimum inhibitory concentration (MIC) of the antifungal drug; I — sensitive with increased exposure to the antifungal drug; «+» — found; «—» — not found.

детектирован ген резистентности, и одновременно *in vitro* чувствительные к АФП могут иметь «слабые мутации» гена, поэтому не все генетические варианты связаны с устойчивостью к АФП [31, 32]. Не следует забывать и о других возможных механизмах резистентности (эффлюкс, мутация белков пориновых каналов и т.д.) [33], которые могли наблюдаться у данных пациентов.

Как следует из данных, представленных в табл. 6, гены факторов патогенности определены у 8 из 14 штаммов (57,1 %), причем только у изолятов после оперативного вмешательства. Гемолитическими свойствами обладали 21,4 % штаммов, все — *C. albicans*. У 1 штамма (*C. kefyr*) детектирован фактор патогенности *LIP1*, который участвует в процессе пенетрации и инвазии *Candida* spp. У 2 штаммов выявлены только *ALS1* или *HWP*, которые индуцируются во время процесса филаментации и опосредуют адгезию клеток *Candida* spp. к клеткам

и тканям хозяина. Все изоляты с детектированными факторами патогенности представляют потенциальную опасность, так как колонизация такими штаммами, особенно длительная и множественная (колонизация 2 и более локусов), при наличии иных факторов риска развития инфекции с большой вероятностью может трансформироваться в инвазивный кандидоз. Таким образом, наличие факторов патогенности, как и генов резистентности, можно рассматривать в качестве биомаркеров с целью рационального применения АФП в плане как профилактики, так и лечения инвазивного кандидоза.

В табл. 7 и 8 представлены результаты культурального исследования смывов из полости рта первичных больных раком орорфарингеальной области и описан состав микробиоты данного локуса до и после оперативного вмешательства. Согласно данным, содержащимся

Таблица 7. Состав микробиоты полости рта первичных больных раком орофарингеальной области до и после операции при наличии роста *Candida spp.*

Table 7. Composition of oral microbiota in patients with primary oropharyngeal cancer before and after surgery in presence of *Candida spp.* growth

