

МИКРОБНЫЙ СОЦИУМ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ НИШИ: РОТОВАЯ ПОЛОСТЬ ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ

А.Л. Бурмистрова, Ю.Ю. Филиппова, Д.Ю. Нохрин, А.В. Тимофеева

ФГБОУ ВО Челябинский государственный университет, г. Челябинск, Россия

Резюме. В последние годы слюна все чаще используется в качестве диагностической жидкости для оценки различных биологических параметров, а именно уровней активности информационных сигнальных молекул метаорганизма — иммунной-эндокринной природы, но реже — метаболитов микробного сообщества и структуры бактериального социума. В работе проведена оценка микробного социума ротовой полости (слюна/мазок с поверхностей проживания микробиоты) здоровых детей с целью создания микробных образцов «здоровья» — контроля, который может использоваться в изучении микробного сообщества при развитии локальных и/или системных патофизиологических процессов, в том числе инфекционной природы, в организме ребенка. С помощью метода газовой хромато-масс-спектрометрии микробных маркеров определены специфические химические маркеры 38 таксонов микроорганизмов в полости рта здоровых детей от 1,5 до 14 лет. Для выявления распределения различных представителей микробных социумов между экологическими нишами (слюна/мазок) в ротовой полости и оценки влияния на них возраста детей был использован многомерный статистический метод — канонический анализ соответствий. Обнаружено высокое сходство структуры микробиоты слюны и мазка с поверхностями проживания микробиоты у здоровых детей, что, возможно, свидетельствует о перекрестных путях движения бактериальных представителей различных видов и родов микробного сообщества или об их функциональной пластичности. Наибольший интерес представляют данные о количестве бактерий рода *Alcaligenes* spp. в мазке с поверхностями проживания микробиоты, которое в два раза превышает аналогичный показатель в слюне. *Alcaligenes* продуцирует антибиотики и оригинальные антибактериальные компоненты, дезорганизуя рост широкого круга бактерий, а также инициирует В-лимфоциты лимфоидных фолликулов к продукции *Alcaligenes*-специфичных антител, для создания из них собственного «плащевое» покрытие, облегчающего ее поступление в Пейеровы бляшки через М-клетки. Можно предположить, что уровень *Alcaligenes* spp. в слюне в какой-то степени отражает миграцию представителей данного рода как из небных, так и из назофарингеальных миндалин. Определены возрастные особенности микробиоты экологической ниши — ротовой полости: с возрастом у детей повышается число представителей рода *Clostridium* spp. и снижается количество бифидобактерий. Полученные нами результаты могут использоваться в качестве контроля при системных патофизиологических процессах, в том числе инфекционной этиологии, а также в ходе терапии.

Ключевые слова: микробиота, ротовая полость, слюна, мазок, здоровые дети, *Alcaligenes* spp.

Адрес для переписки:

Филиппова Юлия Юрьевна
454001, Россия, г. Челябинск, ул. Братьев Кашириных, 129,
ФГБОУ ВО ЧелГУ.
Тел.: 8 (351) 799-71-76 (служебн.).
Факс: 8 (351) 742-09-25.
E-mail: julse@rambler.ru

Contacts:

Yuliya Yu. Filippova
454001, Russian Federation, Chelyabinsk, Bratiev Kashirinykh str., 129,
Chelyabinsk State University.
Phone: +7 (351) 799-71-76 (office).
Fax: +7 (351) 742-09-25.
E-mail: julse@rambler.ru

Библиографическое описание:

Бурмистрова А.Л., Филиппова Ю.Ю., Нохрин Д.Ю., Тимофеева А.В. Микробный социум экологической ниши: ротовая полость здоровых детей // Инфекция и иммунитет. 2018. Т. 8, № 1. С. 54–60. doi: 10.15789/2220-7619-2018-1-54-60

Citation:

Burmistrova A.L., Filippova Yu.Yu., Nokhrin D.Yu., Timofeeva A.V. Microbial society of environmental niche: oral cavity of the healthy children // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2018, vol. 8, no. 1, pp. 54–60. doi: 10.15789/2220-7619-2018-1-54-60

SOCIETY OF ENVIRONMENTAL NICHE: ORAL CAVITY OF THE HEALTHY CHILDREN**Burmistrova A.L., Filippova Yu.Yu., Nokhrin D.Yu., Timofeeva A.V.***Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation*

