

# ЧАСТОТА ОБНАРУЖЕНИЯ ГЕНОМОВ ПАТОГЕНОВ У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМИ РЕСПИРАТОРНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ



С.Ю. Тюкавкина<sup>1</sup>, Г.Г. Харсеева<sup>1</sup>, М.П. Костинов<sup>2,3</sup>, А.А. Алиева<sup>1</sup>, В.В. Балахнова<sup>1</sup>,  
Э.Л. Алутина<sup>1</sup>, В.А. Чайкина<sup>1</sup>, В.В. Волкова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия

<sup>2</sup> ФГБНУ Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова, Москва, Россия

<sup>3</sup> ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет), Москва, Россия

**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. *Материалы и методы.* Обследованы дети (97 человек), из которых 35 человек — с острыми респираторными инфекциями верхних дыхательных путей (назофарингит, фарингит, ларингит) (ОРИ ВДП), 32 человека — с острыми респираторными инфекциями нижних дыхательных путей (острый бронхит, острый обструктивный бронхит) (ОРИ НДП) и 30 человек — 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 вариабелен 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 патогены, бактериальные патогены.

## Адрес для переписки:

Харсеева Галина Георгиевна  
344022, Россия, г. Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., 29,  
ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России.  
Тел.: 8 (863) 250-41-09. E-mail: galinagh@bk.ru

## Contacts:

Galina G. Kharseeva  
344022, Russian Federation, Rostov-on-Don, Nachitsevskij lane, 29,  
Rostov State Medical University.  
Phone: +7 (863) 250-41-09. E-mail: galinagh@bk.ru

## Для цитирования:

Тюкавкина С.Ю., Харсеева Г.Г., Костинов М.П., Алиева А.А.,  
Балахнова В.В., Алутина Э.Л., Чайкина В.А., Волкова В.В. Частота  
обнаружения геномов патогенов у детей с острыми респираторными  
инфекциями // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 5. С. 927–935.  
doi: 10.15789/2220-7619-TFO-17654

## Citation:

Tyukavkina S.Yu., Kharseeva G.G., Kostinov M.P., Alieva A.A., Balakhnova V.V.,  
Alutina E.L., Chaikina V.A., Volkova V.V. The frequency of detected pathogen  
genomes in children with acute respiratory infections // Russian Journal  
of Infection and Immunity = Infektsiya i mmunitet, 2024, vol. 14, no. 5,  
pp. 927–935. doi: 10.15789/2220-7619-TFO-17654

© Тюкавкина С.Ю. и др., 2024

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-TFO-17654>

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

Tyukavkina S.Yu.<sup>a</sup>, Kharseeva G.G.<sup>a</sup>, Kostinov M.P.<sup>b,c</sup>, Alieva A.A.<sup>a</sup>, Balakhnova V.V.<sup>a</sup>, Alutina E.L.<sup>a</sup>, Chaikina V.A.<sup>a</sup>, Volkova V.V.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

<sup>b</sup> I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

<sup>c</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

**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. *Materials 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. influenzae*, 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.

**Key words:** microbiome of the respiratory tract, respiratory infections, children, viral pathogens, bacterial pathogens.

## Введение

Микрофлора дыхательных путей обеспечивает биологический баланс между организмом и окружающей средой, играя важную роль в поддержании здоровья человека [5, 13]. Защита дыхательных путей от патогенов осуществляется с помощью многих механизмов, включая мукоцилиарный клиренс, факторы врожденного и адаптивного иммунитета, иммуномодулирующее и антагонистическое действие резидентной микрофлоры. Активизация комменсальных бактерий, проникновение из внешней среды патогенов, в том числе вирусной природы, приводит к формированию дисбиоза респираторного тракта [13]. Вирусы способствуют адгезии бактериальных патогенов к клеткам человека и их колонизации за счет разрушения эпителиального барьера, снижения бактериального клиренса, прямого иммуносупрессивного действия [2, 8]. Такая ситуация закономерно может привести к раз-