№ п/п Ordinal number	Возраст, лет Age, years	Пол Gender	Состав микробиоты полости рта (количество, КОЕ/мл) Composition of the oral microbiota (number, CFU/ml)	
			до операции before surgery	после операции after surgery
1	59	М M	<i>C. albicans</i> (10 ³) <i>Str. parasanguinis</i> (10 ⁶) <i>S. epidermidis</i> (10 ⁵) <i>P. aeruginosa</i> (10 ⁵)	<i>C. albicans</i> (10 ²) <i>P. aeruginosa</i> (10 ⁴) <i>Str. oralis</i> (10 ⁵)
2	70	Ж F	Нет роста <i>Candida</i> No <i>Candida</i> growth <i>Str. oralis</i> (10 ⁵) <i>N. subflava</i> (10 ⁴) <i>C. amicolatum</i> (10 ⁴) <i>E. cloacae</i> (10 ¹)	<i>C. inconspicua</i> (10 ¹) <i>Str. oralis</i> (10 ⁵) <i>N. subflava</i> (10 ⁵) <i>Str. parasanguinis</i> (10 ⁵) <i>Str. sanguinis</i> (10 ⁴)
3	56	М M	<i>C. albicans</i> (10 ¹) <i>Str. mitis</i> (10 ⁵) <i>Str. vestibularis</i> (10 ⁵) <i>R. mucilaginosa</i> (10 ⁴)	<i>C. albicans</i> (10 ¹) <i>Str. oralis</i> (10 ⁵) <i>S. epidermidis</i> (10 ⁴) <i>P. aeruginosa</i> (10 ³)
4	42	Ж F	Нет роста <i>Candida</i> No <i>Candida</i> growth <i>Str. parasanguinis</i> (10 ⁵) <i>R. mucilaginosa</i> (10 ⁵) <i>H. haemolyticus</i> (10 ⁵) <i>N. subflava</i> (10 ⁵) <i>K. pneumonia</i> (10 ⁴)	<i>C. albicans</i> (10 ¹) <i>S. haemolyticus</i> (10 ⁵) <i>Str. mitis</i> (10 ³)
5	74	Ж F	Нет роста <i>Candida</i> <i>E. cloacae</i> (10 ⁵) <i>H. parainfluenzae</i> (10 ⁵) <i>N. subflava</i> (10 ⁵)	<i>C. inconspicua</i> (10 ⁶) <i>A. baumannii</i> (10 ⁶)
6	68	Ж F	<i>C. albicans</i> (10 ⁴) <i>P. aeruginosa</i> (10 ⁵) <i>Str. anginosus</i> (10 ⁵) <i>Str. mitis</i> (10 ⁵) <i>S. aureus</i> (10 ⁵) <i>R. mucilaginosa</i> (10 ⁴)	Нет роста <i>Candida</i> No <i>Candida</i> growth <i>P. aeruginosa</i> (10 ⁶)
7	75	Ж F	<i>C. albicans</i> (10 ²) <i>N. subflava</i> (10 ⁶) <i>N. perflava</i> (10 ⁶) <i>Str. pneumonia</i> (10 ⁶) <i>S. epidermidis</i> (10 ²)	<i>C. albicans</i> (10 ³) <i>N. oralis</i> (10 ⁴) <i>S. epidermidis</i> (10 ⁴) <i>S. maltophilia</i> (10 ³)
8	66	М M	Нет роста <i>Candida</i> No <i>Candida</i> growth <i>R. mucilaginosa</i> (10 ⁵) <i>G. haemolysans</i> (10 ⁵) <i>H. parahaemolyticus</i> (10 ⁵) <i>Rh. mucilaginosa</i> (10 ²)	<i>C. glabrata</i> (10 ²) <i>C. lusitanae</i> (10 ²) <i>S. marcescens</i> (10 ⁶) <i>R. ornithinolytica</i> (10 ⁶) <i>E. cloacae</i> (10 ²)
9	56	М M	<i>C. albicans</i> (10 ²) <i>C. inconspicua</i> (10 ³) <i>Str. oralis</i> (10 ⁷) <i>E. faecalis</i> (10 ²) <i>R. mucilaginosa</i> (10 ⁵) <i>M. morganii</i> (10 ⁵)	<i>C. albicans</i> (10 ⁴) <i>C. inconspicua</i> (10 ³) <i>C. kefyr</i> (10 ¹) <i>E. faecalis</i> (10 ⁴)

Окончание табл. 7

The end of table 7

№ п/п Ordinal number	Возраст, лет Age, years	Пол Gender	Состав микробиоты полости рта (количество, КОЕ/мл) Composition of the oral microbiota (number, CFU/ml)	
			до операции before surgery	после операции after surgery
10	87	Ж F	<i>C. albicans</i> (10 ²) <i>Str. parasanguinis</i> (10 ⁷) <i>Str. mitis</i> (10 ⁷) <i>Str. salivarius</i> (10 ⁷) <i>Str. peroris</i> (10 ⁷) <i>R. mucilaginosa</i> (10 ³) <i>N. subflava</i> (10 ³) <i>E. cloacae</i> (10 ²) <i>S. aureus</i> (10 ¹) <i>S. epidermidis</i> (10 ¹) <i>G. silvicola</i> (10 ³)	Нет роста <i>Candida</i> No <i>Candida</i> growth <i>Str. salivarius</i> (10 ³) <i>N. subflava</i> (10 ³)

Примечание. Здесь и в табл. 8: М — мужской; Ж — женский; КОЕ — колониеобразующие единицы.

Note. M — male; F — female; CFU — colony-forming units.

