



Особенности микробиоты нижних отделов респираторного тракта у пациентов с различными формами туберкулеза легких по данным исследования микробных маркеров

Т.В. УМПЕЛЕВА¹, О.В. БЫСТРОВА², А.С. ЦВИРЕНКО¹, А.В. САВЕЛЬЕВ¹, А.В. БАЖЕНОВ¹,
Е.И. КИЛЬДЮШЕВА¹, Г.Е. ПРЕМЫСЛЕВА¹, С.Н. СКОРНЯКОВ¹, Д.В. ВАХРУШЕВА¹

¹ Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии - филиал ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Минздрава России, г. Екатеринбург, РФ

² ООО «Лаборатория Евротест», Москва, РФ

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: выявить различия в составе микробных маркеров, детектируемых технологией МСММ, в образцах бронхиальных смывов у пациентов с разными клинико-рентгенологическими вариантами течения туберкулеза.

Материалы и методы. Изучены особенности микробиоты нижних отделов респираторного тракта у пациентов с различными формами туберкулеза легких, получающих противотуберкулезную терапию.

Результаты. С использованием технологии масс-спектрометрии микробных маркеров были исследованы бронхиальные смывы, полученные из доли легкого с патологическими изменениями, и из другого легкого без патологии, что выбирали по данным компьютерной томографии. Выявлено наличие обратной корреляции высокой степени между количеством маркеров двух групп микроорганизмов: группы 1 (*Clostridium ramosum* + *Corynebacterium spp.* + *Streptomyces spp.*) и группы 2 (*Eubacterium spp.* + *Eggerthella lenta* + *Lactobacillus spp.* + *Propionibacterium freudenreichii* + *Actinomyces viscosus* + *Prevotella spp.* + *Rhodococcus spp.*). Установлено, что при доминировании микроорганизмов группы 2 бронхиальные смывы в 58,8% были получены из зоны поражения фиброзно-кавернозным туберкулезом. При доминировании микроорганизмов группы 1 бронхиальные смывы были получены из участков рассасывания инфильтративного туберкулеза (13,3%) или из участков без патологических изменений (46,6%).

Ключевые слова: туберкулез легких, микробиота легких, микробные маркеры.

Для цитирования: Умпелева Т.В., Быстрова О.В., Цвиренко А.С., Савельев А.В., Баженов А.В., Кильдюшева Е.И., Премыслева Г.Е., Скорняков С.Н., Вахрушева Д.В. Особенности микробиоты нижних отделов респираторного тракта у пациентов с различными формами туберкулеза легких по данным исследования микробных маркеров // Туберкулёз и болезни лёгких. – 2024. – Т. 102, № 6. – С. 90–97. <http://doi.org/10.58838/2075-1230-2024-102-6-90-97>

Specific Microbiota of the Lower Respiratory Tract in Patients with Various Forms of Pulmonary Tuberculosis according to Microbial Marker Testing Data

T.V. UMPELEVA¹, O.V. BYSTROVA², A.S. TSVIRENKO¹, A.V. SAVELIEV¹, A.V. BAZHENOV¹, E.I. KILDYUSHEVA¹,
G.E. PREMYSLEVA¹, S.N. SKORNYAKOV¹, D.V. VAKHRUSHEVA¹

¹ Ural Phthisiopulmonology Research Institute - a Branch of National Medical Research Center of Phthisiopulmonology and Infectious Diseases, Russian Ministry of Health, Yekaterinburg, Russia

² ООО Laboratoriya Evrotest, Moscow, Russia

ABSTRACT

The objective: to identify differences in the composition of microbial markers detected by mass spectrometry of microbial markers in specimens of bronchial washings from patients with different clinical and radiological forms of tuberculosis.

Subjects and Methods. Specific features of microbiota of the lower respiratory tract in patients with various forms of pulmonary tuberculosis receiving anti-tuberculosis therapy were studied.

Results. Using mass spectrometry of microbial markers we studied bronchial washings obtained from the lung lobe with pathological changes and from another lung without pathology, which were selected according to computed tomography data. A high degree of inverse correlation was revealed between the number of markers of two groups of microorganisms: Group 1 (*Clostridium ramosum* + *Corynebacterium spp.* + *Streptomyces spp.*) and Group 2 (*Eubacterium spp.* + *Eggerthella lenta* + *Lactobacillus spp.* + *Propionibacterium freudenreichii* + *Actinomyces viscosus* + *Prevotella spp.* + *Rhodococcus spp.*). It was found that when Group 2 microorganisms predominated, bronchial washings in 58.8% were obtained from fibrotic cavernous tuberculosis lesions. When Group 1 microorganisms predominated, bronchial washings were obtained from sites of resolving infiltrative tuberculosis (13.3%) or sites without pathological changes (46.6%).

Key words: pulmonary tuberculosis, lung microbiota, microbial markers.

