

Magdalena Malinowska<sup>1</sup>, Beata Tokarz-Deptuła<sup>1\*</sup>, Wiesław Deptuła<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Katedra Immunologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Szczeciński

<sup>2</sup>Katedra Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Szczeciński

Wpłynęło w październiku 2015 r.  
Zaakceptowano w styczniu 2016 r.

1. Wprowadzenie. 2. Charakterystyka mikrobiomu dróg oddechowych w warunkach fizjologicznych. 3. Mikrobiom dróg oddechowych w warunkach patologicznych. 4. Podsumowanie

### The respiratory tract microbiota in physiological and pathological conditions

**Abstract:** The human body is inhabited by millions of microorganisms, residing on and in the skin, in the gastrointestinal tract, on the mucous membranes of the upper respiratory tract and in the vagina. Lower respiratory tract has considered to be free of bacteria, but the current research on microorganisms, using 16S rRNA gene sequencing, led to the identification of the microbiome of this unique environment. It has been demonstrated that the bacterial flora of the lower respiratory tract is significantly different from that of the upper respiratory tract. Moreover, a difference in the microbiome of the lower respiratory tract of healthy individuals and patients suffering from chronic diseases such as asthma and chronic obstructive pulmonary disease (COPD), has been shown.

1. Introduction. 2. Characteristics of the respiratory tracts microbiota in physiological conditions. 3. Respiratory tract microbiota in pathological conditions. 4. Summary

**Słowa kluczowe:** mikrobiom, układ oddechowy

**Key words:** microbiome, respiratory system

## 1. Wprowadzenie

Ludzkie ciało jest siedliskiem milionów symbiotycznych mikroorganizmów obejmujących m.in. powłoki skórne, przewód pokarmowy oraz część zewnętrzną, skórę i błony śluzowe układu moczowo-płciowego [20]. Ten „ludzki mikrobiom” odpowiada za około 1–3% masy ciała człowieka, a całkowita liczba drobnoustrojów znajdujących się w ludzkim organizmie jest ponad dziesięciokrotnie wyższa niż liczba komórek somatycznych [43]. Podobnie jak ciało człowieka, tak i zasiedlające je drobnoustroje to niezwykle złożony ekosystem, który warunkuje homeostazę makroorganizmu i jego zdrowie, jako że wpływa m.in. na stan immunologiczny organizmu [19, 37]. W 2007 roku amerykański National Institute of Health, rozpoczął program Human Microbiome Project (HMP), który zakładał określenie ludzkiej mikroflory oraz jej roli tak w zdrowym organizmie jak i w trakcie choroby. Projekt ten miał za zadanie scharakteryzować mikrobiom człowieka na poziomie sekwencji nukleotydowej całego genomowego DNA mikroorganizmów człowieka, sekwencji nukleotydowej mitochondrialnego RNA oraz zsyntetyzowanych białek bakteryjnych i produktów metabolizmu drobnoustrojów, pochodzących ze skóry, jamy ustnej i przewodu pokarmowego oraz układu moczowo-płcio-

wego. Zakładał on zbadanie i analizę różnic w ludzkiej mikroflorze, w tym różnic w zależności od populacji ludzi i ich genotypu, wieku, sposobu odżywiania, jak też środowiska życia i czynników socjalnych oraz ich stanu zdrowia [2, 25, 43].

W 2011 roku badania z tego zakresu poszerzono nowym projektem prowadzonym przez Narodowy Instytut Serca, Płuc i Krwi (NHLBI), który ma na celu określenie mikrobiomu układu oddechowego nie tylko u osób zdrowych, ale także zakażonych wirusem HIV (Lung HIV Microbiome Project) [28]. Dotychczas ze względu na brak skutecznych technik hodowli mikroorganizmów, które pozwoliłyby na odtworzenie ich siedliska, w tym izolację bakterii z popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych uważano, że drogi oddechowe, głównie dolne (płuca) są jałowe [31]. Obecnie mikrobiom płuc analizowany jest najczęściej wysokowydajnym sekwencjonowaniem małego i wysoce konserwatywnego locus w bakteryjnym DNA – genu 16S rRNA zawierającego regiony hiperzmienne, które mogą stanowić „podpis” gatunkowo specyficznych sekwencji użytecznych do identyfikacji bakterii. Dzięki tym metodom wykazano, że dolne drogi oddechowe (płuca) zasiedlane są drobnoustrojami, które są odmienne od mikroflory górnych dróg oddechowych. Wykazano także, że flora bakteryjna płuc zdrowych ludzi znacznie

