

**ЧАСТОТА ОБНАРУЖЕНИЯ ГЕНОМОВ ПАТОГЕНОВ У ДЕТЕЙ С
ОСТРЫМИ РЕСПИРАТОРНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ**

Тюкавкина С. Ю. ¹,

Харсеева Г. Г. ¹,

Костинов М. П. ^{2,3},

Алиева А. А. ¹,

Балахнова В. В. ¹,

Алутина Э. Л. ¹,

Чайкина В. А. ¹,

Волкова В. В. ¹

¹ ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия.

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И.Мечникова, Москва, Россия.

³ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия.

**THE FREQUENCY OF DETECTED PATHOGEN GENOMES IN
CHILDREN WITH ACUTE RESPIRATORY INFECTIONS**

Tyukavkina S. Yu. ¹,

Kharseeva G. G. ¹,

Kostinov M. P. ^{2,3},

Alieva A. A. ¹,

Balakhnova V. V. ¹,

Alutina E. L. ¹,

Chaikina V. A. ¹,

Volkova V. V. ¹

¹ Federal State Educational Institution of Higher Education «Rostov State Medical University» Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia.

² I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia.

³ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Sechenov University), Moscow, Russia.

Резюме

В связи с высокой распространенностью острых респираторных инфекций у детей представляло интерес выяснить состав бактериальных и вирусно-бактериальных ассоциаций микроорганизмов, населяющих респираторный тракт. Для идентификации патогенов дыхательных путей, особенно вирусов и некультивируемых бактерий, целесообразно использовать молекулярно-генетические методы исследования, в частности, ПЦР. *Цель работы* – сравнительный анализ частоты обнаружения геномов патогенов дыхательного тракта у детей с острыми респираторными инфекциями и практически здоровых. *Материал и методы.* Обследованы дети (97 чел.), из которых 35 чел. – с острыми респираторными инфекциями верхних дыхательных путей (назофарингит, фарингит, ларингит) (ОРИ ВДП), 32 чел. – с острыми респираторными инфекциями нижних дыхательных путей (острый бронхит, острый обструктивный бронхит) (ОРИ НДП) и 30 чел. – практически здоровые на момент обследования. В отделяемом ротоглотки с помощью ПЦР определяли РНК и ДНК вирусных и бактериальных патогенов. Использованы тест-системы производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора и АО «Вектор-Бест». *Результаты.* Анализ частоты выявления ДНК и РНК патогенов бактериальной и вирусной природы показал наличие их широкого спектра (20 различных видов/штаммов из 27 определяемых) в биоматериале из ротоглотки у всех обследованных детей. Наибольшее разнообразие и частота обнаружения геномов патогенов обнаружены у практически здоровых обследованных и детей с ОРИ ВДП (ДНК представителей семейства *Herpesviridae*, *S.pneumoniae*, *H.influenzae*, *MSSA*, *MRCoNS*). В составе микрофлоры преобладали ассоциации из 4-6 патогенов, а «ядром» как бактериальных, так и вирусно-бактериальных ассоциаций являлось сочетание *S. pneumoniae* и *H. influenzae* (в 93,3% и 60,0% случаев соответственно). В бактериальных ассоциациях у здоровых детей выявляли также стафилококки (*MRSA* и *MRCoNS*) и *P. aeruginosa*, у детей с ОРИ ВДП – *MSSA* и очень редко

– другие виды бактерий. У детей с инфекциями НДП, большинство из которых (75,0±7,7%) относились к категории длительно болеющих и имели осложненное течение заболевания, обнаружено заметное обеднение (уменьшение таксономического разнообразия) назофарингеальной микробиоты. *Заключение.* Представленные данные свидетельствуют о присутствии в биоматериале обследованных детей молекулярно-генетических маркеров широкого спектра патогенов в виде вирусно-бактериальных и бактериальных ассоциаций, состав которых варьируется и зависит от клинического статуса пациентов. Обнаружение геномов патогенов является важным для решения вопроса о выборе этиотропной терапии на ранних этапах заболевания, а также назначения пробиотических препаратов, способных восстановить баланс микрофлоры дыхательных путей.

Ключевые слова: микробиом дыхательных путей, респираторные инфекции, дети, вирусные и бактериальные патогены

Abstract

Due to the high prevalence of acute respiratory infections in children, it was of interest to determine the composition of bacterial and viral-bacterial associations for respiratory tract inhabiting microorganisms. To identify respiratory tract pathogens, especially viruses and unculturable bacteria, it is advisable to use molecular genetic research methods particularly PCR. The work was aimed at comparatively analyzing rate of genome detection for respiratory tract pathogens in children with acute respiratory infections and apparently healthy controls. Material and methods. Children (97 people) were examined, of which 35 people – with acute respiratory infections of the upper respiratory tract (nasopharyngitis, pharyngitis, laryngitis) (ARI URT), 32 people - with acute respiratory infections of the lower respiratory tract (acute bronchitis, acute obstructive bronchitis) (ARI NDP) and 30 people - apparently healthy control at the time of examination. RNA and DNA of viral and bacterial pathogens were assessed in the oropharyngeal smears using PCR. Test systems produced by the Federal Budgetary Institution Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor and JSC Vector-Best were used. Results. An analysis of detection rate for DNA and RNA of bacterial and viral pathogens showed the presence of a wide range of them (20 different species/strains out of 27 identified) in oropharyngeal biomaterial from all examined children. The peak diversity and detection rate of pathogen genomes were found in apparently healthy subjects and children with ARI UDP (DNA of members from Herpesviridae family, *S.pneumoniae*, *H.influaenzae*, MSSA, MRCoNS). Associations of 4-6 pathogens prevailed in the microflora, and the “core” of both bacterial and viral-bacterial associations was the combination of *S. pneumoniae* and *H. influenzae* (in 93.3% and 60.0% of cases, respectively). In bacterial associations, staphylococci (MRSA and MRCoNS) and *P. aeruginosa* were also detected in healthy children, MSSA and other very rarely bacterial types were detected in children with ARI UDP. In children with NPD infections, the majority of whom (75.0±7.7%) were classified as long-term ill and had a complicated disease course, a noticeable depletion

(decrease in taxonomic diversity) of the nasopharyngeal microbiota was found.