For citation: Umpeleva T.V., Bystrova O.V., Tsvirenko A.S., Saveliev A.V., Bazhenov A.V., Kildyusheva E.I., Premysleva G.E., Skornyakov S.N., Vakhrusheva D.V. Specific microbiota of the lower respiratory tract in patients with various forms of pulmonary tuberculosis according to microbial marker testing data. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2024, vol. 102, no. 6, pp. 90–97. (In Russ.) <http://doi.org/10.58838/2075-1230-2024-102-6-90-97>

Для корреспонденции:

Умпелева Татьяна Валерьевна
E-mail: tumpeleva@ya.ru

Correspondence:

Tatiana V. Umpeleva
Email: tumpeleva@ya.ru

Введение

Показатель заболеваемости туберкулезом в России имеет стойкую тенденцию к снижению, при этом эффективность курсов химиотерапии при впервые выявленном туберкулезе недостаточно высока и в среднем составляет 70,1% [2]. В настоящее время ключевой информацией при назначении химиотерапии туберкулеза является лекарственная чувствительность возбудителя – *Mycobacterium tuberculosis*, при этом не учитывается взаимодействие возбудителя туберкулеза с другими микроорганизмами, входящими в состав микробных сообществ макроорганизма (микробиоты). Несмотря на активное развитие исследований микробиоты человека, количество доступных исследований респираторной микробиоты в контексте туберкулеза легких остается недостаточным. Результаты проведенных разными авторами исследований указывают на различия профилей респираторной микробиоты у пациентов с туберкулезом и здоровых лиц, смену микробиоты в процессе химиотерапии туберкулеза [15, 6, 8, 13], зависимость эффективности лечения туберкулеза от присутствия определенных групп микроорганизмов [19].

Анализируя результаты исследований респираторной микробиоты, можно отметить ряд аспектов, затрудняющих интерпретацию результатов и проведение их сравнения. Во-первых, использование для анализа разных видов диагностического материала. Установлено, что микробный состав различается на всем протяжении респираторного тракта, следовательно, состав микробиоты, полученной из верхних отделов, не может полностью соответствовать микробиоте легких [16]. Во-вторых, использование разных методов исследования. Основным методом для оценки микробного состава долгое время оставался посев биологического материала на питательные среды. Вместе с тем, этот метод позволяет выявить лишь крайне ограниченный спектр микроорганизмов. Это связано с наличием большого количества некультивируемых форм, потребности которых не могут быть удовлетворены использованием имеющихся бактериологических сред и методов культивирования [14]. Технологии

секвенирования сегодня принято считать «золотым стандартом» изучения микробиоты. Однако отсутствие стандартизации на всех этапах исследования затрудняет сопоставление результатов и оценку их значимости, а высокая стоимость исследования делают его недоступным для внедрения в практическое здравоохранение. Но даже с учетом имеющихся ограничений интерпретации данных становится очевидным, что при туберкулезе легких микобактерии – не единственный микроорганизм в легочной ткани, и уточнение роли других микроорганизмов может внести существенный вклад в понимание патогенеза туберкулеза и разработку новых подходов повышения эффективности терапии.

В качестве альтернативы описанным выше подходам можно рассматривать метод исследования микробных маркеров (жирных кислот, альдегидов, спиртов и стероидов), состав которых указывает на принадлежность микроорганизмов к 57 таксонам, с применением газовой хромато-масс-спектрометрии (МСММ). Данная методика позволяет проводить исследования любых образцов клинического материала без этапа культивирования, отличается низкой стоимостью и простотой выполнения. Технология, разработанная на основе этого метода, в настоящее время используется для оценки состояния микробиоты у больных с различной патологией [12, 2]. Исследований с использованием данного метода для изучения микробиоты респираторного тракта больных туберкулезом ранее не проводилось. Кроме того, одновременная оценка клинической значимости 57 таксонов микроорганизмов крайне затруднительна, и для упрощения анализа и интерпретации результатов исследования необходимо уточнение наиболее значимых показателей состава детектируемых маркеров.

Цель исследования

Выявить различия в составе микробных маркеров, детектируемых технологией МСММ, в образцах бронхиальных смывов у пациентов с разными клинико-рентгенологическими вариантами течения туберкулеза.

Материалы и методы

В исследование было включено 48 пациентов с установленным диагнозом туберкулеза легких, получающих противотуберкулезную химиотерапию. Бактериологически туберкулез был подтвержден у 44 пациентов. Все пациенты были госпитализированы в УНИИФ – филиал ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Минздрава России в период с апреля 2021 по май 2022 гг. для прохождения обследования и лечения. Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Забор материала производили при плановой бронхоскопии путем бронхиального смыва (БС). Через канал видеобронхоскопа в просвет интересующего бронха вводили подогретый до 37°C стерильный физиологический раствор в объеме 40 мл. Затем через канал видеобронхоскопа с помощью вакуум-аспиратора Storzultimate 30 аспирировали содержимое этого бронха в стерильную емкость для трахеобронхиальной санации, мощность электронасоса менее 80 л/мин. Материал получали из двух легких: БС № 1 проводили из доли легкого без изменений или с наименьшими изменениями по данным компьютерной томографии, БС № 2 проводили из «зоны поражения» другого легкого. В дальнейшем данные, полученные при исследовании БС, группировали в зависимости от клинико-рентгенологической формы туберкулеза, сравнивая между собой микробиоту легких при разных формах туберкулеза или с микробиотой из БС № 1 (без патологии). Доставка образцов в лабораторию осуществлялась при комнатной температуре сразу после получения. В течение часа после процедуры производили исследование материала для выявления микобактерий туберкулеза (ПЦР, микроскопия, посев на плотные и жидкие питательные среды согласно клиническим рекомендациям). Для исследования МСММ отбирали 3 мл БС, центрифугировали 15 мин, 13000 g при комнатной температуре в двух пробирках типа «эппендорф» (по 1,5 мл в каждой), осадок переносили в стеклянную вials, добавляли 200 мкл ацетона, высушивали в сухожаровом шкафу при +80°C. Вials с высушенными образцами отправляли для исследования методом МСММ в лабораториях г. Москвы: ООО «Институт аналитической токсикологии» и ООО «Лаборатория Евротест».

