

13. Khudyakov Y.E., Khudyakova N.S., Fields H.A. et al. Epitope mapping in proteins of hepatitis E virus. *Virology*. 1993, 194(1): 89-96.
14. Khudyakov Y. E., Khudyakova N.S, Jue D.L. et al. Comparative characterization of antigenic epitopes in the immunodominant region of the protein encoded by open reading frame 3 in Burmese and Mexican strains of hepatitis E virus. *J. Gen. Virol.* 1994, 75 (3): 641-646.
15. Koonin E.V., Gorbalenya A.E., Purdy M.A. et al. Computer-assisted assignment of functional domains in the nonstructural polyprotein of hepatitis E virus: delineation of an additional group of positive-strand RNA plant and animal viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1992, 89(17): 8259-8263.
16. Ma H., Song X., Li Z. et al. Varying abilities of recombinant polypeptides from different regions of hepatitis E virus ORF2 and ORF3 to detect anti-HEV immunoglobulin M. *J. Med. Virol.* 2009, 81(6): 1052-1061.
17. Obriadina A., Meng J.H., Ulanova T. et al. A new enzyme immunoassay for the detection of antibody to hepatitis E virus. *J. Gastroenterol Hepatol.* 2002, Suppl 3:360-364.
18. Towbin H., Staehlin T., Gordon Y. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1979, 76(9):4350-4359.
19. Yarbough P.O., Tam A.W., Fry K.E. et al. Hepatitis E virus: identification of type-common epitopes. *J. Virol.* 1991, 659(11): 5790-5797.
20. Zhou Y.H., Purcell R.H., Emerson S.U. An ELISA for putative neutralizing antibodies to hepatitis E virus detects antibodies to genotypes 1, 2, 3, and 4. *Vaccine*. 2004, 22(20): 2578-2585.

*Поступила 11.04.18*

Контактная информация: Алаторцева Галина Ивановна, к.б.н.,  
105064, Москва, М. Казенный пер., 5а, р.т. (495)674-77-95

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

*С.А.Мазурина<sup>1</sup>, Г.А.Данилина<sup>2</sup>, М.Ю.Смирнова<sup>3</sup>, Г.Л.Осипова<sup>3</sup>, В.Б.Гервазиева<sup>1</sup>,  
А.Ю.Конищева<sup>1</sup>, Т.П.Оспельникова<sup>1,2</sup>*

## **МИКРОБИОТА НИЖНИХ ОТДЕЛОВ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ОБСТРУКТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЛЕГКИХ**

<sup>1</sup>НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова, <sup>2</sup>Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии Н.Ф.Гамалеи, <sup>3</sup>НИИ пульмонологии, Москва

*Цель.* Определить композиционный состав микробиоты и частоту выявления отдельных бактериальных видов в образцах мокроты у пациентов с бронхиальной астмой (БА), хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) и их сочетанной формой. *Материалы и методы.* Проведено бактериологическое исследование образцов индуцированной мокроты больных хроническими обструктивными заболеваниями легких (БА, ХОБЛ). *Результаты.* У больных сочетанной формой БА и ХОБЛ обнаружен более разнообразный видовой состав *Streptococcus* spp. и *Staphylococcus* spp., грамотрицательные палочки *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Burkholderia cepacia*, грамположительные палочки и палочковидные бактерии *Corynebacterium* spp., *Actinomycetes* spp. и *Tsukamurella paurometabola* в сравнении с пациентами, страдающими только астмой или ХОБЛ. Отмечено изменение микробного состава (преобладание *Streptococcus* spp., *Neisseria subflava* и снижение *Enterococcus* spp.) у пациентов с ХОБЛ и сочетанной формой ХОБЛ и БА, осложненных дыхательной недостаточностью, эмфиземой легких и/или диффузным пневмосклерозом. *Заключение.* Видовое разнообразие респираторной микробиоты является не только фактором риска прогрессирующего течения легочных заболеваний, но и свидетельствует о тех изменениях в структуре ткани легкого, которые происходят в процессе хронического воспаления.

