

# Микроэкологические биомаркеры уровня резистентности организма у новорожденных детей

Страхова С. С.<sup>1</sup>

врач

Самоукина А. М.<sup>2</sup>

к.м.н., доцент, заведующий, научный отдел; заведующий, кафедра гигиены и экологии

Алексеева Ю. А.<sup>2</sup>

д.м.н., профессор, заведующий, кафедра поликлинической педиатрии и неонатологии

Родионов А. А.<sup>2</sup>

к.м.н., доцент, кафедра общественного здоровья, организации, управления и экономики здравоохранения с учебным центром «Бережливые технологии в здравоохранении»

Страхов М. А.<sup>2</sup>

к.м.н., доцент, кафедра сердечно-сосудистой хирургии

1 – ГБУЗ ТО «Областной клинический перинатальный центр им. Е.М.Бакуниной», Тверь, Российская Федерация

2 – ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России, Тверь, Российская Федерация

**Автор для корреспонденции:** Родионов Андрей Александрович; **e-mail:** andrew.rodionov@tvpgmu.ru  
**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

В результате настоящего исследования были выявлены маркеры, отражающие уровень резистентности организма и микроэкологического неблагополучия пищеварительного тракта новорожденных детей по качественным и количественным характеристикам микробиоты полости рта. В ходе исследования определены бактериальный и вирусный компонент, включая представителей семейства герпесвирусов (Эпштейна-Барр вирус, герпеса 6 типа, простого герпеса 1 и 2 типа) в сочетании с показателями локальной иммунной резистентности в ротовой жидкости у 173 новорожденных I-II группы здоровья. Определение в ротовой жидкости новорожденных представителей семейства герпесвирусов на фоне выявления условно-патогенной бактериальной микрофлоры отражает несостоятельность общей и локальной иммунной резистентности, что позволяет отнести таких детей к группе риска по развитию инфекционной патологии с последующим назначением корректирующих и профилактических мероприятий.

**Ключевые слова:** пищеварительный тракт, полость рта, герпесвирусы, микрофлора

**doi:** 10.29234/2308-9113-2022-10-3-63-71

**Для цитирования:** Страхова С. С., Самоукина А. М., Алексеева Ю. А., Родионов А. А., Страхов М. А. Микроэкологические биомаркеры уровня резистентности организма у новорожденных детей. *Медицина* 2022; 10(3): 63-71.

## Введение

Одной из приоритетных задач нашего государства и современного здравоохранения является формирование здоровья подрастающего поколения. По данным различных исследований последних лет показано, что микробиота пищеварительного тракта – это

дискретный орган, оказывающий влияние на целый ряд физиологических процессов, а также иммунную резистентность и поведение человека. В связи с этим, состояние микробиома пищеварительного тракта может рассматриваться как один из интегральных критериев оценки состояния здоровья человека. В свою очередь, показателями индивидуального адаптогенеза являются качественные (биологические свойства) и количественные параметры микробиоты пищеварительного тракта [1,2,3,4,6,10,12,14].

Входными воротами пищеварительной и бронхо-легочной систем является полость рта и ее микробиом, состояние которого определяет колонизационную локальную резистентность, формирование микробиоты других биотопов и, как следствие, здоровье детей в целом. По данным литературы и результатам ранее проведенных исследований следует, что микробиота полости рта по качественным и количественным показателям коррелирует с микробиотой пищеварительной системы. В то же время, преимуществами использования ротовой жидкости является доступность забора биологической пробы, а также клиническая информативность биомаркеров данного биоматериала, отличающихся стабильностью, точностью обнаружения, а также обладающих высокой чувствительностью, специфичностью и воспроизводимостью результатов анализа, простоту выполнения и экономическую эффективность клинико-диагностических алгоритмов [1,2,3,5,7,8,11]. 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 персонифицированной превентивной коррекции [6,8,9,11,13].