Исследование методом МСММ проводили по стандартной процедуре [5] с использованием газового хроматографа масс-спектрометра «МАЭСТРО» (ООО «Интерлаб», Россия) и Agilent 6890–5973 (Agilent Tech., США). По измеренным концентрациям микробных маркеров проводили реконструкцию микробного сообщества в биоматериале, все вычисления осуществляли в соответствии с зарегистрированной технологией (Разрешение ФС 2010/038 от 24.02.2010 г.). Каждый образец был охарактеризован количественно по 57 таксонам микроорганизмов.

Оценку характера изменений ткани легкого в доле, из которой проводился забор материала, проводили по данным компьютерной томографии органов грудной клетки (КТ ОГК), выполненной накануне.

Данные исследований заносили в электронную таблицу MS Excel. Для статистической обработки результатов использовали программное обеспечение BioStat 7. Статистическую значимость различий между группами оценивали с использованием критерия хи-квадрат, различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

В исследовании было проанализировано 86 БС, полученных от 48 пациентов, из них 48 БС было получено из «зоны поражения», и 38 БС из противоположного легкого. Все пациенты на момент проведения бронхоскопии получали противотуберкулезную терапию: по I режиму – 10 (20,8%) пациентов, по IV режиму – 14 (29,2%) и по V режиму – 24 (50,0%). Первый курс химиотерапии получал 21 (43,7%) пациент, повторный курс после неуспешного был у 11 (22,9%), хроническое течение туберкулеза было установлено у 16 (33,3%) пациентов. У 3 пациентов была сопутствующая ВИЧ-инфекция, у 9 пациентов – инфекционные гепатиты.

По результатам микробиологических исследований на туберкулез в 20/86 (23,3%) образцах БС методом люминесцентной микроскопии были выявлены кислотоустойчивые микобактерии (КУМ), из 14/86 (16,3%) образцов БС был получен рост колоний *M. tuberculosis* на плотной и/или жидкой питательной среде. Результаты исследования МСММ формируются в виде отчета, содержащего количественные значения 57 таксонов микроорганизмов. Учитывая возможные вариации в общей микробной нагрузке образца, которые могут быть связаны не только с особенностями клинической картины заболевания у пациентов, но и с особенностями отбора БС (качество смыва биоматериала с поверхности бронхов), неоднородностью биоматериала (наличие сгустков и слизи), анализ результатов исследования микробиоты БС проводили путем оценки доли маркеров отдельных микроорганизмов, а не их абсолютных значений. Такой анализ позволяет более успешно отметить особенности структуры микробного сообщества и лучше оценить взаимоотношения между отдельными группами микроорганизмов.

Долю маркеров каждого микроорганизма рассчитывали как процент от общего количества маркеров детектированных микроорганизмов. Расчет долей маркеров микроорганизмов позволил разделить всю совокупность детектируемых таксонов на 4 категории:

1. Микроорганизмы, маркеры которых в ходе исследования выявлены не были (*Bacillus cereus*,

Bacillus megaterium, *Peptostreptococcus anaerobius* 17642, *Propionibacterium* spp., *Enterobacteriaceae* spp. (*E. coli* u др.), *Flavobacterium* spp., *Stenotrophomonas maltophilia*, *Chlamydia trachomatis*).

2. Микроорганизмы, доли которых в среднем не превышали 1% (*Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Staphylococcus epidermidis*, *Bacteroides fragilis*, *Bifidobacterium* spp., *Blautia coccoides*, *Clostridium* spp. (зрелая *Cl. tetani*), *Clostridium difficile*, *Clostridium histolyticum*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium propionicum*, *Eggerthella lenta*, *Fusobacterium* spp./*Haemophilus* spp., *Peptostreptococcus anaerobius* 18623, *Prevotella* spp., *Propionibacterium acnes*, *Propionibacterium jensenii*, *Veillonella* spp., *Actinomyces* spp., *Nocardia* spp., *Nocardia asteroides*, *Mycobacterium* spp., *Pseudonocardia* spp., *Streptomyces farmamarensis*, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter mucosalis*, *Alcaligenes* spp./*Klebsiella* spp., *Kingella* spp., *Moraxella* spp./*Acinetobacter* spp., *Porphyromonas* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus* spp., *Микроскопические грибы*, *кампестерол* *Микроскопические грибы*, *ситостерол*, *Herpes вирус* spp., *Цитомегаловирус*, *Эпштейна-Барр вирус*).

3. Микроорганизмы, доли которых составляли от 1 до 10% (*Streptococcus mutans* (анаэробные), *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus* spp., *Propionibacterium freudenreichii*, *Ruminococcus* spp., *Actinomyces viscosus*, *Corynebacterium* spp., *Rhodococcus* spp., *Streptomyces* spp., *Candida* spp.).

4. Микроорганизмы, доли которых превышали 10% (*Clostridium ramosum*, *Eubacterium* spp.).

Построение корреляционной матрицы (в качестве значений использовали доли микроорганизмов) позволило выделить две группы микроорганизмов (рис. 1). Между долями микроорганизмов, входящих в одну и ту же группу, были выявлены

положительные значения коэффициента корреляции (учитывали $r > 0,5$), а между долями микроорганизмов, входящих в разные группы, – отрицательные (учитывали $r < -0,5$). Суммируя доли микроорганизмов внутри 1 и 2 групп, мы получили значение коэффициента корреляции между суммарными долями микроорганизмов в 1 и 2 группах $r = -0,98$, что указывает на сильную степень отрицательной корреляции, то есть при увеличении совокупной доли микроорганизмов 1 группы в микробном сообществе совокупная доля микроорганизмов 2 группы уменьшается. Суммарная доля микроорганизмов, вошедших в обе группы, составила 87,3% (95% ДИ 86,2–88,4) от всех детектированных таксонов.

