

Magdalena Malinowska¹, Beata Tokarz-Deptuła^{1*}, Wiesław Deptuła²

¹Katedra Immunologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Szczeciński

²Katedra Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Szczeciński

Wpłynęło w czerwcu 2016 r.

Zaakceptowano we wrześniu 2016 r.

1. Wprowadzenie 2. Mikrobiom skóry 3. Mikrobiom jamy ustnej 4. Mikrobiom przewodu pokarmowego 5. Mikrobiom dróg oddechowych 6. Mikrobiom układu moczowo-płciowego 7. Podsumowanie

The human microbiome

Abstract: The human microbiome is represented by bacteria, archaea, viruses, including bacteriophages, and fungi. These microorganisms colonize the human body and are necessary for the maintenance of homeostasis, including human immune status. Even though human microbiome is vital for the functioning of the human organism, it is still poorly understood, especially when it comes to archaea, but also viruses and fungi. The aim of this study is to present the current state of knowledge about the microorganisms inhabiting essential biotypes of the human body, i.e. the skin, the mouth and the digestive tract, as well as the respiratory and urogenital tract.

1. Introduction. 2. The skin microbiome. 3. The oral microbiome. 4. The digestive tract microbiome. 5. The respiratory tract microbiome. 6. The urinary tract microbiome. 7. Summary

Słowa kluczowe: archaea, bakterie, grzyby, mikrobiom, wirusy

Key words: archaea, bacteria, fungi, microbiome, viruses

1. Wprowadzenie

Ludzki organizm zasiedlany jest przez zróżnicowane drobnoustroje należące do trzech głównych domen: bakterii, archea i eukariota, które stanowią mikrobiom człowieka i są one konieczne do prawidłowego funkcjonowania makroorganizmu, w tym utrzymania jego statusu odpornościowego [4, 21]. Wśród nich są nie tylko drobnoustroje komensalne i symbiotyczne występujące na skórze, w jamie ustnej, przewodzie pokarmowym, oraz w układzie oddechowym i moczowo-płciowym, ale i te, które wywołują stany patologiczne, w tym choroby zakaźne [71]. Termin „mikrobiom” po raz pierwszy został użyty przez laureata nagrody Nobla Joshua Lederberga, który sugerował aby używać go do określenia zbiorowego genomu wszystkich drobnoustrojów komensalnych, symbiotycznych i chorobotwórczych bytujących w ludzkim organizmie [44]. Pierwsze dowody na to, że drobnoustroje są fizjologicznym elementem ludzkiego organizmu zarejestrowano w 1880 roku, kiedy austriacki pediatra Theodor Escherich obserwował pozytywny wpływ *Escherichia coli* na mikroflorę jelitową dzieci zdrowych oraz dotkniętych biegunkami [86]. W kolejnych latach wyizolowano od ludzi szereg drobnoustrojów, w tym m.in. w 1898 roku bakterie *Veilonella parvula*, a w 1900 roku – *Bifidobacterium* spp. oraz inne bakterie występujące na skórze, w przewodzie pokarmowym i układzie moczowo-płciowym [43]. Postęp technik izolacji i hodowli pozwolił

na pogłębienie wiedzy na temat drobnoustrojów, które zasiedlają ludzki organizm, jednak dopiero rozwój technik molekularnych w późnych latach XX wieku, zrewolucjonizował wiedzę na temat mikrobiomu skóry, przewodu pokarmowego oraz układu oddechowego, w tym w dolnych jego odcinków – płuc, a także dróg moczowo-płciowych. Obecnie przyjmuje się, że w jelicie grubym człowieka jest około 2 kg drobnoustrojów, które stanowią integralny i ważny element makroorganizmu, na które składają się m.in. wspomniane bakterie, a także archea oraz wirusy, w tym bakteriofagi, wirus olbrzymie i grzyby. Odnośnie występowania bakterii w mikrobiomie człowieka wiadomo było od dawna, natomiast obecność w nim archea rejestrowano od 60. lat XX wieku, kiedy stwierdzono obecność metanu w wydychanym powietrzu [28]. Obecnie wiadomo, że archea są reprezentowane przez metanogenne drobnoustroje zasiedlające nie tylko jamę ustną i dalsze odcinki przewodu pokarmowego, ale także skórę [28]. Natomiast, mimo rozwoju technik molekularnych oraz metagenomiki wiriomi w różnych niszach ekologicznych organizmu człowieka jest słabo poznany, choć wirusy, w tym bakteriofagi wirusy olbrzymie wykazano we krwi i kale, a także na skórze, w jamie ustnej, w jelitach, układzie oddechowym i układzie moczowo-płciowym [1, 9, 19, 21, 27, 31, 38, 50, 53–55, 66, 69, 75, 77, 79–81, 85, 87, 92, 97, 98]. W przypadku mykrobiomu człowieka wykazano, że reprezentuje on bardzo liczną grupę organizmów eukariotycznych. Ich liczba

* Autor korespondencyjny: Katedra Immunologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Szczeciński, ul. Felczaka 3c, 71-412 Szczecin; tel. 91 444 1605; e-mail: kurp13@univ.szczecin.pl

gatunków w i na organizmie człowieka sięga około 1,5 miliona. Z braku możliwości ich hodowania dotychczas opisano jedynie 1–5% wszystkich gatunków grzybów, które występują w organizmie człowieka [23, 88]. Stwierdzono, że mykrobiom dotyczący skóry, jamy ustnej, przewodu pokarmowego oraz dróg oddechowych i układu moczowo-płciowego stanowi fundamentalne znaczenie w ludzkim mikrobiomie mimo, że stanowi on tylko około 0,1% tej populacji [24–25, 37, 41, 72, 78, 88, 94, 95, 102]. Ten wyjątkowy składnik mikrobiomu pełni istotną rolę w utrzymaniu mikrobiologicznej struktury, oddziałuje na fizjologię i metabolizm oraz na układ immunologiczny organizmu człowieka.

