

Мониторинг бактериально-вирусных ассоциаций полости рта как маркера резистентности организма

А.М. Самоукина, В.М. Червинец

Тверской государственный медицинский университет, Тверь, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Актуальность. Бактериально-вирусные ассоциации полости рта представляют одну из интегральных систем организма, которая находится в тесном взаимодействии с индивидуальным уровнем резистентности. Это делает перспективным их дальнейшее изучение в аспекте биомаркера резистентности в рамках персонализированной концепции оценки состояния здоровья с использованием различных лабораторно-диагностических подходов.

Материалы и методы. Проведено комплексное клинико-лабораторное исследование с микробиологическим мониторингом 1290 бактериально-вирусных ассоциаций биотопов пищеварительного тракта у 417 обследуемых с различным уровнем здоровья в возрастном аспекте: практически здоровые дети и подростки I-II группы здоровья ($n = 253$), 456 бактериально-вирусных ассоциаций от 127 обследуемых; III группы здоровья ($n = 229$), 436 бактериально-вирусных ассоциаций от 225 обследуемых; недоношенные новорожденные с различным дефицитом массы тела ($n = 271$), 398 бактериально-вирусных ассоциаций от 55 обследуемых.

Результаты. С возрастом происходит снижение количества индигенной, увеличение количества условно-патогенной микрофлоры, в 9,7 % и 19,8 % случаев ($p \leq 0,05$), увеличение в 5,8 раз количественных параметров вирусного компонента с преобладанием вирусов Эпштейна – Барр и герпеса 6 типа в полости рта у практически здоровых детей I, II группы здоровья. Бактериально-вирусные ассоциации полости рта у детей с III группой здоровья характеризуются преобладанием условно-патогенной микрофлоры и наличием ДНК цитомегаловируса (38,1 %, $p \leq 0,05$). Прогностическим критерием микробиологического неблагополучия и снижения резистентности у недоношенных новорожденных при длительном выхаживании в стационаре являются представители бактериального компонента условно-патогенной микрофлоры с преобладанием микроорганизмов рода *Staphylococcus*, частота выделения которых коррелировала со степенью выраженности дефицита массы тела, 19 % и 4 % ($p \leq 0,05$) в группе с экстремально низкой и низкой массой тела, соответственно.

Заключение. Оценка уровня резистентности детей различных возрастных групп, в норме и при патологических состояниях, посредством определения бактериально-вирусных ассоциаций полости рта может рекомендоваться для использования в амбулаторно-поликлиническом звене при проведении комплексной оценки состояния здоровья детей и подростков и назначением персонализированных коррекционных мероприятий в соответствии с группой риска.

Ключевые слова: бактериально-вирусные ассоциации, полость рта, вирус герпеса 6 типа, вирус Эпштейна – Барр, дети, уровень здоровья.

Для цитирования: Самоукина АМ, Червинец ВМ. Мониторинг бактериально-вирусных ассоциаций полости рта как маркера резистентности организма. *Пародонтология*. 2024;29(1):45-55. <https://doi.org/10.33925/1683-3759-2024-887>.

Monitoring oral microbiota-virus associations as biomarkers of immune resistance

A.M. Samoukina, V.M. Chervinets

Tver State Medical University, Tver, Russian Federation

ABSTRACT

Relevance. The oral microbiota, including its interactions with viruses, plays a crucial role in an individual's immune system. Investigating these microbiota-virus associations as biomarkers for personalized health assessments through advanced laboratory testing is an emerging research field.

Materials and methods. This study conducted an extensive clinical laboratory examination of the oral microbiota-virus associations across various biotopes of the digestive tract in 417 participants across different health and age

categories: namely, generally healthy children and adolescents in health groups I and II ($n = 253$, with 456 microbiota-virus associations from 127 individuals); health group III ($n = 229$, with 436 microbiota-virus associations from 225 individuals); and preterm infants classified by degree of low birth weight ($n = 271$, with 398 microbiota-virus associations from 55 individuals).

Results. Our findings showed a decrease in indigenous microbiota by 9.7% and an increase in potentially pathogenic microbiota by 19.8% across age groups ($p \leq 0.05$). There was also a 5.8-fold increase in the viral components, notably Epstein-Barr virus and HHV-6, in the oral cavities of generally healthy children in health groups I and II. In health group III children, there was a notable increase in opportunistic pathogens and the detection of cytomegalovirus DNA (38.1%, $p \leq 0.05$). Furthermore, the predominance of *Staphylococcus* species in the opportunistic pathogenic microbiota, which correlates with low birth weight, was identified as a prognostic indicator of poor microecological conditions and decreased immune resistance in preterm infants undergoing prolonged hospital care, with detection rates of 19% in extremely low birth weight and 4% in low birth weight groups ($p \leq 0.05$).

Conclusion. Evaluating immune resistance in children of various health statuses and age groups through the analysis of oral microbiota-virus associations is advisable for outpatient healthcare settings. This assessment can guide the provision of comprehensive physical exams for children and adolescents and the formulation of personalized treatment plans based on identified risk groups.

Keywords: microbiota-virus associations, oral cavity, human herpesvirus 6, Epstein-Barr virus, children, health status

For citation: Samoukina AM, Chervinets VM. Monitoring Oral Microbiota-Virus Associations as Biomarkers of Immune Resistance. *Parodontologiya*. 2024;29(1):45-55 (in Russ.). <https://doi.org/10.33925/1683-3759-2024-887>.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Микробиота полости рта, определяющая колонизационную резистентность и непосредственно влияющая на формирование микрözкосистемы различных биотопов пищеварительной и бронхолегочной системы, является входными воротами пищеварительного тракта и анатомически, и физиологически [1-3].

Оральная микробиота представлена облигатными (индигенными) и факультативными микроорганизмами, которые тесно взаимодействуют между собой в условиях определенного состояния общей и локальной иммунной резистентности, отражающимися на формировании здоровья человека, в том числе посредством реализации различных функций эндосимбиотной микробиоты. При снижении локальной и общей иммунной резистентности происходит изменение типичного микробного пейзажа и заселение бактериями, обитающими в других биотопах [4-8].

Слизистая оболочка и другие биотопы полости рта в условия пато- и нормомикробиоценоза обильно колонизированы представителями микромира, в частности, бактериями и вирусами, образующими, соответственно, оральные бактериом и виром. Очевидно, что гомеостаз тканей и микробиоты полости рта, обладающей естественной устойчивостью, находится под строгим контролем целого ряда эндогенных и экзогенных факторов, которые работают синхронно для поддержания здоровой микросреды, непосредственно отражающейся на здоровье человека [9-14].