Conclusion. The presented data indicate the presence in the biomaterial of the examined children of molecular genetic markers of a wide range of pathogens presented as viral-bacterial and bacterial associations, with varying composition being related to patient clinical status. Detection of pathogen genomes is important for choosing proper etiotropic therapy at early disease stages as well as prescribing probiotic drugs that can restore a balance in respiratory tract microflora.

Keywords: microbiome of the respiratory tract, respiratory infections, children, viral and bacterial pathogens.

1 **1 Введение**

2 Микрофлора дыхательных путей обеспечивает биологический баланс
3 между организмом и окружающей средой, играя важную роль в поддержании
4 здоровья человека [5,13]. Защита дыхательных путей от патогенов
5 осуществляется с помощью многих механизмов, включая мукоцилиарный
6 клиренс, факторы врожденного и адаптивного иммунитета,
7 иммуномодулирующее и антагонистическое действие резидентной
8 микрофлоры. Активизация комменсальных бактерий, проникновение из
9 внешней среды патогенов, в том числе вирусной природы, приводит к
10 формированию дисбиоза респираторного тракта [13]. Вирусы способствуют
11 адгезии бактериальных патогенов к клеткам человека и их колонизации за счет
12 разрушения эпителиального барьера, снижения бактериального клиренса,
13 прямого иммуносупрессивного действия [2,8]. Такая ситуация закономерно
14 может привести к развитию вторичных средних отитов, бактериальных
15 бронхитов и пневмоний, наиболее часто вызываемых *S. pneumoniae* и *S.*
16 *aureus*, реже - *Haemophilus influenzae* и *Pseudomonas aeruginosa*. В свою
17 очередь, увеличение количества этих патогенов во время вирусной инфекции
18 приводит к усилению экспрессии рецепторов адгезии для проникновения
19 вирусов [12,14]. Формируется патологический замкнутый круг, где дисбиоз
20 поддерживает воспаление, а воспаление — дисбиоз, что приводит к
21 возникновению острых респираторных инфекций, их переходу в хроническую
22 форму и повышению риска развития соматических заболеваний [9].

23 Острые респираторные инфекции у детей составляют более 70%
24 инфекционной патологии, причем каждый пятый ребенок относится к группе
25 детей с рекуррентными респираторными инфекциями, при которых
26 наблюдается 4-6 и более эпизодов заболевания в год [3,4]. Для острых
27 респираторных инфекций характерна полиэтиологичность. Благодаря
28 внедрению в практику молекулярно-генетических методов исследования
29 выявлен широкий спектр «скрытых» респираторных патогенов, не доступных

30 для идентификации в «культуральную» эпоху (вирусы, микоплазмы,
31 хламидии, пневмоцисты и др.). Идентификация некультивируемых и трудно
32 культивируемых представителей респираторной микрофлоры возможна при
33 использовании высокопроизводительных методов секвенирования
34 метагенома микробиоты респираторного тракта, основанных на анализе
35 переменных участков гена 16S рибосомальных РНК. Этот методический
36 подход актуален для научных исследований, в том числе и для внесения новых
37 данных о нуклеотидных последовательностях тех или иных прокариот в
38 соответствующие базы данных. В рутинной практике основным методом
39 молекулярно-генетических исследований для установления этиологии
40 инфекционных заболеваний является ПЦР [12,20].

41 *Цель* исследования – сравнительный анализ частоты обнаружения
42 геномов патогенов дыхательного тракта у детей с острыми респираторными
43 инфекциями и практически здоровых.

44 **2 Материалы и методы**

45 Обследованы дети: 35 чел. – с острыми респираторными инфекциями
46 верхних дыхательных путей (назофарингит, фарингит, ларингит) (ОРИ ВДП),
47 32 чел. - с острыми респираторными инфекциями нижних дыхательных путей
48 (острый бронхит, острый обструктивный бронхит) (ОРИ НДП) и 30 чел. -
49 практически здоровых на момент обследования. Все пациенты находились под
50 наблюдением в ГБУ РО «Детская городская поликлиника Железнодорожного
51 района» в г. Ростове-на-Дону и ГБУ РО «Детская городская больница №1» в г.
52 Ростове-на-Дону в 2021-2022 г.г. (в период пандемии новой коронавирусной
53 инфекции). Возраст детей составил 3-15 лет, медиана возраста – 7 лет.
54 Обследование детей проведено в соответствии с требованиями Хельсинской
55 декларации Всемирной медицинской ассоциации (ВМА) «Этические
56 принципы проведения научных медицинских исследований с участием
57 человека» в редакции 52-ой сессии Генеральной Ассамблеи ВМА (2000 г.) и
58 «Правилами клинической практики в Российской Федерации»,

59 утвержденными Приказом Минздрава России от 19.06.2003г. №266. На
60 проведение клинического исследования получено добровольное
61 информированное согласие от родителей детей до 15 лет.