Abstract. In recent years, saliva is increasingly being used as a diagnostic fluid for the evaluation of various biological parameters, namely, the levels of activity of the information signal molecules of the metaorganism — the immune-neuroendocrine nature, but less often the metabolites of the microbial community and the structure of the bacterial society. The paper assesses the microbial society of the oral cavity (saliva/smear from the surfaces of the microbiota) healthy children in order to create microbial images of «health» — control that can be used in the study of the microbial community in the development of local and/or systemic pathophysiological processes, including infections, in the child's body. Using the method of Gas chromatography mass spectrometry of microbial markers, specific chemical markers of 38 taxa of microorganisms in the oral cavity of healthy children from 1.5 to 14 years have been determined. To determine the distribution of various representatives of microbial societies between ecological niches (saliva/smear) in the oral cavity and assess the effect on them of the age of children, a Canonical Correspondences Analysis was used. A high similarity of the microbiota structure of saliva and smear from microbiota living surfaces in healthy children was found, which may indicate cross paths of bacterial representatives of different species and genera of the microbial community, or their functional plasticity. Of greatest interest are the data on the number of bacteria of the genus *Alcaligenes* spp. in the smear from the surfaces of the microbiota, which is twice higher, than in saliva. *Alcaligenes* presents itself as a professional organizer of security measures in relation to the place of residence: it produces antibiotics and original antibacterial components that disorganize the growth of a wide variety of bacteria. In addition, it is able to initiate B-lymphocytes of lymphoid follicles to produce *Alcaligenes*-specific antibodies, to create from them their own «cloaking» coating, facilitating its entry into Peyer's plaques through M-cells. It can be assumed that the level of *Alcaligenes* spp. in saliva to some extent reflects the migration of representatives of this genus, both from the palatine and from the nasopharyngeal tonsils. The age features of the microbiota of the ecological niche — the oral cavity are determined: the number of representatives of the genus *Clostridium* spp. increases with age in children. And the number of bifidobacteria decreases. The results obtained by us can be used as a control in systemic pathophysiological processes, including infectious etiology, as well as during therapy.

Key words: *microbiota, oral cavity, saliva, smear, healthy children, Alcaligenes spp.*

Введение

Ротовая полость является уникальной открытой/закрытой экологической системой, в которой созданы благоприятные условия для нормальной жизнедеятельности огромного сообщества микроорганизмов, по плотности колонизации и разнообразию занимающих второе место после толстого кишечника человека. Оральное сообщество включает в соответствии с Human Oral Microbiome Database (HOMD; www.homd.org) 13 типов микроорганизмов: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chlamydiae*, *Chloroflexi*, *Euryarchaeata*, *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Proteobacteria*, *Spirochaetes*, *SRI*, *Synechistis*, *Tenericutes* и *TM7*, из которых шесть (*Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Spirochaetes* и *Fusobacteria*) — презентуют множество (96%) флотипов на уровне видов [9, 18, 19]. Такой сложный бактериальный консорциум не живет по правилу «все и везде», а демонстрирует отличия в композиции структур микробных сообществ, даже на уровне типов. Так *Firmicutes* доминирует на слизистой поверхности щек [22]), среди различных малых внутриоральных мест проживания микробиоты (дентальных поверхностей, эпителия щек, поверхностей мягкого и твердого неба, языка, миндалин, горла и т. д.), которые детально опи-

саны в количестве 5–9 и более рядом авторов [2, 6, 9, 18, 22]. Такие данные подтверждают наличие строгого локального пресса на членов сообщества даже в условиях физиологического гомеостаза [18, 22]. Как отмечают авторы, эти различия наиболее выражены на уровне родов, флотипов и являются залогом функциональной стабильности и гомеостаза (микробное сообщество слюны выглядит стабильным примерно в течение пяти дней [13]), необходимых для здоровья экосистемы. Все малые экологические ниши внутри ротовой полости и вся ротовая полость в целом омываются слюной, которая является для резидентного сообщества бактерий основным источником питания и, кроме того, важным участником совместного с резидентами создания колонизационной резистентности, выступая гарантом сохранения устойчивости микробного социума. Более того, в настоящее время представлен ряд доказательств, свидетельствующих, что слюна способна выступать в качестве экстраординарной коммуникационной системы, интегрирующей сигналы глобальных информационных сетей между: 1) бактериальными клетками, каждая из которых представляет биологическую автономную систему с собственной внутриклеточной информационной способностью, позволяющей отвечать на биохимические сигналы,

