



СТЕРИЛЬНА ЛИ МОЧА ЗДОРОВОГО ЧЕЛОВЕКА?

МИКРОБИОТА ОРГАНОВ МОЧЕВЫХ ПУТЕЙ.

Профессор Андрей Зиновьевич Винаров

Москва, 27 мая 2018

- ХОРОШО ИЗВЕСТНО, ЧТО ДАЖЕ В ЗДОРОВОМ ЧЕЛОВЕЧЕСКОМ ОРГАНИЗМЕ ПЕРСИСТИРУЮТ РАЗЛИЧНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ: БАКТЕРИИ, ГРИБЫ, ВИРУСЫ и ПРОСТЕЙШИЕ.
- БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИБЛИЗИТЕЛЬНО В 10 РАЗ БОЛЬШЕ, ЧЕМ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ОРГАНИЗМА.



СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ



The Next Food Fad Is Coming: Feed Your Microbiome

Get to know your microbes

Change Your Microbiome, Change Yourself

Explore Your Microbiome

GET SEQUENCED

New research finds that people emit their own personal microbial cloud

September 22, 2015

How Your Gut Microbiome Influences Your Mental and Physical Health

Microbe Mix May Play Role In Preterm Birth Risk

Updated September 14, 2015 · 9:15 AM ET

Published August 17, 2015 · 3:03 PM ET



МИКРОБИОМ МОЧЕВЫХ ПУТЕЙ ЗДОРОВЫХ и ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

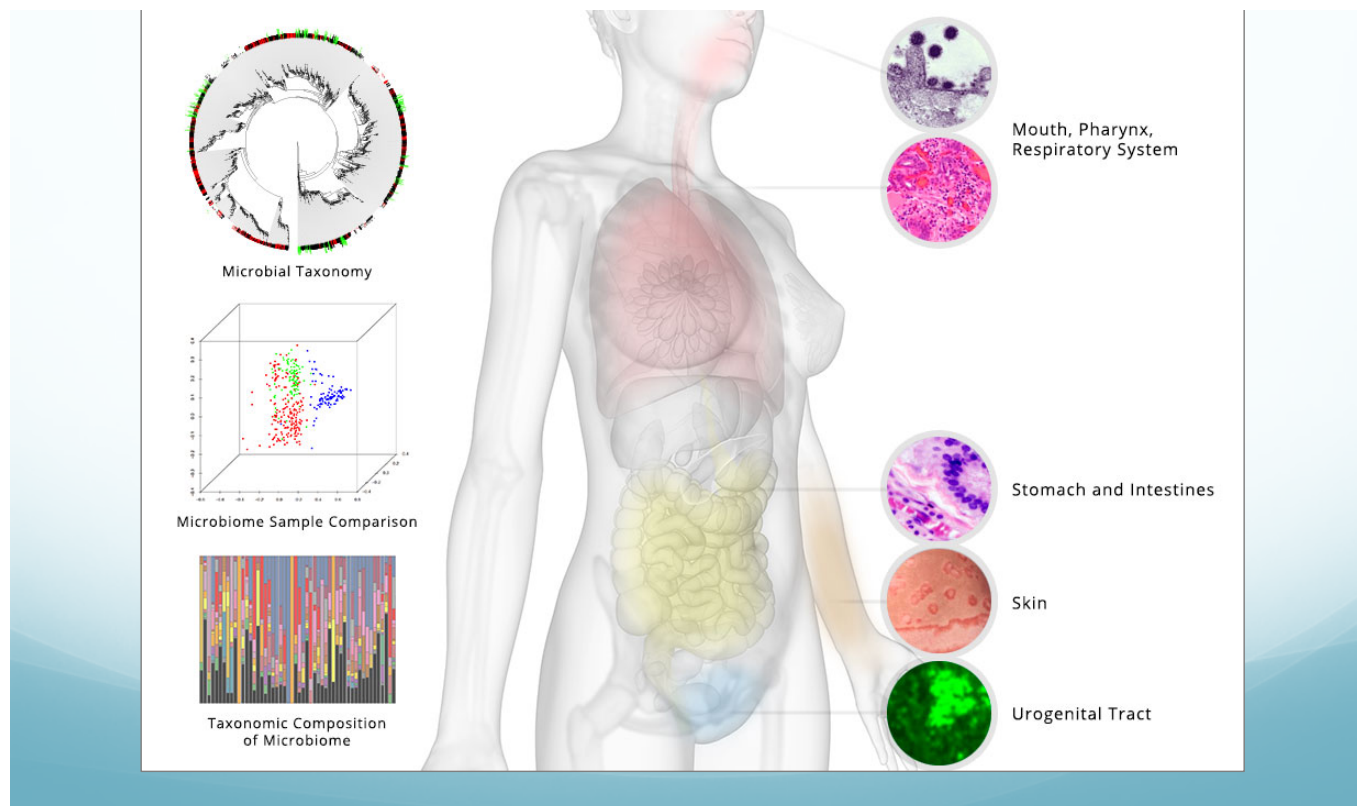
Isabel M. Arago´n^{a,y}, Bernardo Herrera-Imbroda^{a,y}, Mari´a I. Queipo-Ortuño^{b,c}, Elisabeth Castillo ^a,
Julia Sequeira-García Del Moral ^d, Jaime Go´mez-Milla´n ^e, Gozde Yucel ^f, Mari´a F. Lara ^{a,*}