62 У всех детей производили забор отделяемого ротоглотки для постановки
63 полимеразной цепной реакции (ПЦР). Биоматериал помещали в транспортную
64 среду и доставляли в лабораторию в течение 1-2 часов. Для выявления и
65 количественного определения ДНК вирусов герпеса человека 1 типа (ВГЧ-1)
66 и 2 типа (ВГЧ-2) использовали тест-систему «АмплиСенс *HSV I, II-FL*» (ФБУН
67 ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора и АО «Вектор-Бест»); ЭБВ, ЦМВ и
68 ВГЧ-6 - «АмплиСенс *EBV/CMV/HHV6-скрин-FL*» (ФБУН ЦНИИ
69 Эпидемиологии Роспотребнадзора и АО «Вектор-Бест»). Для детекции РНК
70 вирусов гриппа А (*Influenza virus A*) и гриппа В (*Influenza virus B*)
71 использовали тест-систему «АмплиСенс® *Influenza virus A/B-FL*» (ФБУН
72 ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора и АО «Вектор-Бест»); для
73 типирования (идентификации субтипов *H1N1* и *H3N2*) вирусов гриппа А
74 (*Influenza virus A*) - «АмплиСенс *Influenza virus A-тип-FL*» (ФБУН ЦНИИ
75 Эпидемиологии Роспотребнадзора и АО «Вектор-Бест»); РНК респираторно-
76 синцитиального вируса (*human Respiratory Syncytial virus – hRSv*),
77 метапневмовируса (*human Metapneumovirus – hMpv*), вирусов парагриппа 1, 2,
78 3 и 4 типов (*human Parainfluenza virus1-4 – hPiv*), коронавирусов (*human*
79 *Coronavirus – hCov*), риновирусов (*human Rhinovirus – hRv*), ДНК
80 аденовирусов групп В, С и Е (*human Adenovirus B, C, E – hAdv*) и бокавируса
81 (*human Bocavirus – hBov*) - «АмплиСенс ОРВИ-скрин-*FL*» (ФБУН ЦНИИ
82 Эпидемиологии Роспотребнадзора и АО «Вектор-Бест»).

83 Для выявления и количественного определения ДНК *MSSA* и *MRSA*,
84 *MRCoNS* использовали тест-систему «АмплиСенс *MRSA-скрин-титр-FL*»
85 (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора и АО «Вектор-Бест»); ДНК
86 *Neisseria meningitidis*, *H. influenzae* и *S. pneumoniae* - «АмплиСенс®
87 *N.meningitidis/H.influenzae/S.pneumoniae-FL*» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии

88 Роспотребнадзора и АО «Вектор-Бест»); для выявления и количественного
89 определения ДНК *Streptococcus agalactiae* - «АмплиСенс® *Streptococcus*
90 *agalactiae* - скрин-титр-FL» (ФФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
91 Роспотребнадзора и АО «Вектор-Бест»); *Streptococcus pyogenes* – «АмплиСенс
92 *Streptococcus pyogenes* скрин/монитор-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
93 Роспотребнадзора и АО «Вектор-Бест»); ДНК *Mycoplasma pneumoniae* и
94 *Chlamydomphila pneumoniae* - «АмплиСенс *Mycoplasma*
95 *pneumoniae/Chlamydomphila pneumoniae-FL*» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
96 Роспотребнадзора и АО «Вектор-Бест»). ДНК *Klebsiella pneumoniae*, *P.*
97 *aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* и *Stenotrophomonas maltophilia* выявляли
98 методом ПЦР в режиме реального времени с помощью тест-системы (АО
99 «Вектор-Бест»).

100 Статистическую обработку материала проводили с помощью
101 программы STATISTICA 12.0 (StatSoftInc, США) и MedCalc (версия 9.3.5.0).

102 3 Результаты

103 При анализе клиническо-anamнестических данных установлено, что
104 большинство обследованных детей как с патологией дыхательных путей (ОРИ
105 НДП и ОРИ ВДП), так и практически здоровых имели неблагоприятный
106 преморбидный фон (отягощенный акушерский анамнез, искусственное
107 вскармливание, перинатальное поражение ЦНС, рекуррентные
108 респираторные инфекции в анамнезе). На долю непривитых и привитых с
109 отклонениями от Национального календаря профилактических прививок
110 пришлось среди всех обследованных 33,3 – 45,7% пациентов. Осложнения
111 основного заболевания, связанные с поражением лимфоглоточного кольца
112 Пирогова-Вальдейера (гипертрофия глоточной миндалины 2-3 степени,
113 гипертрофия небных миндалин 2-3 степени, гипертрофия глоточной и небных
114 миндалин 2-3 степени) регистрировали у 34,4 – 50% детей, что не имело
115 достоверных отличий при сравнении детей с заболеваниями дыхательных
116 путей и практически здоровых. Потребность в госпитализации среди

117 пациентов с ОРИ ВДП составила $34,3 \pm 8,0\%$, что достоверно ($p \leq 0,05$) ниже,
118 чем у детей с ОРИ НДП ($87,5 \pm 5,8\%$). Длительность госпитализации более 5
119 койко-дней у пациентов с ОРИ ВДП ($25,7 \pm 7,4\%$) ниже ($p \leq 0,05$), чем у детей с
120 ОРИ НДП ($53,1 \pm 8,8\%$).

121 При исследовании частоты встречаемости различных представителей
122 семейства *Herpesviridae* в ПЦР (табл.1) установлено, что ДНК вируса
123 Эпштейна-Барр на слизистой оболочке ротоглотки обнаруживали реже
124 ($p \leq 0,05$) у детей с заболеваниями дыхательных путей (ОРИ ВДП - $17,1 \pm 6,4\%$,
125 ОРИ НДП - $9,4 \pm 5,2\%$), чем у практически здоровых обследованных
126 ($40,0 \pm 8,9\%$). Другие герпес-вирусы (ЦМВ, ВГЧ-6) выявляли у всех
127 обследованных вне зависимости от диагноза с одинаковой частотой.
128 Примечательно, что ни у кого из всех пациентов ДНК ВГЧ-1 и ВГЧ-2 в
129 отделяемом ротоглотки не выявлена. При рассмотрении частоты выделения
130 ДНК всех герпесвирусов в целом (рис.1) установлено, что реже ($p \leq 0,05$) ее
131 определяли у детей с ОРИ НДП ($28,1\%$ обследованных), чем у детей с ОРИ
132 ВДП ($60,0\%$) и практически здоровых пациентов ($73,3\%$). При определении
133 вирусной нагрузки (количество копий ДНК/мл) никаких достоверных отличий
134 выявить не удалось.