Elementem i zarazem znaczącym postępowaniem, który stworzył podwaliny poznania mikrobiomu człowieka, był wdrożony w 2007 roku program Human Microbiome Project (HMP), który w oparciu o sekwencjonowanie jednostki 16S rRNA przybliżył złożoność ludzkiego mikrobiomu [99]. HMP miał za zadanie określenie ludzkiego mikrobiomu na poziomie sekwencji nukleotydowej całego genomowego DNA drobnoustrojów (metagom), sekwencji nukleotydowej mitochondrialnego RNA (metatranskryptom) oraz syntetyzowanie białek bakteryjnych (metaproteom), jak też produktów metabolizmu drobnoustrojów (metabolom) pochodzących ze skóry, jamy ustnej, przewodu pokarmowego i układu moczowo-płciowego. Projekt ten dotyczył także badania i analizy 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 [40,99]. Sukces HMP stał się przyczyną do dalszych prac w tym zakresie obejmując nowe nisze ekologiczne, które wcześniej nie były brane pod uwagę m.in. wdrożono projekt mający na celu określenie mikrobiomu układu oddechowego, w tym płuc, nie tylko u osób zdrowych, ale także zakażonych wirusem HIV (Lung HIV Microbiome Project). Stworzono odrębne bazy danych dla określonego mikrobiomu, np. jamy ustnej – Human Oral Microbiome Database (HOMD) [100]. Współpraca w ramach projektów, które dotyczą analizy ludzkiego mikrobiomu, pozwoliła na wykazanie możliwości i wartości wyników tych badań, jako podstawowego elementu warunkującego zdrowie człowieka [63].

2. Mikrobiom skóry

Ludzka skóra jest największym narządem ciała człowieka i odgrywa ważną rolę w układzie odpornościowym, stanowiąc pierwszą linię obrony przed zmianami środowiska zewnętrznego, jak i przed atakiem drobnoustrojów, w tym patogennych. Powierzchnia skóry, którą określa się na 1,8 m², kolonizowana jest przez różne drobnoustroje, które reprezentują bak-

terie, archea, wirusy, w tym bakteriofagi oraz grzyby [35, 71]. Ten ekosystem jest zróżnicowany topograficznie, ze względu na różnice anatomiczne jego regionów. Część obszarów skóry jest częściowo „niedrożna”, np. pachwiny, sklepienie pach, gdzie jest wyższa temperatura i wyższa wilgotność, co sprzyja rozwojowi drobnoustrojów występujących w warunkach typowych dla pałeczek Gram-ujemnych czy *Staphylococcus aureus* [35, 36, 51]. Kolejnym czynnikiem wpływającym na mikroflorę skóry jest występowanie w niej gruczołów łojowych. Obszary o dużej gęstości tych gruczołów, np. skóra twarzy i pleców wzmagają wzrost lipofilnych bakterii np. *Propionibacterium* spp. i grzybów *Malassezia* spp. [35, 36, 51]. Z kolei skóra ramion i nóg często bywa przesuszona, ponieważ nastawiona jest na duże wahania temperatury. Stąd występuje na niej obniżona liczba drobnoustrojów.

Mikroflora skóry warunkowana jest także wiekiem gospodarza i płcią [71]. Wykazano, że skóra płodu w macicy jest jałowa, po czym jej pierwsza kolonizacja bakteriami następuje podczas naturalnego porodu lub w czasie cesarskiego cięcia [71]. Takie różnice fizjologiczne, w tym odmienne hormony występujące u mężczyzn i kobiet powodują zróżnicowanie w zakresie występowania drobnoustrojów na ich skórze [64].

Na mikroflorę bakteryjną skóry mają także wpływ czynniki środowiskowe, w tym wykonywany zawód, używana odzież oraz stosowane leczenie, w tym antybiotyki [35]. Także używane kosmetyki i produkty higieniczne zmieniają warunki na skórze i wpływają na mikrobiom, choć mechanizm ich oddziaływań na skład mikroflory skóry nie jest do końca poznany [35]. Różnorodność drobnoustrojów skóry była po części znana przed wprowadzeniem technik sekwencjonowania mikrobiomu, jako że metody hodowli wykazały duże ich zróżnicowanie [51]. Wykazano, że głównymi bakteryjnymi kolonizatorami skóry są *Staphylococcus epidermidis* i inne gronkowce koagulazo-ujemne oraz bakterie z gromady *Actinobacteria* m.in. rodzaje *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, *Brevibacterium*, *Micrococcus* – które uznano za stałą mikroflorę skóry [33, 34, 40, 42, 57, 86]. Z kolei do mikroflory przejściowej, głównie w warunkach patologicznych zaliczono *S. aureus*, *Streptococcus pyogenes* oraz *Pseudomonas aureginosa* [5, 29, 34, 73].

Postęp w poznawaniu mikroflory powłok skóry związany był z technikami molekularnymi, w tym sekwencjonowanie 16S rRNA. Zastosowanie tych metod umożliwiło wykazanie, że skóra ludzka jest bardziej zróżnicowana i bogatsza pod względem występowania drobnoustrojów, niż dotychczas uważano [71]. Badania te dowiodły, że drobnoustroje skóry należą do czterech głównych gromad: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* i *Proteobacteria*. Także wcześniej wykazano na skórze obecność takich rodzajów bakterii jak: *Pro-*

propionibacterium, *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Acinetobacter* oraz *Finogoldia* [34, 71]. Badania Costelli i wsp. [20] wykazały, że na skórze okolicy głowy, w tym skórze nosa, uszu i włosach dominują bakterie z podrodziny *Propionibacterinae*, których jest znacznie mniej na skórze ramion. Badania te dowiodły, że w okolicy tułowia i kończyn, szczególnie okolic pach i podeszwy stóp, pępka i dołu podkolanowego, głównie występują bakterie z rodzaju *Staphylococcus* i *Corynebacterium*. Natomiast badania Grice i wsp. [36] wskazały, że głównymi bakteriami występującymi na skórze klatki piersiowej, plecach i potylicy, gdzie są „łojowe warunki”, w największej ilości występują *Propionibacteria* spp. oraz różne gatunki *Staphylococcus* spp. Natomiast na powierzchniach miejsc wilgotnych m.in. w przestrzeni międzypalcowej, pachach, pępku dominują *Corynebacterium* spp., choć także są obecne bakterie z rodzaju *Staphylococcus*. Z kolei na powierzchniach miejsc suchych takich jak: przedramię, przeważają mieszane drobnoustroje, reprezentowane głównie przez β -*Proteobacteria* i *Flavobacteriales* [36].