Журн. микробиол., 2018, № 5, С. 53—60

Ключевые слова: бронхиальная астма, ХОБЛ, сочетанная форма БА/ХОБЛ, респираторный микробиом

## THE MICROBIOTA OF LOWER AIRWAYS IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE LUNG DISEASES

<sup>1</sup>Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, <sup>2</sup>Gamaleya National Research Centre of Epidemiology and Microbiology, <sup>3</sup>Research Institute of Pulmonology, Moscow, Russia

*Aim.* We aimed to estimate the composition and the detection frequency of bacterial species in induced sputum samples from patients with bronchial asthma (BA), chronic obstructive lung disease (COPD) and its combined phenotype (ACOS). *Materials and methods.* Bacteriological examination of samples of induced sputum in patients with chronic obstructive pulmonary diseases (BA, COPD) was carried out. *Results.* Patients with asthma-COPD overlap syndrome exhibit more diverse bacterial species composition as represented both by gram-positive *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., gram-negative *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Burkholderia cepacia* and rodlike bacterium *Corynebacterium* spp., *Actinomyces* spp. и *Tsukamurella paurometabola* as compared to patients with only one diagnosis of COPD or asthma. In addition, we revealed the differences between microbiological diversity and predominance of *Streptococcus* spp., *Neisseria subflava* with decrease of *Enterococcus* spp. in samples from patients with complicated forms of obstructive lung diseases as COPD and ACOS, with pulmonary emphysema and/or pneumosclerosis. *Conclusion.* The biodiversity of lung microbiome could be one of the pathology risk factors in patients with chronic lung diseases, on the other hand reflecting the structural morphological changes in the lung tissue as a result of sustainable inflammation.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), No. 5, P. 53—60

Key words: bronchial asthma, COPD, ACOS, lung microbiome

## ВВЕДЕНИЕ

Рост числа заболеваний органов дыхания, среди которых особое место занимают бронхиальная астма (БА), хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) и их сочетанная форма (ACOS), представляет значительную медицинскую и социальную проблему. Помимо различий в патогенезе этих двух сложных заболеваний, их объединяющей характеристикой является развитие обострений, частота которых приводит к прогрессивному нарастанию тяжести заболевания, переходу из одной формы течения в другую и даже совместному их существованию в виде сочетанной формы ХОБЛ/БА. Основными факторами риска прогрессирующего течения данных заболеваний считается избыточная бактериальная контаминация, которая формирует хронический инфекционный процесс, обеспечивая высокую частоту обострений заболевания и гиперреактивность бронхов с преобладанием Th2 или Th17 иммунного ответа [2]. В среднем больной БА или ХОБЛ переносит в год от одного до четырех и более эпизодов обострений заболевания. Каждое новое обострение приводит к антибиотикотерапии, которая, в свою очередь, обуславливает нарушение нормального роста микробиоты и способствует колонизации патогенными микроорганизмами слизистых оболочек.

В последнее десятилетие новые культурально-независимые методы идентификации микроорганизмов выявили ранее недооцененную сложность бактериального микробиома дыхательных путей. Следует сказать, что в свое время проект «Микробиом человека», запущенный в 2007 году, не включил отбор проб тканей дыхательных путей здорового человека, поскольку легочная ткань в то время считалась стерильной. Однако вскоре после этого появился целый ряд новаторских работ в этой области, которые изменили наше понимание состава и функции микробиоты слизистых дыхательных путей здоровых легких и в условиях хронической патологии. В настоящее время известно, что слизистая оболочка дыхательного тракта заселена специфической бактериальной микробиотой [3,5,13]. Самая высокая плотность ее обнаружена на слизистой верхних дыхательных пу-