витию вторичных средних отитов, бактериальных бронхитов и пневмоний, наиболее часто вызываемых *S. pneumoniae* и *S. aureus*, реже — *Haemophilus influenzae* и *Pseudomonas aeruginosa*. В свою очередь увеличение количества этих патогенов во время вирусной инфекции приводит к усилению экспрессии рецепторов адгезии для проникновения вирусов [12, 14]. Формируется патологический замкнутый круг, где дисбиоз поддерживает воспаление, а воспаление — дисбиоз, что приводит к возникновению острых респираторных инфекций, их переходу в хроническую форму и повышению риска развития соматических заболеваний [9].

Острые респираторные инфекции у детей составляют более 70% инфекционной патологии, причем каждый пятый ребенок относится к группе детей с рекуррентными респираторными инфекциями, при которых наблюдается 4–6 и более эпизодов заболевания в год [3, 4]. Для острых респираторных инфекций характерна полиэтиологичность. Благодаря внедрению

в практику молекулярно-генетических методов исследования выявлен широкий спектр «скрытых» респираторных патогенов, не доступных для идентификации в «культуральную» эпоху (вирусы, микоплазмы, хламидии, пневмоцисты и др.). Идентификация некультивируемых и трудно культивируемых представителей респираторной микрофлоры возможна при использовании высокопроизводительных методов секвенирования метагенома микробиоты респираторного тракта, основанных на анализе переменных участков гена 16S рибосомальных РНК. Этот методический подход актуален для научных исследований, в том числе и для внесения новых данных о нуклеотидных последовательностях тех или иных прокариот в соответствующие базы данных. В рутинной практике основным методом молекулярно-генетических исследований для установления этиологии инфекционных заболеваний является ПЦР [12, 20].

Цель исследования — сравнительный анализ частоты обнаружения геномов патогенов дыхательного тракта у детей с острыми респираторными инфекциями и практически здоровых.

## Материалы и методы

Обследованы дети: 35 человек — с острыми респираторными инфекциями верхних дыхательных путей (назофарингит, фарингит, ларингит) (ОРИ ВДП), 32 человека — с острыми респираторными инфекциями нижних дыхательных путей (острый бронхит, острый обструктивный бронхит) (ОРИ НДП) и 30 человек — практически здоровых на момент обследования. Все пациенты находились под наблюдением в ГБУ РО «Детская городская поликлиника Железнодорожного района» в г. Ростове-на-Дону и ГБУ РО «Детская городская больница № 1» в г. Ростове-на-Дону в 2021–2022 гг. (в период пандемии новой коронавирусной инфекции). Возраст детей составил 3–15 лет, медиана возраста — 7 лет. Обследование детей проведено в соответствии с требованиями Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (ВМА) «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» в редакции 52-й сессии Генеральной Ассамблеи ВМА (2000 г.) и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава России от 19.06.2003 г. № 266. На проведение клинического исследования получено добровольное информированное согласие от родителей детей до 15 лет.

У всех детей производили забор отделяемого ротоглотки для постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР). Биоматериал помещали в транспортную среду и доставляли в лабораторию в течение 1–2 ч. Для выявления