получаемые от всего микробного сообщества [5]; 2) всеми клетками микробных социумов малых и больших ниш внутри ротовой полости и даже других отделов дигестивного тракта [10, 18]; 3) информационными сигналами биохимического «зеркала» гомеостаза макроорганизма. Но слюна, в отличие от малых экологических стационарных ниш, не является местом проживания микробиоты. Она, главным образом, функционирует как транспортная среда для расселения микробного социума ротовой полости, которая отправляет в плавание ежедневно около 10^{11} бактериальных клеток изо рта в желудок, что приводит, как продемонстрировано различными культуральными и молекулярными методами, к частичному совпадению оральных, фарингеальных, эзофагального и кишечного микробиомов [10, 18].

В последние годы слюна все чаще используется в качестве диагностической жидкости для оценки различных биологических параметров, а именно уровней активности информационных сигнальных молекул метаорганизма — иммунонейроэндокринной природы, но реже — метаболитов микробного сообщества и структуры бактериального социума [21]. Оценка микробного сообщества ротовой полости может быть проведена двумя путями: 1) изучением паттерна подвижного микробного социума слюны, презентующего суммарный образ практически всех (или большинства) аэродигестивных бактериальных представителей, «пустившихся в плавание» в данный период времени: транзитных и резидентных, отправившихся в «одиссею» как на слущенном эпителии, в ходе его кругооборота, так и на пищевых компонентах; 2) распознаванием паттерна, включающего представителей разнообразных оседлых, биопленочных бактериальных сообществ, проживающих в различных микробиотопах ротовой полости, собранных в результате активных действий исследователя при взятии мазка.

Цель исследования: оценить микробный социум ротовой полости (слюна/мазок с поверхностей проживания микробиоты), условно-здоровых детей с целью создания микробных образов «здоровья» — контроля, который может использоваться в изучении микробного сообщества при развитии локальных и/или системных патофизиологических процессов, в том числе инфекционной природы, в организме ребенка.

Материалы и методы

В исследование было включено 16 здоровых детей (мальчиков), средний возраст которых составил $8,6 \pm 0,89$ лет. Из них 6 человек дошкольного (1,5–6 лет) и 10 человек школьного возраста

(7–14 лет). В качестве биологического материала для исследования использовали слюну и мазок из ротовой полости. Слюну забирали стерильным шприцем из подъязычной области и около пространства нижней десны (1 мл); мазок с поверхностей микробиотопов ротовой полости забирали стерильным тампоном: щека-щека, язык, десны, зубы, мягкое и твердое небо, небные миндалины.

Газовая хромато-масс-спектрометрия микробных маркеров. Для изучения композиции микробного социума экологической ниши — ротовой полости (слюна/мазок) был использован метод газового хромато-масс-спектрометрического определения микроорганизмов по количественному содержанию специфических маркеров (карбоновые кислоты, альдегиды, стерины, стиролы) в исследуемых образцах. Приготовление образцов и подсчет результатов проводили, как описано Осиповым Г.А. [16]: 80 мкл слюны/верхнюю часть ваты с тампона для мазка высушивали при добавлении равного по объему количества метанола (Fisher Scientific, Великобритания) и подвергали кислому метанолизу в 1 М HCl (Fisher Scientific, Великобритания) в метаноле в течение 1 ч при 80°C. На этой стадии происходило освобождение жирных кислот и альдегидов из сложных липидов микроорганизмов и других клеток и жидкостей в виде метиловых эфиров и диметилацеталей. Эти компоненты двукратно экстрагировали 200 мкл гексана (Scharlab S.L., Испания), высушивали и обрабатывали в течение 15 мин при 80°C 20 мкл бис (триметилсилил)-N,O трифторацетамидом (Sigma-Aldrich, США) для получения триметилсилильных эфиров оксикислот и стиролов. Полученную смесь эфиров вводили в инжектор газового хроматографа Маэстро ГХ 7820 (ООО «Интерлаб», Россия). Образец был хроматографически разделен на капиллярной колонке HP-5ms Hewlett-Packard. Условия хроматографического разделения: начальная температура 130°C, выдержка при начальной температуре 0,5 мин, нагрев температуры со скоростью 70°/мин до 320°C, выдержка при конечной температуре 6 мин. Режим селективных ионов. Газ-носитель гелий, поток 1,2 мл/мин в режиме без деления потока. В результате проведенных исследований получали хроматограммы жирных кислот и других продуктов жизнедеятельности микробных сообществ ротовой полости, которые были соотнесены с соответствующим типом и количеством микроорганизмов с помощью программы, разработанной Осиповым Г.А. [16]. В качестве внутреннего стандарта использовали дейтерометилловый эфир тридекановый кислоты (Sigma-Aldrich, США). Чувствительность метода составляет 10^4 КОЕ/мл.