тей, достигая до  $10^3$  жизнеспособных бактерий в мазке из носовой полости и носоглотки и до  $10^6$  /мл жизнеспособных клеток в отпечатках орофаринкса. В трахее и легких выявленное количество бактерий ниже и составляет в бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ) из здорового легкого примерно  $10^2$ /мл бактериальных клеток. С помощью секвенирования консервативных участков бактериальной 16S рРНК установлены 6 доминирующих типов Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroides, Fusobacteria, Acidobacteria и Actinobacteria, обычно встречающихся при хронических легочных заболеваниях. Оценка микробиома носа, ротоглотки и образцов бронхоальвеолярных смывов из нижнего отдела дыхательных путей показала, что тип Proteobacteria и особенно семейства Pasteurellaceae (род Haemophilus), Enterobacteriaceae (род Klebsiella), Neisseriaceae (род Neisseria) и Pseudomonadaceae чаще встречаются в верхних и нижних дыхательных путях взрослых больных астмой, ХОБЛ и у детей с астмой и ассоциированы с ухудшением контроля астмы, инфильтрацией Th17 клеток в слизистой бронхов и суммарным лейкоцитозом в мокроте [4,6,12,14,15]. В противоположность этому, наличие Actinobacteria коррелировало с улучшением и/или стабильностью контроля астмы. Некоторые различия в результатах исследования бактериальных типов или родов в микробиоме легких пациентов с хроническими заболеваниями могут быть связаны с методическими подходами. Так, современные некультуральные генетические методы хороши для изучения фундаментальных вопросов разнообразия человеческого микробиома. В то же время, культуральный анализ видового состава микробиоты, используемый в клинической практике, представляется полезным в стратегии терапевтических подходов в каждом конкретном случае хронической воспалительной патологии дыхательных путей человека.

В этой связи, целью настоящего исследования было определить композиционный состав микробиоты и частоту выявления отдельных бактериальных видов в образцах мокроты у пациентов с бронхиальной астмой, хронической обструктивной болезнью легких и их сочетанной формой.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Было проведено одномоментное кросс-секционное исследование, в которое были включены 56 пациентов с заболеваниями верхних дыхательных путей (ХОБЛ, БА и сочетанные их формы) в возрасте от 21 до 70 лет, проходящих консультационно-клиническое обследование в ГКБ №57. Диагноз и степень тяжести заболевания установлен по совокупности всех клинических признаков, данных лабораторно-инструментального обследования больных в клинике, согласно GINA (2009, 2014) и GOLD (2008). Синдром сочетания БА и ХОБЛ (ACOS) был установлен согласно большим и малым критериям Louie S. (2013). У всех пациентов исследовали композиционный состав респираторного микробиома методом бактериологического анализа бронхиального секрета.

Сбор и обработку образцов индуцированной мокроты выполняли в соответствии с правилами, представленными в методических указаниях «Микробиологические методы обследования пульмонологических больных» и «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории. МУ 4.2.2039-05, 2005 г.». Для контроля качества мокроты готовили мазки, окрашивали их по Граму и под малым увеличением в затемненном фоне проводили подсчет лейкоцитов и эпителиальных клеток (Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний. МУК 4.2.3115-13, 2013 г.). В образцах, содержащих, согласно критериям Murrey-Washington, меньше 10 эпителиальных клеток и больше 25 лейкоцитов в одном поле зрения, осуществляли выделение и идентификацию изолятов культуральным методом (Приказ № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений, от 22.04.1985 г.») с использованием селективных питательных сред и диагностических тест-систем API фирмы Био-Мерье (Франция) и Lachema Entero-test-24, Staphy-test-16, Strepto-test-16 (Чешская республика). Материал высевали на твердые питательные среды (5% кровяной агар, среды Эндо, Макконки, Гектоин, желточно-солевой агар, энтерококковый агар, среда Сабуро) и

культивировали в течение 18-24 ч в термостате при температуре 37°C. Подсчет микроорганизмов осуществляли количественным методом — число колониеобразующих единиц (КОЕ) на 1 мл клинического материала. Для характеристики частоты встречаемости отдельных видов и биоценоза в целом использовали показатель постоянства «С» с выделением представителей основной, дополнительной и случайной микрофлоры. Показатель постоянства «С» выражался в процентах:  $C = p \times 100/P$ , где  $p$  — число выборок, содержащих изучаемый вид,  $P$  — общее число взятых выборок. К основной микрофлоре отнесены таксоны, характеризующиеся высокой частотой встречаемости ( $C > 45\%$ ), к дополнительной микрофлоре — при значениях «С» от 25% до 44%, а к случайной микрофлоре —  $< 25\%$ .