Поскольку полость рта является входными воротами в пищеварительную и бронхолегочную систему, то состояние бактериально-вирусных ассоциаций, микробиома полости рта, с одной стороны, является фактором риска целого ряда ассоциированных с его состоянием местных и системных патологических состояний, а с другой – перспективным биомаркером

для прогнозирования развития и неблагоприятного течения, отражения состояния локальной и общей резистентности [15-19].

В эпоху прикладной метаомики и персонализированной медицины микробиом полости рта занимает одну из ключевых позиций в формировании здоровья и резистентности. Оральный микробиом играет важную роль в развитии локальной и системной патологии далеко и исследования в этой области необходимы для разработки новых терапевтических подходов. Огромное микробное разнообразие полости рта ставит перед клиницистами и экологами-микробиологами задачу поиска достоверных маркеров здоровья и патологических процессов [20-23].

Цель исследования

Определить количественные и качественные параметры бактериально-вирусных ассоциаций полости рта в аспекте возрастного формирования нормо- и патомикробиоценоза для оценки и прогнозирования уровня резистентности и здоровья человека.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено комплексное клинико-лабораторное исследование с определением 1290 бактериально-вирусных ассоциаций биотопов пищеварительного тракта у 407 обследуемых с различным уровнем здоровья в аспекте формирования нормо- и патомикробиоценоза в различных возрастных группах.

Основные закономерности формирования бактериально-вирусных ассоциаций в условиях нормобиоценоза в аспекте сходных характеристик начального и конечного отдела пищеварительного тракта, состояния локальной и общей иммунной резистентности были изучены у практически здоровых детей и подростков с I-II группой здоровья ($n = 253$), 456 бакте-

риально-вирусных ассоциаций были выделены от 127 обследуемых. Формирование бактериально-вирусных ассоциаций в условиях патомикробиоценоза на фоне снижения уровня иммунной резистентности были исследованы в группе детей и подростков с III группой здоровья (n = 229), 436 бактериально-вирусных ассоциаций были выделены от 225 обследуемых. Формирование микробных профилей заселения в совокупности влияния неблагоприятных эндо- и экзогенных факторов на фоне низкого уровня индивидуальной резистентности исследованы у недоношенных новорожденных с низкой, очень низкой и экстремально низкой массой тела (n = 271), 398 бактериально-вирусных ассоциаций были выделены от 55 обследуемых. Для каждой группы обследования установлены критерии включения/невключения (табл. 1).

Дизайн исследования: обсервационное и когортное (проспективное). Проведены микробиологический мониторинг бактериально-вирусных ассоциаций, филометаболический подход исследования микробиоты (определение короткоцепочечных жирных кислот (КЖК), масс-спектрометрия по Осипову), определение механизмов межмикробного взаимодействия в бактериально-вирусных ассоциациях (противовирусная активность, способность к биопленкообразованию, механизмы реализации ус-

ловной патогенности), методы определения уровня здоровья, включая локальную и общую иммунную резистентность и статистические методы анализа полученных данных (рис. 1).

Микробиологический мониторинг бактериально-вирусных ассоциаций начального и конечного отделов пищеварительного тракта проведен с использованием бактериологического исследования с применением биохимической идентификации, определением микроразнообразия варианта нормомикробиоценоза, молекулярно-генетического подхода. Биохимическая идентификация выделенных чистых культур представителей облигатной (индигенной) и факультативной микробиоты проведена с использованием идентификационных тест-систем bioMérieux, HiMedia и Lachema с использованием соответствующего программного обеспечения. Для определения варианта нормомикробиоценоза использовали методику скрининговой оценки микробиоты полости рта (Михайлова ЕС, Самоукина АМ, Червинец ВМ, Чернин ВВ, Алексеева ЮА, авторы; ФГБОУ ВО «Тверской ГМУ» Минздрава России, патентообладатель. Способ оценки состояния микробиоты пищеварительного тракта у подростков 14-18 лет по микрофлоре ротовой жидкости. Пат. 2602697 Рос. Федерация. Оpubл. 20.11.2016).

Таблица 1. Группы обследования
Table 1. Study groups

Группа Group	Контингент Cohort	Критерии включения/невключения Inclusion/exclusion criteria
1-я 1 st	Дети и подростки с I-II группой здоровья Health Group I-II children and adolescents	Критерии включения: дети и подростки, не имеющие острых и хронических заболеваний, наличие информированного согласия* Критерии неключения: дети и подростки с наличием острых или хронических заболеваний, отсутствие информированного согласия <i>Inclusion criteria:</i> children and adolescents without acute or chronic disorders, signed informed consent* <i>Exclusion criteria:</i> children and adolescents with acute or chronic disorders, no signed informed consent
2-я 2 nd	Дети и подростки с III группой здоровья Health Group III children and adolescents	Критерии включения: дети и подростки при наличии острой и хронической патологии, наличие информированного согласия* Критерии неключения: практически здоровые дети, отсутствие информированного согласия <i>Inclusion criteria:</i> children and adolescents with acute or chronic disorders, signed informed consent* <i>Exclusion criteria:</i> children and adolescents without known health disorders, no signed informed consent
3-я 3 rd	Недоношенные новорожденные с низкой, очень низкой и экстремально низкой массой тела Premature newborns with low, very low, and extremely low body weight	Критерии включения: недоношенные новорожденные с низкой, очень низкой и экстремально низкой массой тела в условиях длительного выхаживания в стационаре, наличие информированного согласия* Критерии неключения: доношенные новорожденные, отсутствие информированного согласия <i>Inclusion criteria:</i> premature newborns with low, very low, and extremely low body weight receiving long-term care at a hospital, signed informed consent* <i>Exclusion criteria:</i> mature newborns, no signed informed consent

*информированное согласие обследуемого (законного представителя)
*informed consent is obtained from a subject (legal guardian)

МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

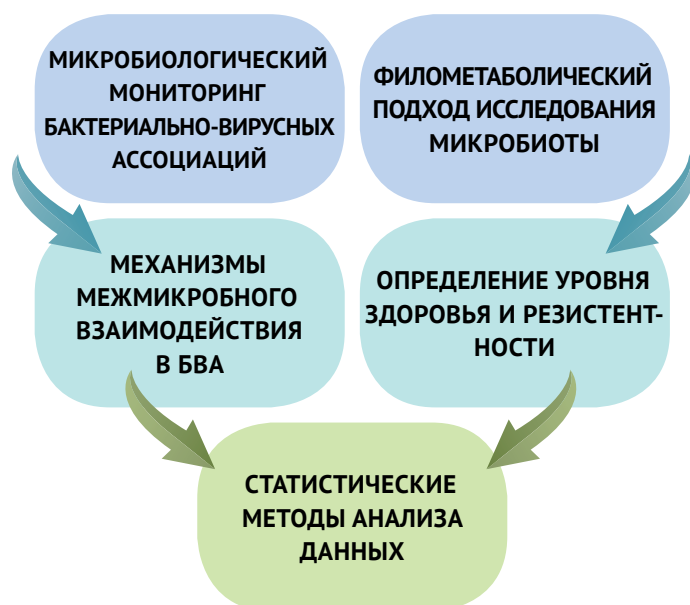


Рис. 1. Методология и методы исследования
Fig. 1. Methodology and study techniques

Молекулярно-генетическое исследование проведено методом Real-time полимеразной цепной реакции (ПЦР в режиме реального времени) с использованием амплификаторов AppliedBioSystem, ДНК-технология и реагентов ООО НПФ «Литех», «АмплиСенс» ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора.

Определение КЖК микробиоты конечного отдела пищеварительного тракта проведено на базе ООО «УНИ-МЕД» в соответствии с медицинской технологией «Способ определения короткоцепочечных жирных кислот (фракции C2-C6 с изомерами) в различных биологических субстратах методом газожидкостной хроматографии» (№ ФС-2006/030-у от 17.03.2006 Минздрава России). Масс-спектрометрия по Осипову проведена в венозной крови с использованием газового хроматографа Маэстро Agilent GC-7820A с 5975 MSD, Agilent Technologies, США.

Комплексное обследование включало сбор клинико-анамнестических данных, результатов лабораторных и функциональных методов диагностики. У всех лиц (родителей) получено информированное согласие на обследование и сбор материала. В комплекс обследования включены: осмотр педиатра, врачей других специальностей (детский стоматолог, хирург, отоларинголог, эндокринолог); функциональные исследования (физиометрия, соматоскопия, антропометрия, кардиореспираторные нагрузочные пробы, спирография, УЗИ щитовидной железы и органов брюшной полости, ЭКГ, ЭЭГ). Определение группы здоровья проведено в соответствии с Приказом Минздрава России от 30.12.2003 №621 «О комплексной оценке состояния здоровья детей». Лабораторные исследования включали кли-

нический анализ крови, биохимический анализ крови и ротовой жидкости. Комплексное обследование недоношенных новорожденных проведено с использованием лабораторных и функциональных методов диагностики, с учетом клинико-анамнестических данных, консультативных осмотров невролога, офтальмолога, кардиолога.

Настоящее исследование проведено с соблюдением основных биоэтических правил в соответствии с этическими принципами проведения биомедицинских исследований, сформулированными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (заключение ЭК Тверской ГМУ протокол №10 от 27.09.2021 г.) на базе различных подразделений ФГБОУ ВО «Тверской ГМУ» Минздрава России (лицензия на медицинскую деятельность №ФС-69-01-000812 от 15 февраля 2018 года, сроком действия – бессрочно), других медицинских организаций Минздрава Тверской области в рамках выполнения госзадания №056-00150-18-00 от 27.12.2017, АААА-А18-118031690017-7 от 16.03.2018 и научной платформы «Педиатрия», Приказ №281 Минздрава России от 30.04.2013, №215072220008 от 22.07.2015.

Создание базы данных и обработка полученного материала проводились с использованием пакетов программ Microsoft® Office® 2010 (Microsoft Corporation, Tulsa, OK, США), IBM® SPSS® Statistics 23.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, США, и WinPEPI® 11.39 (J.H. Abramson).

РЕЗУЛЬТАТЫ

На первом этапе было обследовано 127 практически здоровых детей и подростков в возрасте 12-18 лет с последующим изучением качественных и количественных параметров 456 бактериально-вирусных ассоциаций. Все обследованные были разделены на две возрастные группы: 1-я группа, 12-16 лет ($n = 41$), средний возраст $14,30 \pm 1,68$ года, 2-я группа, 17-18 лет ($n = 86$), средний возраст $17,20 \pm 0,53$ года. Группы были сопоставимы по возрасту и полу, все обследованные относились к I-II группам здоровья (клинически здоровы) согласно Приказу Минздрава России от 30.12.2003 №621. Для определения особенностей оральной микробиоты проанализированы 84 и 112 бактериально-вирусных ассоциаций в аспекте межмикробного взаимодействия и возраста.

Установлено, что в начальном отделе пищеварительного тракта представлен широкий спектр микроорганизмов, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* представители семейства *Enterobacteriaceae*, *Bacillus*, *Candida*. Качественные и количественные параметры бактериального компонента имели ряд сходных характеристик, а также особенностей в 1-й и 2-й группе. Так, типичные представители полости рта, представители рода *Streptococcus*, были выявлены у всех лиц двух возрастных групп. Эти бактерии показали отсутствие

гемолитической активности. Облигатные представители микробиоты, непосредственно участвующие в формировании колонизационной резистентности, бактерии рода *Lactobacillus* достоверно преобладали с увеличением возраста, 28,1% и 56,7%, соответственно в 1-й и 2-й группе. Микроорганизмы рода *Staphylococcus* доминировали у обследованных 2-й группы и определялись соответственно в 96,4% и 62,5 % случаев, в количестве достоверно ($p \leq 0,05$) большем у обследованных старшего возраста, что составило $5,87 \pm 1,50$ lg КОЕ/мл. Коагулазоположительные представители рода *Staphylococcus*, *S. aureus* были часто выделяемыми представителями микробиоты полости рта, количество которых с возрастом имело тенденцию к увеличению и составило $3,64 \pm 0,87$ lg КОЕ/мл. Коагулазоотрицательные представители рода *Staphylococcus*, *S. epidermidis* и другие также достоверно преобладали во 2-й группе ($p \leq 0,05$), 65,4% и 86%, соответственно для 1-й и 2-й группы. Важным маркером микрoэкологического неблагополучия в полости рта являются представители сахаромикет, частота выделения и количество представителей рода *Candida* были достоверно выше ($p \leq 0,05$) в старшей возрастной группе, что составило, соответственно, 30,7% и 69,8%, $1,56 \pm 0,58$ lg КОЕ/мл и $3,85 \pm 0,98$ lg КОЕ/мл в 1-й и 2-й группе. У обследованных старшей возрастной группы также достоверно преобладали бактерии рода *Bacillus*, 24,6% и 78,7% в 1-й и 2-й группе, соответственно. Частота выделения бактерий рода *Bifidobacterium* не имело достоверных различий в возрастном аспекте (рис. 2).