Accepted November 3, 2016



- МОЧЕВЫВОДЯЩИЕ ПУТИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ, КОТОРЫЕ РАНЕЕ СЧИТАЛИСЬ СТЕРИЛЬНЫМИ, НЕ ЯВЛЯЮТСЯ ТАКОВЫМИ.
- В НИХ ПЕРСИСТИРУЕТ БОЛЬШОЕ КОЛИЧЕСТВО МИКРООРГАНИЗМОВ.
- В СИСТЕМАТИЧЕСКОМ ОБЗОРЕ ДО ИЮЛЯ 2016 ГОДА ПРОВЕДЕН ОТБОР 1419 ИССЛЕДОВАНИЙ, ИЗ КОТОРЫХ 89 ПОДВЕРГЛИСЬ СИСТЕМАТИЧЕСКОМУ АНАЛИЗУ.
- В МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЯХ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ БЫЛИ ВЫЯВЛЕНЫ БАКТЕРИАЛЬНЫЕ СООБЩЕСТВА. ИЗМЕНЕНИЯ В МИКРОБИОМЕ НАБЛЮДАЛИСЬ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УРОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ: НЕДЕРЖАНИИ МОЧИ, ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЯХ МОЧЕВЫХ ПУТЕЙ, ИНТЕРСТИЦИАЛЬНОМ ЦИСТИТЕ, НЕЙРОГЕННОМ МОЧЕВОМ ПУЗЫРЕ, ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕРЕДАВАЕМЫХ ПОЛОВЫМ ПУТЕМ, ХРОНИЧЕСКОМ ПРОСТАТИТЕ/ХРОНИЧЕСКОЙ ТАЗОВОЙ БОЛИ.
- ЗНАЧЕНИЕ ПРОБИОТИКОВ, ПРЕБИОТИКОВ И ДИЕТЫ В ЛЕЧЕНИИ И ПРОФИЛАКТИКЕ УРОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ТРЕБУЮТ ДАЛЬНЕЙШИХ ИССЛЕДОВАНИЙ.