\* Autor korespondencyjny: Katedra Immunologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Szczeciński, ul. Felczaka 3c, 71-412 Szczecin; tel. (91) 444 16 05; e-mail: kurp13@univ.szczecin.pl

różni się od flory bakteryjnej płuc osób z chorobami takimi jak chociażby astma czy przewlekła obturacyjna choroba płuc (PoChP) [13, 23].

## 2. Charakterystyka mikrobiomu dróg oddechowych w warunkach fizjologicznych

Chcąc przybliżyć mikrobiom dróg oddechowych, w tym dolnych dróg oddechowych konieczne jest wskazanie na czynniki, które wpływają i warunkują skład mikroorganizmów w tym układzie. Otóż wiadomo, że wzrost drobnoustrojów zależy od warunków odżywczych, temperaturowych oraz gazowych, w tym stężenia tlenu, stąd w badaniach dotyczących mikrobiomu dróg oddechowych ważne są m.in. warunki ludzkiego oddechu – zarówno w zdrowiu jak i w chorobie oraz dynamika migracji drobnoustrojów oraz ich eliminacja [11]. Wiadomo, że drogi oddechowe wraz z pęcherzykami płucnymi są stale narażone poprzez wymianę powietrza na działanie środowiska, gdyż każdej doby obszar ten wystawiony jest na ekspozycję ponad 8000 litrów wdychanego powietrza, w którym mikroorganizmy mogą występować w liczbie  $10^4$ – $10^6$  komórek bakteryjnych na  $1\text{ m}^3$ . Także ich występowanie i liczba w drogach oddechowych związana jest z mikroaspiracjami oraz z bezpośrednio występującymi zawiesinami, które występują wzdłuż powierzchni śluzówki tego układu [34]. Natomiast ich usuwanie z tych dróg następuje wskutek oczyszczania śluzowo-rzęskowego, kaszlu oraz w wyniku przeciwbakteryjnego mechanizmu odporności wrodzonej i nabytej [11]. Środowisko określające regionalne warunki wzrostu drobnoustrojów w płucach, dotyczy zarówno wspomnianych powyżej wspólnych cech dla wszystkich nisz ekologicznych tj. warunków odżywczych, temperaturowych, gazowych, ale także liczby i aktywacji stanu komórek odpornościowych gospodarza. W zdrowiu tj. w prawidłowych warunkach fizjologicznych czynniki te są na ogół niesprzyjające dla rozwoju bakterii, wpływając na stosunkowo ich niewielkie namnażanie, co pozwala na stwierdzenie, że głównym elementem, który kształtuje mikrobiom płuc w zdrowiu jest bilans migracji mikroorganizmów. Natomiast w trakcie choroby, warunki te zmieniają się na niekorzystne i to one głównie stwarzają dobre środowisko do namnażania się bakterii [10]. Dodatkowo płuca, podobnie jak i jelita, są organami pokrytymi błoną śluzową, jednakże ich cechy jak i ich budowa anatomiczna są na tyle odmienne, że to one właśnie powodują różnice w składzie populacji flory bakteryjnej [10]. Ponadto w przewodzie pokarmowym, w przeciwieństwie do dróg oddechowych, migracja bakterii jest jednokierunkowa – od jamy ustnej do jelita prostego (z wyjątkiem odruchu wymiotnego), na drodze której występują liczne bariery fizyczne i chemiczne. Aby wprowadzony doust-