Статистический анализ. Для выявления распределения различных представителей микробных социумов между экологическими нишами (слюна/мазок) в ротовой полости и оценки влияния на них возраста пациентов использовали канонический анализ соответствий (Canonical Correspondence Analysis, CCA). Этот метод относится к группе «ограниченных» многомерных проекционных (ординационных) методов, поскольку анализирует не всю присущую данным изменчивость, а только ту ее часть, которая задается линейной комбинацией независимых переменных — регрессоров. Таким образом, CCA сочетает в себе и многомерную ординацию, и множественную регрессию. Подобно множественному анализу соответствий, в качестве расстояния в нем используется статистика хи-квадрат, а потому данный метод нашел широкое применение при анализе данных по встречаемости и численности организмов в экологии сообществ [14]. Поскольку в экологической практике использования метода регрессоры часто представляют собой средовые факторы, в градиенте которых происходит изменение видового состава, CCA относят также к методам прямого градиентного анализа [1]. Оценку статистической значимости выделенных канонических осей проводили в рандомизационном тесте Монте-Карло ($n = 9999$). Значимость различий между показателями микроорганизмов разных ниш (слюна/мазок) ротовой полости и двух возрастных групп определяли с помощью парного критерия Уилкоксона W и критерия Манна–Уитни U . Статистически значимыми признавали результаты при $p \leq 0,05$, незначимыми — при $p > 0,10$. Расчеты и графические построения выполнены в пакете PAST v. 3.15 [12].

Результаты

Для выявления наиболее общих закономерностей распределения основных бактериальных таксонов, находящихся в биоматериале, собранном из ротовой полости с использованием различных методических подходов — слюна/мазок, с доступных для исследователя поверхностей ротовой полости, использовали многомерный подход — канонический анализ соответствий. В качестве независимых переменных выступали показатели наличия и количества таксонов, распределенных по градиенту регрессоров, атрибутированных по типу биоматериала — слюна/мазок, и по возрасту детей.

В ходе анализа были выделены три канонических оси, две из которых объясняли всю задаваемую регрессорами изменчивость показателей, традиционно называемую в CCA инерцией (рис.).

Первая ось объясняла 88,4% инерции и была высоко статистически значима ($p < 0,001$). Как видно из рисунка, данная ось определяла различия в композиции бактериального сообщества, выделенного из разного биоматериала. В мазке с поверхностей микробиотопов ротовой полости у здоровых детей были повышены по сравнению с паттерном слюны уровни бактерий микроорганизмов типа *Firmicutes*: родов *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., которые являются основными резидентами ротовой полости, доминирующими главным образом, на языке и зубной поверхности [2], и вида *Clostridium perfringens*. Кроме того, в мазке с различных поверхностей ротовой полости преобладали представители типа *Bacteroidetes* рода *Prevotella* spp. и родов-космополитов: *Alcaligenes* spp. и *Aspergillus* spp.

В слюне в больших количествах присутствовали маркеры микроорганизмов: *Bacillus cereus*, *Corynebacterium* spp. и грибов рода *Candida* spp. Все различия были статистически значимыми: парный критерий Уилкоксона W от 75,5 до 136, P от 0,034 до $3,1 \times 10^{-5}$. Несмотря на наличие значимых различий в уровнях специфических показателей микроорганизмов, обращает на себя внимание тот факт, что в слюне присутствовали те же роды/виды микроорганизмов, что и в мазке из всей ротовой полости, при этом большая часть определенных нами микроорганизмов была в равной степени характерна как для мазка, так и для слюны.

Вторая каноническая ось объясняла 11,6% инерции. Вдоль нее проявилась тенденция ($p = 0,066$) к возрастным изменениям видового сообщества ротовой полости. У детей дошкольного возраста в ротовой полости (не зависимо от типа биоматериала) в больших количествах присутствовали маркеры микроорганизмов *Bifidobacterium* spp. и видов *Staphylococcus epidermidis* и *Propionibacterium acnes*.