МИКРОБИОМ ЧЕЛОВЕКА



ПРОЕКТ "МИКРОБИОМ ЧЕЛОВЕКА» БЫЛ ИНИЦИИРОВАН В 2008 ГОДУ и БЫЛ НАПРАВЛЕН НА ХАРАКТЕРИСТИКУ МИКРОБИОМА ЧЕЛОВЕКА и АНАЛИЗ ЕГО РОЛИ В ЗДОРОВОМ ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА и ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ. ИСХОДНО ПРОЕКТ "МИКРОБИОМ ЧЕЛОВЕКА» НЕ ВКЛЮЧАЛ ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОБИОМА МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ.



**МИКРОБИОТА – МИКРОБЫ, ЖИВУЩИЕ
ВНУТРИ ИЛИ СНАРУЖИ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА;**

**МИКРОБИОМ – ГЕНОМ – НАБОР ГЕНОВ
МИКРООРАГНИЗМОВ ДАННОГО КОНКРЕТНОГО
ИНДИВИДУУМА;**

Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI. The human microbiome project. Nature 2007;449:804–10.

Ley RE, Peterson DA, Gordon JI. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. Cell 2006;124: 837–48.

Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host- bacterial mutualism in the human intestine. Science 2005;307: 1915–20.



- Традиционно, изучение бактерий мочевых путей включает стандартный бактериологический анализ с посевом на стандартные среды.
- В этом имеются значительные ограничения в выявлении полного спектра микроорганизмов (медленно растущие бактерии, которые погибают в присутствии кислорода).



- Успехи молекулярной биологии и культуральных методов позволили выявлять специфические микроорганизмы для различных органов, которые ранее считались стерильными, как например, мочевыводящие пути.

Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med* 2014;6, 237ra65.

Branton WG, Ellestad KK, Maingat F, et al. Brain microbial populations in HIV/AIDS: alpha-proteobacteria predominate independent of host immune status. *PLoS One* 2013;8:e54673.

DiGiulio DB. Diversity of microbes in amniotic fluid. *Semin Fetal Neonatal Med* 2012;17:2–11.

Urbaniak C, Cummins J, Brackstone M, et al. Microbiota of human breast tissue. *Appl Environ Microbiol* 2014;80:3007–14.

Thomas-White K, Brady M, Wolfe AJ, Mueller ER. The bladder is not sterile: history and current discoveries on the urinary microbiome. *Curr Bladder Dysfunct Rep* 2016;11:18–24.



- Достижения в новых диагностических подходах, такие как секвенирование 16S rRNA и Обогащенное Количественное Мочевое Культивирование (Enhanced or Expanded Quantitative Urine Culture) (EQUC) привело к значительному прогрессу знаний в отношении Микробиома Мочевых Путей.

Wolfe AJ, Toh E, Shibata N, et al. Evidence of uncultivated bacteria in the adult female bladder. J Clin Microbiol 2012;50:1376–83.

Lewis DA, Brown R, Williams J, et al. The human urinary microbiome; bacterial DNA in voided urine of asymptomatic adults. Front Cell Infect Microbiol 2013;3:41.

Pearce MM, Hilt EE, Rosenfeld AB, et al. The female urinary microbiome: a comparison of women with and without urgency urinary incontinence. MBio 2014;5, e01283-14.

Thomas-White KJ, Hilt EE, Fok C, et al. Incontinence medication response relates to the female urinary microbiota. Int Urogynecol J 2016;27:723–30.

Hilt EE, McKinley K, Pearce MM, et al. Urine is not sterile: use of enhanced urine culture techniques to detect resident bacterial flora in the adult female bladder. J Clin Microbiol 2014;52:871–6.



Trueperella БЫЛА ПОЛУЧЕНА ТОЛЬКО В БАКТЕРИАЛЬНЫХ КУЛЬТУРАХ, В ТО ВРЕМЯ КАК **Atopobium** БЫЛА ОБНАРУЖЕНА ТОЛЬКО ПРИ СЕКВЕНИРОВАНИИ.

Wolfe AJ, Toh E, Shibata N, et al. Evidence of uncultivated bacteria in the adult female bladder. J Clin Microbiol 2012;50:1376–83.