При анализе качественных и количественных параметров оральной микробиоты определенное сочетание представителей доминирующей облигатной и факультативной микробиоты позволило выделить три варианта нормомикробиоты у здоровых людей – первый, второй и третий. Оптимальным является первый микрoэкологический вариант, поскольку

риск возникновения дисбиотических изменений при его формировании наименьший. Неблагоприятный – третий микрoэкологический вариант, характеризующийся преобладанием условно-патогенных микроорганизмов на фоне снижения представителей нормомикробиоты, что увеличивает риск возникновения дисбиоза в связи со снижением функции колонизационной резистентности биотопа.

При анализе частоты встречаемости вариантов оральной нормомикробиоты в аспекте возраста было установлено, что с возрастом происходит увеличение количества условно-патогенной микробиоты и нарастание микрoэкологических изменений. В 1-й и 2-й группе преобладал второй вариант нормомикробиоты, что составило соответственно 48,8% и 68,6 % случаев, первый вариант в 41,5% и 11,6%, а неблагоприятный третий вариант – в 9,7% и 19,8% случаев. Таким образом, оптимальный первый вариант в 3,6 раза чаще выявлен в 1-й группе, а прогностически более неблагоприятный третий микрoэкологический вариант нормомикробиоты в 2,04 раза чаще выявлен во 2-й группе обследованных (рис. 3).

При изучении орального микробиома в аспекте качественных и количественных параметров бактериального и вирусного компонента практически здоровых обследованных было установлено, что они имеют тесную взаимосвязь. Количество положительных тестов на наличие ДНК различных представителей герпесвирусов увеличивалось при нарастании микрoэкологических изменений в бактериальном компоненте, в частности при увеличении спектра и количества условно-патогенной микробиоты. ДНК герпесвирусов в 2,8 раза чаще определялась при третьем, неблагоприятном, варианте нормомикробиоты на фоне снижения количества нормомикробиоты. ДНК вируса Эпштейна – Барр и вируса герпеса 6 типа также выявлена достоверно чаще ($p \leq 0,05$) при третьем варианте нормомикробиоты 47,1% и 64,7% слу-

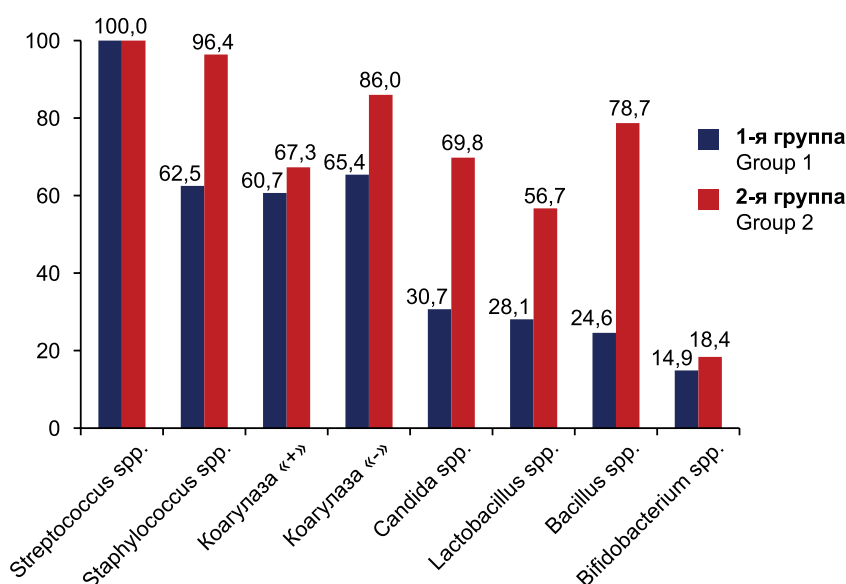


Рис. 2.
Микробиота полости рта у практически здоровых детей и подростков в возрастном аспекте

Fig. 2.
Oral microbiota in children and adolescents without known health disorders, segregated by age group

чаев, соответственно. Таким образом, нарастание дисбаланса между представителями нормальной и условно-патогенной оральной микробиоты сопровождалось увеличением положительных тестов на наличие ДНК представителей герпесвирусов. Также установлено, что происходит увеличение количества представителей герпесвирусов в возрастном аспекте, 40,6% и 65,6% случаев для 1-й и 2-й группы, с доминированием вируса герпеса 6 типа и вируса Эпштейна – Барр, 37,5% и 53,1%, 15,6% и 39,1%, соответственно, для младшей и старшей возрастной группы.

Оральная микробиота формируется в тесном взаимодействии с клеточными и гуморальными факторами местной иммунной защиты данного биотопа. Увеличение представителей условно-патогенной микробиоты (в 4,3 раза) и количества положительных тестов на ДНК герпесвирусов (в 2,9 раза) сопровождалось снижением уровня лизоцима и повышением секреторного иммуноглобулина А с уменьшением avidности этих антител.

При проведении катamnестического исследования установлено, что через 4 года у 41,7% обследованных лиц также обнаружена ДНК вируса герпеса 6 типа и Эпштейна – Барр, а у 58,3% произошла их элиминация.

При проведении молекулярно-генетического мониторинга микробиоты различных биотопов у детей с III группой здоровья, имеющих хронические заболевания в стадии ремиссии ($n = 229, 436$ бактериально-вирусных ассоциаций), средний возраст $8,70 \pm 2,62$ года с последующим анализом 189 бактериально-вирусных ассоциаций оральной микробиоты, где в 92 % случаев выявлена ДНК представителей герпесвирусов, что достоверно выше ($p \leq 0,05$), чем у обследованных, не имеющих хронических заболеваний. В отличие от практически здоровых лиц I, II группы здоровья, оральный виром обследованных III группы здоровья характеризовался наличием положительных тестов на ДНК цитомегаловируса (38,1% случаев). В ходе настоящего исследования цитомегаловирус у обследованных I и II группы здоровья не обнаружен. Частота выявления других