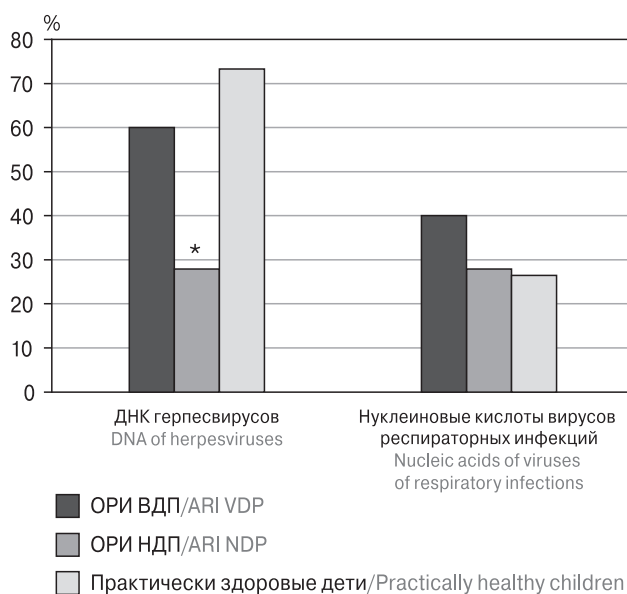
и количественного определения ДНК вирусов герпеса человека 1 типа (ВГЧ-1) и 2 типа (ВГЧ-2) использовали тест-систему «АмплиСенс HSV 1, II-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора и АО «Вектор-Бест»); ЭБВ, ЦМВ и ВГЧ-6 — «АмплиСенс EBV/CMV/HHV6-скрин-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора и АО «Вектор-Бест»). Для детекции РНК вирусов гриппа А (Influenza virus A) и гриппа В (Influenza virus B) использовали тест-систему «АмплиСенс® Influenza virus A/B-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора и АО «Вектор-Бест»); для типирования (идентификации субтипов H1N1 и H3N2) вирусов гриппа А (Influenza virus A) — «АмплиСенс Influenza virus A-тип-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора и АО «Вектор-Бест»); РНК респираторно-синцитиального вируса (human Respiratory Syncytial virus — hRSv), метапневмовируса (human Metapneumovirus — hMpv), вирусов парагриппа 1, 2, 3 и 4 типов (human Parainfluenza virus 1–4 — hPiv), коронавирусов (human Coronavirus — hCov), риновирусов (human Rhinovirus — hRv), ДНК аденовирусов групп В, С и Е (human Adenovirus B, C, E — hAdv) и бокавируса (human Bocavirus — hBov) — «АмплиСенс ОРВИ-скрин-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора и АО «Вектор-Бест»).

Для выявления и количественного определения ДНК MSSA и MRSA, MRCoNS использовали тест-систему «АмплиСенс MRSA-скрин-титр-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора и АО «Вектор-Бест»); ДНК *Neisseria meningitidis*, *H. influenzae* и *S. pneumoniae* — «АмплиСенс® N. meningitidis/H influenzae/S. pneumoniae-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора и АО «Вектор-Бест»); для выявления и количественного определения ДНК *Streptococcus agalactiae* — «АмплиСенс® Streptococcus agalactiae — скрин-титр-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора и АО «Вектор-Бест»); *Streptococcus pyogenes* — «АмплиСенс Streptococcus pyogenes скрин/монитор-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора и АО «Вектор-Бест»); ДНК *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydomphila pneumoniae* — «АмплиСенс Mycoplasma pneumoniae/Chlamydomphila pneumoniae-FL» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора и АО «Вектор-Бест»). ДНК *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* и *Stenotrophomonas maltophilia* выявляли методом ПЦР в режиме реального времени с помощью тест-системы (АО «Вектор-Бест»).

Статистическую обработку материала проводили с помощью программы STATISTICA 12.0 (StatSoft Inc., США) и MedCalc (версия 9.3.5.0).

## Результаты

При анализе клиническо-анамнестических данных установлено, что большинство обследованных детей как с патологией дыхательных путей (ОРИ НДП и ОРИ ВДП), так и практически здоровых имели неблагоприятный преморбидный фон (отягощенный акушерский анамнез, искусственное вскармливание, перинатальное поражение ЦНС, рекуррентные респираторные инфекции в анамнезе). На долю непривитых и привитых с отклонениями от Национального календаря профилактических прививок пришлось среди всех обследованных 33,3–45,7% пациентов. Осложнения основного заболевания, связанные с поражением лимфоузлов Пирогова–Вальдейера (гипертрофия глоточной миндалины 2–3 степени, гипертрофия небных миндалин 2–3 степени, гипертрофия глоточной и небных миндалин 2–3 степени) регистрировали у 34,4–50% детей, что не имело достоверных отличий при сравнении детей с заболеваниями дыхательных путей и практически здоровых. Потребность в госпитализации среди пациентов с ОРИ ВДП составила  $34,3 \pm 8,0\%$ , что достоверно ( $p \leq 0,05$ ) ниже, чем у детей с ОРИ НДП ( $87,5 \pm 5,8\%$ ). Длительность госпитализации более 5 койко-дней у пациентов с ОРИ ВДП ( $25,7 \pm 7,4\%$ ) ниже ( $p \leq 0,05$ ), чем у детей с ОРИ НДП ( $53,1 \pm 8,8\%$ ).