в этих таблицах, в основном микробиота состоит из кокков (стрептококков, стафилококков, нейсерий), которые являются либо нормальной, либо условно-патогенной микрофлорой. Интересно, что *Lactobacillus* spp. не выявлены ни у одного пациента ни до, ни после хирургического вмешательства. Снижение или отсутствие *Lactobacillus* spp. может способствовать развитию дисбиоза микробиоты полости рта у больных плоскоклеточным раком орофарингеальной области [11]. В 54,5 % (12/22) случаев у пациентов до операции и в 72,7 % (16/22) случаев после операции в полости рта были обнаружены грамотрицательные палочки (энтеробактерии и неферментирующие грамотрицательные палочки). Следует заметить, что после хирургического вмешательства доля как энтеробактерий (59,1 % (13/22) против 27,3 % (6/22); $p < 0,05$), так и неферментирующих грамотрицательных палочек (63,6 % (14/22) против 27,3 % (6/22); $p < 0,02$) статистически значимо увеличилась более чем в 2 раза, причем если до операции неферментирующие грамотрицательные палочки были представлены в 100 % случаев только *P. aeruginosa*, то после оперативного вмешательства их спектр расширился, но доля *P. aeruginosa* по-прежнему была велика и составила 71,4 % (10/14). Все случаи высева грамотрицательных палочек (в том числе *P. aeruginosa*) были расценены как колонизация слизистой полости рта. Несмотря на это, следует учитывать, что, если в состав микробиоты полости рта больных раком орофарингеальной области входят микроорганизмы, которые способны вызывать тяжелые инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, вероятность развития инфекционного осложнения при определенных факторах риска увеличивается.

Z.K. Wang и соавт. [34] приводят интересные данные о бактериально-грибковых взаимодействиях и их связи с развитием патологических процессов. Бактерии и микромицеты по-разному могут влиять друг на друга: возможен и антагонизм, и синергизм, и комменсализм или симбиоз. Например, на экспериментальных моделях показано, что такие распространенные внутрибольничные возбудители, как *P. aeruginosa*, *S. aureus* и *S. epidermidis*, способны формировать биопленки на гифах *C. albicans*, подавлять их рост и вирулентность [35–38]. Можно предположить, что если до операции в состав микробиоты пациентов входят такие виды бактерий, то после хирургического вмешательства они, возможно, способствуют тому, что колонизация *Candida* spp. не трансформируется в инвазивный кандидоз. В нашем исследовании у 2 из 10 пациентов до операции в смывах из полости рта присутствовали ассоциации микроорганизмов, состоящие из *Candida* spp. и *P. aeruginosa*, при этом после операции в одном случае количество *Candida* spp. снизилось, а в другом микромицеты уже не определялись. У 4 из 12 пациентов, у которых вообще ни до, ни после хирургического вмешательства рост *Candida* spp. выявлен не был, в составе микробиоты полости рта присутствовала *P. aeruginosa*, причем после операции ее количество возросло.

Еще один весьма распространенный патоген — *Acinetobacter baumannii* — способен подавлять образование гиф и биопленок *C. albicans*; в то же время кандиды действуют губительно на бактериальные клетки *A. baumannii*, т. е. между двумя этими патогенами существуют антагонистические взаимодействия [39]. Только у 1 из 10 пациентов, у которых при посеве был получен рост *Candida* spp., после операции в смывах из полости рта обнаружена *A. baumannii*, причем в ассоциации

Таблица 8. Состав микробиоты полости рта первичных больных раком орорфарингеальной области до и после операции при отсутствии роста *Candida spp.*

Table 8. Composition of oral microbiota in patients with primary oropharyngeal cancer before and after surgery in absence of *Candida spp.* growth

