

УДК 616.3-008.87-053.2:615.015.8

**ПОКАЗАТЕЛИ МИКРОБИОТЫ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА КАК  
ОБЪЕКТИВНЫЙ КРИТЕРИЙ ОЦЕНКИ УРОВНЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ДЕТЕЙ**

**Самоукина А.М., Алексеева Ю.А., Барашкова А.Б., Кочегурова Е.М., Денисова  
Е.В., Макаева Н.В.**

*ФГБОУ ВО Тверской государственный медицинский университет Минздрава России*

**РЕЗЮМЕ**

*Проведено исследование бактериальной составляющей, наличия ДНК герпесвирусов, включая вирус Эпштейна-Барр, цитомегаловирус, герпеса 6 типа, вирус простого герпеса 1 и 2 типа и показателей локальной иммунной резистентности в ротовой жидкости у 137 здоровых детей в возрасте от 6 до 12 лет с последующей оценкой уровня резистентности.*

*Наличие представителей герпесвирусов в ротовой жидкости у здоровых детей на фоне изменения бактериального компонента отражает снижение общей и локальной иммунной резистентности, что позволяет отнести таких детей к группе риска с последующим назначением корректирующих и профилактических мероприятий.*

**Ключевые слова:** *дети, микробиота, герпесвирусы, бактериальный компонент, резистентность*

**PARAMETERS OF DIGESTIVE TRACT MICROBIOTA AS AN OBJECTIVE  
CRITERION FOR ESTIMATING THE LEVEL OF CHILDREN RESISTANCE**

**Samoukina A.M., Alekseeva Yu.A., Barashkova A.B., Kochegurova E.M., Denisova  
E.V., Makaeva N.V.**

*Tver State Medical University*

**SUMMARY**

*Investigation of the bacterial component, the presence of herpes viruses, including Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, herpes virus type 6, herpes simplex virus type 1 and 2, and parameters of local immune resistance in the oral fluid in 137 healthy children aged from 6 to 12 years with subsequent assessment of the level of resistance have been performed.*

*The presence of herpesviruses in the oral fluid in healthy children against the background of changes in the bacterial component reflects a decrease in general and local immune resistance, which allows these children to be included in the risk group with the subsequent appointment of corrective and preventive measures.*

**Key words:** *children, microbiota, herpesviruses, bacterial component, resistance*

Многочисленные исследования последних лет показали, что микробиота пищеварительного тракта - это важный регулятор физиологических процессов, иммунной резистентности и поведения. Кроме того, имеются научные публикации, указывающие на существование тесной динамической взаимосвязи микроэкологии пищеварительного тракта и резистентности организма, что позволяет в дальнейшем формировать группы риска с последующим проведением превентивной персонифицированной коррекции [1, 2, 5, 8].

Следовательно, оценка состояния микробиоты пищеварительного тракта, как одного из интегральных показателей здоровья, поиск биомаркеров, позволяющих объективно определить уровень резистентности ребенка является актуальным и перспективным направлением превентивной медицины и современного здравоохранения. [3, 4, 6, 7, 9].

**Целью** настоящего исследования явилось выявление объективных критериев, отражающих уровень резистентности организма ребенка на основе оценки микроэкологического неблагополучия пищеварительного тракта для формирования групп риска и своевременного назначения персонифицированных корректирующих и профилактических мероприятий.

#### **Организация работы и методы исследования**

Исследования проводились на территории Тверской области. Объектами исследования являлись 127 детей I-II группы здоровья (согласно Приказу МЗ РФ № 514н) в возрасте от 6 до 12 лет.

Предметом исследования явились качественный и количественный состав микробиоты пищеварительного тракта, включая вирусный компонент с последующим определением варианта нормомикробиоценоза, прогнозированием риска формирования дисбиотических состояний и снижения уровня резистентности организма.

Исследования проводились в соответствии с действующими нормативно-методическими документами с использованием комплекса современных клинико-функциональных, молекулярно-генетических, статистических, лабораторных и инструментальных методов исследований.

Для верификации состояния здоровья и уровня адаптационных резервов проведены ряд функциональных исследований (антропометрия, физиометрия, соматоскопия, спирография, УЗИ щитовидной железы и органов брюшной полости, 12-канальная ЭКГ, ВНС-спектрометрия).

Для исследования бактериальной составляющей микробиоты ротовой жидкости был использован скрининговый метод с определением микроэкологического варианта нормомикробиоты, характеризующимся определенным сочетанием индигенной и факультативной микрофлоры, где наиболее оптимальным является первый, а более неблагоприятным – третий вариант нормомикробиоты (патент на изобретение РФ № 2602697 от 03.03.2015).

Для определения вирусного компонента микробиоты полости рта проведено молекулярно-генетическое исследование ротовой жидкости на наличие ДНК представителей герпесвирусов (вируса простого герпеса 1 и 2 типа, вируса Эпштейна-Барр, вируса герпеса 6 типа, цитомегаловируса). Для выделения и амплификации нуклеиновых кислот использовали комплекты реагентов «РибоПреп» и "АмплиСенс® EBV/CMV/HHV6-скрин-FL» с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора и амплификатор AppliedBioSystem.