Analiza mikrobiomu skóry wykonana nowoczesnymi technikami udowodniły, że archea występujące na powierzchni skóry, to metanogenne archea z rodzaju *Methanosarcina*, *Methanobrevibacter* oraz archeony z gromady *Eurybacteria*, jak też archea utleniające amoniak z typu *Thaumarcheota*, które wpływają na regulację pH skóry i stanowią naturalną warstwę ochronną powłok skóry [82].

Badania mikrobiomu skóry w kierunku obecności wirusów wykazały, że podobnie jak bakterie i archea, tworzą one stały i przejściowy skład mikroflory skóry [55]. Analiza sekwencji wirusowego DNA na powierzchni skóry wskazała trzy dominujące rodziny: *Papillomaviridae* (β -, γ -HPV), *Polyomaviridae* i *Circoviridae* [31, 55] z tym u większości osób najczęściej stwierdzanymi na powierzchniowych warstwach skóry są β i γ papillomawirusy [55], wśród których zidentyfikowano 13 nowych odmian γ -papillomawirusów [31]. Stwierdzono także na skórze polyomawirusy Merkel (MCPyV), które izolowano z agresywnego neurohormonalnego raka skóry, choć wykazano go także na powierzchni skóry osób zdrowych [31]. Na skórze udowodniono występowanie bakteriofagów z rodziny *Myoviridae* i *Siphoviridae*, a także bakteriofagów *Propionibacterium* spp., *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Baciillus* spp., których liczbajest zmienna na powierzchniach różnych obszarów skóry [38].

Ważnym składnikiem ekosystemu ludzkiej skóry są grzyby, które oprócz bakterii, archea i wirusów stanowią ważną część, choć badania z tego zakresu są słabo rozwinięte [35]. Obecnie przyjmuje się, że większość grzybów na zdrowej skórze zidentyfikowanych metodami molekularnymi to gatunki *Malassezia* spp.: *M. restricta*, *M. globosa*, *M. sympodialis*, *M. pachydermatis* oraz

M. furfur, przy czym gatunki *M. restricta* i *M. furfur* występują liczniej [78]. Przyjmuje się także, że *Candida* spp., mimo że jest składnikiem mykrobiomu skóry człowieka, to bardzo rzadko kolonizuje skórę chyba, że jest przyczyną zakażeń, zwłaszcza w warunkach obniżenia odporności czy cukrzycy [86].

3. Mikrobiom jamy ustnej

Jama ustna ze względu na kontakt z powietrzem, pożywieniem i środowiskiem wodnym, stanowi dynamiczne oraz bardzo zróżnicowane i unikalne środowisko dla drobnoustrojów. Bakterie w jamie ustnej biorą udział w metabolizmie produktów odżywczych.

Pierwsza kolonizacja tego obszaru zaczyna się bezpośrednio po urodzeniu, a głównym źródłem bakterii jest matka dziecka. Obszar ten, jako pierwsze bakterie zasiedlają: *Streptococcus salivarius*, *S. mitis*, *S. oralis*, a w okresie następnych kilku miesięcy pojawiają się Gram-ujemne beztlenowce tj.: *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella melaninogenica* i *Veillonella* spp. W młodym wieku dorosłym, mikrobiota jamy ustnej człowieka staje się bardzo stabilna i jest reprezentowana przez bakterie z rodzaju *Streptococcus*, *Veillonella*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Treponema*, *Neisseria*, *Haemophilus*, *Eubacteria*, *Lactobacterium*, *Capnocytophaga*, *Eikenella*, *Leptotrichia*, *Peptostreptococcus* i *Propionibacterium* [8, 93]. Przyjmuje się, że u ludzi w jamie ustnej jest ponad 750 gatunków bakteriowych, przy czym uznaje się, że to tylko około 50% występujących tam bakterii, które poznano [39, 49]. Dane te potwierdza program Human Oral Microbiome Database (HOMD) [100], który nie tylko przedstawia aktualne nazewnictwo drobnoustrojów jamy ustnej, ale także zawiera dane z bibliotek fenotypowych, filogenetycznych i klinicznych zarazków [27].

Na duże zróżnicowanie mikrobiomu jamy ustnej ma wpływ temperatura, pH, potencjał oksydacyjno-redukcyjny, zasolenie oraz ślina, która dostarcza składników odżywczych, usuwa produkty przemiany, a dodatkowo zawiera liczne enzymy np. w amylazę, peptydy przeciwbakteryjne, a nawet przeciwciała [71]. Jest on także warunkowany stanem higieny gospodarza np. szczotkowaniem zębów czy płukaniem jamy ustnej [71], a także wiąże się z mikrobiomem śliny. Analiza wyników badań molekularnych mikrobiomu śliny osób z różnych stref geograficznych, wykazała [70] obecność ponad 100 rodzajów bakterii, w tym około 40 dotychczas nieopisanych. Stwierdzono, że u większości badanych osób występują bakterie z rodzajów: *Streptococcus*, *Prevotella*, *Veillonella*, *Neisseria*, *Haemophilus*, *Rothia*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Scardovia*, *Parascardovia* i *Alloscardovia* [11, 70]. Wykazano, że język, jako wał mięśniowy pokryty śluzówką, stanowi także miejsce kolonizowane

przez bakterie. Stosując sekwencjonowanie 16S rRNA stwierdzono, że mikrobiom języka ludzi zdrowych oraz chorych na raka żołądka jest bardzo bogaty i zróżnicowany [46]. U ludzi zdrowych stwierdzono bakterie z rodzajów *Prevotella*, *Neisseria*, *Streptococcus*, *Haemophilus* i *Fusobacterium*, zaś u chorych dominowały bakterie z rodzajów *Prevotella*, *Streptococcus*, *Veilonella*, *Actinomyces*, *Leptotrichia* [46].