№ п/п Ordinal number	Возраст, лет Age, years	Пол Gender	Состав микробиоты полости рта (количество, КОЕ/мл) Composition of the oral microbiota (number, CFU/ml)	
			до операции before surgery	после операции after surgery
1	81	Ж F	<i>Str. parasanguinis</i> (10 ⁶) <i>Str. mitis</i> (10 ⁵) <i>N. subflava</i> (10 ⁵) <i>N. perflava</i> (10 ⁵) <i>H. parahaemolyticus</i> (10 ⁴)	<i>N. sicca</i> (10 ⁵) <i>S. capitis</i> (10 ⁴) <i>Str. oralis</i> (10 ⁴) <i>E. cloacae</i> (10 ²) <i>E. coli</i> (10 ¹)
2	36	Ж F	<i>Str. parasanguinis</i> (10 ⁶) <i>Str. pneumonia</i> (10 ⁶) <i>Str. mitis</i> (10 ⁶) <i>N. subflava</i> (10 ⁵) <i>R. mucilaginosa</i> (10 ⁵)	<i>N. macacae</i> (10 ⁶) <i>Str. mitis</i> (10 ⁶) <i>Str. parasanguinis</i> (10 ⁶) <i>S. epidermidis</i> (10 ³) <i>H. alvei</i> (10 ²) <i>B. cepacia</i> (10 ²)
3	67	Ж F	<i>P. aeruginosa</i> (10 ⁵) <i>N. flavescens</i> (10 ⁵) <i>Str. mitis</i> (10 ⁵)	<i>P. aeruginosa</i> (10 ⁶)
4	65	М M	<i>N. subflava</i> (10 ⁵) <i>Str. oralis</i> (10 ⁵) <i>Str. mitis</i> (10 ⁵) <i>S. epidermidis</i> (10 ³) <i>Rh. mucilaginosa</i> (10 ³) <i>K. pneumonia</i> (10 ¹) <i>E. cloacae</i> (10 ¹)	<i>E. cloacae</i> (10 ⁶) <i>P. aeruginosa</i> (10 ⁶) <i>S. epidermidis</i> (10 ⁶) <i>Str. mitis</i> (10 ⁶)
5	62	Ж F	<i>N. subflava</i> (10 ⁶) <i>Str. oralis</i> (10 ⁵) <i>S. aureus</i> (10 ⁵) <i>R. mucilaginosa</i> (10 ⁵) <i>P. aeruginosa</i> (10 ⁴)	<i>P. aeruginosa</i> (10 ⁵) <i>Str. salivarius</i> (10 ⁵) <i>S. hominis</i> (10 ⁵)
6	63	Ж F	<i>R. mucilaginosa</i> (10 ⁵) <i>N. cinerea</i> (10 ⁵) <i>N. subflava</i> (10 ⁵) <i>Str. mitis</i> (10 ⁵) <i>E. cloacae</i> (10 ¹)	<i>P. aeruginosa</i> (10 ⁵) <i>S. aureus</i> (10 ⁴) <i>S. epidermidis</i> (10 ³)
7	34	Ж F	<i>N. subflava</i> (10 ⁶) <i>R. mucilaginosa</i> (10 ⁵) <i>S. aureus</i> (10 ¹) <i>S. hominis</i> (10 ¹)	<i>Str. mitis</i> (10 ⁵) <i>R. mucilaginosa</i> (10 ⁴) <i>S. epidermidis</i> (10 ⁴) <i>A. pittii</i> (10 ³)
8	55	Ж F	<i>Str. sanguinis</i> (10 ⁶) <i>Str. oralis</i> (10 ⁶) <i>N. subflava</i> (10 ⁵) <i>N. perflava</i> (10 ⁵)	<i>A. baumannii</i> (10 ⁶) <i>S. maltophilia</i> (10 ⁵)
9	51	М M	<i>P. aeruginosa</i> (10 ³)	<i>P. aeruginosa</i> (10 ⁵) <i>E. faecalis</i> (10 ³)
1	68	М M	<i>Str. parasanguinis</i> (10 ⁶) <i>N. subflava</i> (10 ⁶) <i>S. aureus</i> (10 ²)	<i>Str. sanguinis</i> (10 ⁶) <i>Str. oralis</i> (10 ⁶)
11	52	М M	<i>P. aeruginosa</i> (10 ²)	<i>P. aeruginosa</i> (10 ⁵)
12	69	Ж F	<i>Str. mitis</i> (10 ⁵) <i>N. subflava</i> (10 ⁵) <i>H. parahaemolyticus</i> (10 ⁴) <i>S. epidermidis</i> (10 ³)	<i>Str. sanguinis</i> (10 ⁷) <i>N. subflava</i> (10 ⁷)

с *C. inconspicua*, и оба патогена в значительных количествах. Это был единственный больной с летальным исходом. Возможно, что взаимодействия *A. baumannii* и *C. inconspicua* отличаются от тех, которые были изучены в экспериментальных условиях в отношении *C. albicans*.

Также показано, что стрептококки, такие как *S. oralis*, *S. sanguinis*, *S. mutans* и другие, препятствуют переходу дрожжевой формы *C. albicans* в гифальную, что связано со снижением вирулентности микромицетов [40].