Для определения состояния локальной иммунной резистентности были исследованы уровни лизоцима (турбидиметрия), секреторного IgA и avidности антител в ротовой жидкости с использованием иммуноферментного анализа («Вектор-Бест»).

Научно-исследовательская работа проводилась в рамках реализации государственного задания (Рег. № АААА-А18-118031690017-7) с соблюдением основных биоэтических правил (заключение ЭК ТГМУ от 21.01.2018 г.). Исследования выполнены в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Тверской

государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (лицензия на медицинскую деятельность № ФС-69-01-000812 от 15 февраля 2018 года, сроком действия – бессрочно.).

### Результаты и обсуждение

При изучении варианта микробиоты по бактериальному компоненту у всех здоровых детей (I-II группа здоровья) оптимально благоприятный первый вариант был выявлен у 31 ребенка, второй – у 65 детей, и, прогностически неблагоприятный, третий вариант – у 31 обследованного, что составило 24,4%, 51,2% и 24,4% соответственно (табл. 1).

Сопоставляя результаты молекулярно-генетического исследования вирусного компонента у здоровых детей с различными вариантами бактериальной микрофлоры, выявлено, что для первого варианта нормомикробиоты вирусопозитивные образцы составили 32,3 %, для второго - 43,1 % и для третьего - 83,8 % соответственно. Следовательно, вирусный компонент микробиоты достоверно чаще определялся у детей с третьим, прогностически более неблагоприятным, вариантом ( $p \leq 0,05$ ), что также было характерно и для ассоциации вирусов. Так, частота встречаемости ДНК вируса Эпштейна-Барр и вируса герпеса 6 типа была достоверно выше у лиц с третьим вариантом нормомикробиоты по сравнению с оптимальным первым вариантом ( $p \leq 0,05$ ).

Полученные данные свидетельствуют, что при нарушении соотношения облигатной и факультативной микрофлоры в бактериальном звене, происходит достоверные изменения качественных и количественных параметров вирусного компонента (табл. 1).

**Таблица 1 - Количественные параметры бактериально-вирусных ассоциаций микробиоты полости рта у детей I-II группы здоровья**

| Количественные параметры вирусного компонента | Вариант нормомикробиоценоза (n=127) |      |             |       |             |       |
|-----------------------------------------------|-------------------------------------|------|-------------|-------|-------------|-------|
|                                               | Первый n=31                         |      | Второй n=65 |       | Третий n=31 |       |
|                                               | Абс.                                | %    | Абс.        | %     | Абс.        | %     |
| Вирусопозитивные                              | 10                                  | 32,3 | 28          | 43,1  | 26          | 83,8* |
| Ассоциации                                    | 4                                   | 12,9 | 17          | 26,2* | 11          | 35,4* |
| Эпштейна-Барр                                 | 6                                   | 19,4 | 15          | 23,1  | 18          | 58,1* |
| Герпеса 6 типа                                | 8                                   | 25,8 | 28          | 43,1  | 21          | 67,7* |
| Простого герпеса 1 типа                       | 0                                   | 0    | 3           | 4,6   | 1           | 2,4   |

Примечание: \*  $p < 0.05$

При анализе спектра вирусного компонента выявлено, что наиболее часто у вирусопозитивных реципиентов встречалась ДНК вируса герпеса 6 типа, что составило 80%, 100% и 80,7% соответственно, для первого, второго и третьего микроэкологического варианта нормомикробиоты (табл.2). ДНК вируса Эпштейна-Барр выявлена более, чем в половине всех вирусопозитивных образцов (в среднем 54,5% случаев), тогда как ассоциации вирусов достоверно преобладали у лиц со вторым вариантом нормомикробиоты и по сравнению с более благоприятным первым, и с менее благоприятным третьим микроэкологическим вариантом. Следует отметить, что выявление ДНК вируса простого герпеса у детей I-II группы здоровья носило спорадический характер, что соответствует общей тенденции у здоровых людей.

**Таблица 2 - Качественные параметры бактериально-вирусных ассоциаций микробиоты полости рта у вирусопозитивных реципиентов**

| Качественные<br>параметры вирусного<br>компонента | Вариант нормомикробиоценоза<br>(n= 64) |      |                |      |                |      |
|---------------------------------------------------|----------------------------------------|------|----------------|------|----------------|------|
|                                                   | Первый<br>n=10                         |      | Второй<br>n=28 |      | Третий<br>n=26 |      |
|                                                   | Абс.                                   | %    | Абс.           | %    | Абс.           | %    |
| Эпштейна-Барр                                     | 6                                      | 60,0 | 15             | 53,6 | 18             | 69,2 |
| Герпеса 6 типа                                    | 8                                      | 80,0 | 28             | 100  | 21             | 80,7 |
| Простого герпеса 1 типа                           | 0                                      | 0,0  | 3              | 10,7 | 1              | 2,6  |
| Ассоциации                                        | 4                                      | 40,0 | 17             | 60,7 | 11             | 42,3 |

Для поиска взаимосвязи между бактериально-вирусными ассоциациями микробиоты полости рта и параметрами локальной иммунной резистентности было исследовано содержание лизоцима, секреторного IgA и его авидность в ротовой жидкости у детей различными микроэкологическими вариантами нормомикробиоценоза (табл. 3).