Istotnym faktem dotyczącym mikrobiomu jamy ustnej jest biofilm tworzony nad- i podziąsłowo, który różni się między sobą składem mikroflory bakteryjnej. Drobnoustroje obecne w biofilmie tworzą niezwykle zorganizowaną i aktywną strukturę, w której współpracują ze sobą, uczestnicząc w rozkładzie substancji organicznych i pozyskiwaniu energii [16]. Stwierdzono, że w naddziąsłowej płytce bakteryjnej występują głównie bakterie Gram-dodatnie takie jak: *S. mutants*, *S. salivarius*, *S. motis* oraz *Lactobacillus* spp. Natomiast na podziąsłowej płytce obecne są Gram-ujemne bakterie np.: *Actinobacillus* spp., *Campylobacter* spp., *Fusobacterium nucleatum* i *Porphyromonas gingivalis* [16, 39].

Na płytce nazębnej stwierdzono także obecność archea i pochodzą one z typu *Euryarchaeota*, a w szczególności *Methanobrevibacter oralis* i *M. smithii* [46]. Stwierdzono w jamie ustnej bakteriofagi, których obecność związana jest z występowaniem potencjalnych gospodarzy – bakterii [27]. Obserwacje dotyczące ich występowania w jamie ustnej dowiodły, że są to głównie fagi *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, a ich liczba jest dodatnio skorelowana z zanikiem przyzębia [27, 75, 78]. Udowodniono, że bakteriofagi jamy ustnej mogą występować zarówno, jako komensale oraz jako czynniki chorobotwórcze [9, 27, 92]. Wykazano, że w tym ekosystemie dominują *Escherichia coli* fag T3, *Propinibacterium acnes* fag PA6 oraz *Streptococcus mitis* fag SM1, chociaż odnotowano także obecność *E. coli* fag lamda, *Burholderia* fag E125, *Actinomyces* fag Av-1 oraz fagi *Streptococcus* [44, 98]. Autorzy innych badań wykazali [85] występowanie bakteriofagów atakujących gromady *Proteobacteria* lub *Firmicutes*, które obejmują rodzaje *Streptococcus*, *Gemella*, *Veilonella* i *Leptotrichia*. Obecność w ludzkiej ślinie faga *Enterococcus faecalis*, to dowód, że odgrywa on ważną rolę w ograniczaniu występowania bakterii w systemie korzeni zębowych, jako że penetrując kanały zęba, eliminują zakażenie wywołane przez *E. faecalis* [9]. Wśród mikrobiomu jamy ustnej metodami biologii molekularnej stwierdzono, że ten ekosystem to doskonałe miejsce nie tylko bakteriofagów, ale również wirusów ssaczy, które reprezentowane są przez TTV (torque teno virus), circowirusy, herpsewirusy, w tym HSV (Herpes simplex virus) oraz EBV (Epstein-Barr virus) [1, 27, 69, 85, 93, 98].

Badania mikrobiomu jamy ustnej, u ludzi zdrowych dowiodły występowanie takich grzybów jak *Candida* spp., *Saccharomyces* spp., *Penicillium* spp., *Scopularia*

spp., *Geotrichum* spp. oraz *Aspergillus* spp., *Cryptococcus* spp., *Fusarium* spp. i *Alternaria* spp. [23]. Potwierdzili to Dupuy i wsp., [25] którzy w jamie ustnej wykazali obecność nie tylko wspomnianych grzybów z rodzajów: *Candida*, *Saccharomyces* czy *Aspergillus* i *Cryptococcus*, ale także *Fusarium*, *Alternaria* i *Cladosporium*, choć również stwierdzono występowanie grzybów z rodzaju *Aurebasidium*, *Epicoccum*, *Phoma* oraz *Malassezia* – który to patogen jest charakterystyczny dla mykobiomu skóry.

4. Mikrobiom przewodu pokarmowego

Przewód pokarmowy makroorganizmów ze względu na pełnione funkcje oraz specyficzność budowy, stanowi niezwykle miejsce dla drobnoustrojów. Układ ten zapewnia warunki życia i wzrostu drobnoustrojom komensalnym, jak również tym, które są dostarczane wraz z pożywieniem i które w znaczący sposób mogą wpłynąć na procesy zachodzące w tej niszy ekologicznej. Żołądek, jako jeden z odcinków przewodu pokarmowego stanowi przejściowy rezerwuuar pokarmu, w którym odbywają się takie procesy jak: zwilżanie, rozpuszczanie i mieszanie treści pokarmowej z sokiem żołądkowym. Sam sok żołądkowy stanowi mieszaninę proteolitycznych enzymów i kwasu solnego, przez co dostarcza środowisku niezbędnych do denaturacji białek oraz ułatwia wchłanianie składników odżywczych [67]. Ze względu na kwaśne środowisko, żołądek uważany był za miejsce zasadniczo sterylne i nieprzyjazne dla rozwoju drobnoustrojów. Jednak wraz z odkryciem *Helicobacter pylori* zwrócono uwagę na to, że jest on zasiedlany przez różnorodną mikrospołeczność [66]. Gęstość mikrobiologiczną żołądka określa się obecnie na 10^1 – 10^3 CFU (colony-forming unit)/g [74] i przez co, wraz z przełykiem i dwunastnicą jest najmniej skolonizowanym przez bakterie regionem przewodu pokarmowego. Głównym składnikiem mikroflory żołądka należą do *Proteobacteria* jest wspomniany *H. pylori*, która to bakteria kolonizuje niszę żołądka u ponad połowy ludzi na świecie [90]. Hodowla bakterii z soku żołądkowego jak też analiza mikrobiologiczna bioptatów błony śluzowej wykazała występowanie bakterii z gromady *Firmicutes* (rodzaje *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Veilonella*), *Proteobacteria* (*Escherichia*), *Actinobacteria* (*Bifidobacterium*) oraz w niewielkiej ilości grzybów z rodzaju *Candida* [12, 90]. Badania metodami hodowlanymi dowiodły, że mikrobiom żołądka tworzą bakterie z gromady *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* i *Fusobacteria* [12]. Z kolei badania z wykorzystaniem technik biologii molekularnej wskazały na obecność wcześniej izolowanych rodzajów bakterii klasycznymi metodami m.in: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Veilonella* oraz *Escherichia*,

a także stwierdzono nowe rodzaje bakterii, które wcześniej nie zaliczono do mikrobioty żołądka: *Prevotella*, *Caulobacter*, *Actinobacillus*, *Corynebacterium*, *Rothia*, *Gemella*, *Leptotrichia*, *Porhyromonas*, *Capnocytophaga* oraz *Deinococcus* [12]. Natomiast w tej niszy, mimo specjalistycznych badań dotyczących mikrobiomu, nie wykazano występowania wirusów i grzybów.