135 Геномы (РНК, ДНК) вирусов – возбудителей острых респираторных
136 инфекций (гриппа, парагриппа, аденовирусов, рино-синтициального вируса,
137 коронавируса, бокавирусов, метапневмовирусов) представлены у детей с
138 заболеваниями дыхательных путей и практически здоровых обследованных
139 значительно более скудно по сравнению с вирусами герпеса. Так, у детей с
140 ОРИ ВДП только в единичных случаях в биоматериале обнаружены РНК
141 вирусов гриппа А(H_3N_2) и А(H_1N_1), парагриппа 1-4, риновируса и ДНК
142 аденовирусов В, С, Е. У детей с ОРИ НДП также в единичных случаях
143 обнаруживали РНК вирусов гриппа А(H_3N_2) и А(H_1N_1), риновируса и
144 респираторно-синтициального вируса. Достоверные отличия в частоте

145 выявления геномов этой группы вирусов у детей с заболеваниями
146 дыхательных путей и практически здоровых отсутствуют (рис.1).

147 При рассмотрении частоты выявления геномов бактериальных
148 патогенов на слизистой оболочке ротоглотки установлено, что *S.pneumoniae*
149 являлся доминирующим видом. ДНК *S.pneumoniae* обнаруживали в
150 биоматериале, отобранном у всех практически здоровых детей (100%), в
151 подавляющем большинстве (91,4±4,7%) у детей с ОРИ ВДП и более чем у
152 половины (68,8±8,2%) пациентов с ОРИ НДП. Второй по частоте выявления
153 вид *H.influaenzae* представлен почти у всех практически здоровых детей
154 (93,3±4,6%), более чем у половины детей с ОРИ ВДП (57,1±8,4%) и 21,9±7,3%
155 пациентов с ОРИ НДП. Следует отметить, что ДНК этих микроорганизмов
156 реже ($p \leq 0,05$) выявляли у больных с ОРИ нижних дыхательных путей, чем
157 верхних. Следующей по значимости группой бактерий явились представители
158 рода *Staphylococcus*: *MSSA*, *MRCoNS* и *MRSA* (в порядке убывания). У детей с
159 заболеваниями верхних и нижних дыхательных путей ДНК *MSSA* и *MRCoNS*
160 выявляли реже ($p \leq 0,05$), чем у практически здоровых обследованных. При
161 этом ДНК *MRCoNS* чаще ($p \leq 0,05$) обнаруживали у детей с ОРИ ВДП по
162 сравнению с больными с ОРИ НДП. ДНК *P.aeruginosa* выявляли у всех
163 обследованных детей, но, по сравнению с практически здоровыми
164 обследованными, чаще ($p \leq 0,05$) у больных с ОРИ ВДП (20,0±6,8%
165 обследованных). К редко встречаемым патогенам на слизистой оболочке
166 ротоглотки относятся *K. pneumoniae*, *A.baumannii* и *S. maltophyla*. Ни у кого из
167 обследованных детей ДНК факультативных (*N.meningitidis*, *M.pneumoniae*) и
168 облигатных (*C. pneumoniae*) внутриклеточных паразитов не обнаружена.

169 Микробные ассоциации у детей с ОРИ ВДП и практически здоровых
170 (табл.2) представлены, в основном, 4-6 микроорганизмами (60,0±5,9% и
171 93,3±4,6% пациентов соответственно). У детей с ОРИ НДП на слизистой
172 оболочке ротоглотки с одинаковой частотой обнаруживали единичные
173 патогены и ассоциации из 2-3 и 4-6 микроорганизмов (21,9±7,3%, 31,3±8,2% и

174 25,0±7,7% соответственно). При рассмотрении состава ассоциаций
175 установлено, что у всех обследованных вирусно-бактериальные и
176 бактериальные комбинации встречались примерно с одинаковой частотой. У
177 всех обследованных детей *H.influenzae* обнаруживали только в обязательном
178 сочетании с *S.pneumoniae*, тогда как *S.pneumoniae* выявляли в ассоциациях без
179 гемофильной палочки (21,6% случаев).

180 4 Обсуждение

181 Клиническая симптоматика острых респираторных инфекций у детей с
182 поражением верхних и нижних дыхательных путей во многом определяется
183 микрофлорой, персистирующей на слизистой оболочке респираторного
184 тракта, в том числе микроэкосистемой глоточной миндалины. Анализ частоты
185 выявления ДНК и РНК патогенов бактериальной и вирусной природы
186 свидетельствовал о наличии их широкого спектра (20 различных
187 видов/штаммов из 27 определяемых) в биоматериале из ротоглотки у всех
188 обследованных детей. Однако наибольшим разнообразием и частотой
189 обнаружения геномов патогенов характеризовалась микрофлора дыхательных
190 путей у практически здоровых обследованных и детей с ОРИ ВДП. У этих
191 пациентов чаще ($p \leq 0,05$) выявляли ДНК представителей семейства
192 *Herpesviridae*, *S.pneumoniae*, *H.influenzae*, *MSSA*, *MRCoNS*. При этом в составе
193 микрофлоры на слизистой оболочке ротоглотки у них преобладали
194 ассоциации из 4-6 патогенов (у 93,3±4,6% практически здоровых детей и
195 60,0±5,9% детей с ОРИ ВДП). Иные результаты получены при обследовании
196 детей с инфекциями НДП, у которых обнаружено заметное обеднение
197 микрофлоры дыхательных путей. Следует отметить, что большинство
198 (75,0±7,7%) пациентов с ОРИ НДП относились к категории длительно
199 болеющих детей и имели осложненное течение заболевания (50,0±8,8%
200 обследованных), что, как известно, сопровождается уменьшением
201 таксономического разнообразия назофарингеальной микробиоты [1,3]. Это
202 может быть обусловлено высокой инвазивной активностью изолятов от детей

203 с ОРИ НДП на фоне формирующихся у них вторичных иммунодефицитных
204 состояний, что позволяет микроорганизмам глубоко проникать в клетки и
205 ткани дыхательных путей. Помимо этого, важное значение имеют и
206 конкурентные взаимоотношения между патогенами и представителями
207 микробиоты респираторного тракта, приводящие к вытеснению многих
208 условно-патогенных микроорганизмов. Такое антагонистическое воздействие
209 может реализовываться за счет продукции патогенами пероксида водорода,
210 ферментов, компонентов клеточной стенки, токсинов, бактериоцинов, а также
211 использования системы кворум-сенсинга [10,11].