Уровень общего IgE в сыворотке крови и sIgA в слюне определяли методом ИФА, используя соответствующие диагностические тест-системы «Вектор-Бест» согласно инструкции по применению.

Статистическую обработку материала проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 7.0. Вычисляли следующие величины: медиану  $M_e$ ; интерквартильный размах (25%; 75%) и частоту встречаемости %. Связь между исследуемыми показателями оценивали корреляционным анализом с вычислением коэффициента ранговой корреляции Спирмена (R). Сравнение частоты распределения проводили с помощью критерия хи-квадрат Пирсона с поправкой по Йетсу. Критической величиной уровня значимости считали 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Все обследованные нами лица были разделены на 4 группы. В первую группу включили 8 пациентов с atopической БА. Средний возраст пациентов — 40 (28; 53) лет, длительность заболевания астмой — 17,5 (7; 21) лет. Уровень сывороточного общего IgE в этой группе больных составил 540 (303; 560) МЕ/мл, sIgA в слюне — 985 (385; 1950) мг/л.

Вторую группу составили 15 больных atopической БА сочетанной с ХОБЛ (БА/ХОБЛ), у 5 из которых патология была осложнена дыхательной недостаточностью (1-2 степени), эмфиземой легких и диффузным пневмосклерозом. Средний возраст больных был 54 (46,5; 65,5) года, длительность заболевания — 22 (15; 30) года. Уровень общего IgE в этой группе составил 115 (6; 460) МЕ/мл, sIgA в слюне — 750 (250; 3800) мг/л.

В третью группу вошли 23 пациента с ХОБЛ и присоединившейся к ней БА (ХОБЛ/БА). У 13 больных этой группы болезнь сопровождалась дыхательной недостаточностью (1-2 степени), эмфиземой легких и диффузным пневмосклерозом. Средний возраст пациентов — 57 (52; 60) лет, длительность заболевания — 10,5 (5; 15) лет. Уровень общего IgE в этой группе больных составил 100 (16; 368) МЕ/мл, sIgA в слюне был снижен относительно нормативных значений и составил 510 (320; 2200) мг/л.

В четвертой группе были 10 человек с ХОБЛ, у 5 из которых отмечена эмфизема легких и диффузный пневмосклероз. Средний возраст пациентов — 62 (58,5; 68) года, длительность заболевания — 18 (10; 30) лет. Уровень общего IgE был в пределах допустимой нормы и составил 48 (16,5; 108) МЕ/мл, sIgA в слюне — 1000 (850; 2900) мг/л.

Следует отметить, что у пациентов с сочетанным синдромом легочной патологии хроническое воспаление протекает на фоне сниженных показателей sIgA (750 мг/л и 510 мг/л соответственно) в слюне и значений общего IgE в пределах верхней границы нормы (115 МЕ/мл и 100 МЕ/мл соответственно). Это может свидетельствовать о сниженной активности врожденного иммунитета у этих больных.

Все пациенты обследованы в период ремиссии заболевания и в течение 4 недель до исследования не принимали антибактериальную терапию.

При бактериологическом исследовании образцов индуцированной мокроты было выделено более 50 культур. Композиционный состав микрофлоры дыхательных путей легких был представлен в основном 8 видами микроорганизмов, причем их количественное значение в целом не превышало  $10^3$  КОЕ/мл. С утяжелением

патологии, присоединением к астме ХОБЛ и, наоборот, разнообразие микробного состава расширялось до 30 изолятов. При этом отдельные виды бактерий высевались в большом количестве  $10^6$ — $10^7$  КОЕ/г. К грамположительной флоре относились 19 видов бактерий (61,2%), к грамотрицательной — 12 видов (38,7%). Были определены также грибы рода *Candida albicans* и *Aspergillus* spp. (*A. niger*, *A. fumigatus*). Среди выделенных культур ведущей была грамположительная микробиота, которая преимущественно относилась к кокковой. Среди грамположительных кокков доли выделенных культур (17 видов) родов *Staphylococcus* и *Streptococcus* были практически сопоставимы (15% и 12,5% соответственно). Среди выделенных стафилококков доминировал *S.aureus* (43%). Видовой пейзаж стафилококков включал еще 4 вида: *S.epidermidis*, *S.milleri*, *S.lugdunensis*, *S.acidominimus*, последние три были представлены единичными изолятами.