У детей школьного возраста в ротовой полости наблюдалось увеличение числа бактерий родов *Clostridium* (*C. propionicum*, *C. ramosum*, *C. histolyticum*) и *Actinomyces*. Статистически значимые различия были выявлены только для количества микроорганизмов рода *Bifidobacterium* spp., уровни липидных маркеров которых были повышены в мазках детей дошкольного возраста (1,5–6 лет).

Обсуждение

Таким образом, в результате проведенных исследований сравнения двух паттернов микробных социумов, полученных из образцов слюны и мазка с поверхности микробиотопов ротовой полости условно-здоровых детей, получены следующие данные:

Каждый паттерн презентует специфическое бактериальное сообщество по следующим таксонам: *Bacillus cereus*, *Corynebacterium* spp., *Candida* spp. — преобладали в слюне, а *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Clostridium perfringens*, *Prevotella* spp., *Aspergillus* spp. и *Alcaligenes* — в мазке. Однако 29 таксонов были общими для этих образцов, что, возможно, свидетельствует о перекрестных путях движения бактериальных представителей различных видов и родов микробного сообщества, или об их функциональной пластичности.

Наибольший интерес представляют данные о количестве бактерий рода *Alcaligenes* spp.

в паттерне, включающем представителей разнообразных оседлых биопленочных бактериальных сообществ, проживающих в различных микробиотопах ротовой полости, которое в 2 раза превышает аналогичный показатель паттерна слюны. Известно, что *Alcaligenes* spp. выступает универсальным утилизатором в различных экологических нишах в природных условиях — почвы, свежей воды, сточных вод, морских экосистем, и, кроме того, выделяется из клинического материала, полученного от больных, и из фекалий здоровых людей [8, 11]. В то же время *Alcaligenes* spp. проявляет уни-