Lewis DA, Brown R, Williams J, et al. The human urinary microbiome; bacterial DNA in voided urine of asymptomatic adults. Front Cell Infect Microbiol 2013;3:41.

Pearce MM, Hilt EE, Rosenfeld AB, et al. The female urinary microbiome: a comparison of women with and without urgency urinary incontinence. MBio 2014;5, e01283-14.

Thomas-White KJ, Hilt EE, Fok C, et al. Incontinence medication response relates to the female urinary microbiota. Int Urogynecol J 2016;27:723–30.

Hilt EE, McKinley K, Pearce MM, et al. Urine is not sterile: use of enhanced urine culture techniques to detect resident bacterial flora in the adult female bladder. J Clin Microbiol 2014;52:871–6.



ОГРАНИЧЕНИЕМ 16S rRNA СЕКВЕНИРОВАНИЯ ЯВЛЯЕТСЯ ТО, ЧТО МЕТОДИКА НЕ ПОЗВОЛЯЕТ ДИФФЕРЕНЦИРОВАТЬ МЕЖДУ «ЖИВЫМИ», «МЕРТВЫМИ» И РАЗРУШЕННЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ.

Kliman HJ. Comment on “The placenta harbors a unique micro- biome”. Sci Transl Med 2014;6, 254le4.



- EQUUS позволяет выделить микроорганизмы из 80 % мочевых образцов, полученных по катетеру, для которых стандартное бактериологическое исследование не выявило роста микрофлоры.
- Эта методика комбинирует посев на большое количество различных культуральных сред, аэробные и анаэробные условия культивирования и различные температурные режимы роста.

Pearce MM, Hilt EE, Rosenfeld AB, et al. The female urinary microbiome: a comparison of women with and without urgency urinary incontinence. MBio 2014;5, e01283-14.



- При оценке различий бактериальных популяций, описанных для Микробиома Мочевыводящих Путей в различных исследованиях, важно учитывать половую принадлежность человека, объем собранной мочи, методики и техники сбора мочи.
- Не смотря на это, в общем - *Lactobacillus* и *Streptococcus* наиболее часто определяются в Микробиоме Мочевыводящих Путей и выявляются во всех исследованиях опубликованных в настоящее время.
- Оба вида – продуцируют молочную кислоту и содержатся в различных тканях организма, в том числе и мочевыводящих путях, где они играют протективную роль, защищая их от патогенов.



Другие бактерии – такие как:

- Alloscardovia,
- Burkholderia,
- Jonquetella,
- Klebsiella,
- Saccharofermentans,
- Rhodanobacter,
- и Veillonella

обнаруживались в мочевыводящих путях значительно реже.



Результаты продемонстрировали, что метод сбора мочи:

- «чистая» средняя порция,
- первая порция,
- надлобковая аспирация,
- или интермиттирующая катетеризация,

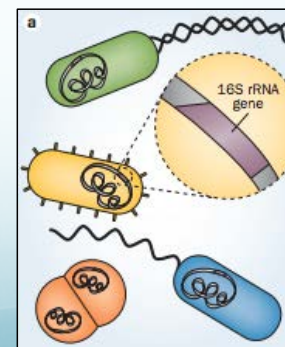
а также методика оценки Микробиома Мочевыводящих Путей могут определять различия выявляемых микроорганизмов.

- Wolfe et al. сравнили различные методы сбора мочи и пришли к заключению, что лучшие методы – надлобковая аспирация и трансуретральная катетеризация, так как они позволяют минимизировать вульво-вагинальную контаминацию.
- Сравнения показали, что секвенирование 16S rRNA и EQUUS определяют схожие, но, не идентичные Микробиомные Профили катетеризированных женщин.

