

# СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ДИСБИОЗЕ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ У ДЕТЕЙ

ШАБАЛДИНА Е.В.<sup>1</sup>, ШАБАЛДИН А.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Кемерово, Россия

<sup>2</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», г. Кемерово, Россия

## REVIEW ARTICLE

### UPPER RESPIRATORY DYSBIOSIS IN CHILDREN

ELENA V. SHABALDINA<sup>1</sup>, ANDREY V. SHABALDIN<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056), Russian Federation

<sup>2</sup>Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (6, Sosnovy Boulevard, Kemerovo, 650002), Russian Federation

#### Резюме

Современные исследования метагенома носа, глотки и миндалин лимфоидного глоточного кольца у детей показали присутствие пяти основных бактериальных филумов: *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* и *Fusobacteria*. Выявлены популяционные различия в распределении удельных весов выше перечисленных филумов, но с обязательным доминированием *Firmicutes*. Доказана роль факторов окружающей среды и времени года на представительство в этих биотопах филумов: *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*. Диагностическим критерием дисбиотических нарушений на слизистой

оболочке носа и глотки является индукция секреторных антител класса Е и G к представителям родов: *Streptococcus* и *Haemophilus*. Формирование гипертрофии миндалин лимфоидного глоточного кольца ассоциировано с носительством *Haemophilus parainfluenzae*, *Haemophilus paraphrohaemolyticus*, *Gemella haemolysans*, *Gemella morbillorum*, *Gemella sanguinis*, *Streptococcus pneumoniae*, *S. pseudopneumoniae*, *S. intermedius*, *S. agalactiae*.

**Ключевые слова:** Дисбиоз верхних дыхательных путей, бактериальные филумы, гипертрофия миндалин лимфоидного глоточного кольца.

#### Abstract

Studies of upper respiratory metagenome in children identified *Firmicutes* as a dominant bacterial group and *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* and *Fusobacteria* as other main groups, with the population, environmental, and seasonal differences in spatiotemporal distribution of bacterial species. Secretion of IgE and IgG to *Streptococcus spp.* and *Haemophilus spp.* can be considered as a valid diagnostic criterion

of upper respiratory dysbiosis. Tonsillar hypertrophy is associated with the presence of *Haemophilus parainfluenzae*, *Haemophilus paraphrohaemolyticus*, *Gemella haemolysans*, *Gemella morbillorum*, *Gemella sanguinis*, *Streptococcus (S.) pneumoniae*, *S. pseudopneumoniae*, *S. intermedius*, *S. agalactiae* among upper respiratory microbiota.

**Keywords:** upper respiratory dysbiosis, bacterial microbiota, tonsillar hypertrophy.

◀ English

## Введение

Как известно, дисбактериоз (дисбиоз) характеризуется изменением соотношения представителей нормальной (индигенной) микрофлоры, снижением числа или исчезновением некоторых видов микроорганизмов за счет увеличения количества других и доминированием микробов, которые обычно встречаются в незначительном количестве или совсем не определяются в данном биотопе [1]. Современные исследования метагенома носа, глотки и миндалин лимфоидного глоточного кольца у детей показали присутствие пяти основных бактериальных типов: *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* и *Fusobacteria* [2]. В то же время исследования пациентов раннего возраста с респираторной патологией выявили у них изменения микробиома верхних дыхательных путей по отношению к здоровым детям [3]. Robert P. Dickson (2014) указывает на взаимосвязь между дисбиозом и пролонгированным воспалением в респираторном тракте, обозначив это состояние как «Dysbiosis-Inflammation Cycle» [4]. Пролонгированное воспаление на слизистой оболочке верхних дыхательных путей и в миндалинах лимфоидного глоточного кольца способствует их гипертрофии и гиперплазии [4, 5, 6]. Нозологическими формами у детей, в патогенезе которых имеет место Dysbiosis-Inflammation Cycle, являются хронический ринит, аденоидные вегетации, гипертрофия небных миндалин, хронический тонзиллофарингит, бронхиальная астма, бронхоэктатическая болезнь [3].

В отечественной педиатрии с прошлого века выделяют детей с рецидивирующими респираторными заболеваниями в отдельную диспансерную группу, обозначаемую как «часто болеющие дети» (ЧБД) [7]. В этой группе детей доминирует патология ЛОР-органов и инфекционно-аллергическое воспаление на слизистой оболочке носа и глотки [8, 9]. Основными клиническими проявлениями частой респираторной заболеваемости являются: рецидивирующей риниты, риносинуситы, отиты, тонзиллофарингиты, ларингиты, бронхиты, в том числе обструктивные бронхиты [10]. Доказано, что повторяющиеся респираторные инфекции также ассоциированы с изменениями микробиома верхних дыхательных путей [11]. То есть можно предположить, что Dysbiosis-Inflammation Cycle является ключевым звеном патогенеза постоянно повторяющихся респираторных ин-

фекций у детей. Кроме того, через этот ключевой механизм частая респираторная заболеваемость может трансформироваться в хронические заболевания ЛОР-органов и респираторного тракта.

Эпидемиологические исследования показали, что частота детей с постоянно рецидивирующими респираторными инфекциями остается высокой уже более 40 лет и, по данным разных авторов, находится в пределах 10-50% детей раннего и дошкольного возраста [12, 13].

С этих позиций проблема дисбиоза верхних дыхательных путей у детей, как ключевого звена патогенеза частой респираторной заболеваемости, гипертрофии миндалин лимфоидного глоточного кольца и формирования хронической патологии ЛОР-органов и респираторного тракта, является актуальной для современной педиатрии. Кроме того, поиск управляемых факторов в микробиологии ребенка, через которые Dysbiosis-Inflammation Cycle был бы ингибирован, является приоритетной задачей современной педиатрической фармакологии [14].

Исходя из этого, целью настоящей работы был анализ современных литературных данных о таксономическом распределении микробиоты верхних дыхательных путей у здоровых детей, с патологией ЛОР-органов и респираторного тракта, а также оценка способов патогенного влияния на организм ребенка некоторых представителей микробиоты верхних дыхательных путей.

## Материалы и методы

Настоящее исследование проведено с помощью анализа литературных данных, посвященных проблеме дисбиоза верхних дыхательных путей у детей. Для поиска литературных источников были использованы следующие ключевые слова и выражения: *dysbiosis*, *microbiome*, *inflammation*, *upper respiratory tract*, *adenoid hypertrophy*, *hypertrophic tonsils*, *16S rRNA*, *fingerprinting of prokaryotic*, *pyrosequencing* – а также их сочетания. Основными сайтами, через которые проводился поиск, были <https://scholar.google.ru> и <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>.

## Результаты

**Современные методы и подходы в исследовании микрофлоры верхних дыхательных путей.** В настоящее время основной тренд в методах оценки микробиоты верхних дыхательных

путей направлен в молекулярную генетику микроорганизмов [15], учитывающих филогенетическое родство или различие микроорганизмов. Прежде всего, это анализ последовательности переменных участков гена (V1-V6) 16S рибосомальной РНК (16S rRNA) [16]. Известно, что ген, кодирующий 16SrRNA (каждая из двух субъединиц рибосом состоит из переплетенных молекул белков и цепочек рибонуклеиновых кислот), есть в геноме всех известных бактерий и архей, но отсутствует у эукариот и вирусов [15]. Тем самым, обнаружение этого гена доказывает наличие в метагеноме прокариотических нуклеотидных последовательностей. Данный ген имеет как консервативные участки, одинаковые у всех прокариот, так и специфичные для типов, классов, порядков и видов. Консервативные участки служат для первого этапа полимеразной цепной реакции (PCR), связанного с накоплением гена, а специфичные — для определения типа, класса, порядка и видов. Степень схожести специфичных участков отражает эволюционное родство разных видов [17].

Анализ переменных участков гена 16s rRNA проводится различными способами: секвенированием по Сенгеру, высокопродуктивным секвенированием (high-throughput sequencing) с помощью различных технологий (Illumina, SOLiD, 454, Ion Torrent и другие), микрочиповой технологией, в основе которой лежит ДНК-ДНК гибридизация (DNA microarrays), фрагментным ДНК анализом (PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism, Amplified Fragment Length Polymorphism, Random Amplification of Polymorphic DNA – PCR). Применяются также и косвенные методы оценки бактериального разнообразия (Denaturing Gel Electrophoresis, Single-strand conformation polymorphism analysis), позволяющие определить бактериальный фингерпринт в той или иной микрэкосистеме [16]. Надо отметить, что бактериальный фингерпринт, как наиболее дешевый метод оценки полиморфизма микробиома, может быть использован на первых этапах создания тест-системы (на основе молекулярно-генетического анализа), выявляющей дисбиоз верхних дыхательных путей.

Нуклеотидные последовательности 16S рибосомальных РНК всех известных бактерий и архей общедоступны в открытых базах данных NCBI ([https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE\\_TYPE=BlastSearch&BLAST\\_SPEC=MicrobialGenomes](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch&BLAST_SPEC=MicrobialGenomes)).

**Микрофлора верхних дыхательных путей у здоровых детей и при респираторной патологии.** Если рассматривать микрофлору респираторного тракта, то количество микробных тел здесь не превышает  $10^2$ - $10^3$  КОЕ/мл. В соответствии с приказом МЗ РФ № 535 от 22.04.85 г. приняты следующие нормативы колониеобразующих единиц на тампон (КОЕ/тампон): *Staphylococcus aureus* –  $10^1$ - $10^2$ ; *Streptococcus haemolyticus* –  $10^3$ - $10^4$ ; *Enterococcus* –  $10^1$ - $10^2$ ; *Escherichia coli* –  $10^1$ - $10^2$ ; *Candida spp.* –  $10^1$ ; *Klebsiella spp.* –  $10^1$ - $10^2$ ; *Streptococcus spp.* –  $10^3$ - $10^4$ ; *Staphylococcus saprophyticus* –  $10^1$ . Как видно из представленных данных, роль облигатных анаэробов (в частности рода *Bacteroides*) в нормальном биоценозе верхних дыхательных путей в данном документе не отражено. Это связано со сложной идентификацией этих микроорганизмов культуральным методом. Современные методы генетического тестирования метагенома дают представления о значимом представительстве микроорганизмов рода *Bacteroides* в биотопах верхних дыхательных путей [18, 19].

Проведенный в рамках консорциума «Нормальный микробиом человека» метагеномный анализ (более 1 млн секвенирований) отделяемого носа и глотки здоровых индивидуумов показал доминирование 5 основных типов: *Firmicutes* (44%), *Proteobacteria* (41%), *Bacteroidetes* (11%), *Actinobacteria* (3%) and *Fusobacteria* (около 1%) [20].

Исследования Zh. Gao (2014) выявили, что доминирующим типом в носоглоточном биотопе у здоровых индивидуумов являются *Bacteroidetes* (48%) и *Firmicutes* (32%), а на *Proteobacteria* приходится не более 10% [21].

На сопоставимость удельных весов *Bacteroidetes* (10-22%) и *Proteobacteria* (15-31%), с одной стороны, и доминирование *Firmicutes* (35-65%) в микробиоценозе носоглотки у здоровых людей, с другой, указывают и консорциумные исследования в европейских странах [22].

Сравнительные исследования метагенома носоглотки здоровых детей выявили некоторые отличия от взрослых индивидуумов по распределению удельных весов основных бактериальных типов: *Proteobacteria* (64%), *Firmicutes* (21%), *Bacteroidetes* (11%), *Actinobacteria* (3%) и *Fusobacteria* (1,4%) [23]. Авторы считают, что микробиом верхних дыхательных путей изменяется с возрастом, в том числе и за счет увеличения гетерогенности родов [23].

Кроме того, доказан феномен сезонной микробиологической динамики. Так, показано, что с осени к весне в носоглотке у здоровых детей удельный вес *Proteobacteria* меняется с 71% на 51%; *Fusobacteria* – с 14% на 2%, а *Bacteroidetes* – с 19% на 3%, в то время как удельный вес *Firmicutes* увеличивается с 45% до 85% [2].

Обобщая литературные данные по микробиоценозу носоглотки детей, можно выделить следующие таксономические группы [23, 24, 25].

**Тип:** *Bacteroidetes*. Класс: *Bacteroidia*, порядок: *Bacteroidales*.

**Тип:** *Firmicutes*. Класс: *Bacilli*, порядок *Bacillales*, семейство *Staphylococcaceae* и порядок *Lactobacillales*, Класс: *Clostridia*, порядок: *Clostridiales*, семейство: *Peptococcaceae* и род: *Desulfotomaculum*, а также семейство: *Clostridiaceae* и род: *Clostridium*. Класс: *Mollicutes*, порядок: *Mycoplasmatales*, семейство: *Mycoplasmataceae* и род: *Mycoplasma*.

**Тип:** *Proteobacteria*. Класс: *Gamma*proteobacteria, различные порядки и семейства родов: *Chromatium*, *Ectothiorhodospira*, *Beggiatoa*, *Legionella*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Vibrio*, *Escherichia*, *Proteus*, *Salmonella*.

**Тип:** *Actinobacteria*. Класс: *Actinobacteria*, различные порядки и семейства родов: *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Streptomyces*, *Frankia*, *Bifidobacterium*;

**Тип:** *Fusobacteria*. Класс: *Fusobacteria*, порядок: *Fusobacteriales*, семейство: *Fusobacteriaceae* и род: *Fusobacterium*.

Исследования показали, что у здоровых детей основными родовыми представителями *Bacteroides* и *Firmicutes* являлись *Prevotella*, *Veillonella* и *Streptococcus* [23]. Кроме того, у здоровых детей выявляется **Тип:** *Chlamydiae*, класс: *Chlamydiae*, семейство: *Chlamydiaceae*, род: *Chlamydia* [26].

Изучение бактериального разнообразия на гипертрофированной глоточной миндалине у детей с помощью мультиплексного пиросеквенирования V1-V2 гипервариабельных регионов гена 16S rRNA показало доминирование семи основных типов: *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Spirochaetes*, *Tenericutes*. У этих детей были выявлены новые таксоны (кандидаты в новые филумы) TM7 и SR1 [27]. Удельный вес основных типов распределялся следующим образом: *Firmicutes* (45,4%), *Proteobacteria* (28,6%) и *Fusobacteria* (11,1%). Авторы отмечают, что

3,2% нуклеотидных последовательностей были не классифицированы, что может отражать новые бактериальные таксоны [27]. Идентифицированными оказалось 94 рода различных бактерий, персистирующих на глоточной миндалине, основными представителями были: *Streptococcus* (18,0%), *Staphylococcus* (14,7%), *Haemophilus* (11,2%), *Fusobacterium* (10,4%), *Moraxella* (5,7%), *Prevotella* (4,1%), *Gemella* (2,8%), *Neisseria* (2,7%), *Corynebacterium* (2,3%), *Granulicatella* (1,4%) и *Pseudomonas* (1,3%).

В то же время показано выраженное разнообразие соотношений различных типов в биотопе глоточной миндалины у детей с ее гипертрофией. Проведенный кластерный анализ по распределению типов в микроэкосистеме глоточной миндалины позволил выделить 5 кластеров. В первом кластере доминировали *Firmicutes*, во втором – соотношение *Firmicutes* и *Proteobacteria* было равным, в третьем – доминировали *Proteobacteria*, в четвертом – основными представителями глоточного биотопа были *Fusobacterium*, в пятом – соотношение этих трех типов и типов *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* было сопоставимо. О высоком разнообразии бактериального пейзажа на аденоидных вегетациях указывает показатель сходства микробиоты Чжао–Жаскард [28]. Для аденоидных вегетаций он составил 0,26 (пределы 0–1,0).

Проведенное в штате Висконсин (США) исследование назофарингеальной микробиоты у часто и длительно болеющих детей раннего возраста, а также у детей с острым синуситом, идентифицировало 951 таксон из семейств *Rickenellaceae*, *Lachnospiraceae*, *Verrucomicrobiaceae*, *Pseudomonadaceae* и *Moraxellaceae*, а также несколько неклассифицированных представителей типа *Proteobacteria*. В работе было показано, что постоянно рецидивирующие респираторные инфекции связаны с уменьшением таксономического разнообразия назофарингеальной микробиоты, но ассоциаций этого преморбидного фона детей с конкретными таксонами не выявлено. В то же время для острого синусита у детей раннего возраста показана достоверная положительная ассоциация с *Moraxella nonliquefaciens* [29].

У детей с рецидивирующими респираторными инфекциями и хроническим тонзиллитом в криптах небных миндалин доминировал род *Streptococcus* и следующие его виды: *S. pneumoniae*, *S. pseudopneumoniae*, *S. intermedius*

– а также из группы пиогенных стрептококков: *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, и *S. dysgalactiae subsp. equisimil*, [30, 31].

Показано, что у детей с хроническим тонзиллитом и/или гипертрофией небных миндалин помимо пяти основных типов (*Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria* и *Fusobacteria*) появляется и шестой – *Spirochaetes* [18]. Более детальное таксономическое исследование выявило 12 основных родов, характерных для детей с хроническим тонзиллитом и/или гипертрофией небных миндалин: *Actinomyces*, *Rothia*, *Streptococcus*, *Gemella*, *Granulicatella*, *Johnsonella*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Veillonella*, *Neisseria* и *Haemophilus*. В этой работе было показано, что у детей с хроническим тонзиллитом и гипертрофией миндалин лимфоидного глоточного кольца выявлялись следующие виды бактерий: *Haemophilus haemolyticus*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Haemophilus paraphrohaemolyticus*, *Gemella haemolysans*, *Gemella Morbillorum*, *Gemella sanguinis*. Причем у детей с гипертрофией миндалин лимфоидного глоточного кольца уровень инфицирования крипт небных миндалин *Haemophilus parainfluenzae*, *Haemophilus paraphrohaemolyticus*, *Gemella haemolysans*, *Gemella Morbillorum*, *Gemella sanguinis* был выше, чем у детей с хроническим тонзиллитом. Кроме того, у детей с хроническим тонзиллитом в биотопе крипт небных миндалин идентифицировали бактерии рода *Neisseria*: *N. cineria*, *N. flavescens* и *N. elongata/Kingella denitrificans* [18].

Исследование метагенома содержимого крипт миндалин лимфоидного глоточного кольца с помощью технологий high-throughput sequencing позволило обнаружить и некультивируемые бактерии в этом биотопе у детей с их гипертрофией: *Porphyromonas genomospecies PAJ1*, *Tannerella genomospecies TAJ1*, *Abiotrophia genomospecies AAJ1*, *Fusobacterium genomospecies designated FAJ1* и *FAJ2* [18, 32].

Тем самым секвенирование метагенома глоточного биотопа вносит существенное дополнение в представление о разнообразии факультативных и облигатных анаэробных бактерий у здоровых детей и детей с патологией лимфоидного глоточного кольца у детей.

Особое значение в формировании дисбиоза верхних дыхательных путей имеют и интегрированные вирусные геномы [33]. Анализ метагенома дыхательных путей у пациентов с реци-

дивирующей респираторной патологией с помощью ДНК/РНК-препарации и 454-пиросеквенирования позволил выделить бактериальные, вирусные, аутосомные (принадлежащие человеку) и недифференцированные контиги [34]. Показано, что удельный вес выделенных вирусных контиг составляет более 40%, что сопоставимо с бактериальными. В то же время идентифицировать вирусные геномы с помощью NCBI/Blast удалось в 4% случаев. В расшифрованном вирусном контенте доминировали *Paramyxoviridae* (38%), далее *Picornaviridae* (31%) и *Orthomyxoviridae* (21%). В семействе *Paramyxoviridae* в 80% случаев выделялись человеческие респираторно-синцитиальные вирусы (hRSV), в семействе *Picornaviridae* доминировали риновирусы А (65%) и риновирусы С (35%), а в семействе *Orthomyxoviridae* 96% контиг были гомологичны геному вируса гриппа А [34]. Представленные результаты согласуются с данными других исследователей, посвященными вирусной составляющей метагенома дыхательных путей человека [35, 36].

Тем самым, интегрированные в метагеном дыхательных путей вирусы могут вносить существенное значение в поддержании воспаления и дисбиоза.

**Механизмы формирования дисбиоза верхних дыхательных путей у детей и реализация патогенного влияния микробиоты на организм ребенка.** Интеграция макроорганизма и микроорганизмов базируется на принципе саморегуляции, в основе которой лежат межклеточные контакты, в том числе бактериальных и аутосомных клеток. Между микробиомом и аутогеномом существуют тесные взаимосвязи, которые обозначаются как генно-метаболические сети, определяющие жизнедеятельность человека и микроорганизмов [37]. Особое значение микробиоты человека связано с эпигенетическим модулированием генетически детерминированных процессов [22, 38].

Механизм формирования микробиоценоза человека связано с первичной колонизацией плода/ребенка от матери [39, 40]. Для кишечной микрофлоры доказан механизм бактериальной транслокации [41]. Демонстрируется контакт микрофлоры матери с плодом *in utero* (через фетоплацентарный барьер). Было показано, что к 24 неделям гестации в кишечнике человека появляются бифидобактерии и кишечные палочки. Эти же микробы были обнаружены в тонкой кишке и в желудке. В рабо-

те И.А. Бочкова (2004) была установлена идентичность кишечных штаммов новорожденного и материнской флоры. Штаммы бифидобактерий в первые дни жизни ребенка соответствуют таковым его матери и в основном представлены свойственными взрослым штаммами *Bifidobacterium adolescentis* и *Bifidobacterium breve* [42]. Исследование R. Martin (2005) показало, что молочнокислые бактерии могут быть выделены из плаценты, амниотической жидкости, пуповины [43].

Микробиоценоз респираторного тракта формируется в перинатальный и неонатальный периоды, в том числе и за счет приобретения микрофлоры родовых путей матери. Исследования сопоставимости микробиома носовых ходов новорожденных детей и их матерей с помощью амплификации гена бактериального шаперона-60 (срп60) показало наличие не более пяти общих для матерей и их детей родов из филумов *Actinobacteria*, *Firmicutes* и *Proteobacteria* [44]. Причем авторы показали прогрессивное изменения микробиома носоглотки ребенка в течении первого года жизни. Кроме того, было выявлено, что соотношение филумов и родов носоглоточного микробиома младенцев было наиболее близко к материнскому в двухмесячном возрасте. В этот период доминирующими типами и родами были *Actinobacteria* (роды *Corynebacterium*, *Rhodococcus* и *Propionibacterium*); *Firmicutes* (основные роды *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Dolosigranulum* и *Veillonella*), и протеобактерии (основной род *Moraxella*). Причем удельный вес рода *Dolosigranulum* в микробиоме носоглотки в этот период достигал 60%. Но к концу первого года жизни в носоглотке детей доминировал род *Staphylococcus* (46%).

Показано, что рождение детей методом кесарева сечения, недоношенность, трансплacentарные инфекции, длительное нахождение детей на аппарате искусственной вентиляции легких, применение антибиотиков в ранний неонатальный период, раннее искусственное вскармливание меняют микроэкологию носо- и ротоглотки в сторону увеличения представителей условно-патогенной микрофлоры, а также к увеличению общего числа таксонов к концу первого года жизни, оцененных по метагенному профилю [39, 40, 45].

Кроме того, доказано, что геномы прокариот являются чрезвычайно динамичными в пределах одного вида за счет гибких, вспомогатель-

ных (чаще всего операционных) генов [37, 46]. Важное значение в формировании динамичности генома прокариот имеют такие генетические структуры, как мобильные элементы, плазмиды, интегроны, профаги, *CRISPR* локусы, различные регуляторные элементы. Причем данные генетические элементы могут переносить генетический материал как внутри одной бактериальной клетки, так и от прокариоты к прокариоте и от прокариоты к эукариоте [37]. Генетическая мобильность прокариот, в том числе и за счет бактериально-вирусных и вирусно-вирусных фагов, может быть дополнительным условием формирования дисбиоза верхних дыхательных путей у детей в постнатальном периоде [47].

Проведенное нами сравнительное исследование микрофлоры носо- и ротоглотки у детей раннего возраста с гипертрофией миндалин лимфоидного глоточного кольца и их матерей показало положительные корреляционные связи по нескольким представителям патогенной и условно-патогенной микрофлоры, выделенной со слизистых носа и глотки: *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* [48].

Исследователи, изучающие динамику в микробиоме носоглоточного биотопа у детей первого года жизни, отмечают прогрессивное увеличение в течение года представителей условно-патогенной микрофлоры *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* и *Moraxella catarrhalis* [44, 49]. Причем только для *Staphylococcus aureus* показана положительная корреляция с материнским носоглоточным биотопом.

Представители рода *Staphylococcus*, семейства *Staphylococcaceae* (класс *Bacilli*, тип *Firmicutes*) имеют ряд факторов патогенности: адгезины (взаимодействия со слизистой), капсула (защита от фагоцитоза), белок А (неспецифическое связывание Fc-фрагмента молекул IgG, свойства суперантигена), ферменты – В-лактамаза, коагулаза (образование фибриновой пленки, защищающей микроорганизм), а также гиалуронидаза, дезоксирибонуклеаза, фибринолизин, стафилокиназа [50]. Для антигенов стафилококка присуща еще одна характерная способность – либерация гистамина. Наличие у представителей семейства *Staphylococcaceae* суперантигенов и способности к либерации гистамина является основой для развития аллергического воспаления.

Другие представители транзитной микрофлоры носоглоточного биотопа детей (рода *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Micrococcus*, *Haemophilus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*) могут образовывать клинически значимые количества гистамина и через это быть триггерами атопического воспаления и патологии носа, глотки и бронхов [51].

Тем самым, описанный выше Dysbiosis-Inflammation Cycle [3] может манифестировать с первичного дисбиоза носоглотки [52, 53], развившегося с участием материнского микроокружения, способа родоразрешения, патологии перинатального периода, особенностей вскармливания на первом году жизни и факторов макроокружения (в том числе вирусной нагрузки на ребенка) [47].

Одним из ярких клинических проявлений роли пролонгированного аллергического воспаления, ассоциированного с первичными дисбиотическими нарушениями на слизистых оболочках носа и глотки, является гипертрофия миндалин лимфоидного глоточного кольца. Для данной патологии показано, в том числе и методами секвенирования метагенома крипт небных миндалин, увеличение массы условно-патогенной и патогенной микрофлоры из родов *Streptococcus* и *Haemophilus* [32]. Кроме того, авторами показан высокий иммунный ответ по IgE типу к представителям данных микробных родов с одновременным увеличением провоспалительных цитокинов в назофарингеальном смыве у детей с гипертрофией миндалин лимфоидного глоточного кольца [48, 54]. Поэтому не вызывает сомнения роль дисбиотических нарушений в формировании гипертрофии миндалин лимфоидного глоточного кольца у детей.

**Практическое применение современных методов оценки микробиома верхних дыхательных путей у детей.** Представленные данные были получены с помощью высокопроизводительных методов секвенирования метагенома носа, глотки, крипт глоточных и небных миндалин. Данный метод основан на амплификации переменных фрагментов (V3–V6) гена *16S rRNA*, находящегося только в геноме прокариот [15], с дальнейшим секвенированием полученных ампликонов. Данный метод информативен для научных исследований, в том числе и для внесения новых данных о нуклеотидных последовательностях тех или иных прокариот в базы данных, посвященных бактериальным и вирусным геномам (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>

[Blast.cgi?PAGE\\_TYPE=BlastSearch&BLAST\\_SPEC=MicrobialGenomes](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/)), но для рутинной диагностики дисбиоза верхних дыхательных путей этот метод не подходит.

Культуральный метод является «золотым стандартом» для идентификации микроорганизмов, в тоже время в микробиоценозе носа и глотки этот метод определяет лишь высокоvegetирующую микрофлору. Имеются объективные сложности в идентификации облигатных анаэробов носа и глотки. Эти проблемы могут быть решены с помощью рутинных молекулярно-генетических методов, в основе которых будет лежать двухраундовая мультиплексная (мультипраймерная) ПЦР. Одним из таких решенных примеров является ПЦР-диагностика дисбиоза влагиалища (тест-система «Фемофлор», ООО «ДНК-технологии», г. Москва). В данной тест-системе с помощью первичных праймеров используется накопление переменного участка гена *16S rRNA*, с дальнейшей мультипраймерной амплификацией родо- и видоспецифичных генетических маркеров дисбиоз-ассоциированных бактерий. На сегодняшний момент в отношении микробиома носоглотки детей раннего возраста еще не накоплены знания о роли облигатных анаэробных микроорганизмов в формировании Dysbiosis-Inflammation Cycle. Молекулярно-генетические исследования лишь подтвердили значимость *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pyogenes* и *Pseudomonas aeruginosa* в формировании патологии верхних дыхательных путей у детей [20]. С этих позиций мультипраймерная ПЦР может быть направлена на выявление генетических маркеров этих микроорганизмов.

Другой методический подход для оценки формирования дисбиоза верхних дыхательных у детей основан на исследовании секреторных антител к антигенам прокариот глоточного биотопа в назофарингеальном секрете. Нами получен патент Российской Федерации на способ диагностики дисбиотических нарушений в глоточном биотопе у детей [55, 56]. В основе данного способа лежит иммуноферментный анализ секреторных антител к значимым для формирования дисбиоза слизистых оболочек верхних дыхательных путей микроорганизмам: *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*,

*Haemophilus paraphrohaemolyticus*, *Streptococcus pneumoniae*, *S. pseudopneumoniae*, *S. intermedius*, *S. pyogenes*, *S. agalactiae* – в секрете верхних дыхательных путей. Известно, что индукция антител происходит в момент персистенции микроорганизма с последующей колонизацией новых биотопов слизистых оболочек человека [57]. Именно эта фаза является наиболее существенной для Dysbiosis-Inflammation Cycle, и она связана с патогенезом хронических воспалительных заболеваний верхних отделов респираторного тракта у детей [3].

### Заключение

Таким образом, микробиом глоточного биотопа у детей раннего дошкольного возраста продолжает изучаться. Показан широкий диапазон колебаний удельных весов различных родов микроорганизмов пяти основных типов: *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* и *Fusobacteria* – в микробиоценозе носа и глотки у детей.

Выявлены популяционные различия в распределении удельных весов вышеперечисленных типов, но с обязательным доминированием *Firmicutes*.

Доказана роль факторов окружающей среды и времени года на представительство в этих биотопах типов *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*.

Эффективная диагностика дисбиоза верхних дыхательных путей у детей может быть основой для специфической профилактики гипертрофии миндалин лимфоидного глоточного кольца, хронического тонзиллита (и заболеваний, ассоциированных с ним), а также аллергической патологии носа, глотки, гортани и бронхов.

Существенное значение имеет создание клинической тест-системы на основе молекулярно-генетических технологий для оценки дисбиоза верхних дыхательных путей у детей. ●

### Литература / References:

- Bondarenko VM, Gracheva NM, Matsulevich TV. The dysbacteriosis of the intestine in adults. M.: KMK Scientific Press, 2003, 220. Russian (Бондаренко В.М., Грачева Н.М., Матсулевич Т.В. Дисбактериозы кишечника у взрослых. М.: KMK Scientific Press. 2003, 220 с.)
- Bogaert D, Keijsers B, Huse S, Rossen J, Veenhoven R, van Gils E, Bruin J, Montijn R, Bonten M, Sanders E. Variability and diversity of nasopharyngeal microbiota in children: a metagenomic analysis. PLoS One. 2011; Feb 28; 6(2): 17035-17043.
- Dickson RP, Erb-Downward JR, Martinez FJ, Huffnagle GB. The Microbiome and the Respiratory Tract. ARI. 2015; 22 October: 13:48.
- Dickson RP, Martinez FJ, Huffnagle GB. The role of the microbiome in exacerbations of chronic lung diseases. Lancet. 2014; 384: 691–702.
- Benninger M, Brook I, Bernstein JM, Casey JR, Roos K, Marple B, Farrar JR. Bacterial interference in upper respiratory tract infections: a systematic review. Am J Rhinol Allergy. 2011; 25: 82–88.
- Rajeschwaray A, Rai S, Somayaj G. Bacteriology of symptomatic adenoids in children. N Am J Med Sci. 2013; 5: 113-118.
- Albitsky VYu., Baranov AA. Frequently ill children. Clinical and social aspects. The road to recovery. Saratov: Izd Saratov University press, 1986, 184 p. Russian (Альбицкий В. Ю., Баранов А.А. Часто болеющие дети. Клинико-социальные аспекты. Пути оздоровления. Саратов: Изд-во Саратовского ун-та, 1986, 184 с.)
- Карпова ЕР, Тулупов ДА. Chronic adenoiditis in children: manual for physicians. Moscow: RMAPO, 2009. 53 p. Russian (Карпова Е.П., Тулупов Д.А. Хронический аденоидит у детей: пособие для врачей. М.: Изд-во РМАПО, 2009. 53 с.)
- Kutenkov NE. The role of atopic sensitization to conditional-pathogenic microflora in the pathogenesis of recurrent respiratory infections in children of early and preschool children: Avtoref. dis. kand. med. sciences. Kemerovo, 2012. 25 p. Russian (Кутенкова Н. Е. Роль атопической сенсибилизации к условно-патогенной микрофлоре в патогенезе рецидивирующих респираторных инфекций у детей раннего и дошкольного возраста: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Кемерово, 2012, 25 с.)
- Romantsev MG, Ershov FI. Frequently ill children: modern pharmacotherapy. M.: GEOTAR-Media, 2006. 192 p. Russia (Романцев М. Г., Ершов Ф. И. Часто болеющие дети: современная фармакотерапия. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. 192 с.)
- Teo Shu M, Mok D, Pham K, Kusel M, Serralha M. The infant nasopharyngeal microbiome impacts severity of lower respiratory infection and risk of asthma development. Cell Host Microbe. 2015; 17: 704–715.
- Kushnareva MV, Vinogradova TV, Keshishian ES, Parfenov VV, Koltsov VD, Bragina GS, Parshina OV, Guseva TS. Specific features of the immune status and interferon system of infants. Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics. 2016; 61(3): 12-21. (In Russ.) DOI:10.21508/1027-4065-2016-61-3-12-21. Russian (Кушнарева М.В., Виноградова Т.В., Кешишян Е.С., Парфенов В.В., Кольцов В.Д., Брагина Г.С., соавт. Особенности иммунного статуса и системы интерферона у детей раннего возраста // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2016. Т61, №3. С.12-21. DOI:10.21508/1027-4065-2016-61-3-12-21.)
- Romantsov MG, Melnikova IYu. Sickly children: issues of pharmacotherapy (scientific review) TERRA MEDICA. 2014; 1: 55-69.
- Dickson RP, Erb-Downward JR, Huffnagle GB. The role of the bacterial microbiome in lung disease. Expert Rev. Respir. Med. 2013; 7: 245–257.
- Bonch-Osmolovskaya EA, Ravin NV. Analysis of complete genomes is the next stage in the development of microbiology. Bulletin of the Russian Academy of Sciences. 2010; 11(80): 977-984. Russian (Бонч-Осмоловская Е.А., Равин Н.В. Анализ полных геномов – очередной этап в развитии микробиологии // Вестн. РАН. 2010. № 11(80). С. 977–984.)
- Volkov RA., Skolotnev ES, Elbert EV, Mita ED, Davydov DS, Movsesyants AA, Merkulov VA., Bondarev VP, Borisevich IV. Problems of genotyping of microorganisms. BIOproducts. Prevention, Diagnosis, Treatment. 2016; 16 (3): 139-144. Russian (Волкова Р.А., Сколотнева Е.С.,

Эльберт Е.В., Мыца Е.Д., Давыдов Д.С., Мовсеянц А.А., Меркулов В.А., Бондарев В.П., Борисевич И.В. Проблемы генотипирования микроорганизмов // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2016; 16 (3): 139-144.

17. Shestakov SV. Metagenomics of the human microbiome // *Advances in Modern Biology*. 2010; 6(30): 531–543. Russian (Шестаков С.В. Метагеномика микробиома человека. Усп. соврем. биологии. 2010; 6(30): с.531–543.).
18. Jensen A, Fago-Olsen H, Sorensen CH, Kilian M. Molecular Mapping to Species Level of the Tonsillar Crypt Microbiota Associated with Health and Recurrent Tonsillitis. *PLoS One*. 2013; 8(2): e56418. doi:10.1371/journal.pone.0056418.
19. Liu CM, Cosetti MK, Aziz M, Buchhagen JL, Contente-Cuomo TL. The otologic microbiome: a study of the bacterial microbiota in a pediatric patient with chronic serous otitis media using 16SrRNA gene-based pyrosequencing. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2011; 137: 664–668.
20. Bassis CM, Erb-Downward JR, Dickson RP, Freeman CM, Schmidt TM. Analysis of the upper respiratory tract microbiotas as the source of the lung and gastric microbiotas in healthy individuals. *MBio* 2015; 6: e00037–15.
21. Gao Zh., Yu Kang, Jun Yu, Ren L. Human pharyngeal microbiome may play a protective role in respiratory tract infections. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2014; 12: 144–150.
22. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. The Human Microbiome Project Consortium. *Nature*. 2012; 14 June, V. 486: 201-214. doi: 10.1038/nature11234.
23. Stearns JC, Davidson CJ, McKeon S, Whelan FJ, Fontes ME, Schryvers AB,. Culture and molecular-based profiles show shifts in bacterial communities of the upper respiratory tract that occur with age. *ISME J*. 2015; 9(5): 1268. doi:10.1038/ismej.2015.49.
24. Teo Shu M, Mok D, Pham K, Kusel M, Serralha M, Troy N. The infant nasopharyngeal microbiome impacts severity of lower respiratory infection and risk of asthma development. *Cell Host Microbe*. 2015; 17(5): 704–715. doi: 10.1016/j.chom.2015.03.008.
25. Biesbroek G, Tsvitvadze E, Sanders EA, Montijn R, Veenhoven RH, Keijser BJ. Early respiratory microbiota composition determines bacterial succession patterns and respiratory health in children. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med*. 2014; 190(11): 1283–1292. doi:10.1164/rccm.201407-1240OC.
26. Sakwinska O, Schmid VB, Berger B, Bruttin A, Keitel K, Lepage M, et al. Nasopharyngeal microbiota in healthy children and pneumonia patients. *J Clin Microbiol*. 2014; 52(5): 1590–1594.
27. Ren T, Ulrike DG, Nguyen TNh, Kaitlynn EA, Early StV, Sale M, Winther B, Wu M. 16S rRNA survey revealed complex bacterial communities and evidence of bacterial interference on human adenoids. *Environmental Microbiology*. 2012; 1: 2-13. doi:10.1111/1462-2920.12000.
28. Costello EK, Lauber CL, Hamady M, Fierer N, Gordon JL, Knight R. Bacterial community variation in human body habitats across space and time. *Science*. 2009; 326: 1694–1697.
29. Santee CIA, Nagalingam NA, Faruqi AA, DeMuri GrP, Gern JE, Wald ER, Lynch SV. Nasopharyngeal microbiota composition of children is related to the frequency of upper respiratory infection and acute sinusitis. *Microbiome*. 2016; 4: 34. DOI 10.1186/s40168-016-0179-9.
30. Hilty M, Burke C, Pedro H, Cardenas P, Bush A. Disordered microbial communities in asthmatic airways. *PLoS One*. 2010; 5(1): e8578.
31. Quintero B, Araque M, van der Gaast-de Jongh C, Escalona F, Correa M, Morillo-Puente S. Epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* colonization in healthy Venezuelan children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2011; 30: 7–19.
32. Scholz CF, Poulsen K, Kilian M. Novel molecular method for identification of *Streptococcus pneumoniae* applicable to clinical microbiology and 16S rRNA sequence-based microbiome studies. *J Clin Microbiol*. 2012; 50: 1968–1973.
33. Lee W-M, Grindle K, Pappas T, Marshall DJ, Moser MJ, Beatty EL. High-throughput, sensitive, and accurate multiplex PCR-microsphere flow cytometry system for large-scale comprehensive detection of respiratory viruses. *J Clin Microbiol*. 2007; 45(8): 2626–2634.
34. Lysholm F, Wetterbom A, Lindau C, Darban H, Bjerkner A. Characterization of the Viral Microbiome in Patients with Severe Lower Respiratory Tract Infections, Using Metagenomic Sequencing. *PLoS One*. 2012; 7(2): e30875. doi:10.1371/journal.pone.0030875.
35. Edwards RA, Rohwer F. Viral metagenomics. *Nat Rev Microbiol*. 2005; 3: 504–510.
36. Bochkov YA, Grindle K, Vang F, Evans MD, Gern JE. Improved molecular typing assay for rhinovirus species A, B, and C. *J. Clin. Microbiol*. 2014; 52(7): 2461–71.
37. Rabbi NV, Shestakov SV. The genome of prokaryotes. *Vavilov Journal of Genetics and Plant Breeding*. 2013; 4/2(17): 972-984. Russian (Раввин Н.В., Шестаков С.В. Геном прокариот // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013; 4/2 (17): 972-984.).
38. Kumar H, Lund R, Laiho A, Lundelin K, Ley RE, Isolauri E, Salminen S. Gut microbiota as an epigenetic regulator: pilot study based on whole-genome methylation analysis. *mBio* 2014; 5(6): e02113-14. doi:10.1128/mBio.02113-14.
39. Savchenko TN. Microecology of newborns: author. dis. ... doctor. med. sciences. Volgograd, 2011, 34 p. Russian (Савченко Т.Н. Микроэкология новорождённых: автореф. дис. ... докт. мед. наук. Волгоград, 2011, 34 с.).
40. Malygina OG, Bazhukova TA Influence of antibiotics on formation of microecology in premature children with low and extremely low body weight at birth. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol*. 2014; Jan-Feb; (1): 61-65.
41. Milani C, Mancabelli L, Lugli GA, Duranti S, Turroni F, Ferrario C, Mangifesta M, Viappiani A, Ferretti P, Gorfer V, Tett A, Segata N, van Sinderen D, Ventura M. Exploring Vertical Transmission of Bifidobacteria from Mother to Child. *Appl Environ Microbiol*. 2015; 81: 7078-7087.
42. Bochkov IA, Yurko LP, Yuditskaya NM. The state of the microflora of the large intestine at children of early age (on materials of the outpatient research). *Infectious Diseases*. 2004; 2(3): 83-85. Russian (Бочков И.А., Юрко Л.П., Юдицкая Н.М. Состояние микрофлоры толстой кишки у детей раннего возраста (по материалам амбулаторных исследований). *Инфекционные болезни*. 2004; 2(3): 83-85.).
43. Jiménez E., Fernández L., Marín M.L., Martín R., Odriozola J.M., Nueno-Palop C. Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section. *Curr. Microbiol*. 2005; 51: 270–274.
44. Peterson SW, Knox NC, Golding GR, Tyler SD, Tyler AD. A Study of the Infant Nasal Microbiome Development over the First Year of Life and in Relation to Their Primary Adult Caregivers Using cpn60 Universal Target (UT) as a Phylogenetic Marker. *PLOS ONE*. 2016; 11(3): e0152493. doi: 10.1371/journal.pone.0152493.
45. Shilts MH, Rosas-Salazar C, Tovchigrechko A, et al. Minimally invasive sampling method identifies differences in taxonomic richness of nasal microbiomes in young infants associated with mode of delivery. *Microbial Ecology*. 2016; 71(1): 233-242. doi:10.1007/s00248-015-0663-y.
46. Shestakov SV. How is and than is limited by horizontal gene transfer in bacteria. *Ecological Genetics*. 2007; 2(5): 12-24. Russian (Шестаков С.В. Как происходит и чем лимитируется горизонтальный перенос генов у бактерий. *Экологическая генетика*. 2007, № 2(5), С. 12–24.).
47. Moore HC, Jacoby P, Taylor A, Harnett G, Bowman J, Riley TV. The interaction between respiratory viruses and pathogenic bacteria in the upper respiratory tract of asymptomatic aboriginal and non-aboriginal children. *Pediatr Infect Dis J*. 2010; 29: 540–545.
48. Shabalina EV, Kutenkova NE, Shabalдин AV, Lisachenko GV. Characteristics of immune and cytokine status in children with hypertrophy of lymphoid pharyngeal ring and concomitant allergies to infectious antigens. *Russian Otorhinolaryngology*. 2012; (2): 118-123. Russian (Шабалдина Е.В., Кутенкова Н.Е., Шабалдин А.В., Лисаченко Г.В. Особенности иммунного и цитокинового статусов у детей с гипертрофией лимфо-

- идного глоточного кольца и сопутствующей аллергией к инфекционным антигенам. Российская оториноларингология. 2012; 2: 118-123.).
49. Bogaert D, van Belkum A, Sluiter M, Luijendijk A, de Groot R, Rumke HC, et al. Colonisation by *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* in healthy children. *Lancet*. 2004; 363: 1871–1872. pmid:15183627.
50. Lebon A, Labout JA, Verbrugh HA, Jaddoe VW, Hofman A, van Wamel W, et al. Dynamics and determinants of *Staphylococcus aureus* carriage in infancy: the Generation R Study. *J Clin Microbiol*. 2008; 46: 3517–3521. doi: 10.1128/JCM.00641-08. pmid:18667593.
51. Воропаева, Е.А. Microbial ecology and microbial activity of the posterior pharyngeal wall in children with bronchial asthma: author. dis. kand. biol. sciences. М., 2002, 24 p. Russian (Воропаева, Е. А. Микробная экология и гистаминообразующая активность микроорганизмов задней стенки глотки детей, больных бронхиальной астмой: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2002, 24 с.).
52. Kononen E. Development of oral bacterial flora in young children. *Ann Med* 2000; 32: 107–112.
53. Biesbroek G, Tsivtsivadze E, Sanders EA, Montijn R, Veenhoven RH, Keijser BJ, Early respiratory microbiota composition determines bacterial succession patterns and respiratory health in children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014; 190(11): 1283–92. doi:10.1164/rccm.201407-1240OC.
54. Shabalina EV, Kutenkova NE, Shabalina AV, Tikhonuk VP, Lisachenko GV. The role of sensitization to infectious antigens in the pathogenesis of recurrence of acute respiratory infections in children. *Pediatrics*. 2013; 1: 24-33. Russian (Шабалдина Е.В., Кутенкова Н.Е., Шабалдин А.В., Тихонюк В.П., Лисаченко Г.В. Роль сенсibilизации к инфекционным антигенам в патогенезе рецидивирования острых респираторных инфекций у детей. Педиатрия. 2013; 1: 24-33.).
55. A method of diagnosis of dysbiotic disorders in biopsies of the mucosa of the nose and throat in children of early and preschool age with the ever-recurrent acute respiratory infections. Tyumenev AV, Shabalina EV, Shabalin AV, Ryazantsev SV, Simbirtsev AS. Russian Federation Patent for the Invention №2576839. Russian (Способ диагностики дисбиотических нарушений в биоптатах слизистой носа и глотки у детей раннего и дошкольного возраста с постоянно рецидивирующими острыми респираторными инфекциями. Тюменев А.В., Шабалдина Е.В., Шабалдин А.В., Рязанцев С.В., Симбирцев А.С. Патент Российской Федерации на изобретение №2576839.).
56. A method of determination of proinflammatory interleukins and proatherogenic in nasal secret in children of early and preschool age, to diagnose the etiology of recurrent acute rhinopharyngitis and adenoiditis. Tyumenev AV, Shabalina EV, Shabalin AV, Simbirtsev AS, Ryazantsev SV. The Russian Federation Patent for the Invention №2569054. Russian (Способ определения провоспалительных и проаллергических интерлейкинов в назальном секрете у детей раннего и дошкольного возраста для диагностики этиологии рецидивирующих острых ринофарингитов и аденоидитов. Тюменев А.В., Шабалдина Е.В., Шабалдин А.В., Симбирцев А.С., Рязанцев С.В. Патент Российской Федерации на изобретение №2569054.).
57. Scheplyagina LA. Secretory immune system of the intestine at children of early age. *Pediatrics*. 2011; 3: 48-50. Russian (Щеплягина Л.А. Секреторный иммунитет кишечника у детей раннего возраста. Педиатрия. 2011; 3: 48-50.).

## Сведения об авторах

**Шабалдина Елена Викторовна** – д.м.н., доцент, заведующая кафедрой оториноларингологии и клинической иммунологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России, Кемерово, Россия.

**Вклад в статью:** поиск и анализ литературы, написание текста статьи.

**Шабалдин Андрей Владимирович** – д.м.н., профессор кафедры оториноларингологии и клинической иммунологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России, Кемерово, Россия.

**Вклад в статью:** поиск и анализ литературы, написание текста статьи.

### Authors

**Elena V. Shabalina, MD, PhD, Associate Professor, Head of the Department of Otorhinolaryngology and Clinical Immunology, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation**

**Contribution:** performed literature search and analysis; conceived and wrote the manuscript.

**Andrey V. Shabaldin, MD, PhD, Professor, Department of Otorhinolaryngology and Clinical Immunology, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation**

**Contribution:** performed literature search and analysis; wrote the manuscript.

### Корреспонденцию адресовать:

Шабалдин Андрей Владимирович  
650056, Кемерово, ул. Ворошилова, 22а  
E-mail: weit2007@yandex.ru

### Corresponding author:

Andrey V. Shabaldin,  
Voroshilova street, 22a, Kemerovo, 650056,  
Russian Federation  
E-mail: weit2007@yandex.ru

**Acknowledgements:** There was no funding for this article.

Статья поступила: 13.12.16г.

Принята в печать: 02.02.17г.