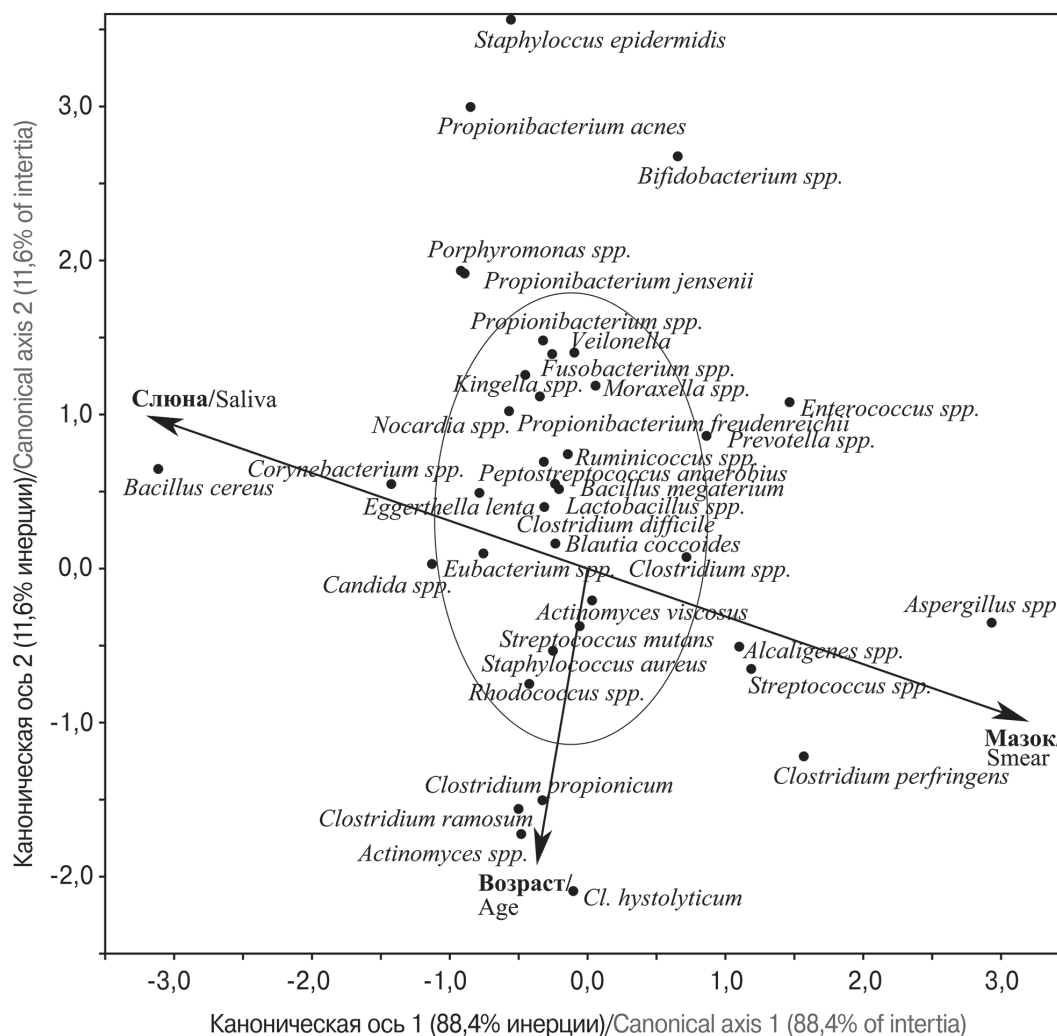


Рисунок. Ординационная диаграмма распределения представителей различных бактериальных таксонов между слюной и мазком из ротовой полости

Figure. Ordination diagram of the distribution of representatives of different bacterial taxa between saliva and smear of the oral cavity

Примечания. Стрелками показаны регрессоры (тип биоматериала: слюна/мазок и возраст). Бактериальные таксоны, расположенные в центре диаграммы и выделенные эллипсом, имеют одинаковые количественные показатели, независимо от типа биоматериала и возраста детей. Микроорганизмы, расположенные по краям рисунка (выходящие за область эллипса) вносят наибольший вклад в различия между регрессорами.

Notes. Arrows indicate regressors (type of biomaterial: saliva/smear and age). Bacterial taxa located in the center of the diagram and separated by an ellipse have the same quantitative indices, regardless of the type of biomaterial and the age of the children. Microorganisms located at the edges of the pattern (beyond the ellipse region) contribute the most to differences between regressors.

кальные функции, позволяющие ей вступать во взаимодействие с лимфоидным аппаратом здоровых мышей, обезьян и человека и апроприировать регуляцию иммунного гомеостаза организма. Речь идет о лимфоидных компартаментах кишечно-ассоциированной лимфоидной ткани (GALT) [15].

Alcaligenes spp. демонстрирует В-лимфоцит-ассоциированное сожительство и сотрудничество: 1) в отсутствии В-лимфоцитов и мукозальных антител в Пейеровых бляшках снижается количество *Alcaligenes* spp. [15, 20]; 2) она способна инициировать В-лимфоциты лимфоидных фолликулов к продукции *Alcaligenes*-специфичных антител, для создания из них собственного «плащевое» покрытие, облегчающего ее поступление в Пейеровы бляшки через М-клетки, и инструктировать переключение класса антител от IgM к IgA [15, 20].

Alcaligenes презентует себя в качестве профессионального организатора охранных мероприятий в отношении места проживания: продуцирует антибиотики, ингибирующие рост других бактерий, в том числе обладающих широким спектром антибиотикорезистентности, и оригинальные антибактериальные компоненты, дезорганизирующие рост широкого круга микроорганизмов, таких как *E. coli*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* [4, 20]. В свете сказанного не вызывает сомнения, что все перечисленные свойства позволяют ей успешно проживать в мукозо-ассоциированной лимфоидной ткани (MALT) [3]. Можно предположить, что превышение в 2 раза уровня *Alcaligenes* в паттерне,

включающем представителей разнообразных оседлых биопленочных бактериальных сообществ различных микробиотопов ротовой полости, по сравнению с паттерном, отражающим микробный социум слюны, определено особенностью получения исследуемого материала — активным воздействием на колонизированные поверхности, среди которых присутствовали и небные миндалины, относящиеся к вторичным лимфоидным органам, содержащим агрегаты лимфоидных клеток, испытывающих пролонгированную нагрузку антигенов аэродигестивного тракта и, подобно Пейеровым бляшкам и аппендиксу, принадлежащих к MALT [7, 17]. Не исключено, что представительство *Alcaligenes* в слюне в какой-то степени отражает их миграцию как из небных, так и из назофарингеальных миндалин.