Для удобства поиска взаимосвязи между особенностями клинической картины туберкулеза и особенностями микробиоты был рассчитан коэффициент (Км), отражающий соотношение суммарных долей микроорганизмов двух вышеописанных категорий (Уравнение 1). Значение коэффициента варьировало в широких пределах (от 0,08 до 9,5; среднее значение 1,89; медиана 1,19).

$$K_m = \frac{\text{Доля (Clostridium ramosum + Corynebacterium spp + Streptomyces spp.)}}{\text{Доля (Eubacterium spp. + Propionibacterium freudenreichii + Lactobacillus spp. + Rhodococcus spp + Actinomyces viscosus + Prevotella spp + Eggerthella lenta)}}$$

Уравнение 1. Расчет Км, характеризующего соотношение суммарных долей микроорганизмов
Equation 1. Calculation of Km, characterising the ratio of total microorganism proportions

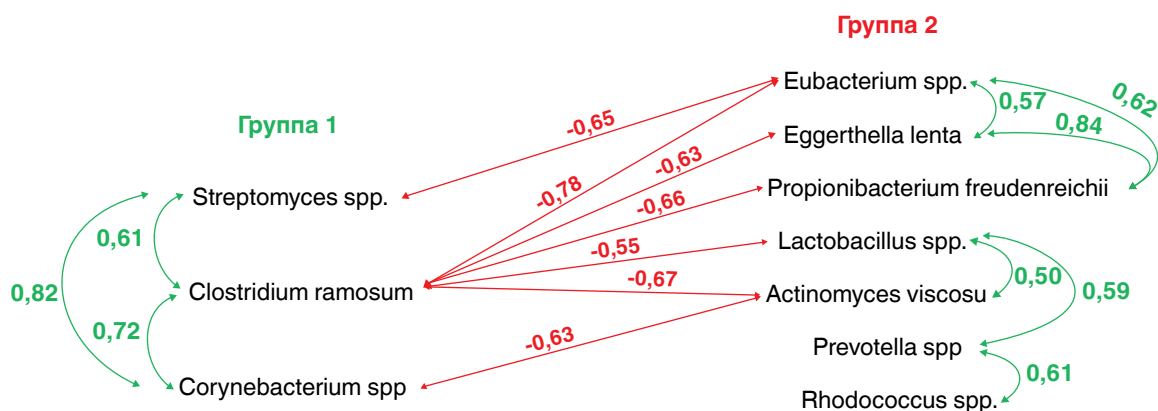


Рис. 1. Коэффициенты корреляции между микроорганизмами, маркеры которых были выявлены в бронхиальных смывах у пациентов с туберкулезом методом масс-спектрометрии микробных маркеров. Зелеными стрелками отмечены положительные корреляции, красными – отрицательные. Числовое значение рядом со стрелкой – величина коэффициента корреляции

Fig. 1. Correlation coefficients between microorganisms which markers were identified in bronchial washings from tuberculosis patients by mass spectrometry of microbial markers. Green arrows indicate positive correlations, red arrows indicate negative ones. The numeric value next to the arrow is the value of the correlation coefficient

Таблица 1. Количество образцов с различными значениями коэффициента Км, полученных из участков с различными клинико-рентгенологическими формами туберкулеза (БС № 2) и из участков с отсутствием патологии БС № 1

Table 1. Number of samples with different Km coefficient values obtained from sites with different clinical and radiological forms of tuberculosis (BS No. 2) and from sites with no pathology BS No. 1

Км	БС № 2					БС № 1	Всего образцов
	Фиброзно-кавернозный туберкулез	Туберкулемы	Очаги обсеменения	Инfiltrативный туберкулез легких, фаза распада	Инfiltrативный туберкулез легких, фаза рассасывания	Без изменений (смыв)	
>2	0	3	6	2	3	14	28
1 – 2	0	2	1	4	3	7	17
0,5 – 0,99	7	1	2	5	0	4	19
<0,5	17	1	2	1	0	1	22
Всего образцов	24	7	11	12	6	26	86

Сопоставление изменений в легких по данным КТ ОГК и рассчитанных значений Км позволило установить следующую закономерность: при увеличении значений Км уменьшалась доля образцов БС, полученных из легких с поражениями, характерными для фиброзно-кавернозного туберкулеза (ФКТ), и увеличивался процент образцов БС, полученных из доли легкого «без изменений». При значении Км<1, то есть когда в конкретном БС суммарные доли маркеров микроорганизмов из 2 группы преобладали над суммарной долей из 1 группы, ФКТ у пациентов наблюдался в 58,8% случаях. В то время как значение Км>1 чаще соответствовало рассасыванию инфильтрации (13,3%) или отсутствию патологических изменений в легких (46,6%) ($p<0,001$) (табл. 1).

Таким образом, из 26 образцов, взятых из долей легких «без изменений», в 21 случае значение Км было более 1. Далее, по мере увеличения тяжести течения туберкулеза, тенденция менялась на противоположную. Так, среди 24 образцов, взятых от пациентов с ФКТ, ни в одном случае Км не достиг 1, то есть величина Км может служить маркером тяжести туберкулезного процесса, а ее динамика в процессе лечения может позволить оценить эффективность

проводимой химиотерапии и формировать прогноз течения инфекции.

Оценка количества БС, содержащих маркеры других микроорганизмов, не вошедших в Уравнение 1, но детектируемых технологией МСММ, при Км>1 и Км<1, показала, что маркеры *Staphylococcus epidermidis*, *Bifidobacterium spp.*, *Peptostreptococcus anaerobius 18623* выявляются чаще при Км>1, а *Cl. histolyticum*, *Str. pneumoniae*, *Moraxella spp./Acinetobacter spp.*, микроскопические грибы, ситостерол – при Км<1 (табл. 2).