212 При более подробном анализе состава микробиоты отделяемого
213 ротоглотки установлено, что у детей с ОРИ ВДП и практически здоровых
214 «ядром» как бактериальных, так и вирусно-бактериальных ассоциаций
215 является сочетание *S. pneumoniae* и *H. influenzae* (в 93,3% и 60,0% случаев
216 соответственно). В бактериальных ассоциациях оно дополнено
217 стафилококками (*MRSA* и *MRCoNS*) у здоровых детей и *P. aeruginosa* или
218 *MSSA* у детей с ОРИ ВДП, очень редко – другими видами бактерий (*S.*
219 *agalactiae*, *S. pyogenes*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *S. maltophyla*).
220 Высокая распространенность пневмококков, вероятно, связана, со
221 способностью стрептококковых нейраминидаз удалять остатки сиаловых
222 кислот с поверхности эпителиальных клеток слизистой оболочки ДП и
223 создавать благоприятные условия для колонизации *S. pneumoniae*. В свою
224 очередь, колонизация *S. pneumoniae* и *S. aureus* приводит к большой плотности
225 заселения респираторного тракта популяцией *H. influenzae*. Об этом
226 свидетельствует обязательное сочетание *H. influenzae* и *S. pneumoniae*, в то
227 время, как *S. pneumoniae* сравнительно часто встречается в ассоциациях и без
228 гемофильной палочки. Низкая представленность других видов стрептококков
229 (*S. agalactiae*, *S. pyogenes*) у обследованных детей может быть связана с
230 выраженной межвидовой конкуренцией, которая осуществляется посредством
231 комбинаций большого количества бактериоцинов, выделяемых *S. pneumoniae*

232 и кодируемых высоковариабельным опероном *blr*. Подавление *S. pyogenes*
233 может также происходить в результате антагонистического воздействия
234 коагулазонегативных стафилококков. Некоторые штаммы *CoNS* способны
235 синтезировать лантибиотик нукацин IVK45, ингибирующий
236 жизнедеятельность пиогенного стрептококка и других представителей
237 микробиоты ДП [1,6,7].

238 Изолированное выделение в ПЦР молекулярно-генетических маркеров
239 патогенов дыхательного тракта из материала, полученного со слизистой
240 оболочки ротоглотки, не позволяет однозначно дифференцировать
241 носительство от заболевания. Выявление ДНК *S. pneumoniae* не дает
242 информации о принадлежности этих микроорганизмов к какому-либо
243 серотипу, вследствие чего невозможно дифференцировать патогенные и
244 условно-патогенные штаммы пневмококков. Однако использование ПЦР
245 поможет внести весомый вклад в проблему изучения некультивируемых
246 микроорганизмов в составе микробиома дыхательных путей человека, а также
247 быстро получить данные о наличии вирусно-бактериальных ассоциаций и
248 закономерностях взаимодействия микроорганизмов друг с другом и с
249 клетками организма-хозяина. Такая информация в сочетании с клинической
250 картиной может оказаться важной для решения вопроса о выборе этиотропной
251 терапии и пробиотических препаратов, особенно у длительно болеющих
252 детей, пациентов с рекуррентными респираторными инфекциями, имеющими
253 неблагоприятный преморбидный фон, в том числе «герпетический» анамнез.

254 5 Заключение

255 Сравнительный анализ частоты обнаружения геномов патогенов
256 дыхательного тракта у детей с острыми респираторными инфекциями и
257 практически здоровых свидетельствовал о наибольшем разнообразии и
258 частоте обнаружения геномов микроорганизмов в отделяемом дыхательных
259 путей у детей с ОРИ ВДП и практически здоровых по сравнению с
260 обследованными с ОРИ НДП. Учитывая, что выделенные патогены находятся

261 в виде вирусно-бактериальных и бактериальных ассоциаций, состав которых
262 варьируется и зависит от клинического статуса пациентов, их обнаружение
263 представляется важным для решения вопроса о выборе этиотропной терапии
264 на ранних этапах заболевания, а также назначения пробиотических
265 препаратов, способных восстановить баланс микрофлоры дыхательных путей.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Частота встречаемости геномов патогенов у детей с ОРИ и практически здоровых.

Table 1. The rate of microbial genome detection in children with ARI.

Патогены Pathogens	ОРИ	ВДП	ОРИ	НДП	Практически здоровые дети Apparently healthy children
	ARI	VDP	ARI	NDP	
ЭБВ EBV	6 17,1±6,4%*		3 9,4±5,2%*		12 40,0±8,9%
ЦМВ CMV	7 20,0±6,8%		3 9,4±5,2%		5 16,7±6,8%
ВГЧ-6 HHV-6	8 22,9±7,1%		3 9,4±5,2%		5 16,7±6,8%
ВГЧ-1 и ВГЧ-2 HSV-1 and HSV-2	-		-		-
Вирус гриппа А(Н3N2) Influenza A (H3N2) virus	2 5,7±3,9%		4 12,5±5,8%		-
Вирус гриппа А(Н1N1) Influenza A (H1N1) virus	1 2,9±2,8%		1 3,1±3,0%		-
Вирус гриппа В Influenza B virus	-		-		-

Вирусы парагриппа 1-4 Parainfluenza viruses 1-4	6 17,1±6,4%	-	
Бокавирус Bocavirus	-	-	1 3,3±3,3%
Аденовирус (В, С, Е) Adenovirus (В, С, Е)	1 2,9±2,8%	-	-
Риновирус Rhinovirus	4 11,4±5,4%	3 9,4±5,2%	7 23,3±7,7%
Респираторно- синцитиальный вирус Respiratory Syncytial virus	-	1 3,1±3,0%	-
Метапневмовиру с Metapneumovirus	-	-	-
Коронавирус Coronavirus	-	-	-
<i>S.pneumoniae</i>	32 91,4±4,7*, **	22 68,8±8,2%*	30 100%
<i>H.influaenzae</i>	20 57,1±8,4% *, **	7 21,9±7,3%*	28 93,3±4,6%