Внутри рода *Streptococcus* доминировали  $\alpha$ - и  $\beta$ -гемолитические стрептококки (*S.pyogenes*, *S.pneumoniae*). Выделенный спектр стрептококков включал еще 6 видов: *S.agalactiae*, *S.faecium*, *S.mitis*, *S.vestibularis*, *S.constellatus*, *S.acidominimus*, которые были представлены единичными изолятами.

Среди грамположительных кокков были выделены также *Enterococcus* spp., доля которых составила 20,5%.

Грамположительные палочки и палочковидные бактерии были представлены видами *Corynebacterium* spp., *Actinomyces* spp. и *T. parvometabola*.

Среди грамотрицательной микробиоты отмечалось незначительное преобладание кокковой флоры — *N. subflava* и *N. mucosa*. Грамотрицательные палочки были представлены семейством *Enterobacteriaceae*: *K. pneumoniae*, *K. ozaenae*, *K. oxytoca*, *E. coli*, *S. marcescens* и отдельными представителями: *P. aeruginosa*, *H. influenzae*, *B. cepacia*.

Постоянными или основными микроорганизмами, выделенными из образцов индуцированной мокроты, являлись  $\alpha$ -гемолитические стрептококки, *Enterococcus* spp. и *N.subflava*. К добавочной микробиоте относились  $\beta$ -гемолитические стрептококки, *S.aureus*, *S.epidermidis*, *K.pneumoniae*, *E.coli* и *C.albicans*, к случайной — *P.aeruginosa*, *H.influenzae*, *B.cepacia*, *S.marcescens*, *Aspergillus* spp., *Actinomyces* spp., другие виды *Neisseria* spp., *Klebsiella* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp.

Проанализировав результаты посевов образцов индуцированной мокроты в группах исследуемых больных в зависимости от легочной патологии, мы получили следующие данные.

У всех пациентов с БА или ХОБЛ в образцах мокроты значительно чаще высевались представители постоянной (основной) микробиоты:  $\alpha$ -гемолитические стрептококки (100% и 100% соответственно), *Enterococcus* spp. (62,5% и 50%) и *N.subflava* (75% и 65%) в сравнении с пациентами с сочетанной патологией ( $p < 0,05$ ). По мере осложнения основного заболевания и перехода его в сочетанную форму высеваемость основных микроорганизмов снижалась. Так, в группах БА/ХОБЛ или ХОБЛ/БА  $\alpha$ -гемолитические стрептококки были обнаружены у 33% и 78% больных соответственно. При этом в образцах мокроты этих пациентов другие виды стрептококков были обнаружены с частотой 20% и 58,3% соответственно. Аналогичным образом изменялся видовой состав *Staphylococcus* spp. У больных БА или ХОБЛ в образцах индуцированной мокроты часто высевался *S.aureus* (50% и 40% соответственно), у больных сочетанной патологией БА/ХОБЛ или ХОБЛ/БА — кроме *S.aureus* (20% и 26% соответственно) выделены и другие *Staphylococcus* spp. в 20% и 17,4% случаев. Интересно при этом отметить, что высеваемость *S.epidermidis* у больных ХОБЛ прямо пропорционально коррелировала с длительностью заболевания (0,5;  $p = 0,03$ ) и возрастом больных (0,35;  $p = 0,04$ ). Количество высеваемых *Enterococcus* spp. и *N. subflava* у пациентов с БА/ХОБЛ или ХОБЛ/БА также снижалось до 33%, 26% и 33%, 43,5% соответственно. При этом в образцах мокроты пациентов с сочетанной патологией были выявлены другие виды *Neisseria* spp. в единичных случаях. Что же касается добавочной микробиоты, то у пациентов с сочетанной патологией БА/ХОБЛ или ХОБЛ/БА она была представлена большим