nie mikroorganizm mógł znaleźć się w jelicie prostym, musi pokonać niskie pH znajdujące się w żołądku oraz wysokie pH dwunastnicy, a dodatkowo konkurować z innymi drobnoustrojami znajdującymi się w przewodzie pokarmowym. Z kolei przepływ powietrza i śluzu, a więc i mikroorganizmów w drogach oddechowych, w tym w dolnych drogach oddechowych – płucach jest dwukierunkowy, bez potrzeby pokonywania wspomnianych barier fizycznych, chemicznych czy biologicznych. Zatem mikrobiom dróg oddechowych z tego powodu jest bardziej dynamiczny, przejściowy, jako że zmienia się w czasie, ponieważ wynika to z ruchu powietrza w tym narządzie. Wyłączając tchawicę i oskrzela, które podobnie jak jelita zawierają glikolizowane białka wydzielane przez śluz, powierzchnia płuc zawiera tylko bogaty w lipidy surfaktant, który działa bakteriostatycznie przeciwko wybranym gatunkom bakterii np. niektórym szczepom *Escherichia coli*, oraz innym bakteriom Gram-ujemnych [46]. Zatem także ze względu i na te warunki, rejestruje się duże różnice w populacjach flory bakteryjnej tych narządów. Jak dotychczas w jamie ustnej zidentyfikowano około 247 filotypów (jednostka taksonomiczna różnej rangi, uwzględniająca szczepy, gatunki, rodzaje), zaliczanych do 9 typów bakterii, z tym, że w ślinie stwierdzono także obecność bakterii charakterystycznych dla mikrobiomu skóry np.: bakterie z rodzin *Staphylococcaceae*, *Propionibacteriaceae*, *Burkholderiaceae* oraz *Neisseriaceae* i *Fusobacteriaceae* [20]. Z kolei na zębach, a w szczególności w cienkiej warstwy glikoprotein śliny, która je pokrywa występują bakterie Gram-dodatnie np. *Actinomyces* spp., *Streptococcus* (*S.*) *sanguinis*, *S. mutant* czy *S. oralis* [20]. Natomiast wśród flory drobnoustrojów dróg oddechowych najbardziej rozpowszechnione są bakterie z gromad: *Bacteroidetes* oraz *Firmicutes*, choć również w mniejszym stopniu występują *Proteobacteria* i *Actinobacteria* [31]. W drogach tych zarejestrowano obecność takich bakterii jak: *Prevotella* spp. (*Bacteroidetes*), *Porphyromonas* spp. (*Bacteroidetes*), *Streptococcus* spp. (*Firmicutes*), *Veillonella* spp. (*Firmicutes*), *Pseudomonas* spp. (*Proteobacteria*), *Haemophilus* spp. (*Proteobacteria*), *Neisseria* spp. (*Proteobacteria*). Przyjmuje się także, że skład mikroflory bakteryjnej tego układu jest różny w zależności od regionu dróg oddechowych, co jest wynikiem różnych siedlisk w różnych obszarach dróg oddechowych [31]. Przegroda nosowa, jako początek układu oddechowego, wyścielona jest nabłonkiem wielorzędownym migawkowym i wraz z licznymi komórkami śluzowymi stanowi kluczowe miejsce dla zakażeń bakteryjnych i wirusowych. Rasmussen i wsp. wykazali, że typowymi bakteriami dla tego obszaru są: *Corynebacterium* spp., *Aureobacterium* spp., *Rhodococcus* spp., a także: *Staphylococcus* (*S.*) *epidermidis*, *S. capitis*, *S. hominis*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis* oraz *S. warneri* [40]. Stwierdzono także, że gatunki *Haemophilus influ-*