Odnosnie mikrobiomu jelit człowieka należy stwierdzić, że jego znaczenie po raz pierwszy wykazał ponad sto lat temu rosyjski laureat Nagrody Nobla Ilja Iljicz Miecznikow, kiedy postawił hipotezę, że zdrowotne właściwości kefiru są związane ze zdolnością w nim obecnych żywych bakterii do kolonizowania jelita [71]. Przyjmuje się, że mikrobiota jelit ludzi zaczyna rozwijać się w czasie narodzin. Jest to proces dynamiczny, choć uzależniony od wielu czynników m.in. czynników genetycznych, mikrobioty matki, rodzaju porodu, warunków środowiskowych i stosowanej diety [58, 63]. Co ważne, w pierwszych dniach życia w przewodzie pokarmowym są warunki względnie beztlenowe, a co za tym idzie jest to miejsce do kolonizowania przez bakterie wykorzystujące tlen pochodzący ze środowiska. Są to *E. coli* i *E. faecalis*, które tworzą po wykorzystaniu tlenu warunki beztlenowe [58]. W rezultacie dochodzi do zasiedlenia w tym obszarze bakterii beztlenowych z rodzaju *Bacteroides*, *Bifidobacterium* i *Clostridium*. Przypuszcza się, że proces tworzenia mikrobioty jelitowej kształtuje się do około 2 roku życia, chociaż w późniejszych okresach notuje się duże wahania składu ilościowego bakterii spowodowanych m.in. wiekiem, stylem życia, choć np. jelito grube dorosłego człowieka, a w szczególności okrężnica zawiera około 10^{12} – 10^{14} bakterii na 1 ml, co stanowi około 1,2 kg [56]. U dorosłego człowieka bakteryjny składnik jelitowej mikroflory stanowią głównie beztlenowce, które przewyższają ponad 100-krotnie swą liczbą bakterie fakultatywnie tlenowe. Do najliczniej występujących bakterii w obrębie mikrobioty jelitowej zaliczyć należy bakterie Gram-dodatnie, jak i Gram-ujemne bezwzględnie i względnie beztlenowe z rodzajów: *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Ruminococcus* i w mniejszej ilości *Lactobacillus* spp., *Escherichia coli*, *E. faecalis*, *Bacillus* spp., *Clostridium* spp. i *Streptococcus* spp. [889]. Poza wymienionymi rodzajami bakterii, inni autorzy [52] podają, że do drobnoustrojów stanowiących mikrobiotę jelit należą rodzaje: *Preptostreptococcus*, *Klebsiella*, *Proteus* oraz gatunki *Fenogoldia manga* i *Micromonas micros*. Chociaż w ludzkim jelicie wykryto obecność ponad 50 gromad bakterii, ekosystem ten zdominowały w szczególności dwie gromady *Bacteroidetes* oraz *Firmicutes* [15, 26]. Sekwencjonując mikrobiom jelit Eckburg i wsp. [26] odnotowali, że wśród gromady *Bacteroidetes* w przeważającej ilości występują bakterie z rodzaju *Clostridium*, które pełnią ochronną rolę nabłonka okrężnicy. Z kolei wśród gro-

mady *Bacteroidetes* najpowszechniejszym gatunkiem był *Bacteroides thetaiotaomicron*, którego stwierdzono u wszystkich badanych osób [26]. Dodatkowo, badacze wykazali obecność *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* oraz *Verrucomicrobia* [26]. Stwierdzono także w mikrobiocie jelitowej osób dorosłych gatunki bakterii wytwarzające maślan. Są to: *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia intestinalis* oraz *Bacteroides uniformis* [83]. Analiza sekwencji 22 próbek kału różnych osób wykazała, że mikrobom ludzkiego jelita można uporządkować w trzy enterotypy, gdzie nazwy enterotypów uzależnione zostały od dominujących w nich bakterii: *Bacteroides* (enterotyp 1), *Prevotella* (enterotyp 2), *Ruminococcus* (enterotyp 3). Stwierdzono, że najczęściej występującym u ludzi był enterotyp 3, który oprócz bakterii z rodzaju *Ruminococcus* zawierał licznie występujący rodzaj *Akkermansia*. Oba te rodzaje zarasków zawierają „ugrupowania” zdolne do degradacji mucyny [7]. Wykazano, że mikrobiota jelitowa pełni liczne funkcje, gdyż warunkuje nie tylko ciągłość nabłonka jelitowego, ale także zapewnia homeostazę układu immunologicznego, chroniąc jednocześnie makroorganizm przed niekorzystnym wpływem bakterii chorobotwórczych m.in. *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica* czy *Listeria monocytogenes* [52, 58]. Ekosystem jelit jest także reprezentowany przez archeony, jako że *Methanobrevibacter smithii* oraz *M. oralis* (*Methanosphaera stadtmanae*) to gatunki, które izolowano z różnych środowisk, w tym jamy ustnej oraz pochwy [45]. Badania ostatnich lat prowadzone metodami molekularnymi wykazały, że różnorodność archeonów u ludzi jest duża oraz, że reprezentują je *Euryarchaeota*, *Crenarchaeota*, *Thermococcales*, *Thermoplasmatales* oraz niemetanogenne archea *Halobacteriaceae*, które stwierdza się w ludzkim kale [45, 76]. Wykazano także w kale obecność archeonów z rodzaju *Nitrososphaera*, które zdolne są do utleniania amoniaku i mocznika oraz dostarczają drobnoustrojom azot dla [41].