разнообразием. Помимо *Staphylococcus* spp. и *Streptococcus* spp. в мокроте больных были обнаружены *Klebsiella* spp., в том числе *K.pneumoniae* (26,6% и 13% соответственно.) и *E.coli* (6,6% и 17,4% соответственно). В то же время, в мокроте больных, страдающих только БА или только ХОБЛ, последние микроорганизмы отсутствовали. Обращает на себя внимание обнаружение в образцах индуцированной мокроты пациентов с сочетанной патологией грамположительных палочек и палочковидных бактерий (*Corynebacterium* spp., *Actinomyces* spp. и *T. paurometabola*) и отдельных видов грибов (*Aspergillus* spp.), относящихся к случайной микробиоте. В то же время, другие представители случайной микробиоты (*Paeruginosa*, *H.influenzae*, *V.ceracia*, *S.marcescens*) были обнаружены в единичных случаях как у больных БА или ХОБЛ, так и у пациентов с сочетанной патологией БА/ХОБЛ или ХОБЛ/БА. Частота высеваемости *S.albicans* не различалась между группами с различной легочной патологией и варьировала между 33% и 50% случаев.

У части пациентов с сочетанной патологией заболевание протекало с осложнениями в виде дыхательной недостаточности, эмфиземы легких и диффузного пневмосклероза, сопровождающимися нарушением легочной вентиляции и газообмена. Это не могло не сказаться на способности микроорганизмов выживать в условиях кислородной недостаточности.

Было установлено, что частота высеваемости основных видов бактерий изменяется в зависимости от наличия структурных изменений в легких. Так, у больных ХОБЛ и ХОБЛ/БА наблюдаются одинаковые тенденции — преобладание  $\alpha$ -гемолитических стрептококков и *N.subflava* на фоне сниженной частоты высеваемости  $\beta$ -гемолитических стрептококков и *Enterococcus* spp. У пациентов с БА/ХОБЛ также наблюдается увеличение частоты высеваемости *N.subflava* и снижение *Enterococcus* spp. на фоне постоянства  $\alpha$ - и  $\beta$ -гемолитических стрептококков.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное нами бактериологическое исследование образцов индуцированной мокроты выявило различный спектр бактериальных видов в зависимости от легочной патологии больных. Так, у больных БА/ХОБЛ или ХОБЛ/БА обнаружен более разнообразный видовой состав *Streptococcus* spp. и *Staphylococcus* spp. в сравнении с пациентами, страдающими только БА или ХОБЛ. Также в мокроте наших пациентов с сочетанной легочной патологией высевались грамотрицательные палочки *K.pneumoniae*, *E.coli*, *S.marcescens*, *Paeruginosa*, *H.influenzae*, *V.ceracia* и грамположительные палочки и палочковидные бактерии *Corynebacterium* spp., *Actinomyces* spp. и *T.paurometabola*.

По данным литературы у 50—60% больных легочными заболеваниями наиболее часто выявляются бактериальные патогены *H.influenzae*, *S.pneumoniae*, *Klebsiella* spp. и *Pseudomonas* spp. в процессе обострения [6 — 11]. Так, у больных с обострением ХОБЛ и острой дыхательной недостаточностью в посевах экспекторированной мокроты были обнаружены *Pseudomonas* spp. (в 29% случаев), *Haemophilus* spp. (в 20% случаев) и *S.pneumoniae* (в 14% случаев). При этом на долю энтеробактерий и *Pseudomonas* spp. приходилось 64% всех микроорганизмов, выделенных у обследованных больных [12]. Следует отметить, что наши пациенты находились в стадии ремиссии и этим можно объяснить то небольшое число пациентов, в образцах мокроты которых высевались грамотрицательные и грамположительные палочки. В условиях ремиссии легочной патологии микроорганизмы, взаимодействующие с иммунной системой человека, находятся в состоянии гомеостатического равновесия. При нарушении этого равновесия происходит трансформации бактериальной колонизации в инфекционный процесс, способный вызвать обострение хронической патологии легких.