*enzae* i *Streptococcus pneumoniae*, dzięki obecności specyficznego enzymu – proteazy IgA1, mogą dominować w określonych obszarach błony śluzowej przegrody nosowej [40]. Z kolei inne badania stwierdzają, że mikroflora jamy nosowej jest zdominowana przez *Actinobacteria*, tj.: *Propionibacterium* spp. i *Corynebacterium* spp. oraz przez bakterie z gromady *Firmicutes*, w tym *S. aureus* i *S. epidermidis* [16, 41]. Oprócz jamy nosowej drobnoustroje występują także w zatokach przynosowych, jako że w ich obrębie istnieją dobre warunki dla rozwoju mikroorganizmów. W kontekście występowania tam komensali bakteryjnych należy stwierdzić, że zatoki, a w zasadzie ich błona śluzowa istotnie kształtuje homeostazę organizmu oraz wpływa na występowanie chorób [17]. Wykazano, że przy przewlekłym zapaleniu zatok przynosowych (chronic rhinosinusitis – CRS) u ludzi obniżone jest zróżnicowanie bakteryjne w porównaniu do grupy kontrolnej oraz to, że u pacjentów z CRS obniża się liczba bakterii kwasu mlekowego, a wzrasta liczba *Corynebacterium tuberculoostrealiticum*. Natomiast badając mikrobiom płuc u 14 pacjentów (w tym zdrowych palaczy) pobierając od nich próbki BAL (popłuczyny pęcherzykowo-oskrzelowe, bronchoalveolar lavage) wykazano obecność następujących drobnoustrojów w płucach: *Pseudomonas* spp., *Streptococcus* spp., *Prevotella* spp., *Fusobacterium* spp., *Haemophilus* spp., *Veilonella* spp. oraz *Porphyromonas* spp. [1, 13]. Obserwacje te wykazały także duże zróżnicowanie mikroflory w zależności od mikrośrodowiska poszczególnych obszarów płuc. Wykazano, że bakterie z rodzaju *Haemophilus* dominowały w lewym górnym płacie płuca, a z kolei minimalna liczba komórek bakteryjnych tego gatunku była w innym mikroanatomicznym obszarze innego płata płuc [13]. Wykazano, że mikrobiom układu oddechowego oprócz bakterii, reprezentowany jest także przez grzyby, które znajdują się w różnych miejscach organizmu człowieka (jelita, drogi rodne), w tym w płucach ponad 75 rodzajów [31]. Dowiedziono, że grzyby zasiedlające drogi oddechowe człowieka to głównie rodzaje *Aspergillus*, *Candida*, *Cladosporium*, *Malassesia*, *Saccharomyces*, a ich skład i liczba gatunkowa uzależniona jest w głównej mierze od miejsca w drogach oddechowych, które są kolonizowane [5,31]. Badania Charlsona i wsp. wykazały, że u osób zdrowych najczęściej obecne były grzyby z rodzajów: *Davidiellaceae*, *Cladosporium*, *Eurotium* i *Penicillium* [4, 36]. Podobnie van Woerdena stwierdził, że najbardziej rozpowszechnionymi gatunkami były *Cladosporium cladosporium* i *Eremothecium sinicaudum*, które zwykle izolowane są z wody i roślin [36, 45]. Tworzące przetrwalniki formy nitkowate grzybów rodzajów *Aspergillus* i *Scedosporium* są także powszechne w środowisku, stąd ich spory są regularnie wdychane i usuwane, bez wywoływania zmian chorobowych u osób z prawidłową odpornością [44].

Wirusy jako składniki mikrobiomu układu oddechowego stanowią najmniej scharakteryzowany element, chociaż ich wpływ na ludzkie zdrowie i homeostazę jest duży. Jak do tej pory w tym ekosystemie stwierdzono obecność wirusów ssaczy i bakteryjnych (bakteriofagów) i wykazano, że ich skład zmienia się zasadniczo w zależności od regionu układu oddechowego [31, 47]. Wykazano, że występujące wirusy w przewodzie oddechowych, podobnie jak bakterie i grzyby stanowią barierę odpornościową w tym układzie, jako że związane są z licznymi komórkami biorącymi udział w odporności, począwszy od komórek nabłonkowych, makrofagów uwalniających peptydy antybakteryjne, jak również subpopulacji limfocytów T i komórek B, syntetyzujących cytokiny i przeciwciała. Wzajemne oddziaływania pomiędzy tymi komórkami układu odpornościowego a mikroorganizmami, w tym wirusami obecnymi w układzie oddechowym bez wątpienia w ogromny sposób wpływa na skład mikroflory dróg oddechowych [31].