Ludzki mikrobiom jelit tworzą także wirusy, które wpływają na homeostazę gospodarza, warunkują odporność jelit. Wśród nich wyróżnić można wirusy infekujące komórki gospodarza oraz bakteriofagi atakujące bakterie. Wykazano, że ludzka treść jelitowa zawiera co najmniej 10^9 cząstek wirusopodobnych na jeden gram kału. Sekwencjonowanie wirusów z próbek kału dowiodło, że bakteriofagi atakują do 10^{14} komórek bakteryjnych i są najbardziej rozpowszechnionymi wirusami jelitowymi [3, 68]. Chociaż wiele jelitowych bakteriofagów nie zostało jeszcze w pełni sklasyfikowanych, wiadomo, że najbardziej rozpowszechnione są dwuniciowe wirusy DNA z rzędu *Caudovirales* *Podoviridae*, *Siphoviridae*, *Myoviridae*) oraz jednociowe bakteriofagi DNA (*Microviridae*) [3, 68]. Przyjmuje się, że w porównaniu do bakteriofagów w jelitach

o wiele mniej jest także wirusów eukariotycznych, choć sekwencjonowanie próbek kału od dzieci zdrowych wykazały złożoną społeczność wirusów eukariotycznych z rodziny *Picobirnaviridae*, *Adenoviridae*, *Anelloviridae*, *Astroviridae*, a także wykazano obecność takich gatunków wirusów jak *Bocavirus*, *Enterovirus*, *Rotavirus* oraz *Sapovirus* [50]. Niedawno wykazano także w próbkach kału u ludzi zdrowych obecność megawirusa należącego do rodziny *Marseilleviridae*, co może świadczyć o tym, że te wirusy mogą tworzyć mikrobiotę przewodu pokarmowego [19, 53, 77].

Badając mykobiom jelita, a w szczególności kału wykazano, że najczęściej występującymi rodzajami grzybów są: *Candida*, *Cladosporium*, *Cryptococcus* i *Saccharomyces*, choć w wielu próbkach kału były obecne i takie grzyby jak: *Malassezia* spp., *Eurotiales* spp., *Botryosphariales* spp. oraz *Filobasidiales* spp. [23, 41]. Hoffman i wsp. [41] oceniając korelację pomiędzy taksonami grzybiczymi, a bakteryjnymi w mikrobiomie jelita wskazywali, że grzyby z rodzaju *Candida* i *Saccharomyces* są dodatnio skorelowane z archeonami z rodzaju *Methanobrevibacter* i bakteriami *Prevotella* spp. i te rodzaje drobnoustrojów były najczęściej wykazywane u ludzi z dietą wysokowęglowodanową. Z kolei osoby będące na diecie bogatej w aminokwasy i kwasy tłuszczowe mają posiadają zwiększoną liczbę *Candida* spp. Badacze Ci sugerują, że grzyby z rodzaju *Candida* oraz bakterie z rodzaju *Prevotella*, *Ruminococcus* i archeony *Methanobrevibacter*, tworzą syntroficzną społeczność jelit, które zapewniają metabolizm węglowodanów złożonych, gdzie *Prevotella* spp. i *Ruminococcus* spp. fermentują cukry wytwarzane przez *Candida* spp., a *Methanobrevibacter* spp. wykorzystują produkty fermentacji bakteryjnej, wytwarzając metan i dwutlenek węgla [41].

5. Mikrobiom dróg oddechowych

Mikrobiom dróg oddechowych ssaków, w tym ludzi, a w szczególności górnych dróg jest zróżnicowany, jako że system błon śluzowych pozostaje stale w kontakcie ze środowiskiem zewnętrznym w tym poprzez proces oddychania. Jama nosowa z każdym oddechem pełni funkcję „wejścia” do dróg oddechowych wielu drobnoustrojów. Pierwsze badania dotyczące mikrobiomu jamy nosowej wykazały, że znacznie różni się on od mikrobiomu krtani. U zdrowych osób dorosłych udowodniono, że mikroflora tego obszaru należy do gromady *Actinobacteria* (*Propionibacterium* spp., *Corynebacterium* spp.) oraz *Firmicutes* (*Staphylococcus* spp.) [40], co zgodne jest z wynikami badań prowadzonych przez Franka i wsp. [32], którzy wskazali także, że mikroflora tego obszaru jest zdominowana przez *Actinobacteria*, w tym *Propionibacterium* spp., *Corynebacterium* spp. oraz *Firmicutes* [32]. Natomiast Rasmussen i wsp. [84] badając

tę niszę wykazali obecność nie tylko bakterii z rodzaju *Corynebacterium* i kilku przedstawicieli gronkowców m.in. *Staphylococcus epidermidis*, *S. capitis*, *S. hominis*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis* i *S. warneri*, ale także bakterii z rodzaju *Aureobacterium* i *Rhodococcus* [84].