Следовательно, оценка состояния микробиома пищеварительного тракта, как одного из интегральных параметров здоровья, поиск биомаркеров, позволяющих объективно определить уровень резистентности ребенка является актуальным и перспективным направлением превентивной медицины в современной педиатрической практике.

## Цель исследования

Цель настоящего исследования: определение и оценка биомаркеров, отражающих уровень резистентности организма ребенка и микроэкологического неблагополучия пищеварительного тракта, позволяющих сформировать группы риска для своевременного назначения персонифицированных корректирующих и профилактических мероприятий.

## Материалы и методы

**Тип исследования.** Одномоментное (cross-sectional)

**Способ отбора участников исследования.** Исследование было одобрено Этическим комитетом ФБГОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России.

В рамках проведения научно-исследовательской работы было обследовано 173 новорожденных I и II группы здоровья в соответствии с Приказом Минздрава России от 10.08.2017 г. № 514н в возрасте от рождения до 7 дней жизни. Это все дети, соответствовавшие критериям включения, рождённые в ГБУЗ ТО «Областной клинический перинатальный центр им. Е.М. Бакуниной» в октябре месяце 2020 года.

Все дети были осмотрены неонатологом, для верификации состояния здоровья и уровня адаптационных резервов проведены ряд функциональных исследований (антропометрия, 12-канальная ЭКГ, ВНС-спектрометрия, ультразвуковое исследование органов брюшной полости).

Для определения бактериального компонента микробиоты ротовой жидкости проведено бактериологическое исследование с последующим определением микроэкологического варианта нормомикробиоты – первый, второй или третий. Они характеризуются определенным сочетанием индигенной и условно-патогенной микрофлоры, где наиболее оптимальным является первый, а наиболее неблагоприятным – третий вариант нормомикробиоты (патент на изобретение № 2602697 от 03.03.2015).

Для определения представителей семейства герпесвирусов микробиоты полости рта, вирусного компонента, было проведено молекулярно-генетическое исследование ротовой жидкости на наличие ДНК вируса простого герпеса 1 и 2 типа, вируса Эпштейна-Барр, вируса герпеса 6 типа, цитомегаловируса. В исследовании использованы тест-системы для выделения и амплификации нуклеиновых кислот «РибоПреп» и «АмплиСенс® EBV/CMV/HHV6-скрин-FL» ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора с проведением полимеразной цепной реакции в режиме «реального времени» в амплификаторе Applied Biosystems.

Локальная иммунная резистентность определена по уровню лизоцима (турбидиметрия), секреторного иммуноглобулина А и avidности антител в ротовой жидкости с использованием иммуноферментного анализа («Вектор-Бест»).

Данная научно-исследовательская работа проведена в рамках реализации государственного задания (№ 056-00150-18-00 от 27.12.2017) с соблюдением основных норм биоэтики научных исследований (заключение Этического комитета ФБГОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России от 21 января 2018). Исследования выполнены в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, по адресу 170036, г. Тверь, Петербургское шоссе, д. 115, корп. 1. (Лицензия на медицинскую деятельность № ФС-69-01-000812 от 15.02.2018 г., сроком действия – бессрочно).

**Способы представления и обработки данных.** Статистическая обработка полученных в работе данных проводилась с использованием пакетов программ IBM SPSS Statistics 23.0 и Win PEPI 11.64. Количественные данные представлены в виде  $M \pm m$ , качественные – абсолютных значений и долей (%). Для оценки статистической значимости различий между средними использовался дисперсионный анализ (ANOVA) с апостериорным тестом Тьюки, для качественных переменных – точный тест Фишера с поправкой Сидака на множественность сравнений. Подготовка текста работы была выполнена с использованием программы Microsoft Word 2016.

## Результаты

Первый этап исследования включал определение бактериально-вирусных ассоциаций микробиоты полости рта у всех новорожденных I и II группы здоровья.