### 3. Mikrobiom dróg oddechowych w warunkach patologicznych

Rola mikrobiomu dróg oddechowych ważna jest w szczególności w stanach patologicznych płuc, głównie chorobach o przebiegu przewlekłym. Przyjmuje się, że infekcje wirusowe są główną przyczyną zaostrzenia chorób płuc, zwłaszcza astmy oraz przewlekłej obturacyjnej choroby płuc, jako że w ich przypadku mają one wyraźny wpływ na liczbę i rodzaj drobnoustrojów zasiedlających drogi oddechowe [29]. Choroby takie jak zwłóknienie lub rozedma płuc, powodują ograniczenie powierzchni wewnętrznej płuc o ponad 90% [8]. Także zaburzenia czynności przełyku i refluks, często występujące u osób z zaawansowanymi chorobami płuc, wpływają na natężenie migracji bakterii, wprowadzając dodatkowe źródło drobnoustrojów [12, 39]. Również zwłóknienie torbielowate lub przewlekłe zapalenie oskrzeli charakteryzujące się zaburzeniami oczyszczania śluzowo-rzęskowego, poprzez ograniczenie eliminacji mikroorganizmów prowadzi do zwiększenia liczby komórek bakteryjnych mikroflory [11]. Dodatkowo wykazano, że wiele terapii przewlekłych chorób dróg oddechowych wpływa na warunki wzrostu mikroorganizmu m.in. poprzez dopływ tlenu, stosowanie wziewnych kortykosteroidów czy antybiotyków, co także warunkuje imigrację zarazków, ich eliminację, ale także ich namnażanie w płucach [11, 14, 48]. Istnieją również powiązania pomiędzy rozwojem przewlekłych chorób płuc a zmianami w mikroflorze w tym układzie, głównie w odniesieniu do chorób jelita (choroba Crohna) i skóry (atopowe zapalenie skóry), a także takich chorób jak mukowiscydoza, astma oraz



przewlekła obturacyjna choroba płuc (POChP) [17, 18, 23, 27, 42], gdzie zaobserwowano dysbiozę drobnoustrojów oraz obniżenie różnorodności bakterii. Dysbioza wskazuje na chorą tkankę, jednak wciąż jest brak dowodów na to czy występuje ona jako przyczyna lub skutek w danej chorobie [31]. Badania na zarodkach mysich wykazały, że brak kolonizacji drobnoustrojów prowadzi do nasilenia alergicznego zapalenia dróg oddechowych, a ponowna kolonizacja przed ekspozycją na alergen jest w stanie utrwalić fenotyp bakterii [21]. Wykazano, że bezpośrednie podawanie nieszkodliwych bakterii do dróg oddechowych jest bardzo korzystne w przypadku alergicznego zapalenia dróg oddechowych [35]. Obserwacje te wykazały, że wczesna kolonizacja mikrobiologiczna dróg oddechowych jest istotna w celu indukcji tolerancji na alergeny wziewne w późniejszym życiu [21, 35]. Wykazano, że mikrobiom płuc jest fundamentalny w przypadku osób chorych na mukowiscydozę, ponieważ patogeny bakteryjne powodują wysoką śmiertelność. Badania dotyczące tej choroby dowiodły znaczenie takich mikroorganizmów jak: *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* i *Burkholderia* spp., choć istnieją także prace, wskazujące na *Prevotella* spp., *Rothia* spp. i *Veilonella* spp., których wcześniej nie wiązano z zaostrzeniem tej choroby [9, 18, 41]. Cox i wsp. wykazali, że różnorodność bakteryjnego mikrobiomu układu oddechowego obniża się wraz z wiekiem, a także stopniem nasilenia np. mukowiscydozy [7]. Inni autorzy stwierdzili zmniejszone zróżnicowanie mikroorganizmów wraz z wiekiem, a dodatkowo wykazali negatywny wpływ stosowanych antybiotyków systemowych i wziewnych na różnorodność mikrobiomu [26]. Obecnie przyjmuje się, że u chorych z przewlekłą obturacyjną chorobą płuc (POChP) znajomość mikrobiomu jest bardzo pomocna, lecz nadal nie jest wyjaśnione czy występuje swoisty mikrobiom płuc we wczesnym stadium POChP. Stwierdzono jednak, że wzrost liczby bakterii i nawracające infekcje w bardziej zaawansowanym stadium tej choroby podnoszą ryzyko wystąpienia przyspieszonej utraty funkcji płuc. Millares i wsp. dowiedli, że zaostrzenie przewlekłej obturacyjnej choroby płuc związane jest ze zmianami w mikroflorze dróg oddechowych, jak i to, że zaostrzenia jej związane jest z selektywnym wzrostem względnej liczby bakterii takich jak *Haemophilus* spp. oraz *Pseudomonas* spp. [33]. Według Huang i wsp. tak na początku jak i w trakcie zaostrzenia choroby POChP, występują także wyraźne zmiany ilościowe w składzie bakterii gromady *Proteobacteria* [24]. Analizując mikrobiom człowieka stwierdzono zależność między obniżoną liczbą zakażeń w dzieciństwie i rosnącym rozwojem astmy i alergii, co stanowiło podstawę do opracowania „hipotezy higieny” mówiącej o tym, że podniesiony poziom czystości środowiska i higieny człowieka, prowadzi do rozwoju

