

ОСОБЕННОСТИ КИШЕЧНОГО МИКРОБИОМА У ДЕТЕЙ ПРИ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

© Анна Владимировна Полунина¹, Василиса Валерьевна Дудурич², Лаврентий Глебович Данилов^{2, 3}, Александр Евгеньевич Блинов¹, Светлана Леонидовна Баннова¹, Алексей Львович Балашов¹, Валерия Павловна Новикова¹, Ольга Николаевна Варламова¹

¹ Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет. 194100, Санкт-Петербург, Литовская ул., д. 2

² CerbaLab Ltd, Санкт-Петербург, Россия. 199106, Санкт-Петербург, Большой пр. В.О., д. 90, корп. 2, литер 3

³ Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологии. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9

Контактная информация: Анна Владимировна Полунина — аспирант кафедры пропедевтики детских болезней с курсом общего ухода за детьми. E-mail: anna.polunina.doc@icloud.com

Поступила: 27.09.2022

Одобрена: 17.10.2022

Принята к печати: 07.11.2022

РЕЗЮМЕ. Изменения состава микробиоты кишечника оказывают серьезное влияние на здоровье человека. Существует большой интерес к выявлению изменений состава микробиоты, характеристике и пониманию факторов, которые инициируют эти изменения. Обнаружено, что у детей частота гастроэнтерологических симптомов при этом заболевании, по данным разных авторов, составляет от 5 до 66 %. У взрослых диарея встречается с частотой 7,2–8,2 %, тошнота или рвота — 7,1–8,5 %, боль в животе — 2,0–3,4 %. Предполагается, что вирус SARS-CoV-2 повреждает кишечную стенку и повышает кишечную проницаемость, благодаря чему вирусные частицы попадают в кровь и вызывают тяжелое течение заболевания и изменение микробиоты. Это связывают с обнаружением вируса в кишечнике и нарушением состава кишечной микробиоты. В статье представлены результаты секвенирования 16S рРНК кала для оценки микробного разнообразия кишечника и ПЦР кала у детей при новой коронавирусной инфекции. Проведена оценка микробиома кала и ПЦР кала к SARS-CoV-2 у 35 детей от 3 до 14 лет с положительным ПЦР-мазком из зева и носа к SARS-CoV-2, из них 21 мальчик и 14 девочек. Забор кала для исследования проводился при установлении диагноза, через 2 недели после начала наблюдения и через 1 месяц.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: дети; вирус SARS-CoV-2; коронавирусная инфекция; микробиота кишечника; COVID-19.

FEATURES OF THE INTESTINAL MICROBIOME IN CHILDREN WITH A NEW CORONAVIRUS INFECTION

© Anna V. Polunina¹, Vasilisa V. Dudurich², Lavrenty G. Danilov^{2, 3}, Alexander E. Blinov¹, Svetlana L. Bannova¹, Alexei L. Balashov¹, Valeria P. Novikova¹, Olga N. Varlamova¹

¹ Saint-Petersburg State Pediatric Medical University. Litovskaya st., 2. Saint-Petersburg, 194100

² CerbaLab Ltd, Saint-Petersburg, Russia. Bolshoy pr. V.O., 90, letter 3, building 2. Saint-Petersburg, 199106

³ Saint-Petersburg State University, Department of Genetics and Biotechnology. Universitetskaya emb., 7–9. Saint-Petersburg, 199034

Contact information: Anna V. Polunina — PhD student of the Department of Propaedeutics of Childhood Diseases with a course in general childcare. E-mail: anna.polunina.doc@icloud.com

Received: 27.09.2022

Revised: 17.10.2022

Accepted: 07.11.2022

ABSTRACT. Changes in the composition of the gut microbiota have a major impact on human health. There is great interest in identifying changes in the composition of the microbiota, characterizing and

understanding the factors that initiate these changes. It was found that in children the frequency of gastroenterological symptoms in this disease, according to different authors, ranges from 5 to 66%. In adults, diarrhea occurs with a frequency of 7.2–8.2%, nausea or vomiting 7.1–8.5%, abdominal pain 2.0–3.4%. The SARS-CoV-2 virus is thought to damage the intestinal wall and increase intestinal permeability, allowing viral particles to enter the bloodstream and cause severe disease and alteration of the microbiota. This is associated with the detection of the virus in the intestine and the disruption of the composition of the intestinal microbiota. The article presents the results of fecal 16S rRNA sequencing to assess intestinal microbial diversity and fecal PCR in children with a new coronavirus infection. The fecal microbiome and stool PCR for SARS-CoV-2 were assessed in 35 children from 3 to 14 years old with a PCR-confirmed throat swab of a new coronavirus infection, including 21 boys and 14 girls. Fecal sampling for the study was carried out at the time of diagnosis, 2 weeks after the start of observation, and 1 month later.

KEY WORDS: children; SARS-CoV-2 virus; coronavirus infection; intestinal microbiota; COVID-19.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение особенностей течения инфекции COVID-19 у детей сегодня крайне актуально [2]. Обнаружено, что у детей частота гастроэнтерологических симптомов при этом заболевании, по данным разных авторов, составляет от 5 до 66% [4, 6–8]. У взрослых диарея встречается с частотой 7,2–8,2%, тошнота или рвота — 7,1–8,5%, боль в животе — 2,0–3,4% [11]. Это связывают с обнаружением вируса в кишечнике и нарушением состава кишечной микробиоты [3, 5, 13]. Предполагается, что вирус SARS-CoV-2 повреждает кишечную стенку и повышает кишечную проницаемость, благодаря чему вирусные частицы попадают в кровь и вызывают тяжелое течение заболевания и изменения проницаемости кишечной стенки [10].

Микробиота кишечника человека состоит из 10^{13} – 10^{14} микроорганизмов, коллективный геном которых («микробиом») содержит, по крайней мере, в 100 раз больше генов, чем наш собственный геном [9]. В первую очередь, в кишечных бактериях здоровых людей преобладают *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* и *Bacteroidetes* [1, 12]. В толстой кишке находится чрезвычайно высокая плотность бактерий из семейств *Bacteroidaceae*, *Prevotellaceae*, *Rikenellaceae*, *Lachnospiraceae* и *Ruminococcaceae*. Микробиота кишечника играет ключевую роль в здоровье человека благодаря своим защитным, трофическим и метаболическим действиям. Изменения состава микробиоты кишечника оказывают серьезное влияние на здоровье человека. Существует большой интерес к выявлению изменений состава микробиоты, характеристике и пониманию факторов, которые инициируют эти изменения. Только недавно начались исследования, в которых изучается, как вирусные инфекции легких оказывают влияние на микробиоту кишечника. Ученые также заинтересо-

ны в двунаправленности связи — существует ли возможность воздействия на микробиоту, и вследствие изменения состава микробиоты опосредованно воздействовать на вирус в легких. В 2018 году группа ученых во главе с Helen T. Groves провела строго контролируемое исследование, в котором продемонстрировали, как микробиота и среда кишечника изменяются после вирусных инфекций легких, и эти изменения не наблюдаются после вакцинации против такого же вируса [5].

ЦЕЛИ ИССЛЕДОВАНИЯ

На основании секвенирования 16S рРНК кала оценить микробное разнообразие кишечника и ПЦР кала к SARS-CoV-2 при новой коронавирусной инфекции у детей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведена оценка микробиома кала и ПЦР кала к SARS-CoV-2 у 35 детей от 3 до 14 лет с подтвержденной ПЦР мазка из зева новой коронавирусной инфекцией, из них 21 мальчик и 14 девочек. Забор кала для исследования проводился при установлении диагноза, через 2 недели после начала наблюдения и через 1 месяц. Исследования кала на микробиоту методом секвенирования 16S рРНК и ПЦР диагностика кала проводились на базе генетической лаборатории «СЕРБАЛАБ».

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате сравнения микробиоты здоровых детей и детей с новой коронавирусной инфекцией методом микробного разнообразия (индекса Шеннона) с использованием теста Вилкоксона были найдены статистически достоверные различия (p -value=0,003979) (рис. 1).

Проведено выявление таксонов, преобладание которых характерно на уровне ро-

дов, в результате: для группы детей, переносящих COVID-19, характерно преобладание групп организмов *trichaseae_UCG-033*, *Family_XIII_UCG-001*; для группы здоровых детей характерно преобладание групп организмов *Anaerofilum*, *Isobaculum*, *Orrella*, *Necropsobacter* (рис. 2).

У 27 детей из 35 был выявлен SARS-CoV-2 в кале на фоне острого течения новой коронавирусной инфекции, на момент выздоровления у 5 детей был обнаружен вирус SARS-CoV-2 в стуле методом ПЦР. Не было найдено статистически значимого биоразнообразия (индекса Шеннона) между группами детей, выделяющих вирус SARS-CoV-2 и не выделяющих вирус на фоне острого течения COVID-19, однако при сравнении микробиоты детей, выделяющих SARS-CoV-2 в стуле и не выделяющих SARS-CoV-2 на 14-е сутки от момента заболевания COVID-19 методом микробного разнообразия (индекса Шеннона) с использованием теста Вилкоксона были найдены статистически достоверные различия. ($p\text{-value} = 0,008431$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. У детей, переносящих легкую и средне-тяжелые формы новой коронавирусной инфекции, отмечены значимые различия на уровне

родов и повышение микробного разнообразия в сравнении со здоровыми детьми.

2. На фоне течения новой коронавирусной инфекции значимых изменений кишечной микробиоты не наблюдается.

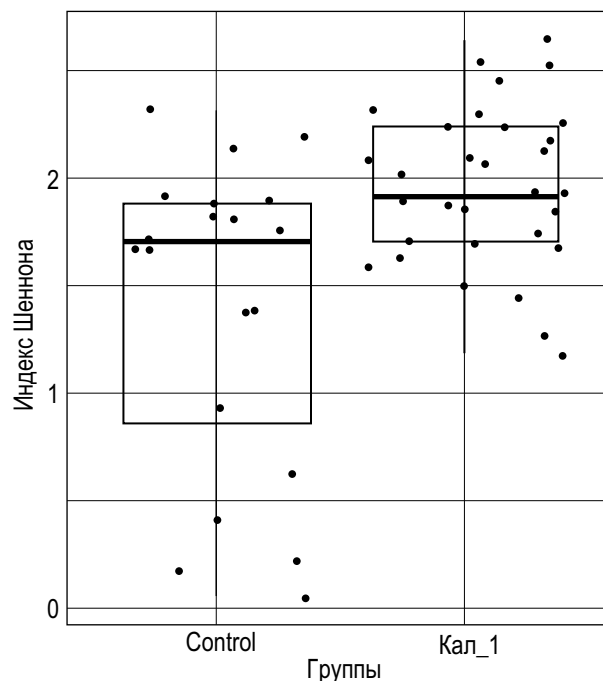


Рис. 1. Сравнение индексов разнообразия микробиоты здоровых детей и детей, переносящих инфекцию SARS-CoV-2

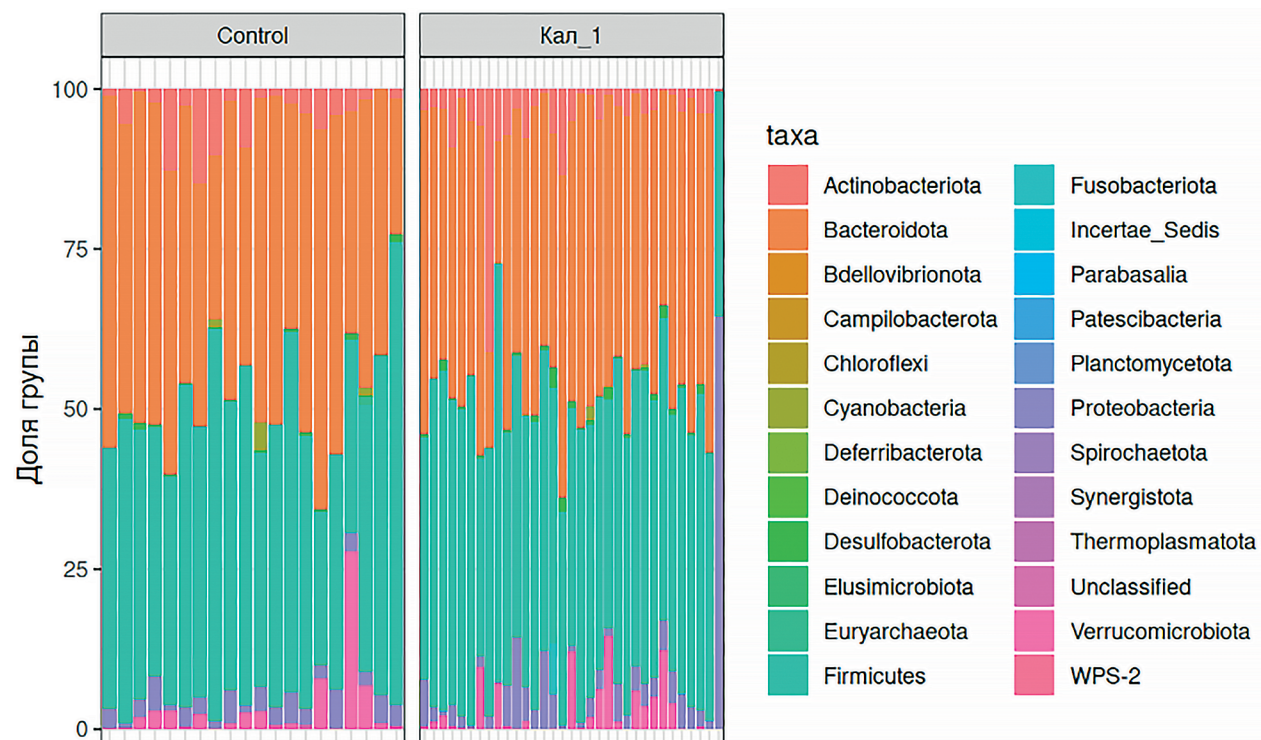


Рис. 2. Сравнение микробиома здоровых детей с микробиомом детей, переносящих инфекцию SARS-CoV-2

3. Значимые изменения кишечной микробиоты отмечены через месяц после выздоровления.

4. Наличие вируса SARS-CoV-2 в стуле вызывает значимые изменения микробиоты, проявляющиеся в снижении микробного разнообразия.

5. Требуется дальнейшие исследования для выявления факторов, оказывающих воздействие на изменение кишечной микробиоты при COVID-19 у детей.

ВКЛАД АВТОРОВ / AUTHORS' CONTRIBUTIONS

Все авторы в равной степени внесли свой вклад в рукопись, рассмотрели ее окончательный вариант и дали согласие на публикацию.

All authors equally contributed to the manuscript, reviewed its final version, and agreed to publication.

ИНФОРМАЦИЯ О ФИНАНСИРОВАНИИ / FUNDING INFORMATION

Исследование проводилось при финансовой поддержке АО «Биннофарм Групп».

The study was conducted with the financial support of Binnopharm Group JSC.

ЛИТЕРАТУРА

1. Богданова Н.М., Пеньков Д.Г., Кравцова К.А., Волкова И.С. Состояние микроэкологии кишечника и активность местного иммунного ответа в возрастном аспекте. *Детская медицина Северо-Запада*. 2021; 9(3): 40–53.
2. Иванов Д.О., Чернова Т.М., Павлова Е.Б. и др. Коронавирусная инфекция. *Педиатр*. 2020; 11 (3):109–17. DOI: 10.17816/PED113109-117.
3. Новикова В.П., Полунина А.В. Состав кишечной микробиоты при COVID-инфекции (научный обзор). *Профилактическая и клиническая медицина*. 2020; 4 (77): 81–6.
4. Новикова В.П., Полунина А.В., Кликунова К.А. Желудочно-кишечные проявления при новой коронавирусной инфекции. *Обзор литературы и метаанализ*. *Университетский терапевтический вестник*. 2022; 4(4): 5–15.
5. Новикова В.П., Хавкин А.И., Горелов А.В., Полунина А.В. Ось «легкие-кишечник» и COVID-инфекция. *Инфекционные болезни*. 2021;19 (1): 91–6.
6. Полунина А.В., Шакмаева М.А., Иванов Д.О. и др. Гастроэнтерологические симптомы при новой коронавирусной инфекции у детей зависят от цитокинового статуса. В сборнике: *Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей*. Под общей редакцией проф. С.В. Бельмера и проф. Л.И. Ильенко. 2022: 66–8.
7. Попова Р.В., Руженцова Т.А., Хавкина Д.А. и др. Нарушения функции желудочно-кишечного тракта при COVID-19 у детей. *Проблемы особо опасных инфек-*

ций. 2020; (3): 154–7. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-3-154-157>.

8. Gupta R., Beg S., Jain A., Bhatnagar S. Paediatric COVID-19 and the GUT. *Indian J Med Microbiol*. 2020; 38(3 & 4): 261–4. DOI: 10.4103/ijmm.IJMM_20_331.
9. Perlot T., Penninger J. M. ACE2 — from the renin-angiotensin system to gut microbiota and malnutrition. *Microbes Infect*. 2013; 15: 866–73. DOI: 10.1016/j.micinf.2013.08.003
10. Stefany Guimarães Sousa, Antônio Kleiton de Sousa, Cynthia Maria Carvalho Pereira et al. SARS-CoV-2 infection causes intestinal cell damage: Role of interferon's imbalance. *Cytokine*. 2022 Apr; 152: 155826. Published online 2022 Feb 10. DOI: 10.1016/j.cyto.2022.155826.
11. Sultan S., Altayar O., Siddique S.M. et al. AGA Institute rapid review of the gastrointestinal and liver manifestations of COVID-19, meta-analysis of international data, and recommendations for the consultative management of patients with COVID-19. *Gastroenterology*. 2020; 159(1): 320–34. e27.
12. Villanueva-Millán M.J., Pérez-Matute P., Oteo J.A. Gut microbiota: a key player in health and disease. A review focused on obesity. *J. Physiol. Biochem*. 2015; 71 (3): 509–25. DOI: 10.1007/s13105-015-0390-3.
13. Zhendong Wang, Chen Bai, Tingyao Hu et al. Emerging trends and hotspot in gut — lung axis research from 2011 to 2021: a bibliometrics analysis. *Biomed Eng Online*. 2022; 21: 27. Published online 2022 Apr 21. DOI: 10.1186/s12938-022-00987-8.

REFERENCES

1. Bogdanova N.M., Pen'kov D.G., Kravcova K.A., Volkova I.S. Sostoyanie mikroekologii kishechnika i aktivnost' mestnogo immunnogo otveta v vozrastnom aspekte [The state of intestinal microecology and the activity of the local immune response in the age aspect]. *Detskaya medicina Severo-Zapada*. 2021; 9(3): 40–53. (in Russian).
2. Ivanov D.O., Chernova T.M., Pavlova E.B. i dr. Koronavirusnaya infekciya [Coronavirus infection]. *Pediatr*. 2020; 11(3): 109–17. DOI: 10.17816/PED113109-117. (in Russian).
3. Novikova V.P., Polunina A.V. Sostav kishechnoj mikrobioty pri COVID-infektsii (nauchnyj obzor). *Profilakticheskaya i klinicheskaya meditsina*. 2020; 4(77): 81–6. (in Russian).
4. Novikova V.P., Polunina A.V., Klikunova K.A. Zheludochno-kishechnye proyavleniya pri novoy koronavirusnoj infekcii. *Obzor literatury i metaanaliz* [Gastrointestinal manifestations in a new coronavirus infection]. *Universitetskij terapevticheskij vestnik*. 2022; 4(4): 5–15. (in Russian).
5. Novikova V.P., Khavkin A.I., Gorelov A.V., Polunina A.V. Os' «legkie-kishechnik» i COVID-infektsiya [The lung-gut axis and COVID infection]. *Infektsionnye bolezni*. 2021; 19 (1): 91–6. (in Russian).

6. Polunina A.V., Shakmaeva M.A., Ivanov D.O. i dr. Gastroenterologicheskie simptomy pri novoj koronavirusnoj infektsii u detej zavisyat ot tsitokinovogo statusa [Gastroenterological symptoms in children with a new coronavirus infection depend on the cytokine status]. V sbornike: Aktual'nye problemy abdominal'noj patologii u detej. Pod obshhej redaktsiej prof. S.V. Bel'mera i prof. L.I. Il'enko. 2022: 66–8. (in Russian).
7. Popova R.V., Ruzhentsova T.A., Khavkina D.A. i dr. Narusheniya funktsii zheludочно-kishechnogo trakta pri COVID-19 u detej [Gastrointestinal disorders in children with COVID-19]. Problemy osobo opasnykh infektsij. 2020; (3): 154–7. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2020-3-154-157>. (in Russian).
8. Gupta R., Beg S., Jain A., Bhatnagar S. Paediatric COVID-19 and the GUT. Indian J Med Microbiol. 2020; 38(3 & 4): 261–4. DOI: 10.4103/ijmm.IJMM_20_331.
9. Perlot T., Penninger J. M. ACE2 — from the renin-angiotensin system to gut microbiota and malnutrition. Microbes Infect. 2013; 15: 866–73. DOI: 10.1016/j.micinf.2013.08.003
10. Stefany Guimarães Sousa, Antônio Kleiton de Sousa, Cynthia Maria Carvalho Pereira et al. SARS-CoV-2 infection causes intestinal cell damage: Role of interferon's imbalance. Cytokine. 2022 Apr; 152: 155826. Published online 2022 Feb 10. DOI: 10.1016/j.cyt.2022.155826.
11. Sultan S., Altayar O., Siddique S.M. et al. AGA Institute rapid review of the gastrointestinal and liver manifestations of COVID-19, meta-analysis of international data, and recommendations for the consultative management of patients with COVID-19. Gastroenterology. 2020; 159(1): 320–34. e27.
12. Villanueva-Millán M.J., Pérez-Matute P., Oteo J.A. Gut microbiota: a key player in health and disease. A review focused on obesity. J. Physiol. Biochem. 2015; 71 (3): 509–25. DOI: 10.1007/s13105-015-0390-3.
13. Zhendong Wang, Chen Bai, Tingyao Hu et al. Emerging trends and hotspot in gut — lung axis research from 2011 to 2021: a bibliometrics analysis. Biomed Eng Online. 2022; 21: 27. Published online 2022 Apr 21. DOI: 10.1186/s12938-022-00987-8.