При определении микрoэкологического варианта нормомикробиоты по бактериальному компоненту оптимально благоприятный первый вариант был выявлен у 43 детей, второй – у 77 детей, и прогностически неблагоприятный третий вариант – у 53 обследованных, что составило 24,9%, 44,5% и 30,6% соответственно (таблица 1).

При сопоставлении результатов молекулярно-генетического исследования вирусной составляющей у здоровых новорожденных с различными вариантами бактериальной микрофлоры, выявлено, что для первого варианта нормомикробиоты вирусопозитивные образцы составили 30,3%, для второго – 40,3% и для третьего – 73,6% соответственно. Следовательно, вирусный компонент микробиоты достоверно чаще определялся у детей с третьим вариантом нормомикробиоценоза, прогностически более неблагоприятным ( $p \leq 0,05$ ), что было характерно также и для ассоциации представителей герпесвирусов. Так, частота выявления ДНК вируса Эпштейна-Барр, а также вируса герпеса 6 типа была достоверно выше у лиц с третьим микрoэкологическим вариантом по сравнению с наиболее оптимальным первым вариантом нормомикробиоты ( $p \leq 0,05$ ).

Полученные данные свидетельствуют, что при нарушении соотношения облигатной и факультативной микрофлоры в бактериальном звене происходят достоверные изменения как качественных, так и количественных параметров вирусной составляющей (табл. 1).

Анализируя спектр вирусной составляющей, было выявлено, что наиболее часто определялась ДНК вируса герпеса 6 типа, что составило 84,6%, 64,5% и 79,5% соответственно, для первого, второго и третьего микрoэкологического варианта (табл. 2). Кроме того, в более 50% вирусопозитивных образцов определялась ДНК вируса Эпштейна-Барр. Ассоциации данных вирусов, среди всех вирусопозитивных реципиентов наиболее часто выявлены у новорожденных с третьим вариантом нормомикробиоты. Следует отметить, что наличие у обследованных новорожденных ДНК вируса простого герпеса так

же, как и в ранее проведенных исследованиях [3,6], носило спорадический характер, что в целом соответствует общей тенденции у здоровых людей различных возрастных групп.

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

Количественные параметры вирусного компонента	Вариант нормомикробиоценоза (n=173)					
	Первый n=43		Второй n=77		Третий n=53	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Вирусопозитивные	13	30,3	31	40,3	39	73,6*
Ассоциации	3	6,9	8	10,3	14	26,4*
Эпштейна-Барр	9	19,4	19	24,7	21	39,6*
Герпеса 6 типа	11	20,9	20	25,9	31	58,5*
Простого герпеса 1 типа	0	0	1	1,3	2	3,8

Примечание:\*  $p \leq 0,05$

*Таблица 2. Качественные параметры бактериально-вирусных ассоциаций микробиоты полости рта у вирусопозитивных новорожденных I-II группы здоровья*

Качественные параметры вирусного компонента у вирусопозитивных новорожденных	Вариант нормомикробиоценоза (n=83)					
	Первый n=13		Второй n=31		Третий n=39	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Эпштейна-Барр	9	69,2	19	61,3	21	53,8
Герпеса 6 типа	11	84,6	20	64,5	31	79,5
Простого герпеса 1 типа	0	0	1	3,2	2	5,1
Ассоциации	3	23,1	8	25,8	14	35,9

Для поиска взаимосвязи между бактериально-вирусными ассоциациями микробиома полости рта и параметрами локальной иммунной резистентности было исследовано содержание лизоцима, секреторного IgA и его авидность в ротовой жидкости при различных микрoэкологических вариантах нормомикробиоценоза (табл. 3).

Отмечено, что уровень секреторного IgA был существенно выше у детей с третьим, наиболее неблагоприятным вариантом нормомикробиоты. Однако функциональная активность антител, которая характеризуется показателем авидности, имела обратную зависимость и была достоверно выше у реципиентов с первым вариантом нормомикробиоценоза.