wielu schorzeń, w tym także o podłożu alergicznym [32]. Potwierdzono to także w badaniach dotyczących częstszego stosowania antybiotyków we wczesnym dzieciństwie, a późniejszą zachorowalnością na astmę i alergię, co wskazuje, że zakłócenia w mikrobiomie mogą stać się przyczyną pojawienia się tych chorób [9]. Hilty i wsp. porównując mikrobiom jamy ustnej i jamy nosowej oraz BALT (bronchus associated lymphoid tissue) u osób zdrowych i chorych na astmę, wykazali wyższą częstotliwość występowania gromad *Proteobacteria*, a obniżoną *Bacteroidetes*, a także zarejestrowali wzrost takich gatunków jak *Haemophilus* spp., *Moraxella* spp., *Neisseria* spp. [18, 22].

#### 4. Podsumowanie

Badania dotyczące mikrobiomu układu oddechowego to ważne zagadnienie, ponieważ mogą one umożliwić wskazanie interakcji pomiędzy drobnoustrojami, w tym ich metabolitami, a komórkami układu odpornościowego makroorganizmu. Poznanie tych faktów może nie tylko przyczynić się do scharakteryzowania środowiska płuc w zdrowiu, ale także w chorobie, co może stanowić podstawę budowania fundamentów patogenyzy wielu chorób tego układu. Działanie w tym zakresie może stanowić podstawę dla nowych, innowacyjnych terapii, bardzo potrzebnych w leczeniu takich chorób jak np. mukowiscydoza, astma czy przewlekła obturacyjna choroba płuc.

#### Piśmiennictwo

1. Abreu N.A., Nagalingam N.A., Song Y., Roediger F.C., Pletcher S.D., Goldberg A.N., Lynch S.V.: Sinus microbiome diversity depletion and *Corynebacterium tuberculostercalis* enrichment mediates rhinosinusitis. *Sci. Transl. Med.* **4**, 151 (2012)
2. Binek M.: Mikrobiom człowieka – zdrowie i choroba. *Post. Mikrobiol.* **51**, 27–36 (2012)
3. Charlson E.S., Bittinger K., Haas A.R., Fitzgerald A.S., Frank I., Yadav A., Bushman F.D., Collman R.G.: Topographical continuity of bacterial populations in the healthy human respiratory tract. *Am. J. Resp. Crit. Care. Med.* **184**, 957–963 (2011)
4. Charlson E.S., Chen J., Custers-Allen R., Bittinger K., Li H., Sinha R., Hwang J., Bushman F.D., Collman R.G.: Disordered microbial communities in the upper respiratory tract of cigarette smokers. *PLoS One*, **5**, e15216 (2010)
5. Charlson E.S., Diamond J.M., Bittinger K., Fitzgerald A.S., Yadav A., Haas A.R., Bushman F.D., Collman R.G.: Lung-enriched organisms and aberrant bacterial and fungal respiratory microbiota after lung transplant. *Am. J. Crit. Care. Med.* **186**, 545–545 (2012)
6. Cho I., Blaser M.I.: The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nat. Rev. Genet.* **13**, 260–270 (2012)
7. Cox M.J., Lynch S.V. et al.: Airway microbiota and pathogen abundance in age-stratified cystic fibrosis patients. *PLoS One*, **5**, e11044 (2010)