Наличие возраст-ассоциированных особенностей распределения некоторых таксонов внутри оральной полости: у детей дошкольного возраста в мазке из ротовой полости значимо повышены маркеры бактерий рода *Bifidobacterium* spp. по отношению к аналогичному показателю группы школьников. Такие изменения в уровнях бифидобактерий могут быть связаны с особенностями питания детей.

Полученные нами результаты в ходе предварительной оценки бактериального социума ротовой полости условно здоровых детей, могут использоваться в качестве контроля при системных патофизиологических процессах, в том числе инфекционной этиологии, а также в ходе терапии.

Список литературы/References

1. Джонгман Р.Г.Г., Тер Брак С.Дж.Ф., Ван Тонгерен О.Ф.Р. Анализ данных в экологии сообществ и ландшафтов: пер. с англ. М.: РАСХН, 1999. 306 с. [Jongman R.G.G., Ter Brak S.J.F., Van Tongeren O.F.R. Analiz dannykh v ekologii soobshchestv i landshaftov [Analysis of data in the ecology of communities and landscapes]. Moscow: RAASHN, 1999. 306 p.]
2. Aas J.A., Paster B.J., Stokes L.N., Olsen I., Dewhirst F.E. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J. Clin. Microbiol.*, 2005, vol. 43, no. 11, pp. 5721–5732. doi: 10.1128/JCM.43.11.5721-5732.2005
3. Adam P., Gernert C., Schmitt S., Haralambieva E., Ott G., Müller-Hermelink H.K., Hentschel U. The spectrum of microbiological agents causing pulmonary MALT-type lymphomas. A 16S rRNA-based analysis of microbial diversity. *Der Pathologe*, 2008, vol. 29, suppl. 2, pp. 290–296. doi: 10.1007/s00292-008-1068-1
4. Armstrong J.L., Shigeno D.S., Calomiris J.J., Seidler R.J. Antibiotic-resistant bacteria in drinking water. *Appl. Environ Microbiol.*, 1981, vol. 42, no. 2, pp. 277–283.
5. Ben-Jacob E. Social behavior of bacteria: from physics to complex organization. *Eur. Phys. J. B*, 2008, vol. 65, iss. 3, pp. 315–322. doi: 10.1140/epjb/e2008-00222-x
6. Bik E.M., Davis Long C., Armitage G.C., Loomer P., Emerson J., Mongodin E.F., Nelson K.E., Gill S.R., Fraser-Liggett C.M., Relman D.A. Bacterial diversity in the oral cavity of ten healthy individuals. *ISME J.*, 2010, vol. 4, no. 8, pp. 962–974. doi: 10.1038/ismej.2010.30
7. Brandtzaeg P. Immunology of tonsils and adenoids: everything the ENT surgeon needs to know. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.*, 2003, vol. 67, suppl. 1, pp. S69–S76. doi: 10.1016/j.ijporl.2003.08.018
8. Busse H.J., Stolz A. *Achromobacter, alcaligenes and related genera. The Prokaryotes*. Eds. Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K.H., Stackebrandt E. New York: Springer, 2006, pp. 675–700. doi: 10.1007/0-387-30745-1_28
9. Dewhirst F.E., Chen T., Izard J., Paster B.J., Tanner A.C., Yu W.H., Lakshmanan A., Wade W.G. The human oral microbiome. *J. Bacteriol.*, 2010, vol. 192, no. 19, pp. 5002–5017. doi: 10.1128/JB.00542-10
10. Ding T., Schloss P.D. Dynamics and associations of microbial community types across the human body. *Nature*, 2014, vol. 509, pp. 357–360. doi: 10.1038/nature13178
11. Fung T.C., Artis D., Sonnenberg G.F. Anatomical localization of commensal bacteria in immune cell homeostasis and disease. *Immunol. Rev.*, 2014, vol. 260, iss. 1, pp. 35–49. doi: 10.1111/immr.12186