Evidence of Uncultivated Bacteria in the Adult Female Bladder

Alan J. Wolfe,^a Evelyn Toh,^b Noriko Shibata,^a Ruichen Rong,^c Kimberly Kenton,^a MaryPat FitzGerald,^a Elizabeth R. Mueller,^a Paul Schreckenberger,^a Qunfeng Dong,^c David E. Nelson,^b and Linda Brubaker^a

- 2012 study assessing urinary bacteria in women without known UTI by bacterial culture, light microscopy and 16S rRNA gene sequencing
 - Compared clean catch, urethral catheterization and suprapubic catheterization





СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ



Evidence of Uncultivated Bacteria in the Adult Female Bladder

Alan J. Wolfe,^a Evelyn Toh,^b Noriko Shibata,^a Ruichen Rong,^c Kimberly Kenton,^a MaryPat FitzGerald,^a Elizabeth R. Mueller,^a Paul Schreckenberger,^a Qunfeng Dong,^c David E. Nelson,^b and Linda Brubaker^a

- 2012 study assessing urinary bacteria in women without known UTI by bacterial culture, light microscopy and 16S rRNA gene sequencing
 - Compared clean catch, urethral catheterization and suprapubic catheterization

Bacterial bladder communities of different types do exist in women



СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ



frontiers in
CELLULAR AND INFECTION MICROBIOLOGY

ORIGINAL RESEARCH ARTICLE

published: 15 August 2013
doi: 10.3389/fcimb.2013.00041



The human urinary microbiome; bacterial DNA in voided urine of asymptomatic adults

Debbie A. Lewis^{1,2}, Richard Brown³, Jon Williams⁴, Paul White¹, S. Kim Jacobson^{4,5}, Julian R. Marchesi^{3} and Marcus J. Drake^{2,6*}*

- 2013 study examining urinary microbiota in healthy men and women ages 26 to 90 years by 16S rRNA amplification



СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ



frontiers in
CELLULAR AND INFECTION MICROBIOLOGY

ORIGINAL RESEARCH ARTICLE

published: 15 August 2013
doi: 10.3389/fcimb.2013.00041



The human urinary microbiome; bacterial DNA in voided urine of asymptomatic adults

Debbie A. Lewis^{1,2}, Richard Brown³, Jon Williams⁴, Paul White¹, S. Kim Jacobson^{4,5}, Julian R. Marchesi^{3*} and Marcus J. Drake^{2,6*}

- 2013 study examining urinary microbiota in healthy men and women ages 26 to 90 years by 16S rRNA amplification
 - *A “core” microbiome could potentially exist*



СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ



frontiers in
CELLULAR AND INFECTION MICROBIOLOGY

ORIGINAL RESEARCH ARTICLE

published: 15 August 2013
doi: 10.3389/fcimb.2013.00041



The human urinary microbiome; bacterial DNA in voided urine of asymptomatic adults

**Debbie A. Lewis^{1,2}, Richard Brown³, Jon Williams⁴, Paul White¹, S. Kim Jacobson^{4,5},
Julian R. Marchesi^{3*} and Marcus J. Drake^{2,6*}**

- 2013 study examining urinary microbiota in healthy men and women ages 26 to 90 years by 16S rRNA amplification
 - *A “core” microbiome could potentially exist*
 - *The bacterial genera in women are more heterogeneous*



СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ



frontiers in
CELLULAR AND INFECTION MICROBIOLOGY

ORIGINAL RESEARCH ARTICLE

published: 15 August 2013
doi: 10.3389/fcimb.2013.00041



The human urinary microbiome; bacterial DNA in voided urine of asymptomatic adults

**Debbie A. Lewis^{1,2}, Richard Brown³, Jon Williams⁴, Paul White¹, S. Kim Jacobson^{4,5},
Julian R. Marchesi^{3*} and Marcus J. Drake^{2,6*}**

- 2013 study examining urinary microbiota in healthy men and women ages 26 to 90 years by 16S rRNA amplification
 - *A “core” microbiome could potentially exist*
 - *The bacterial genera in women are more heterogeneous*
 - *Bacterial genera changes with age*



СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ



frontiers in
CELLULAR AND INFECTION MICROBIOLOGY

ORIGINAL RESEARCH ARTICLE

published: 15 August 2013

doi: 10.3389/fcimb.2013.00041



The human urinary microbiome; bacterial DNA in voided urine of asymptomatic adults

**Debbie A. Lewis^{1,2}, Richard Brown³, Jon Williams⁴, Paul White¹, S. Kim Jacobson^{4,5},
Julian R. Marchesi^{3*} and Marcus J. Drake^{2,6*}**

- 2013 study examining urinary microbiota in healthy men and women ages 26 to 90 years by 16S rRNA amplification
 - *A “core” microbiome could potentially exist*
 - *The bacterial genera in women are more heterogeneous*
 - *Bacterial genera changes with age*
 - *Conventional microbiological methods are inadequate to fully identify ~2/3^{ds} of the bacteria identified in this study*



МИКРОБИОМ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

С 2013 года значительное количество исследований показало:

Pearce MP, et al. AJOG 2015.
Thomas-White KJ, et al. AJOG 2017.
Brubaker L and Wolfe AJ. Annals of Translational Medicine 2017.



МИКРОБИОМ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

С 2013 года значительное количество исследований показало:

- Наличие бактерий в мочевыводящих путях ассоциировано с СНМ, такими, как ночная поллакиурия, дизурия и боль в мочевом пузыре;

Pearce MP, et al. AJOG 2015.
Thomas-White KJ, et al. AJOG 2017.
Brubaker L and Wolfe AJ. Annals of Translational Medicine 2017.



МИКРОБИОМ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ



С 2013 года значительное количество исследований показало:

- Наличие бактерий в мочевыводящих путях ассоциировано с СНМ, такими, как ночная поллакиурия, дизурия и боль в мочевом пузыре;
- Микробиом мочевыводящих путей с «живыми» микроорганизмами существует в мочевых путях взрослых женщин;

Pearce MP, et al. AJOG 2015.
Thomas-White KJ, et al. AJOG 2017.
Brubaker L and Wolfe AJ. Annals of Translational Medicine 2017.



МИКРОБИОМ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ



С 2013 года значительное количество исследований показало:

- Наличие бактерий в мочевыводящих путях ассоциировано с СНМ, такими, как ночная поллакиурия, дизурия и боль в мочевом пузыре;
- Микробиом мочевыводящих путей с «живыми» микроорганизмами существует в мочевых путях взрослых женщин;
- Клинический ответ на Солифенацин (Везикар) зависит от Микробиома/Микробиоты;

Pearce MP, et al. AJOG 2015.
Thomas-White KJ, et al. AJOG 2017.
Brubaker L and Wolfe AJ. Annals of Translational Medicine 2017.



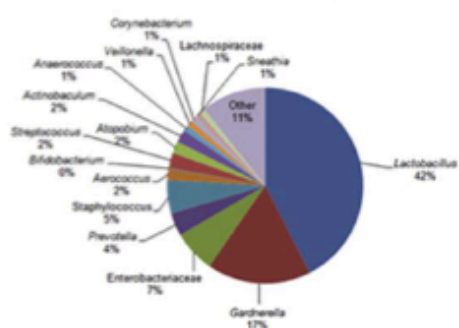
СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ



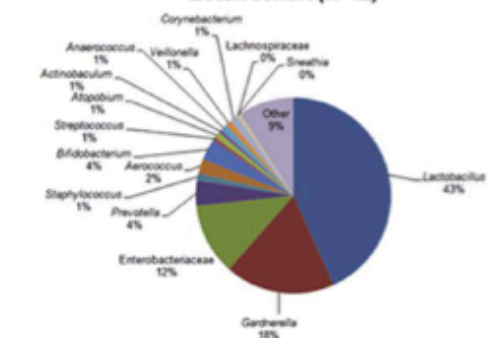
FIGURE 4

Comparison of average bacterial sequence abundance in urine by treatment group and urinary tract infection outcome