Обсуждение

Исследования микробиоты при туберкулезе открывают перспективу выявления новых прогностических и терапевтических мишеней для повышения эффективности лечения. В данном исследовании с использованием технологии МСММ были выявлены различия в составе микробных маркеров у пациентов с разной клинико-рентгенологической картиной течения туберкулеза. В частности, доминирование суммарных долей маркеров *Clostridium ramosum*, *Corynebacterium spp.*, *Streptomyces spp.* было ассоциировано с отсутствием повреждений легкого или процессами рассасывания, формирования ограниченного туберкулеза. Доминирование суммарных долей *Eubacterium spp.*, *Propionibacterium freudenreichii*, *Lactobacillus spp.*, *Rhodococcus spp.*, *Actinomyces viscosus*, *Prevotella spp.*, *Eggerthella lenta* статистически значимо чаще было связано с наличием в легких изменений, характерных для фиброзно-кавернозного туберкулеза.

Представители рода *Corynebacterium* – грамположительные бактерии, они часто колонизируют кожу и верхние дыхательные пути. Помимо *C. diphtheriae*, являющимся возбудителем дифтерии, и *C. pseudodiphtheriticum*, выявляемом при пневмониях, другие виды чаще ассоциированы со здоровой микробиотой, и их присутствие коррелирует со снижением колонизации макроорганизма условно-патогенными микроорганизмами [9]. *Streptomyces* – грамположительные бактерии,

Таблица 2. Количество образцов БС, содержащих маркеры микроорганизмов при Км>1 и Км<1

Table 2. Number of BS samples containing microbial markers at Км>1 and Км<1

Микроорганизм	Количество образцов, содержащих маркеры микроорганизма (%)		Значение p
	Км>1 (всего 45 БС)	Км<1 (всего 41 БС)	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	36 (80,0)	23 (56,1)	0,03
<i>Bifidobacterium spp.</i>	32 (71,1)	19 (46,3)	0,03
<i>Peptostreptococcus anaerobius 18623</i>	32 (71,1)	18 (43,9)	0,02
<i>Cl. histolyticum/Str. pneumoniae</i>	15 (33,3)	24 (58,5)	0,03
<i>Moraxella spp./Acinetobacter spp.</i>	8 (17,40)	17(41,5)	0,03
Микроскопические грибы, ситостерол	36 (78,3)	40 (97,5)	0,02

продуценты широкого спектра биологически-активных веществ, таких как гидролитические ферменты, антибиотики, иммуномодулирующие и канцеростатические метаболиты. Благодаря таким уникальным особенностям представителей *Streptomyces* рассматривают как кандидатов в пробиотические препараты для иммуномодуляции и антагонистического воздействия на патогенные микроорганизмы [4]. *Clostridium ramosum* – грамположительные анаэробные, спорообразующие бактерии, являющиеся нормальным обитателем кишечной микробиоты человека. Инфекции, при которых выделяют *C. ramosum*, часто носят оппортунистический характер и возникают при определенных обстоятельствах, таких как травма, хирургическое вмешательство или наличие других сопутствующих заболеваний. Описаны случаи бактериемии *C. ramosum*, при этом, предположительно, источником инфекции кровотока является транслокация бактерий из пищеварительной системы [17]. В опытах *in vivo* было доказано, что *C. ramosum* продуцирует различные органические кислоты, которые могут уменьшать рН окружающей среды, тем самым влияя на реализацию вирулентных свойств патогенных бактерий [20]. Протективным действием представителей *Corynebacterium* и *Streptomyces* можно объяснить полученные нами результаты об увеличении доли этих микроорганизмов в здоровом легком, однако в этом случае роль *Clostridium ramosum*, являющихся доминантами в кишечном микробиоме, требует уточнения.

Бактерии *Eubacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Propionibacterium spp.*, *Rhodococcus spp.*, *Actinomyces spp.*, *Eggerthella spp.*, отнесенные в нашем исследовании ко 2 группе, являются комменсалами пищеварительного тракта. Представители этих родов часто описываются в качестве этиологического агента при пневмонии у иммуно-компрометиро-

ванных пациентов [10, 11], описаны случаи бактериемии, при которых были выделены представители рода *Eggerthella* [14]. Физико-химические изменения, происходящие при формировании фиброзно-кавернозных изменений в ткани легкого, по-видимому, играют важную роль в изменении микробного сообщества и смене доминирования бактерий, свойственных микробиоте здорового человека. Также в БС при доминировании бактерий 2 группы нами чаще выявлялись маркеры условно-патогенных бактерий *Cl. histolyticum/Str. pneumoniae* и *Moraxella spp./Acinetobacter spp.*, что может рассматриваться как дополнительный фактор, способствующий прогрессированию туберкулеза.

Prevotella spp. в норме является компонентом микробиоты как верхних, так и нижних отделов респираторного тракта [15], в литературе выдвигается гипотеза о ее протективной роли [7]. В данном случае принадлежность этих бактерий ко 2 группе и ассоциация с неблагоприятным прогнозом течения туберкулеза требует уточнения.