12. Hammer O., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 2001, vol. 4, no.1, pp. 9.
13. Lazarevic V., Whiteson K., Hernandez D., François P., Schrenzel J. Study of inter- and intra-individual variations in the salivary microbiota. *BMC Genomics*, 2010, vol. 11:523. doi: 10.1186/1471-2164-11-523
14. Legendre P., Birks H.J.B., Lotter A.F., Juggins S., Smol J.P. From classical to canonical ordination. Tracking Environmental Change using Lake Sediments. Volume 5: Data handling and numerical techniques. Chapter 8. Eds: Birks H.J.B., Lotter A.F., Juggins S., Smol J.P. *Dordrecht: Springer*, 2012, pp. 201–248.
15. Obata T., Goto Y., Kunisawa J., Sato S., Sakamoto M., Setoyama H., Matsuki T., Nonaka K., Shibata N., Gohda M., Kagiya Y., Nochi T., Yuki Y., Fukuyama Y., Mukai A., Shinzaki S., Fujihashi K., Sasakawa C., Iijima H., Goto M., Umetsu Y., Benno Y., Kiyono H. Indigenous opportunistic bacteria inhabit mammalian gut-associated lymphoid tissues and share a mucosal antibody-mediated symbiosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010, vol. 107(16), pp. 7419–7424. doi: 10.1073/pnas.1001061107
16. Osipov G.A., Boiko N.B., Fedosova N.F., Kasikhina S.A., Lyadov K.V. Comparative gas chromatography-mass spectrometry study of the composition of microbial chemical markers in feces. *Microb. Ecol. Health Dis.*, 2009, vol. 21, pp. 159–171. doi: 10.3109/08910600903462657
17. Perry M., Whyte A. Immunology of the tonsils. *Immunol. Today*, 1998, vol. 19, iss. 9, pp. 414–421. doi: 10.1016/S0167-5699(98)01307-3
18. Segata N., Kinder Haake S., Mannon P., Lemon K. P., Waldron L., Gevers D., Huttenhower C., Izard J. Composition of the adult digestive tract bacterial microbiome based on seven mouth surfaces, tonsils, throat and stool samples. *Genome Biol.*, 2012, vol. 13, R42. doi: 10.1186/gb-2012-13-6-r42
19. Sizova M.V., Hohmann T., Hazen A., Paster B.J., Halem S.R., Murphy C.M., Panikov N.S., Epstein S.S. New approaches for isolation of previously uncultivated oral bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2012, vol. 78, no. 1, pp. 94–203. doi: 10.1128/AEM.06813-11
20. Sonnenberg G.F., Monticelli L.A., Alenghat T., Fung T.C., Hutnick N.A., Kunisawa J., Shibata N., Grunberg S., Sinha R., Zahm A.M., Tardif M.R., Sathaliyawala T., Kubota M., Farber D.L., Collman R.G., Shaked A., Fouser L.A., Weiner D.B., Tessier P.A., Friedman J.R., Kiyono H., Bushman F.D., Chang K.M., Artis D. Innate lymphoid cells promote anatomical containment of lymphoid-resident commensal bacteria. *Science*, 2012, vol. 336(6086), pp. 1321–1325. doi: 10.1126/science.1222551
21. Wong D.T. Salivaomics. *J. Am. Dent. Assoc.*, 2012, vol. 143, suppl. 10, pp. 19S–24S. doi: 10.14219/jada.archive.2012.0339
22. Zaura E., Keijsers B.J., Huse S.M., Crielaard W. Defining the healthy “core microbiome” of oral microbial communities. *BMC Microbiol.*, 2009, vol. 9:259. doi: 10.1186/1471-2180-9-259

Авторы:

Бурмистрова А.Л., д.м.н., профессор, зав. кафедрой микробиологии, иммунологии и общей биологии, декан биологического факультета ФГБОУ ВО Челябинский государственный университет (ЧелГУ), г. Челябинск, Россия;
Филиппова Ю.Ю., к.б.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО ЧелГУ, г. Челябинск, Россия;
Нохрин Д.Ю., к.б.н., доцент кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО ЧелГУ, г. Челябинск, Россия;
Тимофеева А.В., зав. учебной лабораторией микробиологии и иммунологии, очный аспирант второго года обучения кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО ЧелГУ, г. Челябинск, Россия.

Authors:

Burmistrova A.L., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of the Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Dean of the Faculty of Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation;
Filippova Yu.Yu., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Faculty of Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation;
Nokhrin D.Yu., PhD (Biology), Associate Professor, Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Faculty of Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation;
Timofeeva A.V., Head of the Educational Laboratory of Microbiology and Immunology, PhD Student, Department of Microbiology, Immunology and General Biology of the Faculty of Biology, Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russian Federation.

Поступила в редакцию 06.07.2017
 Принята к печати 27.02.2017

Received 06.07.2017
 Accepted 27.02.2017