Кроме того, при снижении качества микрoэкологичеcких параметров от первого к третьему варианту микробиоценоза, у обследованных также наблюдалась тенденция к снижению уровня лизоцима ротовой жидкости.

Следовательно, выявленные изменения неспецифической иммунной реактивности в зависимости от микрoэкологичеcкого варианта нормомикробиоты подтверждают наличие тесной динамической взаимосвязи микрoэкологии и локальной резистентности полости рта у новорожденных детей.

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

	Вариант нормомикробиоценоза (n=173)		
	Первый n=43	Второй n=77	Третий n=53
Лизоцим, мкг/мл	28,3*±0,55	23,4±0,68	20,7±0,67
Секреторный IgA, мг/мл	0,47±0,21	0,43±0,21	0,52*±0,84
Авидность, %	89,7*±2,92	81,9±4,47	81,2±2,42

Примечание: \* p<0,05

В ходе настоящего исследования созданы базы данных, содержащие клинично-анамнестические, молекулярно-генетические, биохимические и бактериологические показатели новорожденных (БД № 2017620239 от 22.02.2017, БД №2018622056 от 17.12.2018). При статистической обработке полученных данных выявлено, что наиболее значимым для оценки резистентности организма новорожденных детей является вирусный компонент, ассоциированный с представителями герпесвирусов.

## Заключение

В ходе проведенного исследования была выявлена взаимосвязь между бактериально-вирусными ассоциациями микробиоты полости рта, представленными условно-патогенной бактериальной микрофлорой и представителями герпесвирусов, а также параметрами локальной иммунной резистентности у новорожденных детей. Состояние бактериальной и вирусной составляющей, бактериально-вирусные ассоциации полости рта характеризуют состояние резистентности организма в целом и могут использоваться в качестве интегрального показателя для оценки состояния здоровья новорожденных детей на этапе донозологической диагностики. Микрoэкологичеcкий мониторинг на основании выявленных биомаркеров позволит сформировать группы риска по снижению резистентности у новорожденных детей для своевременного назначения персонализированных корректирующих и профилактических мероприятий.

## Литература

1. Червинец В.М., Червинец Ю.В., Самоукина А.М., Михайлова Е.С., Гаврилова О.А. Формирование биопленок антагонистическими штаммами лактобацилл полости рта. *Стоматология* 2012; (1): 16-19.
2. Беляева Е.А., Червинец В.М., Червинец Ю.В., Самоукина А.М., Михайлова Е.С., Пятова А.И., Миронов А.Ю. Дисбиотические изменения микрофлоры кишечника у здоровых людей. *Клиническая лабораторная диагностика* 2013; (3): 45-47.
3. Самоукина А.М., Алексеева Ю.А., Михайлова Е.С., Денисова Е.В., Жуков С.В. Взаимосвязь микробиоты различных биотопов у детей в норме и при патологических состояниях. *Современные проблемы науки и образования* 2018; (2): 58.
4. Ардатская М.Д., Бельмер С.В., Добрица В.П., Захаренко С.М., Лазебник Л.Б., Минушкин О.Н., Орешко Л.С., Ситкин С.И., Ткаченко Е.И., Суворов А.Н., Хавкин А.И., Шендеров Б.А. Дисбиоз (дисбактериоз) кишечника: современное состояние проблемы, комплексная диагностика и лечебная коррекция. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология* 2015; (5): 13-50.
5. Кочурова Е.В., Козлов С.В. Диагностические возможности слюны. *Клиническая лабораторная диагностика* 2014; (1): 13-15.
6. Самоукина А.М., Михайлова Е.С., Чернин В.В., Алексеева Ю.А. Микробиота пищеварительного тракта как системный фактор оценки здоровья человека и проведения превентивной коррекции. *Лечение и профилактика* 2015; (3): 23-28.
7. Червинец Ю.В., Червинец В.М., Самоукина А.М., Михайлова Е.С. Антагонистическая активность пробиотических штаммов. *Успехи современного естествознания* 2009; (2): 73.
8. Robles-Sikisaka R., Ly M., Boehm T., Naidu M., Salzman J., Pride D.T. Association between living environment and human oral viral ecology. *ISMEJ* 2013; (9): 1710-1734.
9. Bull M.J., Plummer N.T. Part 1: The Human Gut Microbiome in Health and Disease. *Integr. Med. (Encinitas)* 2014; (6): 17-22.
10. Ding H.T., Taur Y., Walkup J.T. Gut Microbiota and Autism: Key Concepts and Findings. *J. Autism Dev. Disord.* 2017; (2): 480-489.
11. Bezerra T.M., Ferreira D.C., Carmo F.L., Pinheiro R., Leite D.C.A., Cavalcante F.S., Belinho R.A., Peixoto R.S., Rosado A.S., dos Santos K.R.N., Castro G.F.B.A. Herpes virus in the oral cavity of children with leukaemia and its impact on the oral bacterial community profile. *J. Clin. Pathol.* 2015; (3): 222-230.
12. Pelzer E., Gomes-Arango L.F., Barrett H.L., Nitert M.D. Review: Maternal health and the placental microbiome. *Placenta* 2017; (54): 30-37.
13. Sassone-Corsi M., Raffatellu M. No vacancy: how beneficial microbes cooperate with immunity to provide colonization resistance to pathogens. *J. Immunol.* 2015; (9): 4081-4088.
14. Vuong H.E., Hsiao E.Y. Emerging Roles for the Gut Microbiome in Autism Spectrum Disorder. *Biol. Psychiatry* 2017; (5): 411-423.