Интересно также, что эндотоксин *E. coli*, наоборот, усиливает вирулентность *C. albicans*. Грибковый фарнезол повышает чувствительность кишечной палочки и золотистого стафилококка к антибактериальным препаратам [41]. Также *in vitro* показано, что бактериальные внеклеточные полимеры служат своеобразной защитой для *C. albicans* от противогрибковых препаратов [35, 37].

Таким образом, в исследованиях *in vitro* и *in vivo* описаны факты разнообразного взаимодействия бактерий и микромицетов. В основном работы посвящены изучению взаимодействия *C. albicans* с различными бактериями. Следует учитывать, что в организме человека все эти бактериально-грибковые ассоциации подвергаются комплексному влиянию иммунной системы и обменных процессов, поэтому сложно предсказать, насколько данные, полученные экспериментальным путем, можно учитывать при анализе бактериально-грибковых и бактериальных ассоциаций у пациентов с раком орорфарингеальной области. В нашем исследовании каких-либо четких и ясных параллелей не выявлено, хотя это может быть связано с небольшим числом изученных случаев.

Заключение

1. В ходе 4-летнего наблюдения было выявлено, что основным видом *Candida* у пациентов, проходивших лечение в хирургическом отделении опухолей головы и шеи НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, был *C. albicans* (73,5 %).

2. Резистентность *in vitro Candida* spp. к АФП выявлена только к флуконазолу (9,3 % случаев) и микафунгину (8,0 % случаев) и в основном регистрируется у штаммов *C. albicans*.
3. У первичных больных плоскоклеточным раком орорфарингеальной области, исследованных в 2021 г., в смывах из полости рта до операции в 31,8 % случаев получен рост *Candida* spp., что было расценено как колонизация тканей. После хирургического вмешательства рост *Candida* spp. наблюдался в 36,4 % случаях, причем только один из них был расценен как инвазивный микоз.
4. У 54,5 % пациентов до операции и у 72,7 % после нее регистрировались грамотрицательные палочки. После хирургического вмешательства доля как энтеробактерий, так и неферментирующих палочек статистически значимо увеличилась (более чем в 2 раза). До операции неферментирующие грамотрицательные палочки были представлены только *P. aeruginosa*, после нее их спектр расширился, но доля *P. aeruginosa* по-прежнему была велика: 71,4 %.
5. Ген *ERG11*, отвечающий за резистентность к триазолам, был выявлен только у 1 штамма — *C. albicans*; ген *FKSI*, который отвечает за резистентность к эхинокандинам, также только у 1 штамма — *C. inconspicua*.
6. Гены факторов патогенности выявлены у 57,1 % штаммов.
7. Детекцию генов факторов патогенности, как и генов резистентности, целесообразно рассматривать в качестве биомаркеров, позволяющих дифференцировать колонизацию и кандидозную инфекцию с целью рационального выбора антифунгальных препаратов в плане как профилактики, так и лечения инвазивного кандидоза, особенно в тех случаях, когда нет рекомендаций по критериям интерпретации полученных значений МИК антифунгальных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Cheung M.K., Chan J.Y.K., Wong M.C.S. et al. Determinants and interactions of oral bacterial and fungal microbiota in healthy chinese adults. Microbiol Spectr 2022;10(1):e0241021. DOI: 10.1128/spectrum.02410-21
2. Nearing J.T., DeClercq V., Van Limbergen J., Langille M.G.I. Assessing the variation within the oral microbiome of healthy adults. mSphere 2020;5(5):e00451–20. DOI: 10.1128/mSphere.00451-20
3. Chattopadhyay I., Verma M., Panda M. Role of oral microbiome signatures in diagnosis and prognosis of oral cancer. Technol Cancer Res Treat 2019;18:1533033819867354. DOI: 10.1177/1533033819867354
4. Zakaria M.N., Furuta M., Takeshita T. et al. Oral mycobiome in community-dwelling elderly and its relation to oral and general health conditions. Oral Dis 2017;23(7):973–82. DOI:10.1111/odi.12682
5. Fidel P.L., Thompson Z.A., Lilly E.A. et al. Effect of HIV/HAART and other clinical variables on the oral mycobiome using multivariate analyses. mBio 2021;23(12):e00294–21. DOI: 10.1128/mBio.00294-21
6. Mukherjee P.K., Wang H., Retuerto M. Bacteriome and mycobiome associations in oral tongue cancer. Oncotarget 2017;8(57):97273–89. DOI: 10.18632/oncotarget.21921