Stwierdzono, że zrogowaciały nabłonek płaski nozdrzy zawiera gruczolę łojową produkującą substancje wspomagające wzrost litofilnych bakterii takich jak *Propionibacterium* spp. Drobnoustroje tego rodzaju zdolne są do hydrolizy tłuszczów, uwalniają jednocześnie wolne kwasy tłuszczowe, co w konsekwencji obniża pH, sprzyjając wzrostowi koagulizacji ujemnych gronkowców, a dodatkowo wilgotne warunki i obecność tlenu w tym miejscu, wpływa na wzrost w tym obszarze *S. aureus* [22]. Z kolei analiza składu mikrobioty jamy nosowej osób zdrowych wykazała stosunkowo niższą liczbę *S. aureus*, a zwiększoną *Corynebacterium* spp. i *S. epidermidis*, co sugeruje, że są one antagonistami w stosunku do *S. aureus* [59]. Yi i wsp. [101] badając poprzez sekwencjonowanie mikrobiom górnych dróg oddechowych wskazali, że dominującymi bakteriami jest rodzaj *Streptococcus*. Bakterie te wykryto u wszystkich badanych osób i stanowiły one zdecydowaną większość bakteryjnej mikrosocjety, choć wykazano także, ale w zdecydowanie mniejszej ilości *Neisseria* spp. i *Gemella* spp. Z kolei u osób zdrowych notowano obecność bakterii z rodzaju *Streptococcus*, *Veillonella* i *Prevotella*, choć u większości stwierdzono także bakterie z rodzaju *Haemophilus*, *Gemella*, *Rothia* i *Leptotricha* [101]. W przypadku przewlekłego zapalenia zatok przynosowych (*chronic rhinosinusitis*, CRS) u ludzi stwierdzono obniżone zróżnicowanie bakteryjne w porównaniu do grupy kontrolnej, a także wykazano obniżoną liczbę bakterii kwasu mlekowego u pacjentów z CRS i wzrost liczby *Corynebacterium tuberculoostrealiticum* [2].

Dolne drogi oddechowe – tchawica i płuca, znacznie różnią się budową i funkcją od górnych dróg oddechowych. Wyścielone są nabłonkiem rzęskowym oraz licznymi komórkami wydzielniczymi uwalniającymi m.in. mucynę, związki powierzchniowo czynne, proteazy oraz białka immunomodulujące, co tworzy barierę odpornościową tego odcinka [62]. Odporność tego regionu dróg oddechowych jest także warunkowana przez makrofagi, limfocyty T, komórki dendrytyczne, w tym komórki Langerhansa. Stąd przyjmowano, że te elementy obrony układu oddechowego tego odcinka, wystarczają do utrzymania w nim jałowości [62]. Sugerowana jałowość tego odcinka układu oddechowego związana była z trudnością odtworzenia warunków tego siedliska, w tym hodowli bakterii z popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych [65]. Obecnie dzięki zastosowaniu technik sekwencjonowania genu 16S rRNA wykazano, że dolne drogi oddechowe zasiedlane są drobnoustrojami, które są odmienne od mikrobioty górnych dróg oddechowych. Program

Narodowego Instytutu Serca, Płuc i Krwi (NHLBI) przedstawił nie tylko mikrobiom układu oddechowego u osób zdrowych, ale i zakażonych wirusem HIV (Lung HIV Microbiome Project) [60,65]. Wykazano w nim, że najbardziej rozpowszechnionymi są bakterie z gromad: *Bacteroidetes* oraz *Firmicutes*, choć również w mniejszym stopniu *Proteobacteria* i *Actinobacteria*. W tym ekosystemie stwierdzono także obecność takich bakterii jak: *Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp. (*Bacteroidetes*), *Streptococcus* spp., *Veillonella* spp. (*Firmicutes*), *Pseudomonas* spp., *Haemophilus* spp. oraz *Neisseria* spp. (*Proteobacteria*). Analiza mikrobiomu płuc poprzez badanie popłuczyn pęcherzykowo-oskrzelowych u 14 pacjentów (w tym zdrowych palaczy) wykazała obecność takich drobnoustrojów w płucach jak: *Pseudomonas* spp., *Streptococcus* spp., *Prevotella* spp., *Fusobacterium* spp., *Haemophilus* spp., *Veillonella* spp. i *Porphyromonas* spp. [2, 30]. W tym rejonie układu oddechowego stwierdzono duże zróżnicowanie mikroflory w zależności od poszczególnych obszarów płuc, jako że bakterie z rodzaju *Haemophilus* dominowały w lewym górnym płacie płuca, a niewielka liczba komórek bakteryjnych tego gatunku, była w innym mikroanatomicznym obszarze innego płata płuc [18].

W drogach oddechowych dużym zainteresowaniem stał się wirusowy składnik mikrobiomu, a w szczególności dotyczy to dolnych dróg oddechowych – płuc. Związane jest to z faktem, że wcześniej niedostępny dla klasycznych metod hodowli ekosystem. Obecnie dzięki nowoczesnym technikom sekwencjonowania jest łatwiejszy do badania. W płucach stwierdzono obecność nie tylko wirusów ssaczy, ale i bakteryjnych (bakteriofagi), jak też wykazano, że ich skład zmienia się zasadniczo w zależności od regionu płuc. Willner i wsp. [97] badając chorych na mukowiscydozę udowodnili obecność fagów takich rodzajów bakterii jak: *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Haemophilus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Lactobacillus*, *Mycobacterium* oraz *E. coli*. Dodatkowo, w próbkach pochodzących z dróg oddechowych u ludzi zdrowych wykazano obecność wirusa olbrzymiego z rodzaju *Mimiviridae* [54,87].

Badania dotyczące mykobiomu układu oddechowego wykazały, że w płucach występuje ponad 75 rodzajów grzybów, wśród których u ludzi są to głównie rodzaje *Aspergillus*, *Candida*, *Cladosporium*, *Malassezia*, *Saccharomyces*. Ich skład i liczba gatunkowa uzależnione są od miejsca w drogach oddechowych [18, 65]. Charlsona i wsp. [17] wykazali, że u ludzi zdrowych najczęściej obecne były grzyby z rodziny *Davidiellaceae* i rodzajów *Cladosporium*, *Eurotium* i *Penicillium*. Podobnie van Woerdena [72] stwierdził, że najbardziej rozpowszechnionymi gatunkami były *Cladosporium cladosporium* i *Eremothecium sincaudum*, które jak dotąd zwykle izolowane były z wody oraz z roślin. Powszechne w środowisku życia czło-

wieka są formy nitkowate grzybów rodzajów *Aspergillus* i *Scedosporium*, które jako spory regularnie dostają się do układu oddechowego, przy czym nie wywołują zmian chorobowych u ludzi z prawidłową odpornością [30].