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

Figure. 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  $p \leq 0,05$ .

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

Геномы (РНК, ДНК) вирусов — возбудителей острых респираторных инфекций (гриппа, парагриппа, аденовирусов, респираторно-синтициального вируса, коронавирусов, бокавирусов, метапневмовирусов) представлены у детей с заболеваниями дыхательных путей и практически здоровых обследованных значительно более скудно по сравнению с вирусами герпеса. Так, у детей с ОРИ ВДП только в единичных случаях в биоматериале обнаружены РНК вирусов гриппа А(Н3N2) и А(Н1N1), парагриппа 1–4, риновируса и ДНК аденовирусов В, С, Е. У детей с ОРИ НДП также в единичных случаях обнаруживали РНК вирусов гриппа А(Н3N2) и А(Н1N1), риновируса и респираторно-синтициального вируса. Достоверные отличия в частоте выявления геномов этой группы вирусов у детей с заболеваниями дыхательных путей и практически здоровых отсутствуют (рис.).

При рассмотрении частоты выявления геномов бактериальных патогенов на слизистой оболочке ротоглотки установлено, что *S. pneumoniae* являлся доминирующим видом. ДНК *S. pneumoniae* обнаруживали в биоматериале, отобранном у всех практически здоровых детей ( $100\%$ ), в подавляющем большинстве ( $91,4 \pm 4,7\%$ ) у детей с ОРИ ВДП и более чем у половины ( $68,8 \pm 8,2\%$ ) пациентов с ОРИ НДП. Второй по частоте выявления вид *H. influenzae* представлен почти у всех практически здоровых детей ( $93,3 \pm 4,6\%$ ), более чем у половины детей с ОРИ ВДП ( $57,1 \pm 8,4\%$ ) и  $21,9 \pm 7,3\%$  пациентов с ОРИ НДП. Следует отметить, что ДНК этих микроорганизмов реже ( $p \leq 0,05$ ) выявляли у больных с ОРИ нижних дыхательных путей, чем верхних. Следующей по значимости группой бактерий явились представители рода *Staphylococcus*:

**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 ARI VDP	ОРИ НДП ARI NDP	Практически здоровые дети Apparently healthy children
<b>ЭБВ</b> EBV	6 17,1±6,4%*	3 9,4±5,2%*	12 40,0±8,9%
<b>ЦМВ</b> CMV	7 20,0±6,8%	3 9,4±5,2%	5 16,7±6,8%
<b>ВГЧ-6</b> HHV-6	8 22,9±7,1%	3 9,4±5,2%	5 16,7±6,8%
<b>ВГЧ-1 и ВГЧ-2</b> HSV-1 and HSV-2	–	–	–
<b>Вирус гриппа А(Н3N2)</b> Influenza A(H3N2) virus	2 5,7±3,9%	4 12,5±5,8%	–
<b>Вирус гриппа А(Н1N1)</b> Influenza A(H1N1) virus	1 2,9±2,8%	1 3,1±3,0%	–
<b>Вирус гриппа В</b> Influenza B virus	–	–	–
<b>Вирусы парагриппа 1–4</b> Parainfluenza viruses 1–4	6 17,1±6,4%	–	–
<b>Бокавирус</b> Bocavirus	–	–	1 3,3±3,3%
<b>Аденовирус (В, С, Е)</b> Adenovirus (B, C, E)	1 2,9±2,8%	–	–
<b>Риновирус</b> Rhinovirus	4 11,4±5,4%	3 9,4±5,2%	7 23,3±7,7%
<b>Респираторно-синцитиальный вирус</b> Respiratory syncytial virus	–	1 3,1±3,0%	–
<b>Метапневмовирус</b> Metapneumovirus	–	–	–
<b>Коронавирус</b> Coronavirus	–	–	–
<b><i>S. pneumoniae</i></b>	32 91,4±4,7*,**	22 68,8±8,2%*	30 100%
<b><i>H. influenzae</i></b>	20 57,1±8,4%*,**	7 21,9±7,3%*	28 93,3±4,6%
<b>MSSA</b>	8 22,9±7,1%*	3 9,4±5,2%*	14 46,7±9,1%
<b>MRCoNS</b>	10 28,6±7,6%**	1 3,1±3,0%*	7 23,3±7,7%
<b>MRSA</b>	3 8,6±4,7%	–	7 23,3±7,7%
<b><i>S. agalactiae</i></b>	1 2,9±2,8%	–	5 16,7±6,8%
<b><i>S. pyogenes</i></b>	–	–	3 10,0±5,5%
<b><i>P. aeruginosa</i></b>	7 20,0±6,8%*	3 9,4±5,2%	1 3,3±3,3%
<b><i>K. pneumoniae</i></b>	2 5,7±3,9%	–	1 3,3±3,3%
<b><i>A. baumannii</i></b>	–	1 3,1±3,0%	–

**Окончание таблицы 1. Частота встречаемости геномов патогенов у детей с ОРИ и практически здоровых**

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

Патогены Pathogens	ОРИ ВДП ARI VDP	ОРИ НДП ARI NDP	Практически здоровые дети Apparently healthy children
<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>	–	–	–
<b>Всего обследованных детей</b> Total children examined	35 100%	32 100%	30 100%

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

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

MSSA, MRCoNS и MRSA (в порядке убывания). У детей с заболеваниями верхних и нижних дыхательных путей ДНК MSSA и MRCoNS выявляли реже ( $p \leq 0,05$ ), чем у практически здоровых обследованных. При этом ДНК MRCoNS чаще ( $p \leq 0,05$ ) обнаруживали у детей с ОРИ ВДП по сравнению с больными с ОРИ НДП. ДНК *P. aeruginosa* выявляли у всех обследованных детей, но, по сравнению с практически здоровыми обследованными, чаще ( $p \leq 0,05$ ) у больных с ОРИ ВДП (20,0±6,8% обследованных). К редко встречаемым патогенам на слизистой оболочке ротоглотки относятся *K. pneumoniae*, *A. baumannii* и *S. maltophyla*. Ни у кого из обследованных детей ДНК факультативных (*N. meningitidis*, *M. pneumoniae*) и облигатных (*C. pneumoniae*) внутриклеточных паразитов не обнаружена.

Микробные ассоциации у детей с ОРИ ВДП и практически здоровых (табл. 2) представлены, в основном, 4–6 микроорганизмами (60,0±5,9% и 93,3±4,6% пациентов соответственно). У детей с ОРИ НДП на слизистой оболочке ротоглотки с одинаковой частотой обнаруживали единичные патогены и ассоциации из 2–3 и 4–6 микроорганизмов (21,9±7,3%, 31,3±8,2% и 25,0±7,7% соответственно). При рассмотрении состава ассоциаций установлено, что у всех обследованных вирусно-бактериальные и бактериальные комбинации встречались примерно с одинаковой частотой. У всех обследованных детей *H. influenzae* обнаруживали только в обязательном сочетании с *S. pneumoniae*, тогда как *S. pneumoniae* выявляли в ассоциациях без гемофильной палочки (21,6% случаев).