<i>MSSA</i>	8 22,9±7,1%*	3 9,4±5,2%*	14 46,7±9,1%
<i>MRCoNS</i>	10 28,6±7,6%**	1 3,1±3,0%*	7 23,3±7,7%
<i>MRSA</i>	3 8,6±4,7%	-	7 23,3±7,7%
<i>S.agalactiae</i>	1 2,9±2,8%	-	5 16,7±6,8%
<i>S.pyogenes</i>	-	-	3 10,0±5,5%
<i>P. aeruginosa</i>	7 20,0±6,8%*	3 9,4±5,2%	1 3,3±3,3%
<i>K. pneumoniae</i>	2 5,7±3,9%	-	1 3,3±3,3%
<i>A. baumannii</i>	-	1 3,1±3,0%	-
<i>Stenotrophomonas maltophyla</i>	2 5,7±3,9%	-	1 3,3±3,3%
<i>N.meningitidis</i>	-	-	-
<i>M. pneumoniae</i>	-	-	-
<i>C. pneumoniae</i>	-	-	-
Всего обследованных детей Total children	35 100%	32 100%	30 100%

examined			
----------	--	--	--

*достоверность отличий ($p \leq 0,05$) показателей у детей, с различными формами острой респираторной инфекции по сравнению с аналогичными показателями у практически здоровых детей.

* significance of differences ($p \leq 0,05$) in children with various acute respiratory infection compared with apparently healthy children.

**достоверность отличий ($p \leq 0,05$) показателей у детей с ОРИ ВДП по сравнению с аналогичными показателями у детей с ОРИ НДП.

** significance of differences ($p \leq 0.05$) in in children with ARI of VDP compared with ARI of NDP.

Таблица 2. Количество микроорганизмов-ассоциантов в отделяемом ротоглотки и слюне у детей.

Table 2. The number of oropharyngeal microorganisms isolated in children with ORI.

Количество микроорганизмов в - ассоциантов Number of associates	ОРИ ВДП ARI VDP	ОРИ НДП ARI NDP	Практически здоровые дети Apparently healthy children
1	1 2,9±2,8% **	7 21,9±7,3%*	0
2-3	11 31,4±7,8%*	10 31,3±8,2%*	1 3,3±3,3%
4-6	21 60,0±5,9% *,**	8 25,0±7,7%*	28 93,3±4,6%
7-8	2	-	1

	5,7±3,9%		3,3±3,3%
Всего обследованных детей Total children examined	35	32	30

*достоверность отличий ($p \leq 0,05$) показателей у детей с различными формами острой респираторной инфекции по сравнению с аналогичными показателями у практически здоровых детей.

* significance of differences ($p \leq 0,05$) in children with various acute respiratory infections compared with apparently healthy children.

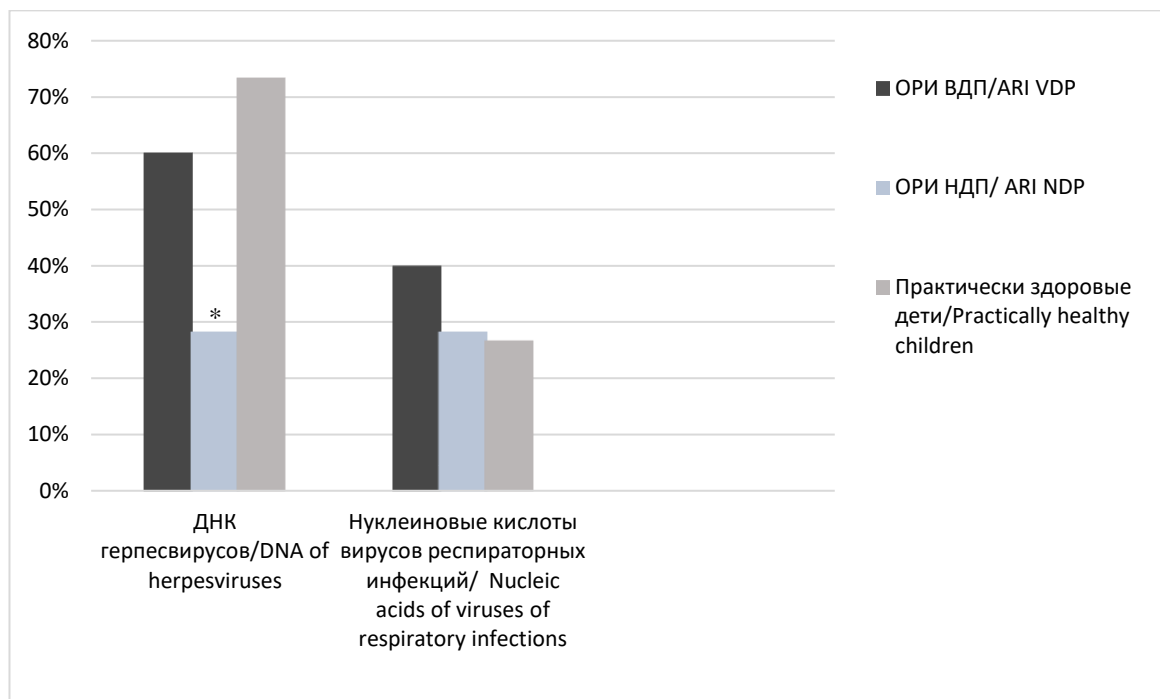
**достоверность отличий ($p \leq 0,05$) показателей у детей с ОРИ ВДП по сравнению с аналогичными показателями у детей с ОРИ НДП.

** significance of differences ($p \leq 0.05$) in children with ARI of VDP compared with children with ARI of NDP.

РИСУНКИ

Рисунок 1. Частота встречаемости геномов герпесвирусов и других респираторных вирусов у детей с ОРИ и практически здоровых.

Figure 1. Rate of detected genomes for herpesviruses and other respiratory viruses in children with ARI and apparently healthy control.