Обращает на себя внимание также изменение микробного состава (преобладание *Streptococcus* spp., *N.subflava* и снижение *Enterococcus* spp.) в образцах индуцированной мокроты обследованных нами пациентов с ХОБЛ и ХОБЛ/БА, осложненных дыхательной недостаточностью, эмфиземой легких и/или диффузным пневмосклерозом. В условиях постоянного хронического воспаления, отека слизистой бронхов, спазма гладкой мускулатуры происходят необратимые изменения, приводящие к

развитию перибронхиального фиброза и эмфиземы легких. Нарушается газообмен, эпителиальная ткань замещается соединительной, и это ведет к изменению состава микробиоты респираторного тракта. В работе Engel M. et al. было показано, что с возникновением структурных изменений легких у пациентов с ХОБЛ изменяется и состав микробиоты, в частности, начинают превалировать *Streptococcus*, которые, скорее всего, ответственны за периодические обострения, и *Prevotella*, анаэробы, высеваемые обычно при пневмонии [9].

Следует отметить, что в большинстве проведенных исследований роль бактериальных патогенов у больных ХОБЛ изучали при помощи микробиологического анализа экспекторированной мокроты, между тем серьезным недостатком данного метода является проблема контаминации бронхиального секрета микрофлорой верхних дыхательных путей. Более надежным методом оценки спектра патогенов инфекций нижних дыхательных путей является техника защищенной щеточной биопсии (браш-биопсия), исключающий контаминацию материала микроорганизмами верхних дыхательных путей. Данные о бактериальных возбудителях обострения ХОБЛ, полученные в исследованиях, проведенных с использованием техники ЗЩБ, подтверждают значение микроорганизмов *H.influenzae*, *S.pneumoniae*, *Klebsiella* spp. и *Pseudomonas* spp. в генезе обострения легочных заболеваний [1,6,10,11,14].

В респираторном тракте здорового человека условия внутренней среды, как правило, неблагоприятны для роста бактерий, что приводит к относительно небольшому размножению их и соответственно микробному разнообразию [7,8,16]. Однако хроническое воспаление меняет местные условия роста в легких, создавая разрешительные ниши для избирательного размножения бактерий. Давно признанный феномен бактериальной колонизации дыхательных путей на поздних стадиях хронической патологии отражает композиционный состав тех видов бактерий, которые хорошо адаптированы к конкретным условиям среды. Таким образом, видовое разнообразие респираторного микробиома является не только фактором риска прогрессирующего течения легочных заболеваний, но и свидетельствует о тех изменениях в структуре ткани легкого, которые происходят в процессе хронического воспаления.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Авдеев С.Н., Шанина А.Г., Чучалин А.Г. Бактериальная инфекция у больных ХОБЛ. *Клин. микробиол. антимикроб. химиотер.* 2005, 7(3): 245-254.
2. Adami A., Bracken S. Breathing better through bugs: Asthma and the Microbiome. *Yale J. Biol. Med.* 2016, 89(3): 309-324.
3. Bassis C.M., Erb-Downward J.R., Dickson R.P. et al. Analysis of the upper respiratory tract microbiotas as the source of the lung and gastric microbiotas in healthy individuals. *MBio.* 2015, 6: e00037. doi: 10.1128/mBio.00037-15.
4. Beck J.M., Young V.B., Huffnagle G.B. The microbiome of the lung. *Transl. Res.* 2012, 160(4): 258-266. doi: 10.1016/j.trsl.2012.02.005.
5. Charlson E.S., Bittinger K., Haas A.R. et al. Topographical continuity of bacterial populations in the healthy human respiratory tract. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011, 184(8): 957-63. doi: 10.1164/rccm.201104-0655OC.
6. Cui L., Morris A., Huang L. et al. The microbiome and the lung. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2014, 11 Suppl. 4: S227-32. doi: 10.1513/AnnalsATS.201402-052PL.
7. Dickson R.P., Erb-Downward J.R., Huffnagle G.B. Towards an ecology of the lung: new conceptual models of pulmonary microbiology and pneumonia pathogenesis. *Lancet Respir. Med.* 2014, 2: 238-246. doi: 10.1016/S2213-2600(14)70028-1. pmid:24621685.
8. Dickson R.P., Erb-Downward J.R., Freeman C.M. et al. Spatial variation in the healthy human lung microbiome and the adapted island model of lung biogeography. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2015, 12(6):821-30. doi: 10.1513/AnnalsATS.201501-029OC.
9. Engel M., Endesfelder D., Schlöter-Hai B. et al. Influence of lung CT changes in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) on the human lung microbiome. *PLoS One.* 2017, 12(7): e0180859. doi: 10.1371/journal.pone.0180859.
10. Huang Y.J., Nariya S., Harris J.M. et al. The airway microbiome in patients with severe asthma: associations with disease features and severity. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 2015, 136(4):874-84. doi: 10.1016/j.jaci.2015.05.044.