8. Coxson H.O., Rogers R.M., Whittall K.P., D'yachkova Y., Paré P.D., Sciruba F.C., Hogg J.C.: A quantification of the lung surface area in emphysema using tomography and histology. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **159**, 851–856 (1999)
9. Dickson R.P., Erb-Downward J.R., Huffnagle G.B.: The Role of the Bacterial Microbiome in Lung Disease *Expert Rev. Respir. Med.* **7**, 245–257 (2013)
10. Dickson R.P., Huffnagle G.B.: The Lung Microbiome: New Principles for Respiratory Bacteriology in Health and Disease. *PLoS Pathog.* **11**, e1004923 (2015)
11. Dickson R.P., Martinez F.J., Huffnagle G.B.: The role of the microbiome in exacerbations of chronic lung disease. *Lancet*, **384**, 691–702 (2014)
12. D'Ovidio F., Singer L.G., Hadjiladis D., Pierre A., Waddell T.K., de Perrot M., Hutcheon M., Miller L., Darling G., Keshavjee S.: Prevalence of gastroesophageal reflux in end-stage lung disease candidates for lung transplant. *Ann. Thorac. Surg.* **80**, 1254–1260 (2005)
13. Erb-Downward J.R., Huffnagle G.B.: Analysis of the Lung Microbiome in the "Healthy" Smoker and in COPD. *PLoS One*, **6**, e16384 (2011)
14. Evans S.A., Turner S.M., Bosch B.J., Hardy C.C., Woodhead M.A.: Lung function in bronchiectasis: the influence of *Pseudomonas aeruginosa*. *Eur. Respir. J.* **9**, 1601–1604 (1996)
15. Fiedurek J.: Mikrobiom a zdrowie człowieka. Wyd. Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin 2014
16. Frank D.N., Feazel L.M., Bessesen M.T., Price C.S., Janoff E.N., Pace N.R.: The human nasal microbiota and *Staphylococcus aureus* carriage. *PLoS One*, **5**, e10598 (2010)
17. Gevers D., Xavier R.J. et al.: The treatment-naive microbiome in new-onset Crohn's disease. *Cell Host Microbe*, **15**, 382–392 (2014)
18. Gollwitzer E.S., Marsland B.J.: Microbiota abnormalities in inflammatory airways disease-potential for therapy. *Pharmacol. Ther.* **141**, 32–39 (2014)
19. Górecka D., Nowiński A., Augustynowicz-Kopeć E.: Mikrobiom układu oddechowego. *Pneumol. Alergol. Pol.* **82**, 481–485 (2014)
20. Grzybowski J., Dzierżanowska D.: Człowiek i drobnoustroje – współistnienie i konfrontacja. Alfa-medica Press (2014)
21. Herbst T., Sichelstiel A., Schär C., Yadava K., Bürki K., Cahenzli J., McCoy K., Marsland B.J., Harris N.L.: Dysregulation of allergic airway inflammation in the absence of microbial colonization. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **184**, 198–215 (2011)
22. Hilty M., Cookson W.O. et al.: Disordered microbial communities in asthmatic airways. *PLoS One*, **5**, e8578 (2010)
23. Huang Y.J., Lynch S.V.: The emerging relationship between the airways microbiota and chronic respiratory disease: clinical implications. *Expert Rev. Respir. Med.* **5**, 809–821 (2011)
24. Huang Y.J., Sethi S., Murphy T., Nariya S., Boushey H.A., Lynch S.V.: Airway microbiome dynamics in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *J. Clin. Microbiol.* **52**, 2813–2823 (2014)
25. Human Microbiome Project, [www.hmpdacc.org](http://www.hmpdacc.org) (20.10.2015)
26. Klepac-Ceraj V., Kolter R. et al.: Relationship between cystic fibrosis respiratory tract bacterial communities and age, genotype, antibiotics and *Pseudomonas aeruginosa*. *Environ. Microbiol.* **12**, 1293–1303 (2010)
27. Kong H.H., Segre J.A. et al: Temporal shifts in the skin microbiome associated with disease flares and treatment in children with atopic dermatitis. *Genome Res.* **304**, 15–22 (2012)
28. Lung HIV Microbiome Project, <https://lhmp.bsc.gwu.edu> (20.10.2015 r.)
29. Mallia P., Contoli M., Caramori G., Pandit A., Johnston S.L., Papi A.: Exacerbations of asthma and chronic obstructive pulmonary disease (COPD): focus on virus induced exacerbations. *Curr. Pharm. Des.* **13**, 73–97 (2007)