**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-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 5,7±3,9%	–	1 3,3±3,3%
<b>Всего обследованных детей</b> Total children examined	35	32	30

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

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

\*\*significance of differences ( $p \leq 0,05$ ) in children with ARI of VDP compared with children with ARI of NDP.

## Обсуждение

Клиническая симптоматика острых респираторных инфекций у детей с поражением верхних и нижних дыхательных путей во многом определяется микрофлорой, персистирующей на слизистой оболочке респираторного тракта, в том числе микроэкосистемой глоточной миндалины. Анализ частоты выявления ДНК и РНК патогенов бактериальной и вирусной природы свидетельствовал о наличии их широкого спектра (20 различных видов/штаммов из 27 определяемых) в биоматериале из ротоглотки у всех обследованных детей. Однако наибольшим разнообразием и частотой обнаружения геномов патогенов характеризовалась микрофлора дыхательных путей у практически здоровых обследованных и детей с ОРИ ВДП. У этих пациентов чаще ( $p \leq 0,05$ ) выявляли ДНК представителей семейства *Herpesviridae*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, MSSA, MRCoNS. При этом в составе микрофлоры на слизистой оболочке ротоглотки у них преобладали ассоциации из 4–6 патогенов (у  $93,3 \pm 4,6\%$  практически здоровых детей и  $60,0 \pm 5,9\%$  детей с ОРИ ВДП). Иные результаты получены при обследовании детей с инфекциями НДП, у которых обнаружено заметное обеднение микрофлоры дыхательных путей. Следует отметить, что большинство ( $75,0 \pm 7,7\%$ ) пациентов с ОРИ НДП относились к категории длительно болеющих детей и имели осложненное течение заболевания ( $50,0 \pm 8,8\%$  обследованных), что, как известно, сопровождается уменьшением таксономического разнообразия назофарингеальной микробиоты [1, 3]. Это может быть обусловлено высокой инвазивной активностью изолятов от детей с ОРИ НДП на фоне формирующихся у них вторичных иммунодефицитных состояний, что позволяет микроорганизмам глубоко проникать в клетки и ткани дыхательных путей. Помимо этого, важное значение имеют и конкурентные взаимоотношения между патогенами и представителями микробиоты респираторного тракта, приводящие к вытеснению многих условно-патогенных микроорганизмов. Такое антагонистическое воздействие может реализовываться за счет продукции патогенами пероксида водорода, ферментов, компонентов клеточной стенки, токсинов, бактериоцинов, а также использования системы кворум-сенсинга [10, 11].

При более подробном анализе состава микробиоты отделяемого ротоглотки установлено, что у детей с ОРИ ВДП и практически здоровых «ядром» как бактериальных, так и вирусно-бактериальных ассоциаций является сочетание *S. pneumoniae* и *H. influenzae* (в  $93,3\%$  и  $60,0\%$  случаев соответственно). В бактериальных ассоциациях оно дополнено стафилококками (MRSA

и MRCoNS) у здоровых детей и *P. aeruginosa* или MSSA у детей с ОРИ ВДП, очень редко — другими видами бактерий (*S. agalactiae*, *S. pyogenes*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *S. maltophilia*). Высокая распространенность пневмококков, вероятно, связана, со способностью стрептококковых нейраминидаз удалять остатки сиаловых кислот с поверхности эпителиальных клеток слизистой оболочки ДП и создавать благоприятные условия для колонизации *S. pneumoniae*. В свою очередь, колонизация *S. pneumoniae* и *S. aureus* приводит к большой плотности заселения респираторного тракта популяцией *H. influenzae*. Об этом свидетельствует обязательное сочетание *H. influenzae* и *S. pneumoniae*, в то время, как *S. pneumoniae* сравнительно часто встречается в ассоциациях и без гемофильной палочки. Низкая представленность других видов стрептококков (*S. agalactiae*, *S. pyogenes*) у обследованных детей может быть связана с выраженной межвидовой конкуренцией, которая осуществляется посредством комбинаций большого количества бактериоцинов, выделяемых *S. pneumoniae* и кодируемых высоковариабельным опероном *blr*. Подавление *S. pyogenes* может также происходить в результате антагонистического воздействия коагулазо-негативных стафилококков. Некоторые штаммы CoNS способны синтезировать лантибиотик нукацин IVK45, ингибирующий жизнедеятельность пиогенного стрептококка и других представителей микробиоты ДП [1, 6, 7].