7. Sokol H., Leducq V., Aschard H. et al. Fungal microbiota dysbiosis in IBD. *Gut* 2017;66(6):1039–48. DOI: 10.1136/gutjnl-2015-310746
8. Shay E., Sangwan N., Padmanabhan R. et al. Bacteriome and mycobiome and bacteriome-mycobiome interactions in head and neck squamous cell carcinoma. *Oncotarget* 2020;11(25):2375–86. DOI: 10.18632/oncotarget.27629
9. Cannon R.D. Oral fungal infections: past, present, and future. *Front Oral Health* 2022;3:838639. DOI: 10.3389/froh.2022.838639
10. Hayes R.B., Ahn J., Fan X. et al. Association of oral microbiome with risk for incident head and neck squamous cell cancer. *JAMA Oncol* 2018;4(3):358–65. DOI: 10.1001/jamaoncol.2017.4777
11. Vallianou N., Kounatidis D., Christodoulatos G.S. et al. Mycobiome and cancer: what is the evidence? *Cancers (Basel)* 2021;13(13):3149. DOI: 10.3390/cancers13133149
12. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2021;71(3):209–49. DOI: 10.3322/caac.21660
13. Huët M.A.L., Lee C.Z., Rahman S. A review on association of fungi with the development and progression of carcinogenesis in the human body. *Curr Res Microb Sci* 2021;3:100090. DOI: 10.1016/j.crmicr.2021.100090
14. Bentz M.L., Sexton D.J., Welsh R.M., Litvintseva A.P. Phenotypic switching in newly emerged multidrug-resistant pathogen *Candida auris*. *Med Mycol* 2019;57(5):636–8. DOI: 10.1093/mmy/myy100
15. De Jong A.W., Hagen F. Attack, defend and persist: how the fungal pathogen *Candida auris* was able to emerge globally in healthcare environments. *Mycopathologia* 2019;184(3):353–65. DOI: 10.1007/s11046-019-00351-w
16. Young T., Alshanta O.A., Kean R., Bradshaw D. et al. *Candida albicans* as an essential “keystone” component within polymicrobial oral biofilm models? *Microorganisms* 2020;9(1):59. DOI: 10.3390/microorganisms9010059
17. Diaz P.I., Dongari-Bagtzoglou A. Critically appraising the significance of the oral mycobiome. *J Dent Res* 2021;100(2):133–40. DOI: 10.1177/0022034520956975
18. Xu H., Sobue T., Thompson A. et al. Streptococcal co-infection augments candida pathogenicity by amplifying the mucosal inflammatory response. *Cell Microbiol* 2014;16(2):214–31. DOI: 10.1111/cmi.12216
19. Xu H., Sobue T., Bertolini M. et al. Streptococcus oralis and *Candida albicans* synergistically activate μ calpain to degrade E-cadherin from oral epithelial junctions. *J Infect Dis* 2016;214(6):925–34. DOI: 10.1093/infdis/jiw201
20. Xu H., Sobue T., Bertolini M. et al. *S. oralis* activates the Efg1 filamentation pathway in *C. albicans* to promote cross-kingdom interactions and mucosal biofilms. *Virulence* 2017;8(8):1602–17. DOI: 10.1080/21505594.2017.1326438
21. Bertolini M., Ranjan A., Thompson A. et al. *Candida albicans* induces mucosal bacterial dysbiosis that promotes invasive infection. *PLoS Pathog* 2019;15(4):e1007717. DOI: 10.1371/journal.ppat.1007717
22. Perera M., Al-Hebshi N.N., Perera I. et al. A dysbiotic mycobiome dominated by *Candida albicans* is identified within oral squamous-cell carcinomas. *J Oral Microbiol* 2017;9(1):1385369. DOI: 10.1080/20002297.2017.1385369
23. Vesty A., Gear K., Biswas K. et al. Microbial and inflammatory-based salivary biomarkers of head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Exp Dent Res* 2018;28;4(6):255–62. DOI: 10.1002/cre2.139
24. Hettmann A., Demcsák A., Decsi G. et al. Infectious agents associated with head and neck carcinomas. *Adv Exp Med Biol* 2016;897:63–80. DOI: 10.1007/5584_2015_5005
25. Ramirez-Garcia A., Rementeria A., Aguirre-Urizar J.M. et al. *Candida albicans* and cancer: can this yeast induce cancer development or progression? *Crit Rev Microbiol* 2016;42(2):181–93. DOI: 10.3109/1040841X.2014.913004