представителей герпесвирусов составила 54% и 36%, соответственно, для вируса герпеса 6 типа и вируса Эпштейна – Барр. Бактериальный компонент микробиоты полости рта у обследованных III группы здоровья характеризовался в 24,3% случаев наличием представителей условно-патогенной микробиоты. В этой группе в 9,1% случаев были выявлены дисбиотические изменения в полости рта, определяемые в стадии ремиссии инфекционного процесса. Условно-патогенные микроорганизмы в 5,4% случаев были представлены *Haemophilus influenza* и представителями рода *Candida*, в количестве, превышающем 4 lg КОЕ/мл. Таким образом, с возрастом происходит нарастание дисбаланса оральной микробиоты, сопровождающееся увеличением количества условно-патогенной микробиоты, а при снижении уровня здоровья изменяется качественный спектр орального виroma, в частности, появляется цитомегаловирус. Кроме того, качественные и количественные параметры орального микробиома коррелировали с дисбалансом микробиоты в других отделах пищеварительного тракта, который сопровождался изменением количественного содержания и соотношения основных короткоцепочечных жирных кислот, метаболическими и иммунологическими показателями, отражающими состояние здоровья в целом.

Так, по результатам проведенного исследования толстого кишечника у детей с III группой здоровья абсолютное количество уксусной кислоты (C2) составило $3,678 \pm 0,430$ мг/г, пропионовой (C3) – $0,941 \pm 0,160$ мг/г, масляной (C4) – $0,450 \pm 0,082$ мг/г, изовалериановой (iC5) – $0,120 \pm 0,030$ мг/г. Абсолютное количество валериановой, капроновой, изомасляной и изокапроновой кислот колебалось в пределах от 0,008 до 0,085. Следует отметить, что сумма разветвленных КЖК (iCn) была практически в три раза ниже нормы и составила $0,213 \pm 0,040$ мг/г. Для большинства значений уровня КЖК медиана располагалась ближе к максимальным показателям.

Относительное количество уксусной кислоты (C2) составило $0,722 \pm 0,020$ единиц, что на 8,8 % ниже со-

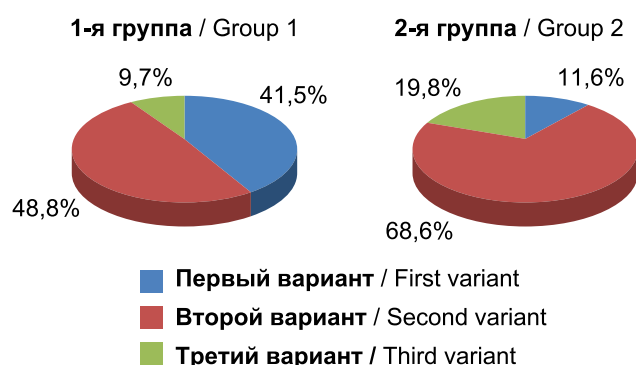


Рис. 3. Частота встречаемости вариантов нормомикробиоты полости рта в 1-й и 2-й возрастной группе

Fig. 3. Prevalence of normal oral microbiota variants in age groups 1 and 2

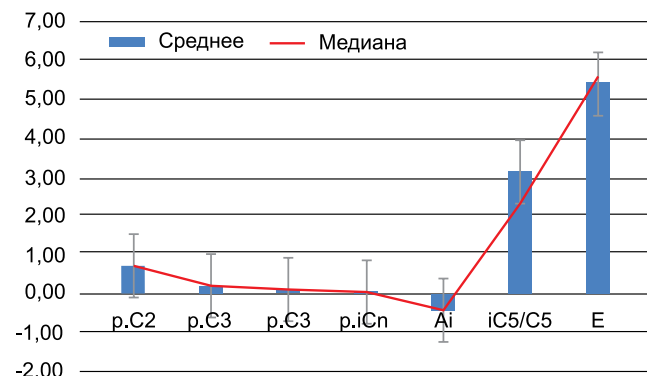


Рис. 4. Относительное содержание КЖК в кишечнике детей с III группой здоровья

Fig. 4. SCFA levels in the intestines of children from Health Group III

ответствующей возрастной нормы. Относительное значение пропионовой кислоты составило $0,188 \pm 0,020$ единиц, что на 21,3 % выше нормы, масляной (C4) – $0,09 \pm 0,01$ единиц, что на 33,3 % выше нормы. Общее содержание КЖК составило $5,382 \pm 0,56$ мг/г, что превышает показатель возрастной нормы на 27,1%. Соотношение изовалериановой к валериановой кислоте составило $3,106 \pm 0,62$, что на 32% превышает верхнюю границу возрастной нормы данного расчетного индекса. Анаэробный индекс составил $-0,426 \pm 0,040$, что указывает на двукратное смещение в отрицательный диапазон. Медиана выше перечисленных показателей, характеризующих метаболическую активность микробиоты, также в большинстве случаев располагалась ближе к максимальным показателям (рис. 4).

При исследовании общей иммунной резистентности у обследованных детей с III группой здоровья установлено, что нарастание дисбиотических нарушений полости рта сопровождалось снижением содержания Ig A и Ig M в сыворотке крови, соответственно, в 1,4 и 1,3 раза ($p = 0,028$) (табл. 2). Это, вероятно, связано с участием данных классов иммуноглобулинов в реализации первичного иммунного ответа и иммунной защите слизистых оболочек, в частности полости рта.

В рамках настоящего исследования по определению потенциальных биомаркеров экологического неблагополучия было проведено молекулярно-генетическое исследование мазков из верхних дыхательных путей на определение ДНК- и РНК-содержащих вирусов: респираторно-синцитиального вируса, метапневмовируса, вирусов парагриппа 1, 2, 3 и 4 типов, коронавируса, риновирусов, ДНК аденовирусов групп В, С, Е и бокавируса, вирусов гриппа А, В. При исследовании респираторных мазков, полученных из верхних дыхательных путей у 50 детей с III группой здоровья, была обнаружена РНК метапневмовируса и бокавируса в 6 % случаев. Таким образом, герпесвирусы являются более конкурентоспособными на роль «биомаркеров» вследствие как большей распространенности, так и особенностей детекции с использованием полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

При исследовании микробиоты различных биотопов в группе недоношенных новорожденных с различным дефицитом массы тела были исследо-