Отмечено, что уровень секреторного IgA в ротовой жидкости у детей с третьим, менее благоприятным, вариантом нормомикробиоты существенно выше, чем у детей со вторым, и особенно первым вариантом. Однако, функциональная активность антител, которая характеризуется показателем авидности, имела обратную зависимость и была выше у лиц с первым, более благоприятным вариантом нормомикробиоценоза. Кроме того, при нарастании микроэкологических изменений у обследованных была выявлена тенденция к снижению уровня лизоцима.

Следовательно, выявленные изменения неспецифической иммунной реактивности в зависимости от микроэкологического варианта нормомикробиоты указывают на тесную динамическую взаимосвязь микроэкологии и локальной резистентности полости рта у здоровых детей.

**Таблица 3 - Показатели локальной иммунной резистентности у детей I-II группы здоровья с различными вариантами микробиоты пищеварительного тракта**

|                            | Вариант нормомикробиоценоза<br>(n=127) |                |                |
|----------------------------|----------------------------------------|----------------|----------------|
|                            | Первый<br>n=31                         | Второй<br>n=65 | Третий<br>n=31 |
| Лизоцим, мкг/мл            | 25,4*±0,68                             | 22,8±0,89      | 21,3±0,76      |
| Секреторный<br>Ig A, мг/мл | 0,42±0,16                              | 0,44±0,17      | 0,51*±0,11     |
| Авидность, %               | 87,1*±3,26                             | 84,8±3,76      | 82,8±3,21      |

Примечание: \*  $p < 0.05$

При статистической обработке полученных данных выявлено, что наиболее значимым для оценки резистентности организма детей является вирусный компонент, ассоциированный с представителями герпесвирусов.

По результатам проведенного исследования получен патент на изобретение «Способ оценки уровня резистентности организма детей 1-2 группы здоровья по вирусному компоненту микробиоты» (№ 2018126036 от 15.05.2019).

## ВЫВОДЫ

1. В ходе проведенного исследования была выявлена взаимосвязь между бактериально-вирусными ассоциациями микробиоты полости рта и параметрами локальной иммунной резистентности.

2. Бактериально-вирусные ассоциации полости рта отражают состояние резистентности организма в целом и могут быть использованы, как интегральный показатель для оценки состояния здоровья на этапе донозологической диагностики.

3. Микроэкологический мониторинг на основании выявленных биомаркеров позволит сформировать группы риска по снижению резистентности у детей для своевременного назначения персонализированных корректирующих и профилактических мероприятий.

### Список литературы /References

1. Бактериально-вирусные ассоциации полости рта у здоровых людей и при новообразованиях челюстно-лицевой области / А.М. Самоукина [и др.] // Лечение и профилактика. Инфекционные болезни. – 2016. – Т. 20, № 4. – С. 29-34.
2. Варианты микрофлоры ротовой жидкости у практически здоровых детей и подростков / Б.Н. Давыдов [и др.] // Стоматология. – 2017. – Т. 96, № 1. – С. 56-59.
3. Взаимосвязь микробиоты различных биотопов у детей в норме и при патологических состояниях / А.М. Самоукина [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – № 2; URL: <http://www.science-education.ru/article/view?id=27537> (дата обращения: 26.04.2018).
4. Дисбиоз (дисбактериоз) кишечника: современное состояние проблемы, комплексная диагностика и лечебная коррекция / М.Д. Ардатская [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2015. – Т. 117, № 5. – С. 13-50.
5. Кочурова, Е.В. Диагностические возможности слюны / Е.В. Кочурова, С.В. Козлов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2014. – № 1. – С. 13-15.
6. Самоукина, А.М. Микробиота пищеварительного тракта как системный фактор оценки здоровья человека и проведения превентивной коррекции / А.М. Самоукина, Е.С. Михайлова, В.В. Чернин, Ю.А. Алексеева // Лечение и профилактика. – 2015. – Т. 15, № 3. – С. 23-28.
7. Формирование патомикробиоценоза у новорожденных с внутриутробной инфекцией / А.С. Новикова [и др.] // материалы конференции Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека. – 2018. – С. 39-41
8. *Association between living environment and human oral viral ecology* / R. Robles-Sikisaka [et al.] // ISME J. – 2013. – Vol. 7, № 9. – P. 1710-1734.
9. Bull, M.J. Part 1: the human gut microbiome in health and disease / M.J. Bull, N.T. Plummer // Integr. Med. A Clinician's J. – 2014. – Vol. 13, № 6. P. 17-22.