11. Huang Y.J., Sethi S., Murphy T. et al. Airway microbiome dynamics in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *J. Clin. Microbiol.* 2014, 52(8):2813-2823.
12. Man W.H., de Steenhuijsen Pijters W.A., Bogaert D. The microbiota of the respiratory tract: gatekeeper to respiratory health. *Nat. Rev. Microbiol.* 2017, 15: 259-270. doi: 10.1038/nrmicro.2017.14.
13. Morris A., Beck J.M., Schloss P.D. et al. Lung HIV microbiome project. Comparison of the respiratory microbiome in healthy nonsmokers and smokers. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2013, 187(10): 1067-75. doi: 10.1164/rccm.201210-1913OC.
14. Pragman A.A., Lyu T., Baller J.A. et al. The lung tissue microbiota of mild and moderate chronic obstructive pulmonary disease. *Microbiome.* 2018, 6(1): 7. doi: 10.1186/s40168-017-0381-4.
15. Sokolowska M., Frei R., Lunjani N. et al. Microbiome and asthma. *Asthma Res. Pract.* 2018, 4: 1. doi: 10.1186/s40733-017-0037-y.
16. Venkataraman A., Bassis C.M., Beck J.M. et al. Application of a neutral community model to assess structuring of the human lung microbiome. *MBio.* 2015, 6(1). pii: e02284-14. doi: 10.1128/mBio.02284-14.

*Поступила 30.03.18*

Контактная информация: Мазурина Светлана Александровна, к.б.н., 105064, Москва, М. Казенный пер., 5А, р.т. (495) 917-20-26

© О.Г.МАЛЫГИНА, Т.А.БАЖУКОВА, 2018

*О.Г.Малыгина, Т.А.Бажукова*

## **СТАНОВЛЕНИЕ МИКРОБИОЦЕНОЗА ТОЛСТОЙ КИШКИ У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ С ОЧЕНЬ НИЗКОЙ И ЭКСТРЕМАЛЬНО НИЗКОЙ МАССОЙ ТЕЛА НА ПЕРВОМ ГОДУ ЖИЗНИ**

Северный государственный медицинский университет, Архангельск

*Цель.* Оценка качественного и количественного состава культивируемых микроорганизмов толстой кишки у недоношенных детей весом при рождении 1500 г и менее на протяжении первого года жизни. *Материалы и методы.* Проведено бактериологическое исследование фекалий у 58 недоношенных детей с массой тела 1500 г и менее, находившиеся под наблюдением в течение года. *Результаты.* В неонатальном периоде отмечается выраженный дефицит микробиоценоза толстой кишки у недоношенных детей. К 2-месячному возрасту происходит медленное формирование микрофлоры кишечника, преимущественно за счет бифидобактерий. К году жизни сформированной микробиоты толстой кишки у недоношенных детей не наблюдается, в первую очередь, за счет дефицита лактобацилл и позднего формирования типичных эшерихий. *Заключение.* У недоношенных детей с очень низкой массой тела и экстремально низкой массой тела при рождении процесс становления микробиоценоза толстой кишки замедлен. Этому способствует длительная госпитализация в стационаре, реанимационном отделении, отсутствие естественного вскармливания и антибактериальная терапия.

Журн. микробиол., 2018, № 5, С. 60—66

Ключевые слова: микробиота, толстая кишка, недоношенный ребенок

*O.G.Malygina, T.A.Bazhukova*

## **LARGE BOWEL MICROBIOCENTOSIS IN IMMATURE INFANTS WITH VERY LOW AND EXTREMELY LOW BODY WEIGHT IN THE FIRST YEAR OF LIFE**

Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia

*Aim.* To assess qualitative and quantitative composition of culture large bowel bugs in immature infants with birth weight 1500 g and less during the first year of life. *Materials and methods.*