ваны 398 бактериально-вирусных ассоциаций на первой неделе жизни. Данная группа обследования характеризовалась физиологически и патологически несостоятельной колонизацией, незрелостью локальных и общих механизмов иммунной резистентности, способствующих бактериальной транслокации. Спектр представителей условно-патогенной микробиоты полости рта был проанализирован в 82 бактериально-вирусных ассоциациях данной локализации. Оральная микробиота недоношенных новорожденных с различным дефицитом массы тела была достаточно разнообразной в 1-е и 3-е сутки, с последующим снижением микробного разнообразия к 7-м суткам жизни, за исключением группы с экстремально низкой массой тела. *S. epidermidis* и *E. coli* 677 преобладали в 4,5% случаев, *K. pneumoniae* и *E. faecalis* – в 3% случаев, *S. mitis*, *C. krusei*, *Burkholderia cepacia complex* – в 1,5% случаев в 1-е сутки жизни. К 3-м суткам происходило изменение микробного пейзажа с преобладанием в 6% случаев *S. epidermidis*, в 4-4,5% случаев *K. pneumoniae* и *S. maltophilia*, менее часто, в 1,5-3% *G. haemolysans*, *Burkholderia cepacia complex*, *A. christensenii* и *S. haemolyticus*. Оральный микробиом недоношенных новорожденных с низкой, очень низкой и экстремально низкой массой тела на 7-е сутки характеризовался тенденцией к однообразию, с доминированием *S. epidermidis* и *S. maltophilia* (4,5% и 4%), реже обнаруживались *M. lacunata* и *C. krusei* (1,5% случаев).

Качественные и количественные параметры условно-патогенной микробиоты имели особенности в зависимости от степени выраженности дефицита массы тела. Оральная микробиота недоношенных новорожденных с экстремально низкой массой тела в сравнительном аспекте характеризовалась большей стабильностью в 1-е, 3-и и 7-е сутки. *S. epidermidis* преобладал в микробном пейзаже различных биотопов недоношенных новорожденных, тогда как представители герпесвирусов в оральном вируме выявлены в менее 5% случаев.

При определении вирусного компонента, представленного герпесвирусами, с использованием молекулярно-генетического метода и метаболического подхода в сравнительном аспекте получены различные результаты в преимущественном большинстве случаев. Так, при использовании молекулярно-ге-

Таблица 2. Уровень иммуноглобулинов сыворотки крови у детей с различным уровнем здоровья (мг/мл)

Table 2. Serum immunoglobulin levels across different health statuses in children (mg/ml)

Группы обследования Study groups	Концентрация сывороточных иммуноглобулинов Serum immunoglobulin levels			
	Ig A	Ig M	Ig G	Ig E
Дети II группы здоровья / Health Group II children	$17,23 \pm 1,47^*$	$2,26 \pm 0,17^*$	$81,27 \pm 6,29$	$85,80 \pm 41,18$
Дети III группы здоровья / Health Group III children	$12,52 \pm 0,95^*$	$1,74 \pm 0,10^*$	$71,32 \pm 3,72$	$74,64 \pm 10,52$
t-критерий Стьюдента / Student t-test	$p = 0,028$	$p = 0,028$	$p = 0,223$	$p = 0,704$

* $p < 0,05$

нетического подхода в оральном микробиоме преобладал вирус герпеса 6 типа, а при проведении масс-спектрометрии доминировал вирус Эпштейна – Барр. В случае скрининговой оценки уровня резистентности более предпочтителен и экономически выгоден метод детекции ДНК с использованием ПЦР в режиме реального времени, тогда как метаболические подходы необходимо использовать при выявлении потенциальной репликации вируса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У детей I и II группы здоровья с возрастом происходило снижение количества индигенной, увеличение количества условно-патогенной микробиоты, в 9,7% и 19,8% ($p \leq 0,05$), соответственно для младшей и старшей возрастной группы, и увеличение в 2,8 раза количественных параметров вирусного компонента с преобладанием вирусов герпеса 6 типа и Эпштейна – Барр в полости рта при нарастании микробиологических нарушений в бактериальном звене. Бактериально-вирусные ассоциации полости рта у детей с III группой здоровья характеризовались преоблада-

нием условно-патогенной микробиоты и наличием ДНК цитомегаловируса (38,1%, $p \leq 0,05$). Прогностическим критерием микробиологического неблагополучия и снижения резистентности у недоношенных новорожденных при длительном выхаживании в стационаре являлись представители бактериального компонента условно-патогенной микробиоты с преобладанием микроорганизмов рода *Staphylococcus*, частота выделения которых коррелировала со степенью выраженности дефицита массы тела, 19% и 4% ($p \leq 0,05$) в группе с экстремально низкой и низкой массой тела, соответственно. Таким образом, определенные качественные и количественные параметры оральной микробиоты могут использоваться как маркеры резистентности организма. У детей и подростков I и II группы здоровья такими маркерами являются представители условно-патогенной микробиоты (*Staphylococcus spp.*, *Candida spp.*, *Bacillus spp.*) и представители герпесвирусов (вирус герпеса 6 типа, ГВЧ 6 и вирус Эпштейна – Барр) вне зависимости от возраста. У детей с III группой здоровья маркером снижения резистентности является присутствие в оральном вируме цитомегаловируса (ЦМВ), а также



Рис. 5. Бактериально-вирусные ассоциации оральной микробиоты как маркеры резистентности организма
Fig. 5. Oral microbiota-virus associations as indicators of immune resistance

представителей условно-патогенной микробиоты (*Candida spp.*, *H. influenza*). У недоношенных новорожденных с различным дефицитом массы тела в условиях длительного пребывания в стационаре, в частности в связи с низкой частотой выявления орального виroma, оптимальным маркером резистентности являются представители условно-патогенной оральной микробиоты, включая *S. epidermidis*, *S. maltophilia*, *M. lacunata*, *C. krusei* (рис. 5).

Выбор лабораторно-диагностического подхода определяется тем, что масс-спектрометрия детектирует маркеры вирусов преимущественно в фазе

активной репликации, тогда как при скрининге бактериально-вирусных ассоциаций для оценки уровня резистентности более эффективен метод ПЦР.