Заключение

Наше исследование показало наличие сложных взаимосвязей между компонентами микробиоты легких при туберкулезе. Увеличение тяжести туберкулезного процесса сопровождалось сменой доминирующих видов микроорганизмов, что нашло отражение в увеличении значения коэффициента, рассчитанного на основе соотношения количества маркеров основных представителей микробиоты. Мы полагаем, что данные о соотношении описанных микробных маркеров, определенных в образцах бронхиального смыва технологией МСММ, могут быть использованы для оценки эффективности проводимой химиотерапии и формирования прогноза течения инфекции.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare there is no conflict of interest.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильева И.А., Стерликов С.А., Тестов В.В., Михайлова Ю.В., Обухова О.В. Отраслевые и экономические показатели противотуберкулезной работы в 2021–2022 гг. Статистические материалы, 2023. – 59 с.
2. Осипов Г.А., Зыбина Н.Н., Родионов Г.Г. Опыт применения масс-спектрометрии микробных маркеров в лабораторной диагностике // Медицинский алфавит. Современная лаборатория. – 2013. – №1. – С. 64–67.
3. Осипов Г.А., Бойко Н.Б., Новикова В.П., Гриневич В.Б., Федосова Н.Ф., Цех О.М. Методика масс-спектрометрии микробных маркеров как способ оценки пристеночной кишечной микробиоты при заболеваниях органов пищеварения: учебно-методическое пособие. Санкт-Петербург, 2013. – 96 с.

REFERENCES

1. Vasilyeva I.A., Sterlikov S.A., Testov V.V., Mikhaylova Yu.V., Obukhova O.V. *Otraslevye i ekonomicheskiye pokazateli protivotuberkulyoznoy raboty v 2021–2022 gg. Statisticheskiye Materialy*. [Sectoral and economic rates of tuberculosis control in 2017–2018. Statistic materials]. 2023, 59 p.
2. Osipov G.A., Zybina N.N., Rodionov G.G. Experience in the use of mass spectrometry of microbial markers in laboratory diagnostics. *Meditinskyye Alfabity, Sovremennaya Laboratoriya*, 2013, no. 1, pp. 64–67. (In Russ.)
3. Osipov G.A., Boyko N.B., Novikova V.P., Grinevich V.B., Fedosova N.F., Tsekh O.M. *Metodika mass-spektrometrii mikrobnykh markerov kak sposob otsenki pristenochnoy kishhechnoy mikrobioty pri zabolovaniyakh organov pishchevareniya: uchebno-metodicheskoye posobiye*. [Methods of mass spectrometry of microbial markers as a way to assess the parietal intestinal microbiota in diseases of the digestive system: educational and methodological manual]. St. Petersburg, 2013, 96 p.