Примечание: Достоверность отличий * ($p \leq 0,05$)

Note: significance of the differences* ($p \leq 0,05$)

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Харсеева Галина Георгиевна – д.м.н., проф., зав. каф. микробиологии и вирусологии №2 ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия;

адрес: 344022, Россия, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29, ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, кафедра микробиологии и вирусологии №2;

телефон: 8(863)250-41-90;

ORCID: [0000-0001-9291-2012](https://orcid.org/0000-0001-9291-2012);

e-mail: galinagh@bk.ru

Galina G. Kharseeva – D. Sci. (Med.), Prof., Head of the Department of Microbiology and Virology 2, FSBEI of Rostov State Medical University, Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia;

address: 344022, Russian Federation, Rostov-on-Don, 29, Nachitsevanskij, FSBEI of Rostov State Medical University, Ministry of Health of Russia, Department of Microbiology and Virology 2;

telephone: 8(863)250-41-90;

ORCID: [0000-0001-9291-2012](https://orcid.org/0000-0001-9291-2012);

e-mail: galinagh@bk.ru

Блок 2. Информация об авторах

Тюкавкина С. Ю. – к.м.н., доцент кафедры микробиологии вирусологии № 2 ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, <https://orcid.org/0000-0001-9291-2012>;

ORCID: [0000-0001-9291-2012](https://orcid.org/0000-0001-9291-2012)

Tyukavkina S. Yu. – PhD (Med.), Assoc. Prof. of the Department of Microbiology and Virology 2, FSBEI of Rostov State Medical University, Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia;

ORCID: [0000-0001-9291-2012](https://orcid.org/0000-0001-9291-2012)

Костинов М. П. – д.м.н. проф., Заслуженный деятель науки РФ, зав. лаб. вакцинопрофилактики ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, г. Москва, зав. кафедрой эпидемиологии и современных технологий вакцинации ИПО ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

ORCID: 0000-0002-1382-9403

Kostinov M. P. – D. Sci. (Med.), Prof., Honored Worker of Science of the Russian Federation, Head of the Vaccine Prevention Laboratory of I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Head of the Department of Epidemiology and Modern Vaccination Technologies of I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Sechenov University), Moscow, Russia;

ORCID: 0000-0002-1382-9403

Алиева А. А. – к.б.н., ассистент кафедры микробиологии вирусологии № 2 ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России;

ORCID: [0000-0003-0795-5312](https://orcid.org/0000-0003-0795-5312)

Alieva A. A. – Cand. of Sci. (Biol.), graduate student of the Department of Microbiology and Virology 2, FSBEI of Rostov State Medical University, Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia;

ORCID: [0000-0003-0795-5312](https://orcid.org/0000-0003-0795-5312)

Алутина Э. Л. – к.м.н., доцент кафедры микробиологии вирусологии № 2 ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, [https:// orcid.org/0000-0001-6968-0583](https://orcid.org/0000-0001-6968-0583);

ORCID: 0000-0001-6968-0583

Alutina E. L. – PhD (Med.), Assoc. Prof. of the Department of Microbiology and Virology 2 FSBEI of Rostov State Medical University, Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia;

ORCID: 0000-0001-6968-0583

Балахнова В. В. – к.м.н., доцент кафедры микробиологии вирусологии № 2
ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России

Balakhnova V. V. – PhD (Med.), Assoc. Prof. of the Department of Microbiology
and Virology 2, FSBEI of Rostov State Medical University, Ministry of Health of
Russia, Rostov-on-Don, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8832-7419>

Чайкина В. А. – ассистент кафедры детских инфекционных болезней ФГБОУ
ВО РостГМУ Минздрава России;

ORCID: 0009-0002-9726-2279

Chaikina V. A. – Ass. Prof. of the of the Department of Pediatric Infectious
Diseases, FSBEI of Rostov State Medical University, Ministry of Health of Russia,
Rostov-on-Don, Russia;

ORCID: 0009-0002-9726-2279

Волкова В. В. – студентка 6-го курса медико-профилактического факультета
ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, <https://orcid.org/0000-0002-6024-7449>;

ORCID: 0000-0002-6024-7449

Volkova V. V. – Graduate Student of the Faculty of Medicine and Prevention of
FSBEI of Rostov State Medical University, Ministry of Health of Russia, Rostov-
on-Don, Russia;

ORCID: 0000-0002-6024-7449

Блок 3. Метаданные статьи

ЧАСТОТА ОБНАРУЖЕНИЯ ГЕНОМОВ ПАТОГЕНОВ У ДЕТЕЙ С
ОСТРЫМИ РЕСПИРАТОРНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

THE FREQUENCY OF DETECTION OF PATHOGEN GENOMES IN
CHILDREN WITH ACUTE RESPIRATORY INFECTIONS

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ПАТОГЕНЫ ДЫХАТЕЛЬНОГО ТРАКТА ДЕТЕЙ

PATHOGENS OF THE RESPIRATORY TRACT OF CHILDREN

Ключевые слова: микробиом дыхательных путей, респираторные инфекции, дети, вирусные и бактериальные патогены.

Keywords: microbiome of the respiratory tract, respiratory infections, children, viral and bacterial pathogens.

Оригинальные статьи.

Количество страниц текста – 10, количество таблиц – 2, количество рисунков – 1.

02.05.2024

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или DOI
1	Абабий И.И., Данилов Л.А., Манюк М.К. и др. Значение микробной флоры ротоглотки в развитии острых и хронических заболеваний верхних дыхательных путей // Инфекция и иммунитет. 2020.Т.10, №2. С.359–367.	[Ababii I.I., Danilov L.A., Maniuc M.K. et al. A role of oropharyngeal microbiota in developing acute and chronic diseases of the upper respiratory tract. <i>Infectiya i immunitet= Infection and immunity (Russia)</i> , 2020,vol.10, no.2, pp. 359–367.(In Russ.)]	doi: 10.15789/2220-7619-ARO-809
2	Васильева Г.И., Иванова И.А., Тюкавкина С.Ю. Цитокины - общая система гомеостатической регуляции	[Vasilieva, G.I., Ivanova, I.A., Tyukavkina, S.Yu. Cytokines as a general system of homeostatic regulation of cell functions.	PMID: 11881147.