26. Xu Y., Chen L., Li C. Susceptibility of clinical isolates of *Candida* species to fluconazole and detection of *Candida albicans* ERG11 mutations. *J Antimicrob Chemother* 2008;61(4):798–804. DOI: 10.1093/jac/ dkn015
27. Kordalewska M., Lee A., Park S. et al. Understanding echinocandin resistance in the emerging pathogen *Candida auris*. *Antimicrob Agents Chemother* 2018;62(6). DOI: 10.1128/AAC.00238-18
28. Shrief R., Sayed Zaki M.E., El-Sehsah E.M. et al. Study of antifungal susceptibility, virulence genes and biofilm formation in *Candida albicans*. *Open Microbiol J* 2019;13(1):241–8. DOI: 10.2174/1874285801913010241
29. Stehr F., Felk A., Gácsér A. et al. Expression analysis of the *Candida albicans* lipase gene family during experimental infections and in patient samples. *FEMS Yeast Res* 2004;4(4–5):401–8. DOI: 10.1016/S1567-1356(03)00205-8
30. Kadry A.A., El-Ganiny A.M., El-Baz A.M. Relationship between Sap prevalence and biofilm formation among resistant clinical isolates of *Candida albicans*. *Afr Health Sci* 2018;18(4):1166–74. DOI: 10.4314/ahs.v18i4.37
31. Arendrup M.C., Friberg N., Mares M. et al. How to interpret MICs of antifungal compounds according to the revised clinical breakpoints v. 10.0 European committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST). *Clin Microbiol Infect* 2020;26(11):1464–72. DOI: 10.1016/j.cmi.2020.06.007
32. Пчелин И.М., Рябинин И.А., Сташук А.А. и др. Генетический полиморфизм ERG11 клинических изолятов *Candida albicans*: теоретические и практические аспекты. Проблемы медицинской микологии 2020;22(3):36–42. DOI: 10.24412/1999-6780-2020-3-36-42
33. Pchelin I.M., Ryabinin I.A., Stashuk A.A. et al. ERG11 Genetic polymorphism in clinical isolates of *Candida albicans*: theoretical and practical aspects. *Problemy medicinskoj mikologii = Problems of medical mycology* 2020;22(3):36–42. (In Russ.). DOI: 10.24412/1999-6780-2020-3-36-42
34. Bhattacharya S., Sae-Tia S., Fries B.C. Candidiasis and mechanisms of Antifungal Resistance. *Antibiotics (Basel)* 2020;9(6):312. DOI: 10.3390/antibiotics9060312
35. Wang Z.K., Yang Y.S., Stefka A.T. et al. Review: fungal microbiota and digestive diseases. *Aliment Pharmacol Ther* 2014;39(8):751–66. DOI: 10.1111/apt.12665
36. Adam B., Baillie G.S., Douglas L.J. Mixed species biofilms of *Candida albicans* and *Staphylococcus epidermidis*. *J Med Microbiol* 2002;51(4):344–9. DOI: 10.1099/0022-1317-51-4-344
37. Hogan D.A., Kolter R. *Pseudomonas-Candida* interactions: an ecological role for virulence factors. *Science* 2002;296(5576):2229–32. DOI: 10.1126/science.1070784
38. Jabra-Rizk M.A., Meiller T.F., James C.E., Shirliff M.E. Effect of farnesol on *Staphylococcus aureus* biofilm formation and antimicrobial susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50(4):1463–9. DOI: 10.1128/AAC.50.4.1463-1469.2006
39. Cugini C., Calfee M.W., Farrow J.M. et al. Farnesol, a common sesquiterpene, inhibits PQS production in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol* 2007;65(4):896–906. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2007.05840.x
40. Peleg A.Y., Tampakakis E., Fuchs B.B. et al. Prokaryote-eukaryote interactions identified by using *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105(38):14585–90. DOI: 10.1073/pnas.0805048105
41. Jarosz L.M., Deng D.M., van der Mei H.C. et al. Streptococcus mutans competence-stimulating peptide inhibits *Candida albicans* hypha formation. *Eukaryot Cell* 2009;8(11):1658–64. DOI: 10.1128/EC.00070-09
42. Brehm-Stecher B.F., Johnson E.A. Sensitization of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* to antibiotics by the sesquiterpenoids nerolidol, farnesol, bisabolol, and apritone. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(10):3357–60. DOI: 10.1128/AAC.47.10.3357-3360.2003