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

## Заключение

Сравнительный анализ частоты обнаружения геномов патогенов дыхательного тракта у детей с острыми респираторными инфекциями и практически здоровых детей свидетельствовал о наибольшем разнообразии и частоте обнаружения геномов микроорганизмов в отделяемом дыхательных путей у детей с ОРИ ВДП и практически здоровых по сравнению с об-

следованными с ОРИ НДП. Учитывая, что выделенные патогены находятся в виде вирусно-бактериальных и бактериальных ассоциаций, состав которых вариабелен и зависит от клинического статуса пациентов, их обнаружение представляется важным для решения вопроса о выборе этиотропной терапии на ранних этапах заболевания, а также назначения пробиотических препаратов, способных восстановить баланс микрофлоры дыхательных путей.

## Список литературы/References

1. Абабий И.И., Данилов Л.А., Манюк М.К., Абабий П.И., Гинда С.С., Трофимчук М.Г., Костинов М.П., Поддубиков А.В. Значения 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., Ababii P.I., Ghinda S.S., Trofimciuc M.G., Kostinov M.P., Poddubikov A.V. A role of oropharyngeal microbiota in developing acute and chronic diseases of the upper respiratory tract. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 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 клеточных функций // Цитология. 2001. Т. 43, № 12. С. 1101–1111. [Vasilieva G.I., Ivanova I.A., Tyukavkina S.Yu. Cytokines as a general system of homeostatic regulation of cell functions. *Tsitologiya = Tsitologiya*, 2001, vol. 43, no. 12, pp. 1101–1111. (In Russ.)]
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. *Vestnik Severo-Vostochnogo federal'nogo universiteta imeni M.K. Ammosova = Vestnik of North-Eastern Federal University*, 2019, no. 2, pp. 43–47. (In Russ.)] doi: 10.25587/SVFU.2019.2(15).31311
4. Каннер Е.В., Горелов А.В. Сочетанные острые респираторные инфекции у детей // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2017. № 3. С. 72–77. [Kanner E.V., Gorelov A.V. Combined acute respiratory infections in children. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni. Aktual'nye voprosy = Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items*, 2017, no. 3, pp. 72–77. (In Russ.)] doi: 10.26442/26586630.2020.1.200082
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). Part I. *Rossiiskaya rinologiya = Russian Rhinology*, 2021, vol. 29, no. 1, pp. 23–30. (In Russ.)] doi: 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. *Pulmonologiya = Pulmonologiya*, 2022, vol. 32, no. 6, pp. 876–884. (In Russ.)] doi: 10.18093/0869-0189-2022-32-6-876-884
7. Свитич О.А., Нагиева Ф.Г., Курбатова Е.А., Баркова Е.П., Харченко О.С., Строева А.Д., Пашков Е.А., Лисаков А.Н., Грачева А.В., Потапова М.Б., Файзулов Е.Б., Зверев В.В. Вирусингибирующая активность комплекса антигенов условно-патогенных бактерий в отношении коронавируса SARS-CoV-2 // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2023. Т. 100, № 2. С. 143–152. [Svitich O.A., Nagieva F.G., Kurbatova E.A., Barkova E.P., Kharchenko O.S., Stroeve A.D., Pashkov E.A., Lisakov A.N., Gracheva A.V., Potapova M.B., Faizuloev E.B., Zverev V.V. Virus-inhibitory activity of the antigen complex of opportunistic pathogenic bacteria against SARS-CoV-2. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 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 *Corynebacterium non diphtheriae* на функциональную активность и апоптоз макрофагов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2014. № 6. С. 96–100. [Kharseeva G.G., Voronina N.A., Tyukavkina S.Yu. Effect of *Corynebacterium non diphtheriae* on functional activity and apoptosis of macrophages. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2014, no. 6, pp. 96–100. (In Russ.)]
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, № 5. С. 341–349. [Shabal'din A.V., Shabal'dina E.V., Simbirtsev A.S. Features of the microbiome of the upper respiratory tract in children with recurrent respiratory diseases. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2017, vol. 7, no. 4, pp. 341–349. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2017-4-341-349
10. Diaz-Diaz A., Garcia-Maurino C., Jordan-Villegas A., Naples J., Ramilo O., Mejias A. Viral bacterial interactions in children: impact on clinical outcomes. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2019, vol. 38, no. 6S (Suppl. 1), pp. S14–S19. doi: 10.1097/INF.0000000000002319
11. Gupta A., Karyakarte R., Joshi S., Das R., Jani K., Shouche Y., Sharma A. Nasopharyngeal microbiome reveals the prevalence of opportunistic pathogens in SARS-CoV-2 infected individuals and their association with host types. *Microbes. Infect.*, 2022, vol. 24, no. 1: 104880. doi: 10.1016/j.micinf.2021.104880