4. Cuzzo S., A. de Moreno de LeBlanc, LeBlanc J. G., Hoffmann N., Tortella G. R. Streptomyces genus as a source of probiotics and its potential for its use in health // *Microbiological Research*. – 2023. – № 266. – P.127248. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127248>
5. Gardiner B.J., Tai A.Y., Kotsanas D., Francis M.J., Roberts S.A., Ballard S.A., Junckerstorff R.K., Kormana T.M. Clinical and microbiological characteristics of Eggerthella lenta bacteremia // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2015. – Vol. 53, № 2. – P. 626–635. <https://doi.org/10.1128/JCM.02926-14>
6. Guohui X., Zhao C., Qinglong G., Taosheng Y., Yimin T., Peikun G., Juanjuan Zh., Min O., Xiangdong F., Lili R., Minfei Y., Zhaoqin W., Lei L., Liang Y. Insights into the unique lung microbiota profile of pulmonary tuberculosis patients using metagenomic next-generation sequencing // *Microbiol Spectr*. – 2022. – Vol. 10, № 1. – P. 1-15.
7. Horn K.J., Schopper M.A., Drigot Z.G., Clark S.E. Airway Prevotella promote TLR2-dependent neutrophil activation and rapid clearance of Streptococcus pneumoniae from the lung // *Nature Communications*. – 2022. – Vol.13, № 1. – P. 3321. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-31074-0>
8. Hu Y., Cheng M., Liu B., Dong J., Sun L., Yang J., Yang F., Chen X., Jin Q. Metagenomic analysis of the lung microbiome in pulmonary tuberculosis – a Pilot Study // *Emerging Microbes and Infections*. – 2020. – Vol. 9, № 1. P.1444–1452. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1783188>
9. Kelly M.S., Plunkett C., Yu Y., Aquino J.N., Patel S.M., Hurst J.H., Young R.R., Smieja M., Steinhoff A.P., Arcscott-Mills T., Feemster K.A., Boiditswe S., Leburu T., Mazhani T., Patel M.Z., Rawls J.F., Jawahar J., Shah S.S., Polage Ch. R., Cunningham C.K., Seed P.C. Non-diphtheriae Corynebacterium species are associated with decreased risk of pneumococcal colonization during infancy // *ISME Journal*. – 2022. – Vol. 16, № 3. – P. 655–665. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-01108-4>
10. Kim S.R., Jung L.Y., Oh I.J., Kim Y.Ch., Shin K.Ch., Lee M.K., Yang S.H., Park H.S., Kim M.K., Kwak J.Y., Um S.J., Ra S.W., Kim W.J., Kim S., Choi E.G., Lee Y.Ch. Pulmonary actinomycosis during the first decade of 21st Century: Cases of 94 patients // *BMC Infectious Diseases*. – 2013. – № 13 – P. 216. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-216>
11. Kradin R.L., Mark E.J. Pathology of pulmonary infection. In book: *Diagnostic Pathology of Infectious Disease* (pp.143-206). Second Edi. Elsevier Inc., 2018
12. Krainyukov P.E., Moiseev D.N., Zhilenkova O.G., Kokorin V.V., Popov P.A., Kolodkin B.B., Kim D.Yu., Kondakov E.V. Use of microbial marker mass spectrometry method in etiologic diagnostics of purulent-inflammatory hand diseases // *Bulletin of Pirogov National Medical & Surgical Center*. – 2020. – Vol.15, № 4. – P. 52-55. <https://doi.org/10.25881/bpnmsc.2020.25.88.010>
13. Krishna P., Jain A., Bisen P.S. Microbiome diversity in the sputum of patients with pulmonary tuberculosis // *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. – 2016. – Vol. 35, № 7. – P. 1205-1210. <https://doi.org/10.1007/s10096-016-2654-4>
14. Lagier J.Ch., Dubourg G., Million M., Cadoret F., Bilen M, Fenollar F, Levasseur A., Rolain J.M., Fournier P.E., Raoult D. Culturing the human microbiota and culturomics // *Nature Reviews Microbiology*. – 2018. – Vol. 16, № 9. – P. 540-550. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0041-0>
15. Leitao F., Sergio F., Peters C.M., Sheel A.W., Yang J., Nislow C., Lam S., Leung J.M., Sin D.D. Characterization of the lower airways and oral microbiota in healthy young persons in the community // *Biomedicines*. – 2023. – Vol. 11, № 3. – P. 841. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11030841>
16. Man, W.H., Wouter A. A., Piters D.S., Bogaert D. The microbiota of the respiratory tract: gatekeeper to respiratory health // *Nature Reviews Microbiology*. – 2017. – Vol. 15, № 5. – P. 259–270. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.14>
17. Milosavljevic M.N., Kostic M., Milovanovic J., Zaric R.Z., Stojadinovic M., Jankovic S.M., Stefanovic S.M. Antimicrobial treatment of Erysipelatoclostridium ramosum invasive infections: a systematic review // *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*. – 2021. – № 63. – P. 1–12. <https://doi.org/10.1590/s1678-9946202163030>
18. Ugarte-Torres A., Gillrie M.R., Griener T.P., Church D.L. Eggerthella lenta bloodstream infections are associated with increased mortality following empiric piperacillin-tazobactam (TZP) monotherapy: a population-based cohort study // *Clinical Infectious Diseases*. – 2018. – Vol. 67, № 2. – P. 221-228. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy057>
19. Wu J., Liu W., He L., Huang F., Chen J., Cui P., Shen Y., Zhao J., Wang W., Zhang Y., Zhu M., Zhang W., Zhang Y. Sputum microbiota associated with new, recurrent and treatment failure tuberculosis // *PLoS ONE*. – 2013. – Vol. 8, № 12. – P. 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083445>
20. Xu J., Koyanagi Y., Isogai E., Nakamura Sh. Effects of fermentation products of the commensal bacterium Clostridium ramosum on motility, intracellular pH, and flagellar synthesis of enterohemorrhagic Escherichia coli // *Archives of Microbiology*. – 2019. – Vol. 201, № 6. – P. 841–846. <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01656-6>
4. Cuzzo S., A. de Moreno de LeBlanc, LeBlanc J.G., Hoffmann N., Tortella G. R. Streptomyces genus as a source of probiotics and its potential for its use in health. *Microbiological Research*, 2023, no. 266, pp. 127248. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127248>
5. Gardiner B.J., Tai A.Y., Kotsanas D., Francis M.J., Roberts S.A., Ballard S.A., Junckerstorff R.K., Kormana T.M. Clinical and microbiological characteristics of Eggerthella lenta bacteremia. *Journal of Clinical Microbiology*, 2015, vol. 53, no. 2, pp. 626-635. <https://doi.org/10.1128/JCM.02926-14>
6. Guohui X., Zhao C., Qinglong G., Taosheng Y., Yimin T., Peikun G., Juanjuan Zh., Min O., Xiangdong F., Lili R., Minfei Y., Zhaoqin W., Lei L., Liang Y. Insights into the unique lung microbiota profile of pulmonary tuberculosis patients using metagenomic next-generation sequencing. *Microbiol. Spectr*, 2022, vol. 10, no. 1, pp. 1-15.
7. Horn K.J., Schopper M.A., Drigot Z.G., Clark S.E. Airway Prevotella promote TLR2-dependent neutrophil activation and rapid clearance of Streptococcus pneumoniae from the lung. *Nature Communications*, 2022, vol. 13, no. 1, pp. 3321. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-31074-0>
8. Hu Y., Cheng M., Liu B., Dong J., Sun L., Yang J., Yang F., Chen X., Jin Q. Metagenomic analysis of the lung microbiome in pulmonary tuberculosis – a pilot study. *Emerging Microbes and Infections*, 2020, vol. 9, no. 1, pp. 1444-1452. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1783188>
9. Kelly M.S., Plunkett C., Yu Y., Aquino J.N., Patel S.M., Hurst J.H., Young R.R., Smieja M., Steinhoff A.P., Arcscott-Mills T., Feemster K.A., Boiditswe S., Leburu T., Mazhani T., Patel M.Z., Rawls J.F., Jawahar J., Shah S.S., Polage Ch.R., Cunningham C.K., Seed P.C. Non-diphtheriae Corynebacterium species are associated with decreased risk of pneumococcal colonization during infancy. *ISME Journal*, 2022, vol. 16, no. 3, pp. 655-665. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-01108-4>
10. Kim S.R., Jung L.Y., Oh I.J., Kim Y.Ch., Shin K.Ch., Lee M.K., Yang S.H., Park H.S., Kim M.K., Kwak J.Y., Um S.J., Ra S.W., Kim W.J., Kim S., Choi E.G., Lee Y.Ch. Pulmonary actinomycosis during the first decade of 21st Century: cases of 94 patients. *BMC Infectious Diseases*, 2013, no. 13, pp. 216. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-216>
11. Kradin R.L., Mark E.J. Pathology of pulmonary infection. In book: *Diagnostic Pathology of Infectious Disease*. pp. 143-206. Second Edi. Elsevier Inc., 2018
12. Krainyukov P.E., Moiseev D.N., Zhilenkova O.G., Kokorin V.V., Popov P.A., Kolodkin B.B., Kim D.Yu., Kondakov E.V. Use of microbial marker mass spectrometry method in etiologic diagnostics of purulent-inflammatory hand diseases. *Bulletin of Pirogov National Medical & Surgical Center*, 2020, vol. 15, no. 4, pp. 52-55. <https://doi.org/10.25881/bpnmsc.2020.25.88.010>
13. Krishna P., Jain A., Bisen P.S. Microbiome diversity in the sputum of patients with pulmonary tuberculosis. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2016, vol. 35, no. 7, pp. 1205-1210. <https://doi.org/10.1007/s10096-016-2654-4>
14. Lagier J.Ch., Dubourg G., Million M., Cadoret F., Bilen M, Fenollar F, Levasseur A., Rolain J.M., Fournier P.E., Raoult D. Culturing the human microbiota and culturomics. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, vol. 16, no. 9, pp. 540-550. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0041-0>
15. Leitao F., Sergio F., Peters C.M., Sheel A.W., Yang J., Nislow C., Lam S., Leung J.M., Sin D.D. Characterization of the lower airways and oral microbiota in healthy young persons in the community. *Biomedicines*, 2023, vol. 11, no. 3, pp. 841. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11030841>
16. Man W.H., Wouter A.A., Piters D.S., Bogaert D. The microbiota of the respiratory tract: gatekeeper to respiratory health. *Nature Reviews Microbiology*, 2017, vol. 15, no. 5, pp. 259-270. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.14>
17. Milosavljevic M.N., Kostic M., Milovanovic J., Zaric R.Z., Stojadinovic M., Jankovic S.M., Stefanovic S.M. Antimicrobial treatment of Erysipelatoclostridium ramosum invasive infections: a systematic review. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 2021, no. 63, pp. 1-12. <https://doi.org/10.1590/s1678-9946202163030>
18. Ugarte-Torres A., Gillrie M.R., Griener T.P., Church D.L. Eggerthella lenta bloodstream infections are associated with increased mortality following empiric piperacillin-tazobactam (TZP) monotherapy: a population-based cohort study. *Clinical Infection Diseases*, 2018, vol. 67, no. 2, pp. 221-228. <https://doi.org/10.1093/cid/ciy057>
19. Wu J., Liu W., He L., Huang F., Chen J., Cui P., Shen Y., Zhao J., Wang W., Zhang Y., Zhu M., Zhang W., Zhang Y. Sputum microbiota associated with new, recurrent and treatment failure tuberculosis. *PLoS ONE*, 2013, vol. 8, no. 12, pp. 1-11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083445>
20. Xu J., Koyanagi Y., Isogai E., Nakamura Sh. Effects of fermentation products of the commensal bacterium Clostridium ramosum on motility, intracellular pH, and flagellar synthesis of enterohemorrhagic Escherichia coli. *Archives of Microbiology*, 2019, vol. 201, no. 6, pp. 841-846. <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01656-6>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