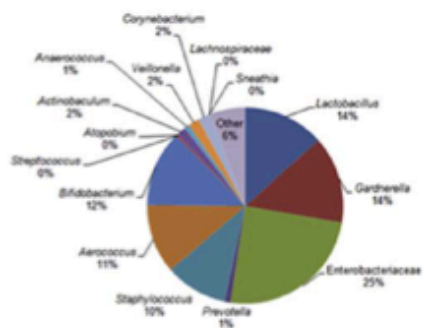
Anticholinergic cohort (N=51)



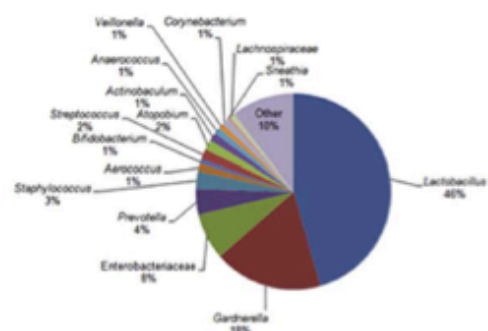
Botox cohort (N=42)



UTI positive (N=8)



UTI negative (N=85)



The average amount of bacterial sequences that were detected in the sequence positive urine of each randomized treatment cohort (anticholinergic vs botox) and urinary tract infection outcome cohort (positive vs negative) was calculated. The average bacterial sequence abundance profiles were similar between treatment cohorts, whereas the profiles differed between urinary tract infection outcome cohorts.

UTI: urinary tract infection.

From: Female urinary microbiota in UTI. Am J Obstet Gynecol 2015.



ЧТО ВПЕРЕДИ:

ДАЛЬНЕЙШИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРОБИОМА:

- КАК МИКРОБИОМ МЕНЯЕТСЯ С ВОЗРАСТОМ;
- КАК МИКРОБИОМ ВЛИЯЕТ НА СНМ И УРОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ;
- КАК МЫ МОЖЕМ ПРИМЕНИТЬ НАШИ ЗНАНИЯ О МИКРОБИОМЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И УЛУЧШЕНИЯ ЭТИХ СОСТОЯНИЙ.



ПРИМЕНИВ 16S rRNA СЕКВЕНИРОВАНИЕ «ЧИСТОЙ» СРЕДНЕЙ ПОРЦИИ МОЧИ МУЖЧИН И ЖЕНЩИН РАЗЛИЧНОГО ВОЗРАСТА Lewis et al. ОБНАРУЖИЛИ, ЧТО **Jonquetella**, **Proteiniphilum**, **Saccharofermentans**, и **Parvimonas** БЫЛИ ТОЛЬКО В МИКРОБИОМЕ ЛЮДЕЙ СТАРШЕ 70 ЛЕТ.

РАССМАТРИВАЯ РАЗЛИЧИЯ МИКРОБИОМА МУЖЧИН И ЖЕНЩИН Fouts et al. , ПРИМЕНИВ 16S rRNA СЕКВЕНИРОВАНИЕ «ЧИСТОЙ» СРЕДНЕЙ ПОРЦИИ МОЧИ, ОБНАРУЖИЛ, ЧТО у **ЖЕНЩИН** ПРЕОБЛАДАЮТ **Lactobacillales**, а у **МУЖЧИН** **Corynebacterium**.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- МИКРОБИОМ МОЧЕВЫХ ПУТЕЙ СУЩЕСТВУЕТ;
- МИКРОБИОТА ИЗМЕНЯЕТСЯ С ВОЗРАСТОМ И ОКАЗЫВАЕТ ВЛИЯНИЕ НА РАЗВИТИЕ И ТЕРАПИЮ СНМ И ДРУГИЕ УРОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ;
- ТАК МНОГО ПРЕДСТОИТ ОТКРЫТЬ!