Вклад авторов

Н.С. Багирова: разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, анализ и статистическая обработка результатов, написание текста статьи;

И.Н. Петухова: обзор публикаций по теме статьи, редактирование;

З.В. Григорьевская: редактирование, утверждение окончательного варианта статьи;

А.В. Сытов: клиническая характеристика и оценка состояния пациентов;

П.В. Слукин: проведение микробиологических и молекулярно-генетических исследований, статистическая обработка данных, обзор публикаций по теме статьи;

Е.А. Горемыкина: проведение микробиологических и молекулярно-генетических исследований;

О.Е. Хохлова: планирование экспериментов, анализ результатов, обзор публикаций по теме статьи;

Н.К. Фурсова: планирование экспериментов, анализ результатов, редактирование;

А.Э. Казимов: отбор пациентов для исследования.

Authors' contribution

N.S. Bagirova: development of research design, review of publications on the topic of the article, analysis and statistical processing of results, article writing;

I.N. Petukhova: review of publications on the topic of the article, editing;

Z.V. Grigorievskaya: editing, approval of the final version of the article;

A.V. Sytov: clinical characteristics and assessment of the condition of patients;

P.V. Slukin: conducting microbiological and molecular genetic studies, statistical data processing, review of publications on the topic of the article;

E.A. Goremykina: conducting microbiological and molecular genetic studies;

O.E. Khokhlova: planning of experiments, analysis of results, review of publications on the topic of the article;

N.K. Fursova: experiment planning, results analysis, editing;

A.E. Kazimov: selection of patients for the study.

ORCID авторов / ORCID of authors

Н.С. Багирова / N.S. Bagirova: <https://orcid.org/0000-0003-1405-3536>.

И.Н. Петухова / I.N. Petukhova: <https://orcid.org/0000-0003-3077-0447>

З.В. Григорьевская / Z.V. Grigorievskaya: <https://orcid.org/0000-0003-4294-1995>.

А.В. Сытов / A.V. Sytov: <https://orcid.org/0000-0002-6426-3200>.

П.В. Слукин / P.V. Slukin: <https://orcid.org/0000-0002-4976-0145>.

Е.А. Горемыкина / E.A. Goremykina: <https://orcid.org/0000-0002-2374-3646>.

О.Е. Хохлова / O.E. Khokhlova: <https://orcid.org/0000-0002-2829-5117>.

Н.К. Фурсова / N.K. Fursova: <https://orcid.org/0000-0001-6053-2621>.

А.Э. Казимов / A.E. Kazimov: <https://orcid.org/0000-0002-7117-9453>

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Минздрава России в рамках научно-исследовательской работы по теме АААА-А20-120031090079-6.

Исследование выполнено в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Funding. The study was done with the financial support of the Ministry of Health of Russia within the framework of the research work on the topic АААА-А20-120031090079-6.

The study was done in the frame of the Sectoral Program of Rospotrebnadzor.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare that they have no conflicts of interest.

Статья поступила: 18.05.2022. **Принята к публикации:** 21.06.2022.

Article submitted: 18.05.2022. **Accepted for publication:** 21.06.2022