*Уральский научно-исследовательский институт
фтизиопульмонологии – филиал ФГБУ «НМИЦ ФПИ»
МЗ РФ России
620039, Россия, г. Екатеринбург, ул. 22-го Партсъезда, д. 50
Тел: + 7 (343) 333-44-59*

Умпелева Татьяна Валерьевна

*К. б. н., ведущий научный сотрудник отдела микробиологии
и доклинических исследований*

Цвиренко Анна Сергеевна

Врач-эндоскопист

Савельев Александр Владимирович

*К. м. н., заведующий отделением лучевой диагностики,
врач-рентгенолог*

Баженов Александр Викторович

К. м. н., врач-торакальный хирург

Кильдюшева Елена Ивановна

К. м. н., врач-фтизиатр

Премыслева Глафира Евгеньевна

Врач-фтизиатр

Скорняков Сергей Николаевич

*Д. м. н., профессор, заведующий научно-клиническим
отделом*

Вахрушева Диана Владимировна

*К. б. н., заведующая научным отделом микробиологии
и доклинических исследований*

ООО «Лаборатория Евротест»

*129110, Москва, ул. Щепкина, д. 58, стр. 3
Тел: + 7 (499) 490-12-64*

Быстрова Ольга Витальевна

К. х. н., ведущий научный сотрудник

INFORMATION ABOUT AUTHORS:

*Ural Phthiopulmonology Research Institute – a Branch
of National Medical Research Center of Phthiopulmonology
and Infectious Diseases, Russian Ministry of Health
50, XXII Parts'ezda St., Yekaterinburg, 620039
Phone: + 7 (343) 333-44-59*

Tatiana V. Umpeleva

*Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher
of Department of Microbiology and Preclinical Studies*

Anna S. Tsvirenko

Endoscopist

Aleksandr V. Saveliev

*Candidate of Medical Sciences, Head of X-Ray Diagnosis
Department, Radiologist*

Aleksandr V. Bazhenov

Candidate of Medical Sciences, Thoracic Surgeon

Elena I. Kildyusheva

Candidate of Medical Sciences, Phthisiologist

Glaphira E. Premysleva

Phthisiologist

Sergey N. Skornyakov

*Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Research
Clinical Department*

Diana V. Vakhrusheva

*Candidate of Biological Sciences, Head of Research
Department of Microbiology and Preclinical Studies*

ООО Laboratoriya Evrotest,

*58, Build. 3, Schepkina St., Moscow 129110
Phone: + 7 (499) 490-12-64*

Olga V. Bystrova

Candidate of Chemical Sciences, Leading Researcher

Поступила 22.01.2024

Submitted as of 22.01.2024