## Microecological Biomarkers of the Resistance Level of the Organism in Newborns

**Strakhova S. S.<sup>1</sup>**

MD

**Samoukina A. M.<sup>2</sup>**

MD, PhD, Assistant Professor, Head, Scientific Department; Head, Chair for Hygiene and Ecology

**Alexeeva Ju. A.<sup>2</sup>**

Doctor of Medicine, Professor, Head, Chair for Polyclinic Pediatrics and Neonatology

**Rodionov A. A.<sup>2</sup>**

MD, PhD, Assistant Professor, Chair for Public Health, Organization, Management and Economics of Healthcare»

**Strakhov M. A.<sup>2</sup>**

MD, PhD, Assistant Professor, Chair for Cardiovascular Surgery

1 – Regional Clinical Perinatal Center, Tver, Russian Federation

2 – Tver State Medical University, Tver, Russian Federation

**Corresponding Author:** Rodionov Andrej; **e-mail:** andrew.rodionov@tvngmu.ru

**Conflict of interest.** None declared.

**Funding.** The study had no sponsorship.

### Abstract

As a result of this study, some markers reflecting the level of body resistance and microecological disorder of the digestive tract of newborns according to the qualitative and quantitative characteristics of the microbiota of the oral cavity were identified. The study determined the bacterial and viral components, including representatives of the herpesvirus family (Epstein-Barr virus, herpes type 6, herpes simplex types 1 and 2) in combination with indicators of local immune resistance in the oral fluid in 173 newborns of I-II health groups. Determination of both herpesviruses in oral fluid of newborns and opportunistic bacterial microflora reflects the lack of general and local immune resistance. It makes it possible to classify such children as a risk group for the development of infectious pathology, in need for prescription of corrective and preventive measures.