Оценка уровня резистентности детей различных возрастных групп, в норме и при патологических состояниях, посредством определения бактериально-вирусных ассоциаций полости рта может рекомендоваться для использования в амбулаторно-поликлиническом звене при проведении комплексной оценки состояния здоровья детей и подростков и назначением персонализированных коррекционных мероприятий в соответствии с группой риска.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бухарин ОВ, Перунова НБ. Роль микробиоты в регуляции гомеостаза организма человека при инфекции. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020;97(5):458-467.
doi: 10.36233/0372-9311-2020-97-5-8
2. Gao L, Xu T, Huang G, Jiang S, Gu Y, Chen F. Oral microbiomes: more and more importance in oral cavity and whole body. *Protein Cell*. 2018;9(5):488-500.
doi: 10.1007/s13238-018-0548-1
3. Olsen I, Yamazaki K. Can oral bacteria affect the microbiome of the gut? *J Oral Microbiol*. 2019;11(1):1586422.
doi: 10.1080/20002297.2019.1586422
4. Xiao J, Fiscella KA, Gill SR. Oral microbiome: possible harbinger for children's health. *Int J Oral Sci*. 2020;12(1):12.
doi: 10.1038/s41368-020-0082-x
5. Deo PN, Deshmukh R. Oral microbiome: Unveiling the fundamentals. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2019;23(1):122-128.
doi: 10.4103/jomfp.JOMFP_304_18
6. Lee YH, Chung SW, Auh QS, et al. Progress in Oral Microbiome Related to Oral and Systemic Diseases: An Update. *Diagnostics (Basel)*. 2021;11(7):1283.
doi: 10.3390/diagnostics11071283
7. Sultan AS, Kong EF, Rizk AM, Jabra-Rizk MA. The oral microbiome: A Lesson in coexistence. *PLoS Pathog*. 2018;14(1):e1006719.
doi: 10.1371/journal.ppat.1006719
8. Чеснокова МГ, Чесноков СА, Миронов АЮ. Микробиота зубной бляшки у детей с зубочелюстными аномалиями при ортодонтическом лечении. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023;68(4):237-242.
doi: 10.51620/0869-2084-2023-68-4-237-242
9. Verma D, Garg PK, Dubey AK. Insights into the human oral microbiome. *Arch Microbiol*. 2018;200(4):525-540.
doi:10.1007/s00203-018-1505-3
10. Wade WG. Resilience of the oral microbiome. *Periodontol 2000*. 2021;86(1):113-122.
doi:10.1111/prd.12365
11. Балмасова ИП, Царев ВН, Гветадзе РШ, Мустафаев МШ, Царева ТВ, Малова ЕС, и др. Виром полости рта: начало пути (обзор литературы). *Клиническая стоматология*. 2023;26(3):115-124.
doi: 10.37988/1811-153X_2023_3_115
12. Самоукина АМ, Алексеева ЮА, Страхова СС, Страхов МА. Особенности микробиоты недоношенных новорожденных с дефицитом массы тела. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2022;4(4):78-86.
doi: 10.31146/1682-8658-ecg-200-4-78-86
13. Thakkar P, Banks JM, Rahat R, Brandini DA, Naqvi AR. Viruses of the oral cavity: Prevalence, pathobiology and association with oral diseases. *Rev Med Virol*. 2022;32(4):e2311.
doi: 10.1002/rmv.2311
14. Nourbakhsh N, Sadri L, Moghim S, Mohammadi S. Comparative real-time PCR quantification of cytomegalovirus in severe early childhood caries and caries-free children. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2022;23(5):797-801.
doi: 10.1007/s40368-022-00711-z
15. Joseph S, Curtis MA. Microbial transitions from health to disease. *Periodontol 2000*. 2021;86(1):201-209.
doi: 10.1111/prd.12377
16. Kapila YL. Oral health's inextricable connection to systemic health: Special populations bring to bear multimodal relationships and factors connecting periodontal disease to systemic diseases and conditions. *Periodontol 2000*. 2021;87(1):11-16.
doi: 10.1111/prd.12398
17. Sampaio-Maia B, Caldas IM, Pereira ML, Pérez-Mongiovi D, Araujo R. The Oral Microbiome in Health and Its Implication in Oral and Systemic Diseases. *Adv Appl Microbiol*. 2016;97:171-210.
doi: 10.1016/bs.aambs.2016.08.002
18. Willis JR, Gabaldón T. The Human Oral Microbiome in Health and Disease: From Sequences to Ecosystems. *Microorganisms*. 2020;8(2):308.
doi: 10.3390/microorganisms8020308
19. Петрова ОА, Червинец ВМ, Червинец ЮВ, Михайлова ЕС, Григорьянц ЭО, Леонтьева АВ, и др. Формирование кишечной микробиоты недоношенных новорожденных детей, получавших и не получавших курс антибиотиков и пробиотиков. *Клиническая ла-*

бораторная диагностика. 2023;68(6):365-370

doi: 10.51620/0869-2084-2023-68-6-365-370

20. Sedghi L, DiMassa V, Harrington A, Lynch SV, Kapila YL. The oral microbiome: Role of key organisms and complex networks in oral health and disease. *Periodontol 2000*. 2021;87(1):107-131.

doi: 10.1111/prd.12393

21. Milewska A, Ner-Kluza J, Dabrowska A, Bodzon-Kulakowska A, Pyrc K, Suder P. Mass spectrometry in virological sciences. *Mass Spectrom Rev*. 2020;39(5-6):499-522.

doi: 10.1002/mas.21617

REFERENCES

1. Bukharin OV, Perunova NB. The role of microbiota in the regulation of homeostasis in the human body during infection. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2020;97(5):458-467. (In Russ.).

doi: 10.36233/0372-9311-2020-97-5-8

2. Gao L, Xu T, Huang G, Jiang S, Gu Y, Chen F. Oral microbiomes: more and more importance in oral cavity and whole body. *Protein Cell*. 2018;9(5):488-500.

doi: 10.1007/s13238-018-0548-1

3. Olsen I, Yamazaki K. Can oral bacteria affect the microbiome of the gut? *J Oral Microbiol*. 2019;11(1):1586422.

doi:10.1080/20002297.2019.1586422

4. Xiao J, Fiscella KA, Gill SR. Oral microbiome: possible harbinger for children's health. *Int J Oral Sci*. 2020;12(1):12.

doi: 10.1038/s41368-020-0082-x

5. Deo PN, Deshmukh R. Oral microbiome: Unveiling the fundamentals. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2019;23(1):122-128.

doi: 10.4103/jomfp.JOMFP_304_18

6. Lee YH, Chung SW, Auh QS, et al. Progress in Oral Microbiome Related to Oral and Systemic Diseases: An Update. *Diagnostics (Basel)*. 2021;11(7):1283.

doi: 10.3390/diagnostics11071283

7. Sultan AS, Kong EF, Rizk AM, Jabra-Rizk MA. The oral microbiome: A Lesson in coexistence. *PLoS Pathog*. 2018;14(1):e1006719.