30. Marsland J.: Influences of the Microbiome on the Early Origins of Allergic. *Asthma. Ann. Am. Thorac. Soc.* **10**, 165–169 (2013)
31. Marsland B.J., Gollwitzer E.S.: Host-microorganism interactions in lung disease. *Nature*, **14**, 827–835 (2014)
32. Mękal A., Tokarz-Deptuła B., Deptuła W.: Mikroorganizmy – nasi mali przyjaciele, czyli wybrane dane o hipotezie higieny. *Probl. Hig. Epidemiol.* **92**, 377–381 (2011)
33. Millares L., Ferrari R., Gallego M., Garcia-Nuñez M., Pérez-Brocal V., Espasa M., Pomares X., Monton C., Moya A., Monsó E.: Bronchial microbiome of severe COPD patients colonized by *Pseudomonas aeruginosa*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **33**, 1101–1111 (2014)
34. Morris A., Weinstock G.M. et al: Comparison of the respiratory microbiome in healthy nonsmokers and smokers. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **187**, 1067–1075 (2013)
35. Nembrini C., Sichelstiel A., Kisielow J., Kurrer M., Kopf M., Marsland B.J.: Bacterial – induced protections against allergic inflammation through a multicomponent immunoregulatory mechanism. *Thorax*, **66**, 755–763 (2011)
36. Nyen L.D., Viscogliosi E., Delhaes L.: The lung mycobioime: an emerging field of the human respiratory microbiome. *Front Microbiol.* DOI: 10.3389/fmicb.2015.00089 (2015)
37. Ohnamacht C., Eberl G et al: The microbiota regulates type 2 immunity through ROR $\gamma$ <sup>T</sup> T cells. *Science*, **349**, 989–993 (2015)
38. Pragman A.A., Bum Kim H., Reilly C.S., Isaacson R.E.: The lung microbiome in moderate and severe chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS One*, **7**, e4730 (2012)
39. Raghu G., Freudenberger T.D., Yang S., Curtis J.R., Spada C., Hayes J., Sillery J.K., Pope C.E., Pellegrini C.A.: High prevalence of abnormal acid gastro-esophageal reflux in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur. Respir. J.* **27**, 136–142 (2006)
40. Rasmussen T.T., Kirkeby L.P., Poulsen K., Reinholdt J., Kilian M.: Resident aerobic microbiota of the adult human nasal cavity. *Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.* **108**, 663–675 (2000)
41. Redinbo M.R.: The microbiota, chemical symbiosis and human disease. *J. Mol. Biol.* **426**, 3877–391 (2014)
42. Sze M.A., Hogg J.C., Sin D.D.: Bacterial microbiome of lungs in COPD. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* **9**, 229–238 (2014)
43. Turnbaugh P.J., Ley R.E., Hamady M., Fraser-Liggett C., Knight R., Gordon J.I.: The human microbiome project: exploring the microbial part of ourselves in a changing world. *Nature*, **449**, 804–810 (2007)
44. Underhill D.M., Illiev I.D.: The mycobioita: interactions between commensal fungi and the host immune system. *Nature Rev. Immunol.* **14**, 405–416 (2014)
45. van Woerden H.C., Gregory C., Brown R., Marchesi J.R., Hoogendoorn B., Matthews I.P.: Differences in fungi present in induced sputum samples from asthma and non-atopic controls: a community based case control study. *BMC Infect. Dis.* DOI: 10.1186/1471-2334-13-69 (2013)
46. Wu H., Kuzmenko A., Wan S., Schaffer L., Weiss A., Fisher J.H., Kim K.S., McCormack F.X.: Surfactant proteins A and D inhibit the growth of Gram-negative bacteria by increasing membrane permeability. *J Clin. Invest.* DOI: 10.1172/JCI200316889 (2003)
47. Wylie K.M., Weinstock G.M., Storch G.A.: Emerging View of the Human Virome. *Transl. Res.* **160**, 283–290 (2012)
48. Zalacain R., Sobradillo V., Amilibia J., Barrón J., Achótegui V., Pijoan J.I., Llorente J.L.: Predisposing factors to bacterial colonization in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur. Respir. J.* **13**, 343–348 (1999)