	клеточных функций //Цитология. 2001.Т.43, №12. С. 1101-1111.	<i>Tsitologiya= Tsitologiya (Russia), 2001,vol.43, no.12, pp. 1101-11.(In Russ.)]</i>	
3	Егорова В.Б., Черкашин М.П., Колмакова А.Ю. Часто болеющие дети: клинические особенности и микробиоценоз верхних дыхательных путей // Вестник Северо-Восточного федерального университета имени М.К. Аммосова. Серия: Медицинские науки. 2019.№2. С. 43-47.	[Egorova V.B., Cherkashin M.P., Kolmakova A.Y. Children who get sick often: clinical features and microbiological characteristics of upper respiratory ways. <i>Vestnik of North-Eastern Federal University. Medical Sciences= Vestnik of North-Eastern Federal University. Medical Sciences(Russia), 2019, no.2, pp. 43-47. (In Russ.)]</i>	https://doi.org/10.25587/SVFU.2019.2(15).31311
4	Каннер Е.В., Горелов А.В. Сочетанные острые респираторные инфекции у детей // Эпидемиология и	[Kanner EV, Gorelov AV. Combined acute respiratory infections in children. <i>Epidemiologiya i Infekcionnye Bolezni. Aktualnye Voprosy= Epidemiology and</i>	ttps://doi.Org/10.26442/26586630.2020.1.20008

	инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2017.№3. С. 72-77.	<i>infectious diseases. Current issues(Russia), 2017,no.3, pp. 72-77.(In Russ.)]</i>	2
5	Лопатин А.С., Азизов И.С., Козлов Р.С. Микробиом полости носа и околоносовых пазух в норме и при патологии // Часть I. Российская ринология. 2021.Т.29, №1. С. 23-30.	[Lopatin A.S., Azizov I.S., Kozlov R.S. Microbiome of the nasal cavity and the paranasal sinuses in health and disease (literature review). <i>Part I. Russian Rhinology, 2021, vol.29, no.1, pp. 23-30. (In Russ., In Engl.)]</i>	https://doi.org/10.17116/rosrino20212901123
6	Старикова Е.В., Галеева Ю.С., Ильина Е.Н. Роль микробиома верхних дыхательных путей в здоровье человека: барьерная функция // Пульмонология. 2022.Т.32 .№6. С. 876–884.	[Starikova E.V., Galeeva Yu.S., Il'ina E.N. The upper respiratory tract microbiome and its role in human health: Barrier function. <i>Pulmonologiya=Pul'monologiya(Russia),2022, vol. 32, no.6, pp. 876–884. (In Russ.)]</i>	DOI: 10.18093/0869-0189-2022-32-6-876-884.

7	Свитич О.А., Нагиева Ф.Г., Курбатова Е.А. и др. Вирусингибирующая активность комплекса антигенов условно-патогенных бактерий в отношении коронавируса SARS-CoV-2 // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2023.Т.100, №2. С. 143–152.	[Svitich O.A., Nagieva F.G., Kurbatova E.A. et al. Virus-inhibitory activity of the antigen complex of opportunistic pathogenic bacteria against SARS-CoV-2. <i>Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii=Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology</i> , 2023,vol.100, no.2, pp. 143–152.(In.Russ.)].	DOI: 10.36233/0372-9311-309.
8	Харсеева Г.Г., Воронина Н.А., Тюкавкина С.Ю. Влияние <i>Corynebacterium non diphtheriae</i> на функциональную активность и апоптоз макрофагов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2014.№6. С.	[Kharseeva, G.G., Voronina, N.A., Tiukavkina, S.Iu. Effect of <i>Corynebacterium non diphtheriae</i> on functional activity and apoptosis of macrophages. <i>Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii=Journal of Microbiology,</i>	PMID: 25816522.

	96-100.	<i>Epidemiology and Immunobiology</i> , 2014, no.6, pp. 96-100. <i>In Russ.</i>)]	
9	Шабалдин А.В., Шабалдина Е.В., Симбирцев А.С. Особенности микробиома верхних отделов респираторного тракта у детей с рецидивирующими респираторными заболеваниями // Инфекция и иммунитет. 2017.Т.7, №4.С. 341–349.	[Shabaldin A.V., Shabaldina E.V., Simbirtsev A.S. Features of the microbiome of the upper respiratory tract in children with recurrent respiratory diseases. <i>Infektsiya i immunitet</i> = <i>Russian Journal of Infection and Immunity</i> , 2017, vol.7, no.4, pp. 341–349. <i>(In Russ.)</i>]	<i>doi:10.15789/2220-7619-2017-4-341-34.</i>
10	Diaz-Diaz A., Garcia-Maurino C., Jordan-Villegas A. et al. Viral bacterial interactions in children: Impact on clinical outcomes. <i>Pediatr Infect Dis J</i> ,		

	2019,vol.38,no.6,pp.14–19.		
11	Gupta A, Karyakarte R, Joshi S. et al. Nasopharyngeal microbiome reveals the prevalence of opportunistic pathogens in SARS-CoV-2 infected individuals and their association with host types. <i>Microbes Infect</i> ,2022,vol.24,no.1,pp.104880		<i>doi:10.1016/j.micinf.2021.104880.</i>
12	Harrison A.G., Lin T., Wang P. Mechanisms of SARS-CoV-2 transmission and pathogenesis. <i>Trends Immunol</i> , 2020,vol.41,no.12,pp.1100–5.		<i>DOI: https://doi.org/10.1016/j.it.2020.10.004</i>

13	Kumpitsch C, Koskinen K, Schöpf V, Moissl-Eichinger C. The microbiome of the upper respiratory tract in health and disease. BMC Biol, 2019,vol.17,no.1,pp.87.		<i>doi: 10.1186/s12915-019-0703-z.</i>
14	Lee KH, Gordon A, Shedden K, Kuan G, Ng S, Balmaseda A, Foxman B. The respiratory microbiome and susceptibility to influenza virus infection. PLoS One, 2019,vol.14,no.1,e0207898.		<i>doi: 10.1371/journal.pone.0207898.</i>