doi: 10.1371/journal.ppat.1006719

8. Chesnokova MG, Chesnokov SA, Mironov AY. Microbiota of dental plaque in children with dentofacial anomalies during orthodontic treatment. *Klinicheskaja laboratornaia diagnostika*. 2023;68(4):237-242 (In Russ.).

doi: 10.51620/0869-2084-2023-68-4-237-242

9. Verma D, Garg PK, Dubey AK. Insights into the human oral microbiome. *Arch Microbiol*. 2018;200(4):525-540.

doi: 10.1007/s00203-018-1505-3

10. Wade WG. Resilience of the oral microbiome. *Periodontol 2000*. 2021;86(1):113-122.

doi: 10.1111/prd.12365

11. Balmasova IP, Tsarev VN, Gvetadze RS, Mustafaev MS, Tsareva TV, Malova ES., et al. Oral virome: the beginning of the path (review). *Clinical Dentistry (Rus-*

22. Wörner TP, Shamorkina TM, Snijder J, Heck AJR. Mass Spectrometry-Based Structural Virology. *Anal Chem*. 2021;93(1):620-640.

doi: 10.1021/acs.analchem.0c04339

23. Давыдов БН, Доменюк ДА, Дмитриенко СВ, Кондратьева ТА, Арутюнян ЮС. Оптимизация диагностики заболеваний пародонта у детей с дисплазией соединительной ткани по результатам рентгеноморфометрических и денситометрических исследований. *Пародонтология*. 2020;25(4):266-275.

doi: 10.33925/1683-3759-2020-25-4-266-275

sia). 202326(3):115-124 (In Russ.).

doi: 10.37988/1811-153X_2023_3_115

12. Samoukina AM, Alekseeva YuA, Strakhova SS, Strakhov MA. Features of microbiota in underweight premature infants. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2022;(4):78-86 (In Russ.).

doi: 10.31146/1682-8658-ecg-200-4-78-86

13. Thakkar P, Banks JM, Rahat R, Brandini DA, Naqvi AR. Viruses of the oral cavity: Prevalence, pathobiology and association with oral diseases. *Rev Med Virol*. 2022;32(4):e2311.

doi: 10.1002/rmv.2311

14. Nourbakhsh N, Sadri L, Moghim S, Mohammadi S. Comparative real-time PCR quantification of cytomegalovirus in severe early childhood caries and caries-free children. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2022;23(5):797-801.

doi: 10.1007/s40368-022-00711-z

15. Joseph S, Curtis MA. Microbial transitions from health to disease. *Periodontol 2000*. 2021;86(1):201-209.

doi: 10.1111/prd.12377

16. Kapila YL. Oral health's inextricable connection to systemic health: Special populations bring to bear multimodal relationships and factors connecting periodontal disease to systemic diseases and conditions. *Periodontol 2000*. 2021;87(1):11-16.

doi: 10.1111/prd.12398

17. Sampaio-Maia B, Caldas IM, Pereira ML, Pérez-Mongiovi D, Araujo R. The Oral Microbiome in Health and Its Implication in Oral and Systemic Diseases. *Adv Appl Microbiol*. 2016;97:171-210.

doi: 10.1016/bs.aambs.2016.08.002

18. Willis JR, Gabaldón T. The Human Oral Microbiome in Health and Disease: From Sequences to Ecosystems. *Microorganisms*. 2020;8(2):308.

doi: 10.3390/microorganisms8020308

19. Petrova OA, Chervinets VM, Chervinets YuV, Mikhailova ES, Grigoryants EO, Leontieva AV, et al. Formation of the intestinal microbiota of premature newborns who received and did not receive a course of antibiotics and probiotics. *Klinicheskaja laboratornaia diagnostika*. 2023;68(6):365-370 (In Russ.).

doi: 10.51620/0869-2084-2023-68-6-365-370

20. Sedghi L, DiMassa V, Harrington A, Lynch SV, Kap-

ila YL. The oral microbiome: Role of key organisms and complex networks in oral health and disease. *Periodontol 2000*. 2021;87(1):107-131.

doi:10.1111/prd.12393

21. Milewska A, Ner-Kluza J, Dabrowska A, Bodzon-Kulakowska A, Pyrc K, Suder P. Mass spectrometry in virological sciences. *Mass Spectrom Rev*. 2020;39(5-6):499-522.

doi: 10.1002/mas.21617

22. Wörner TP, Shamorkina TM, Snijder J, Heck AJR.

Mass Spectrometry-Based Structural Virology. *Anal Chem*. 2021;93(1):620-640.

doi: 10.1021/acs.analchem.0c04339

23. Davydov BN, Domenyuk DA, Dmitrienko SV, Konratyeva TA, Harutyunyan YuS. Improving diagnostics of periodontal diseases in children with connective tissue dysplasia based on X-ray morphometric and densitometric data. *Parodontologiya*. 2020;25(4):266-275. (In Russ.)

doi: 10.33925/1683-3759-2020-25-4-266-275

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Автор, ответственный за связь с редакцией:

Самоукина Анна Михайловна, кандидат медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой гигиены и экологии Тверского государственного медицинского университета, Тверь, Российская Федерация

Для переписки: anna_samoukina@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9405-0142>

Червинец Вячеслав Михайлович, доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии и вирусологии с курсом иммунологии Тверского государственного медицинского университета, Тверь, Российская Федерация

Для переписки: chervinets@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6549-0010>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Corresponding author:

Anna M. Samoukina, MD, PhD, Head of the Department of Hygiene and Ecology, Tver State Medical University, Tver, Russian Federation

For correspondence: anna_samoukina@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9405-0142>

Vyacheslav M. Chervinets, MD, PhD, DSc, Professor, Department of Microbiology and Virology with a Course of Immunology, Tver State Medical University, Tver, Russian Federation

For correspondence: chervinets@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6549-0010>

Конфликт интересов:

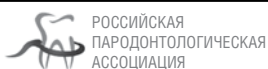
Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов / Conflict of interests:

The authors declare no conflict of interests

Поступила / Article received 17.01.2024

Поступила после рецензирования / Revised 27.02.2024

Принята к публикации / Accepted 01.03.2024



ЖУРНАЛЫ ИЗДАТЕЛЬСКОЙ ГРУППЫ РПА

Журнал «Стоматология детского возраста и профилактика»

Стоимость подписки в печатном виде на 2023 год по России – 2700 рублей

Подписной индекс в каталоге «Урал-Пресс» – ВН018524

Электронная версия в открытом доступе

www.detstom.ru

PubMed NLM ID:101516363

Импакт-фактор: 1.3