**Keywords:** digestive tract, oral cavity, herpesviruses, microflora

### References

1. Chervinec V.M., Chervinec Yu.V., Samoukina A.M., Mihajlova E.S., Gavrilova O.A. Formirovanie bioplenok antagonisticheskimi shtammami laktobacill polosti rta. [Formation of biofilms by antagonistic strains of oral lactobacilli.] *Stomatologiya [Dentistry]* 2012; (1): 16-19. (In Russ.)
2. Belyaeva E.A. Chervinec V.M., Chervinec Yu.V., Samoukina A.M., Mihajlova E.S., Pyatova A.I., Mironov A.Yu. Disbioticheskie izmeneniya mikroflory kishchnika u здо-rovyyh lyudej. [Dysbiotic changes in the intestinal microflora of healthy people.] *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]* 2013; (3): 45-47. (In Russ.)
3. Samoukina A.M., Alekseeva Yu.A., Mihajlova E.S., Denisova E.V., Zhukov S.V. Vzaimosvyaz' mikrobioty razlichnykh biotopov u detej v norme i pri patologicheskikh sostoyaniyah. [The relationship of microbiota of different biotopes in children in normal and pathological conditions.] *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya [Modern Problems of Science and Education]* 2018; (2): 58. (In Russ.)
4. Ardatskaya M.D., Bel'mer S.V., Dobrica V.P., Zaharenko S.M., Lazebnik L.B., Minushkin O.N., Oreshko L.S., Sitkin S.I., Tkachenko E.I., Suvorov A.N., Havkin A.I., Shenderov B.A. Disbioz (disbakterioz) kishchnika: sovremennoe sostoyanie problemy, kompleksnaya diagnostika i lechebnaya korrekciya. [Dysbiosis (bacterial overflow syndrome)



- of the intestine: the current state of the problem, complex diagnostics and therapeutic correction.] *Ekspierimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya [Experimental and Clinical Gastroenterology]* 2015; (5): 13-50. (In Russ.)
5. Kochurova E.V., Kozlov S.V. Diagnosticheskie vozmozhnosti slyuny. [Diagnostic potential of saliva.] *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]* 2014; (1): 13-15. (In Russ.)
6. Samoukina A.M., Mihajlova E.S., Chernin V.V., Alekseeva Yu.A. Mikrobiota pishchevaritel'nogo trakta kak sistemnyj faktor ocenki zdorov'ya cheloveka i provedeniya preventivnoj korrekcii. [Digestive tract microbiota as a systemic factor in human health assessment and preventive correction.] *Lechenie i profilaktika [Treatment and prevention]* 2015; (3): 23-28. (In Russ.)
7. Chervinec Yu.V., Chervinec V.M., Samoukina A.M., Mihajlova E.S. Antagonisticheskaya aktivnost' probioticheskikh shtammov. [Antagonistic activity of probiotic strains.] *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya [Successes of Modern Natural Science]* 2009; (2): 73. (In Russ.)
8. Robles-Sikisaka R., Ly M., Boehm T., Naidu M., Salzman J., Pride D.T. Association between living environment and human oral viral ecology. *ISMEJ* 2013; (9): 1710-1734.
9. Bull M.J., Plummer N.T. Part 1: The Human Gut Microbiome in Health and Disease. *Integr. Med. (Encinitas)* 2014; (6): 17-22.
10. Ding H.T., Taur Y., Walkup J.T. Gut Microbiota and Autism: Key Concepts and Findings. *J. Autism Dev. Disord.* 2017; (2): 480-489.
11. Bezerra T.M. Ferreira D.C., Carmo F.L., Pinheiro R., Leite D.C.A., Cavalcante F.S., Belinho R.A., Peixoto R.S., Rosado A.S., dos Santos K.R.N., Castro G.F.B.A. Herpes virus in the oral cavity of children with leukaemia and its impact on the oral bacterial community profile. *J. Clin. Pathol.* 2015; (3): 222-230.
12. Pelzer E., Gomes-Arango L.F., Barrett H.L., Nitert M.D. Review: Maternal health and the placental microbiome. *Placenta* 2017; (54): 30-37.
13. Sassone-Corsi M., Raffatellu M. No vacancy: how beneficial microbes cooperate with immunity to provide colonization resistance to pathogens. *J. Immunol.* 2015; (9): 4081-4088.
14. Vuong H.E., Hsiao E.Y. Emerging Roles for the Gut Microbiome in Autism Spectrum Disorder. *Biol. Psychiatry* 2017; (5): 411-423.