12. Harrison A.G., Lin T., Wang P. Mechanisms of SARS-CoV-2 transmission and pathogenesis. *Trends Immunol.*, 2020, vol. 41, no. 12, pp. 1100–1115. doi: 10.1016/j.it.2020.10.004
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: 87. doi: 10.1186/s12915-019-0703-z
14. Lee K.H., 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. doi: 10.1371/journal.pone.0207898

---

**Авторы:**

**Тюкавкина С.Ю.**, к.м.н., доцент кафедры микробиологии вирусологии № 2 ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия;

**Харсеева Г.Г.**, д.м.н., проф., зав. каф. микробиологии и вирусологии № 2 ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия, Ростов-на-Дону, Россия;

**Костинов М.П.**, заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор, зав. лабораторией вакцинопрофилактики и иммунотерапии ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; зав. кафедрой эпидемиологии и современных технологий вакцинации ИПО Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова МЗ РФ (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

**Алиева А.А.**, к.б.н., ассистент кафедры микробиологии вирусологии № 2 ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия;

**Балахнова В.В.**, к.м.н., доцент кафедры микробиологии вирусологии № 2 ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия;

**Алутина Э.Л.**, к.м.н., доцент кафедры микробиологии вирусологии № 2 ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия;

**Чайкина В.А.**, ассистент кафедры детских инфекционных болезней ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия;

**Волкова В.В.**, студентка 6-го курса медико-профилактического факультета ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия.

**Authors:**

**Tyukavkina S.Yu.**, PhD (Medicine), Associate Professor of the Department of Microbiology and Virology No. 2, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation;

**Kharseeva G.G.**, DSc (Medicine), Professor, Head of the Department of Microbiology and Virology No. 2, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation;

**Kostinov M.P.**, Honored Scientist of the Russian Federation, RAS Corresponding Member, DSc (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Vaccine Prophylaxis and Immunotherapy, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation; Head of the Department of Epidemiology and Modern Vaccination Technologies, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation;

**Alieva A.A.**, PhD (Biology), Assistant Professor, Department of Microbiology and Virology No. 2, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation;

**Balakhnova V.V.**, PhD (Medicine), Associate Professor of the Department of Microbiology and Virology No. 2, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation;

**Alutina E.L.**, PhD (Medicine), Associate Professor of the Department of Microbiology and Virology No. 2 Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation;

**Chaikina V.A.**, Assistant Professor, Department of Pediatric Infectious Diseases, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation;

**Volkova V.V.**, Graduate Student of the Faculty of Medicine and Prevention, Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation.