

# Современные представления о микробиоте дыхательных путей

**Сергей Сидоренко**

Детский научно-клинический центр инфекционных болезней  
Кафедра микробиологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова  
Санкт-Петербург

# Терминология

- Микробиом

- Микробиота

## Современные технологии в микробиологии

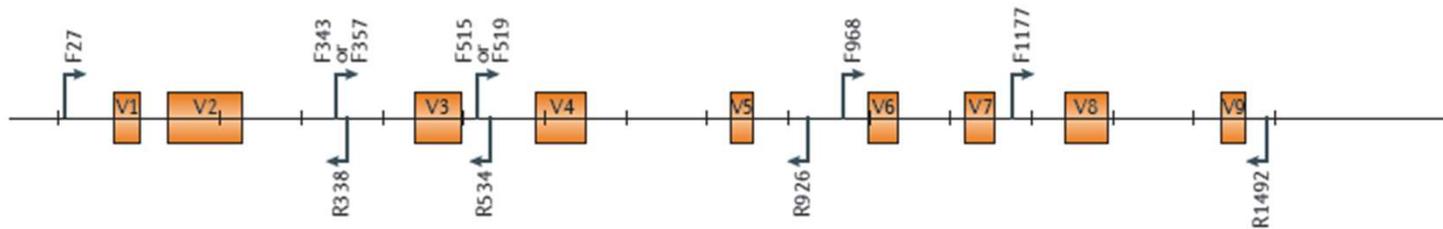
- Появление культурально-независимых методов детекции и идентификации бактерий
  - Основаны на анализе консервативных генов, прежде всего 16S рРНК

## Современные методы изучения микробиоты

Культурально-независимые методы детекции и идентификации бактерий

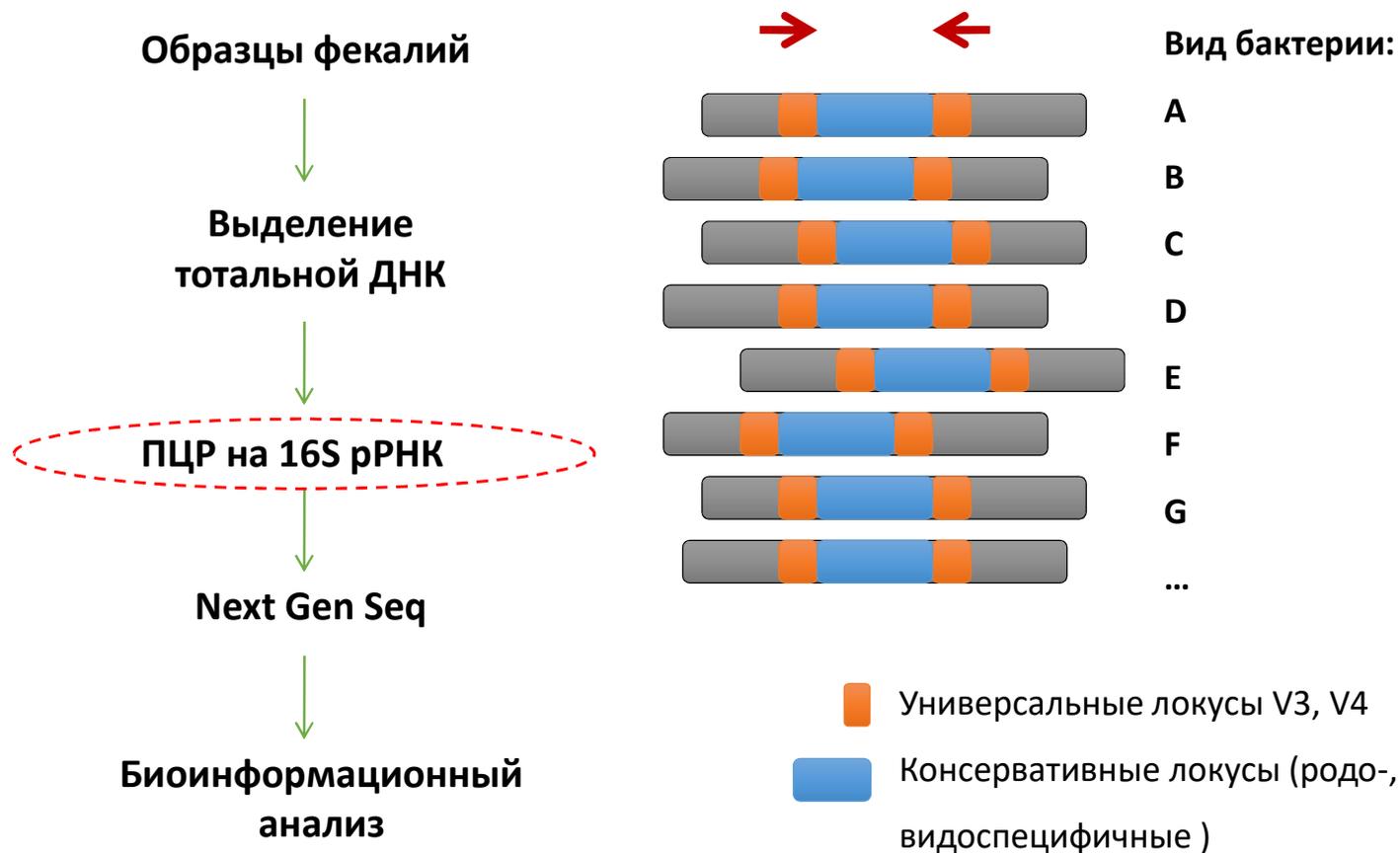
- Next-Gen Sequencing
  - Секвенирование пула 16S rRNA в образце;
  - «Short-gun» секвенирование – секвенирование всего генетического материала в образце;
- Биоинформатика (анализ данных MET – NGS, специфические алгоритмы и статистики)
  - Реконструкция метаболизма/метаболических связей → метаболом

# Структура гена 16S рибосомальной РНК бактерий

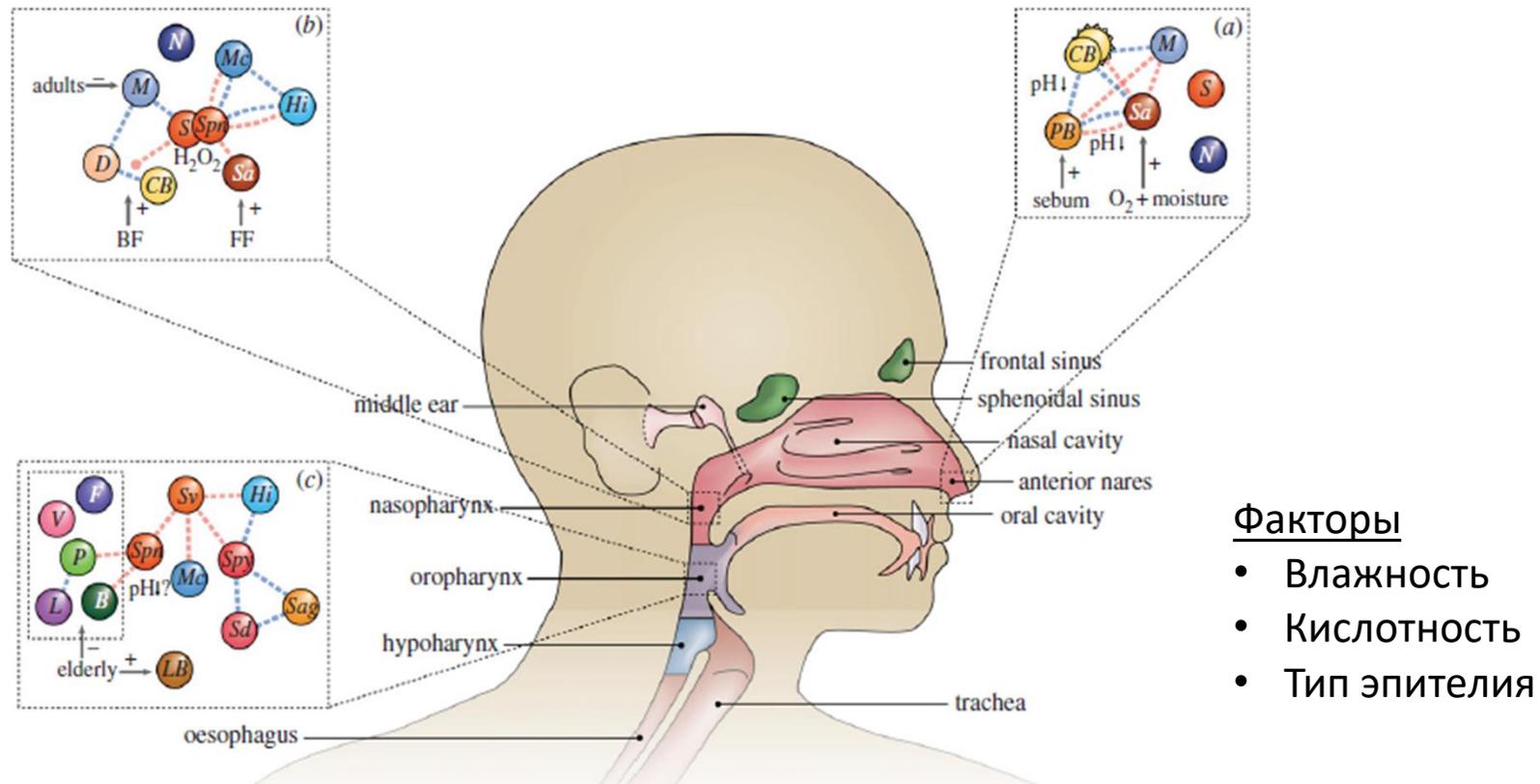


- Ген, кодирующий 16S рРНК  $\approx$  1500 бп.
- Сходен с геном 18S рРНК эукариот
- Консервативные участки используют в качестве участков отжига для праймеров
- Варибельные участки используют для таксономии и идентификации

# NGS секвенирование гена 16S рРНК - «золотой стандарт» в изучении микробиоты



# Микробиота верхних дыхательных путей



## Факторы

- Влажность
- Кислотность
- Тип эпителия

# Микробиом полости рта <http://www.homd.org>

The screenshot shows the HOMD website interface. At the top, there is a navigation bar with links: Home, Taxon Description, Identify 16S rRNA Sequence, Genomes, Tools & Download, HOMD Information, and How to Use This Page. The main content area is divided into several sections:

- Taxon Description:** Includes links for Taxon Table, Taxonomic Hierarchy, Taxonomic Level, Identify 16S rRNA Sequence, BLAST Sequence(s), and 16S rDNA RefSeq Download.
- Genomes:** Includes links for Taxa with Annotated Genomes, Taxa with Genomes In Progress, and View All Genomes.
- Tools & Download:** Includes links for HOMD JBrowse Viewer, HOMD JBrowse Viewer, View Dynamic Annotation, BLAST Against HOMD Genomes, Dynamic Genome BLAST, Download HOMD Data, HOMD Posters, and Oralgen.
- HOMD Information:** Includes links for How to cite HOMD, Project Description, Strains and DNA Availability, Team, Contact Us, Mailing List, Help & Guides, Usage Statistics, and Site Map.

The central 'Welcome to HOMD' section contains the following text:

**Welcome to HOMD**

The goal of creating the Human Oral Microbiome Database (HOMD) is to provide the scientific community with comprehensive information on the approximately 700 prokaryote species that are present in the human oral cavity. Approximately 49% are officially named, 17% unnamed (but cultivated) and 34% are known only as uncultivated phylotypes. The HOMD presents a provisional naming scheme for the currently unnamed species so that strain, clone, and probe data from any laboratory can be directly linked to a stably named reference scheme. The HOMD links sequence data with phenotypic, phylogenetic, clinical, and bibliographic information. Genome sequences for oral bacteria determined as part of this project, the Human Microbiome Project, and other sequencing projects are being added to the HOMD as they become available. Genomes for 381 oral taxa (54% of taxa on HOMD) are currently available on HOMD. The HOMD site offers easy to use tools for viewing all publically available oral bacterial genomes. Welcome!

**Primary Investigators:** Tsute Chen, Floyd E. Dewhirst, Bruce J. Paster, Anne Tanner, and William G. Wade

**Current Research Contributors:** Nezar Al-hebshi, Prasad Gajare, Taylor Joyce, Alice Kirega, Maoxuan Lin, and Sonia Vartoukian

**Past Research Contributors:** Oxana Baranova, Jessica Blanton, Anuj Camanocha, Derrick Fouts, Akila Ganesan, Jacques Izard, Erin Klein, Abby Lakshmanan, Cori Leonetti, Emmanuel Mongodin, Alexandra Rybalka, Derek Spencer, Hayley Thompson, Griffin Weigle, Larry Yang, and Wen-Han Yu

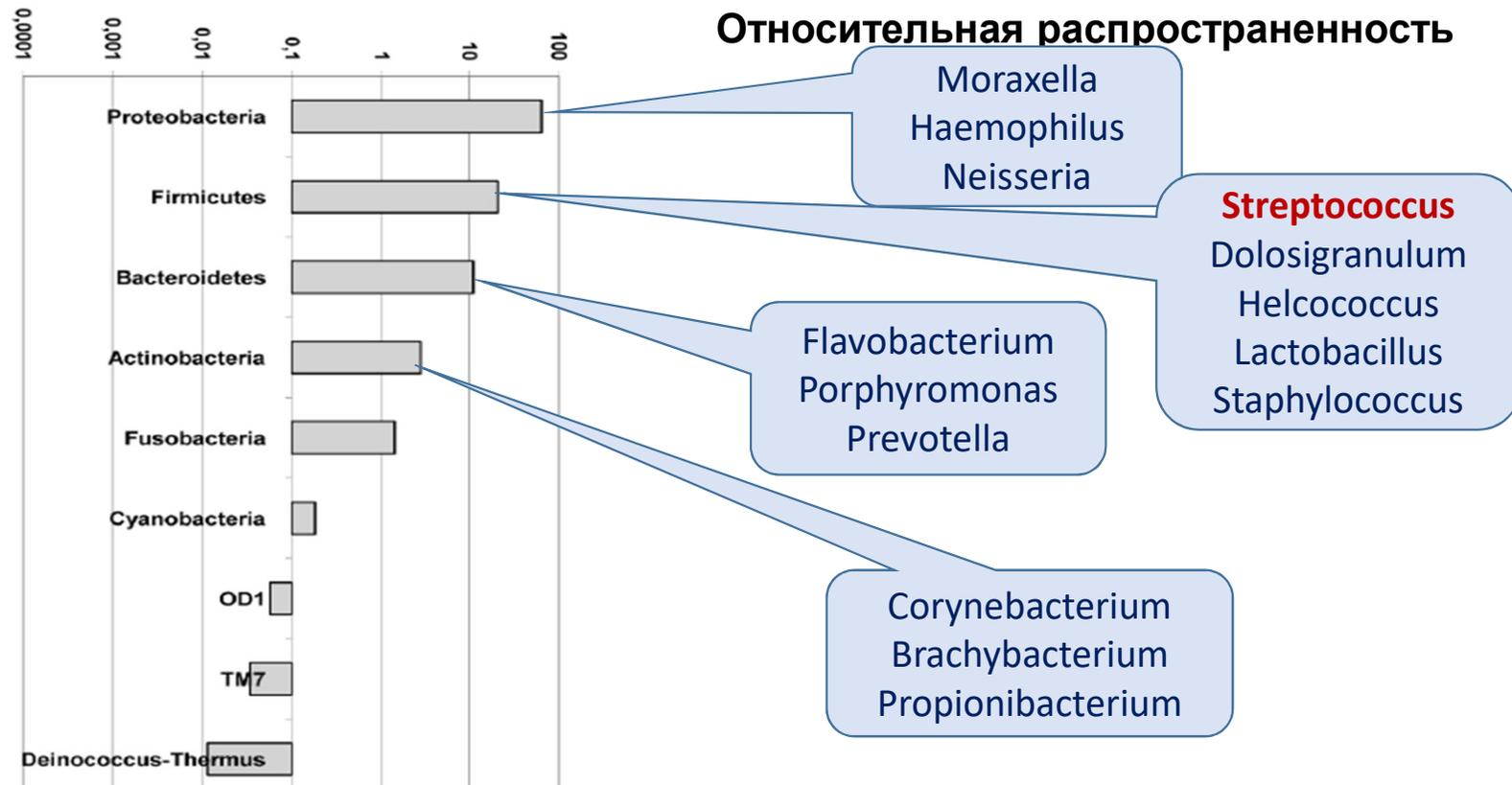
This project is supported by: Grant R37-DE016937 "A Foundation for the Oral Microbiome and Metagenome" from The National Institute of Dental and Craniofacial Research

The right sidebar contains a 'Meta-Database Search' box, an 'Announcement' section with three entries (dated 2015-12-08, 2014-10-07, and 2014-05-21), and a 'Database Update' section with four entries (dated 2016-02-26, 2016-02-26, 2016-02-26, and 2016-02-26).

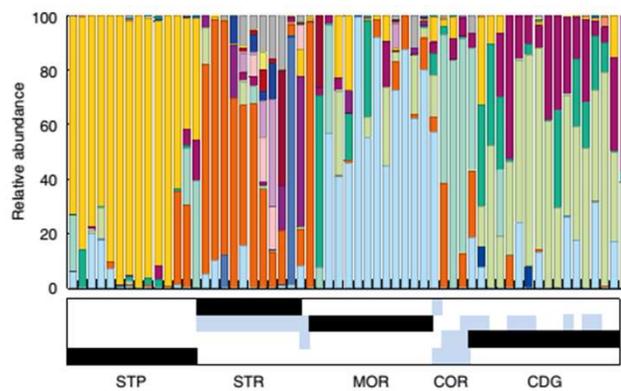
## Микробиота полости рта

- В ротовой полости описано приблизительно 700 видов бактерий
  - 54% хорошо охарактеризованы, их удается культивировать
  - 14% удается культивировать, но еще недостаточно изучены
  - 32% не культивируются.

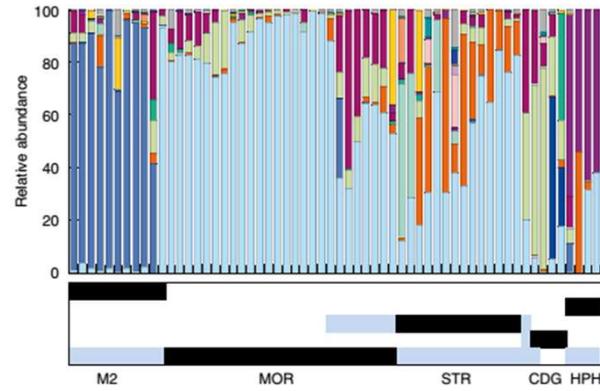
# Микробиота носоглотки



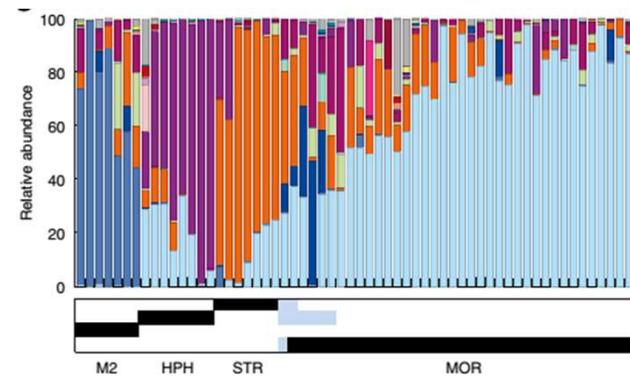
# Динамика назофарингеальной микробиоты у детей



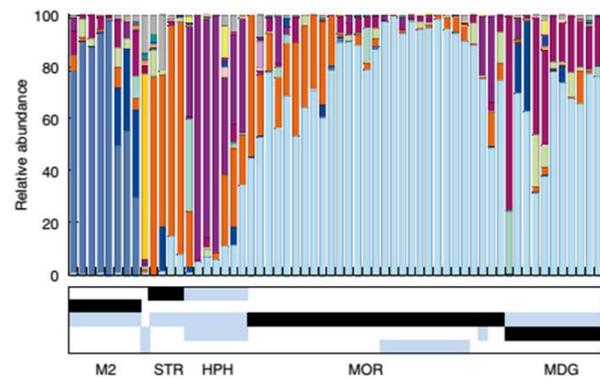
1.5 мес.



6 мес.



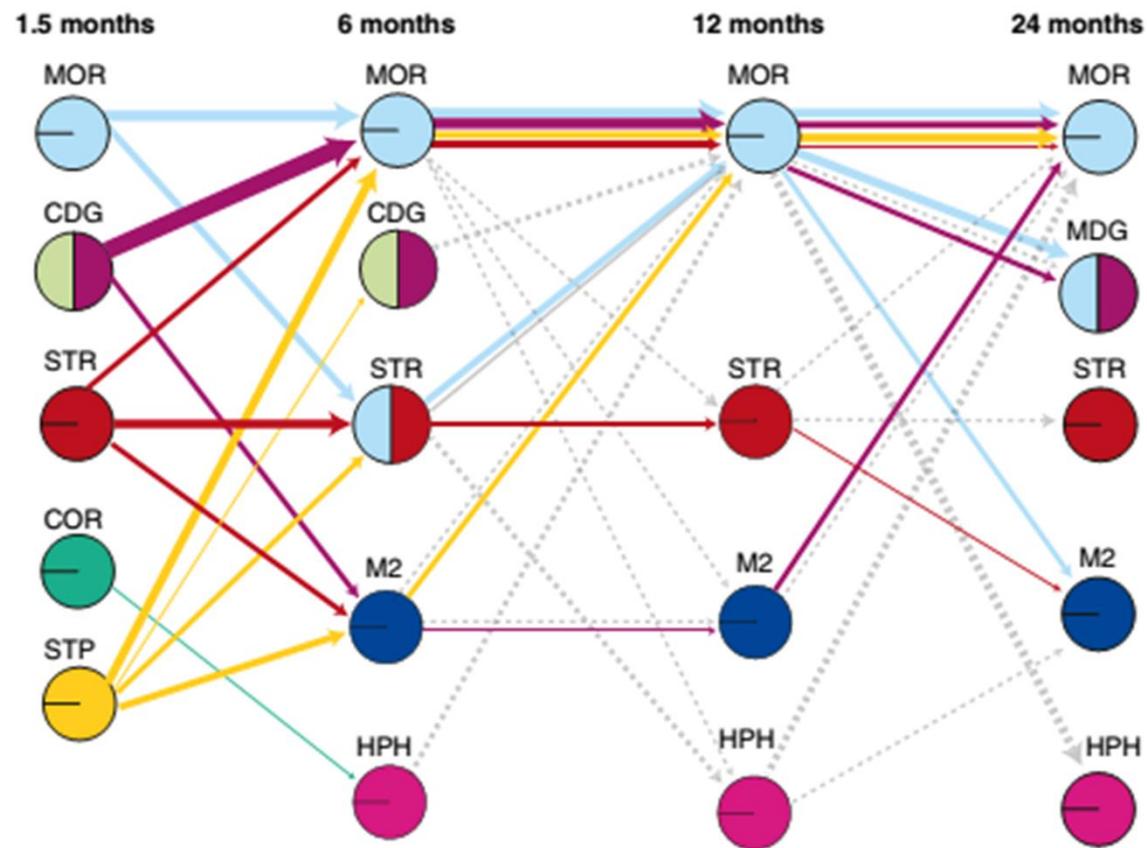
12 мес.



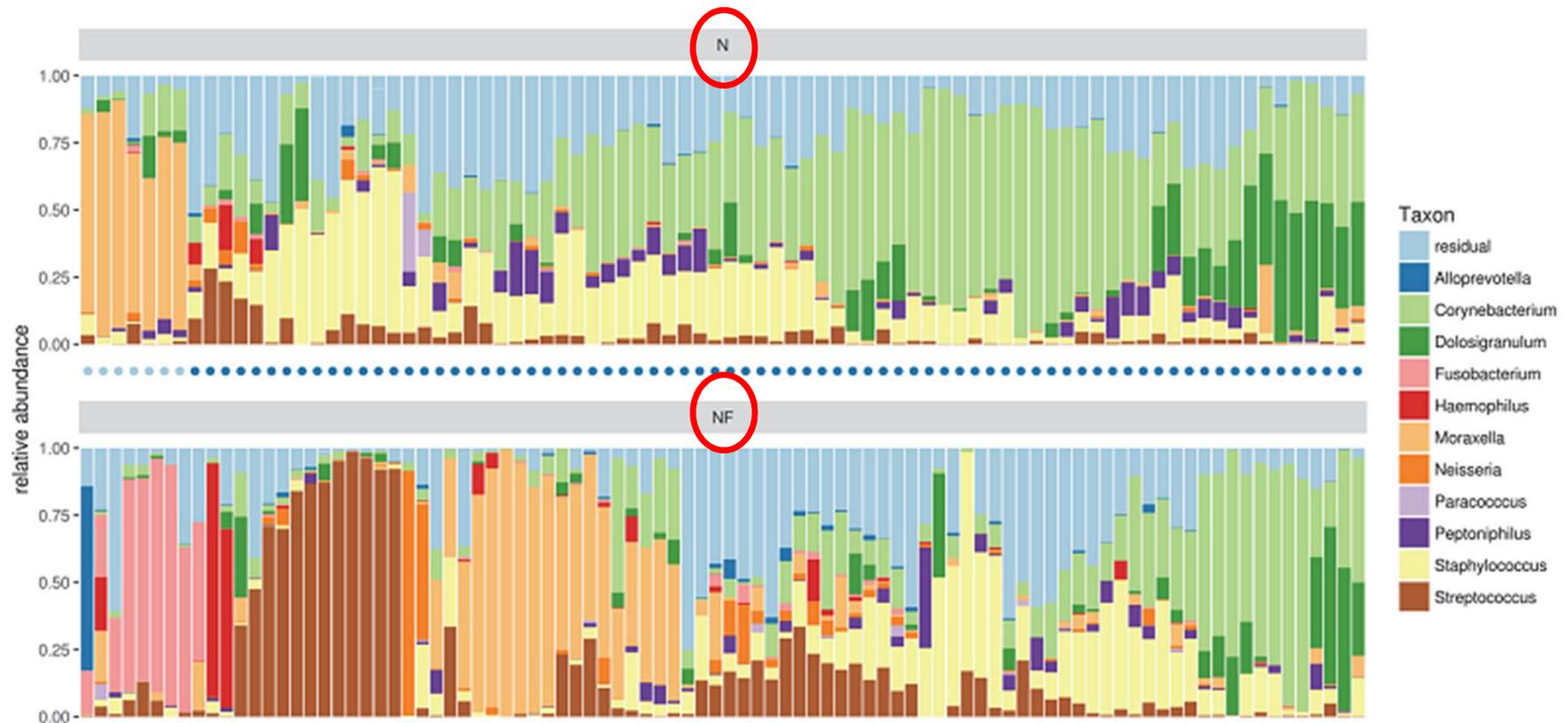
24 мес.

- Moraxella 1
- Moraxella 2
- Moraxella residual
- Streptococcus
- Corynebacterium 1
- Corynebacterium 2
- Corynebacterium residual
- Dolosigranulum
- Haemophilus
- Staphylococcus
- Bacteroidetes unclassified
- Prevotella
- Acinetobacter
- Proteobacteria unclassified
- Gemella
- Pseudomonas
- Porphyromonas
- Escheria/shigella
- Neisseria
- Residual

# Динамика назофарингеальной микробиоты у детей



# Микробиота носа и носоглотки у взрослых



# Состав микробиоты, риск колонизации Spn и развития ОСО

## Колонизация Spn

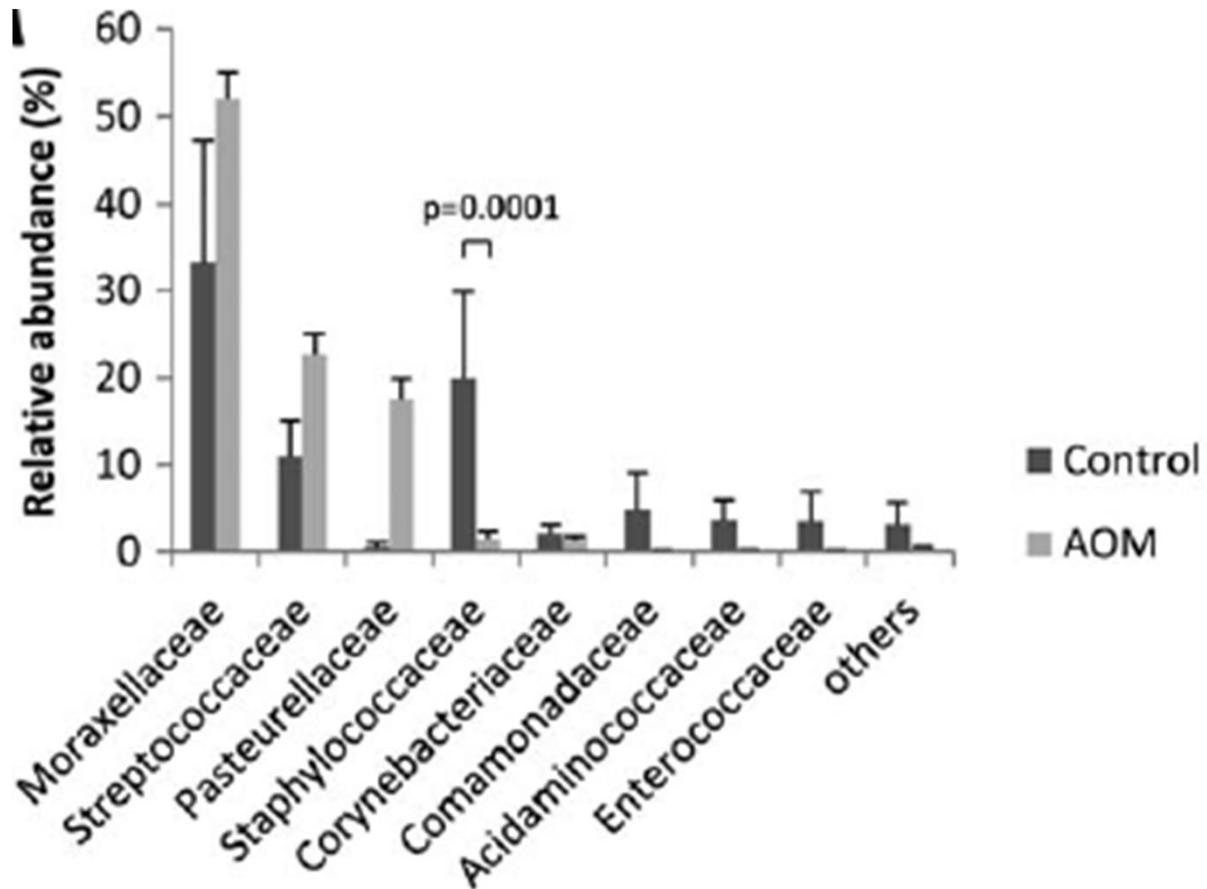
Factor	OR (95% CI) <sup>b</sup>	
	PCA factor	Component
Factor A	0.55 (0.35, 0.86)	
<i>Corynebacterium</i>		0.99 (0.95, 1.03)
<i>Dolosigranulum</i>		0.99 (0.91, 1.06)
<i>Streptococcus</i> <sup>a</sup>		1.06 (1.03, 1.09)
Factor B	0.34 (0.20, 0.56)	
<i>Lactococcus</i>		0.73 (0.61, 0.89)
<i>Propionibacterium</i>		0.89 (0.79, 1.00)
Unclassified <i>Proteobacteria</i>		0.94 (0.88, 1.02)
<i>Staphylococcus</i>		0.98 (0.93, 1.02)
Factor C	0.94 (0.64, 1.39)	
Unclassified <i>Pasteurellaceae</i>		1.08 (1.00, 1.16)
<i>Moraxella</i> <sup>a</sup>		1.03 (0.99, 1.07)
<i>Haemophilus</i>		1.02 (0.98, 1.05)
Factor D	0.61 (0.37, 1.02)	
<i>Veillonella</i>		0.98 (0.83, 1.15)
<i>Neisseria</i>		0.85 (0.70, 1.04)
<i>Rothia</i>		0.82 (0.62, 1.08)
<i>Actinomyces</i>		0.77 (0.58, 1.02)

## Развитие ОСО

Factor	OR (95% CI) <sup>b</sup>	
	PCA factor	Component
Factor A	0.54 (0.30, 0.96)	
<i>Corynebacterium</i>		0.90 (0.81, 0.99)
<i>Dolosigranulum</i>		0.91 (0.80, 1.04)
<i>Streptococcus</i> <sup>a</sup>		1.02 (1.00, 1.05)
Factor B	0.44 (0.21, 0.91)	
<i>Staphylococcus</i>		0.86 (0.71, 1.06)
<i>Lactococcus</i>		0.92 (0.78, 1.09)
Unclassified <i>Proteobacteria</i>		0.93 (0.83, 1.05)
<i>Propionibacterium</i>		0.97 (0.87, 1.07)
Factor C	1.73 (1.10, 2.73)	
Unclassified <i>Pasteurellaceae</i>		1.08 (1.01, 1.15)
<i>Haemophilus</i>		1.04 (1.00, 1.08)
<i>Moraxella</i> <sup>a</sup>		0.99 (0.96, 1.06)
Factor D	2.24 (1.26, 3.97)	
<i>Veillonella</i>		1.37 (1.07, 1.76)
<i>Rothia</i>		1.35 (1.03, 1.77)
<i>Actinomyces</i>		1.34 (1.07, 1.68)
<i>Neisseria</i>		1.13 (0.99, 1.29)

Laufer AS, et al, 2011, mBio

## Микробиота носоглотки у детей с ОСО



На фоне ОСО снижается видовое разнообразие

## *Alloiococcus otitidis*

Трудно культивируемый, рост на кровяных средах через 5 – 10 дней

- Таксономическое положение
  - Firmicutes; Bacilli; Lactobacillales; Carnobacteriaceae; Alloiococcus
- Проявляют природную чувствительность к большинству антибиотиков, приобретенная резистентность не изучена
- ПЦР диагностика
- Модель острого отита у крыс
  - Инфицирующая доза  $> 10^8$
  - На 3-й день выпот в 100%
  - На 14-й день нормальная отоскопическая картина

## *Dolosigranulum pigrum*

- Грамположительный неспорообразующая факультативно анаэробные кокки
- Таксономическое положение
  - Firmicutes; Bacilli; Lactobacillales; Carnobacteriaceae
- Имеются единичные сообщения об этиологической роли в госпитальных пневмониях, синовитах

## *Pseudomonas otitidis*

По основным свойствам сходна с *P. aeruginosa*

- Наличие хромосомно локализованного гена металло-бета-лактамазы
- Экспрессия на фоне мутаций в промоторной области

# *Turicella otitidis* и другие коринеформные бактерии

Таксономическое положение

- Bacteria; Terrabacteria group; Actinobacteria; Corynebacteriales; Corynebacteriaceae; Turicella

Патогенная роль окончательно не установлена

- При отите чаще выделяют в ассоциации с другими отопатогенами, реже в чистой культуре

Чувствительны к большинству антибиотиков, но часто обнаруживают устойчивость к макролидам

von Graevenitz. A. Infection, 2014

Другие

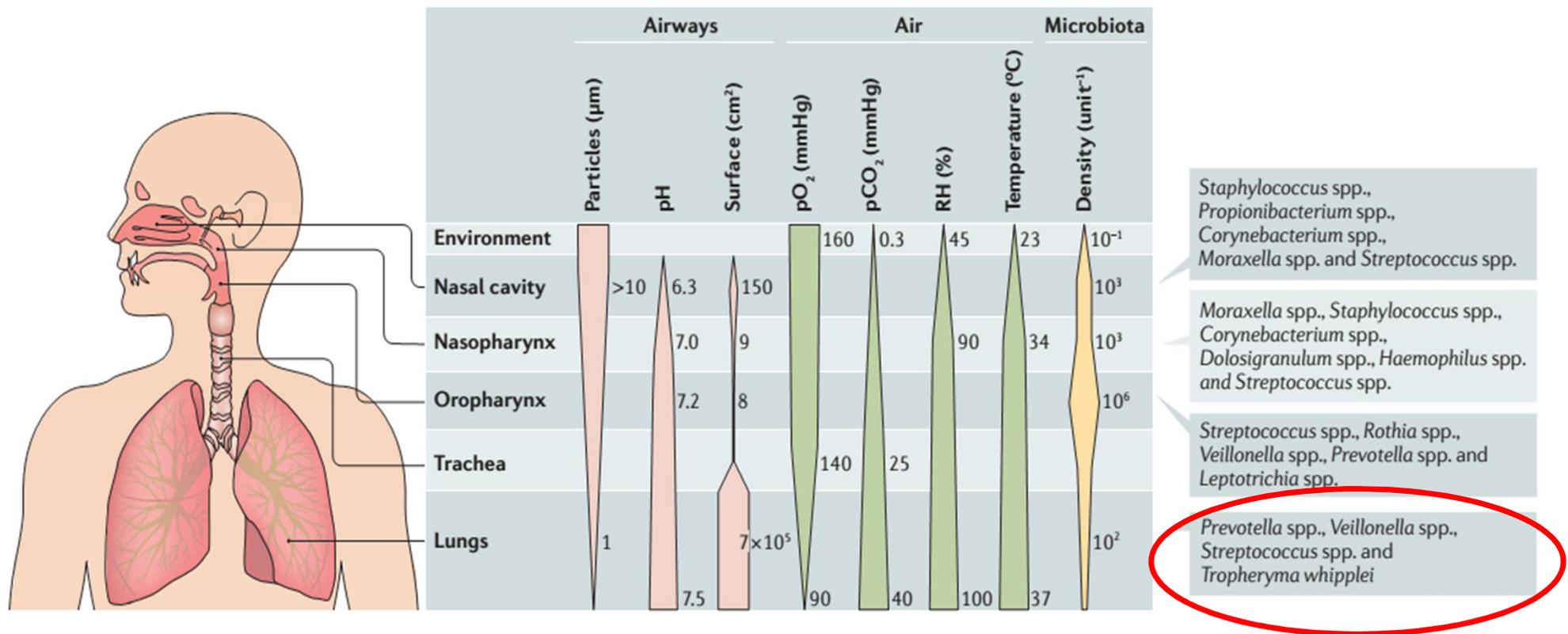
- *Corynebacterium auris*
- *Corynebacterium afermentans subsp. afermentans*

# Роль Archaea в патологии человека

## Phylum Euryarchaeota

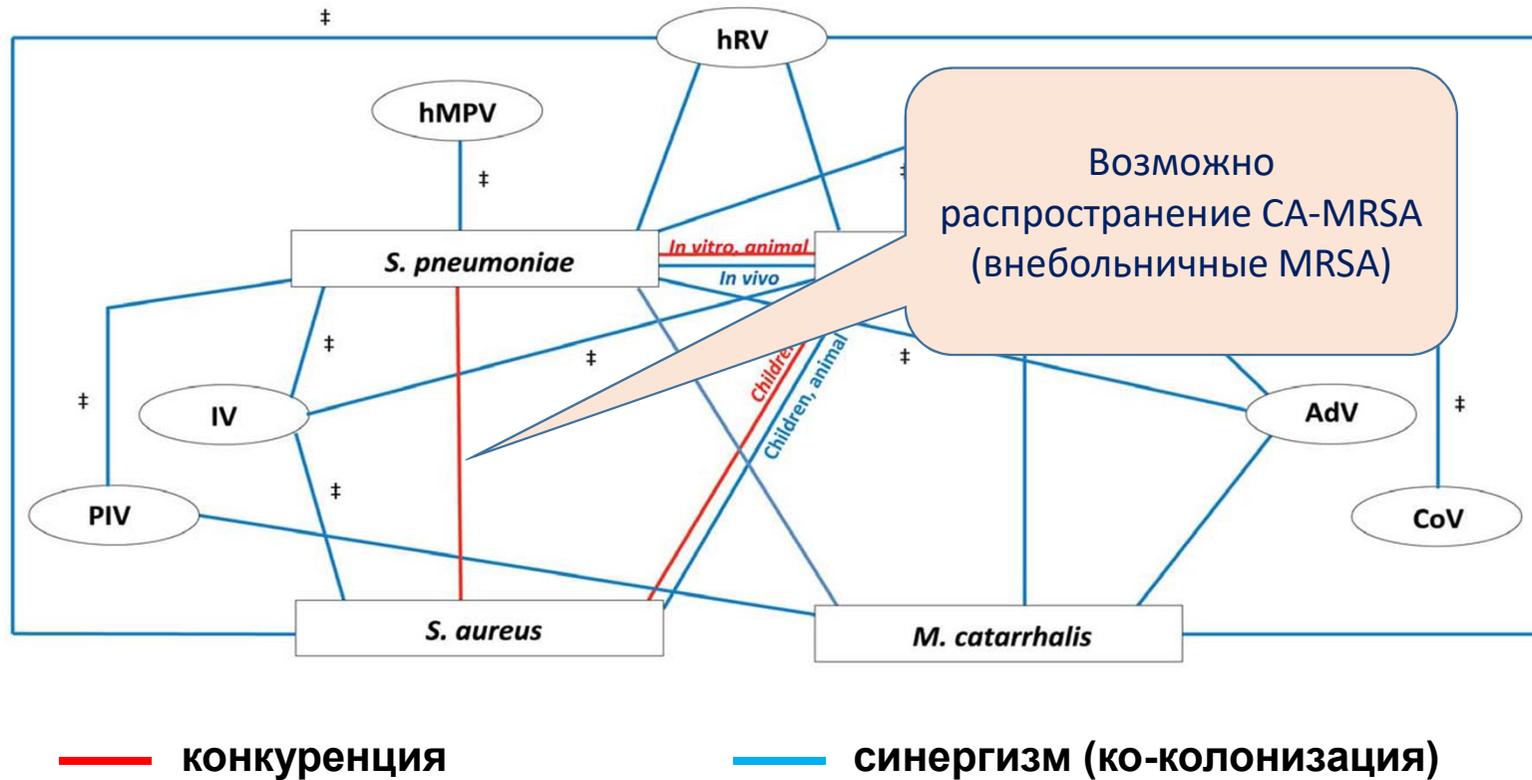
- *Methanobrevibacter smithii* – влагалище и кишечник
  - Возможна роль в бак. вагинозе ?, болезни Крона?
- *Methanosphaera stadtmanae* – кишечник
  - Болезнь Крона ?, синдром раздраженного кишечника ?
- *Methanobrevibacter oralis* - полость рта
  - Высоковероятная роль в развитии периодонтита

# Микробиота различных отделов дыхательных путей



Ho Man W., et al. Nature. 2017

# Взаимодействия вирусов и бактерий в верхних дыхательных путях



[Bosch AATM, et al. 2013. PLoS Pathog.]

- **КОНФЕРЕНЦ-ЗАЛ №6 «МЕЧНИКОВ»**

**11.35-13.05 6.2.2. «Микробиологическая диагностика инфекций дыхательных путей»**