6. Mikrobiom układu moczowo-płciowego

Układ moczowo-płciowy składa się z narządów płciowych oraz narządów dróg moczowych i są one połączone w jeden układ ze względu na wspólne pochodzenie obu zawiązków z tkanki mezodermalnej. Natomiast mikrobiota tego obszaru jest reprezentowana przez zróżnicowane drobnoustroje stanowiąc także unikalny i dynamiczny ekosystem. Mikrośrodo-wisko pochwy zdrowych kobiet uzależnione jest przede wszystkim od wieku, zmian hormonalnych zachodzących w organizmie, a także od nawyków higienicznych i aktywności seksualnej [61, 71]. Drobnoustroje kolonizujące ten obszar w warunkach fizjologicznych chronią go przed patogenami chorobotwórczymi oraz aktywują odpowiedź immunologiczną poprzez wytwarzanie różnych związków o działaniu przeciwdrobnoustrojowym [103]. Dowiedziono, że mikrobiom tego obszaru zdominowany jest przez pałeczki kwasu mlekowego, których więcej wykazano u afroamerykańskich kobiet niż u kaukaskich [103]. Przyjmuje się, że *Lactobacillus* spp. może stanowić środowisko ochronne przed patogenami wywołującymi bakteryjne zakażenie pochwy. Bakterie te w nabłonku pochwy metabolizują glikogen do kwasu mlekowego, co sprzyja wytworzeniu środowiska o niskim pH, który powstrzymuje rozwój patogenów odpowiedzialnych za zakażenie układu rozrodczego kobiet wywołane np. *Gardenerella vaginalis*, *E. coli*, *Mobiluncus* spp., *Candida albicans* [61, 71]. Badania dotyczące mikrobioty pochwy prowadzone przez Antonio i wsp. [6] w oparciu o klasyczne metody hodowli wykazały, że dominującymi gatunkami wśród pałeczek kwasu mlekowego są *L. crispatus* i *L. jensenii*. Wyniki te potwierdzili w oparciu o metody biologii molekularnej Zhou i wsp. [103], którzy wykazali także dużą różnorodność rodzajów bakterii, choć bakterie z rodzaju *Lactobacillus* spp. były dominujące, a w szczególności *L. iners*, *L. crispatus*, *L. gasseri* oraz *L. jensenii*. W badaniach tych stwierdzono także inne bakterie, a w szczególności *Atopobium vaginae*, *Streptococcus* spp. oraz z gromady *Firmicutes* [103]. Z kolei Hyman i wsp. [48] badając mikroflorę tego obszaru dowiedli, że dominującym rodzajem był *Lactobacillus* spp., choć także wykazali występowanie bakterii z rodzajów *Bifidobacterium*, *Gardnerella*, *Atopobium*, *Corynebacterium*, *Janthinobacterium*. Autorzy Ci [48] stwierdzili, że w niektórych próbkach nieobecne były bakterie z rodzaju *Lactobacillus*, a jako dominujące były rodzaje *Bifidobacterium*, *Gardenerella*, *Gemella*,

Prevotella, *Pseudomonas* i *Streptococcus*. Inni badacze [96] oceniając mikrobiom pochwy kobiet zdrowych oraz chorych na bakteryjne zapalenie pochwy potwierdzili, że dominującą mikrobiotę baktryjną tego obszaru są bakterie z rodzaju *Lactobacillus*. W przypadku dróg płciowych u kobiet zdrowych dominowały *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. iners* oraz *L. jensenii*, a z kolei w grupie kobiet z zakażeniem pochwy dominowały bakterie z rodzaju *Atopobium*, *Prevotella* i gatunek *Mycobacterium hominis*. Analiza ekosystemu pochwy u estońskich zdrowych kobiet wykazała [24], że dominującym rodzajem jest *Lactobacillus* spp., jednak obecne w znacznej liczbie były także bakterie z rodzaju *Gardnerella*, *Prevotella* i *Atopobium* i bakterie tlenowe z rodzaju *Streptococcus* i *Staphylococcus*, przy czym ich obfitość była stosunkowo niska. W przypadku archea stwierdzono jedynie ich występowanie u kobiet z bakteryjną waginozą [10].

Wirusową mikrobiotę układu moczowo-płciowego badano głównie w przypadkach patologicznych. Stąd brak jest pełnych danych dotyczących wirumu tych dróg. Podczas bezobjawowego zluszczenia układu moczowo-płciowego notowano głównie eukariotyczne wirusy dsDNA, wśród których obecne były rodziny: *Adenoviridae*, *Herpesviridae*, *Papillomaviridae*, *Polyomaviridae*, a także wirus ssDNA z rodziny *Anelloviridae* [79].

Drogi rodne, głównie pochwa są swoistym mikrośrodowiskiem dla grzybów, w tym najbardziej powszechne są grzyby z rodzaju *Candida*, *Saccharomyces*, *Aspergillus*, *Alternaria* i *Cladopsorium*. Na różnorodność populacji grzybów w tym ekosystemie mogą mieć wpływ także choroby np. cukrzyca, nawracająca kandydoza pochwy. Wykazano, że na występowanie mikrobioty grzybiczej w tym obszarze ma znaczący wpływ mikrobiota bakteryjna, głównie rodzaj *Lactobacillus*. Bakterie te, wytwarzają kwas mlekowy o niskim pH, który hamuje rozwój grzybów, stąd możliwe, że dane z tego zakresu są ograniczone ze względu na nie uwzględnienie tych drobnoustrojów [13, 14, 24, 37, 102].

7. Podsumowanie

Mikrobiom człowieka w aspekcie najważniejszych jego nisz, zarówno w kontekście bakterii, archea, grzybów, a w szczególności wirusów, w tym bakteriofagów i wirusów olbrzymich, stanowi nadal stosunkowo mało poznany fragment wiedzy biologicznej, a który jest bardzo ważny, jako że to on warunkuje homeostazę organizmu. Stąd, badania prowadzące do poznania mikrobiomu człowieka tak pod względem różnorodności drobnoustrojów oraz ich oddziaływania, to fakty ważne, chociażby z powodu przybliżenia poznania etiologii, a nawet patogenyzy wielu chorób.

8. Piśmiennictwo

1. Abeles S.R., Robles-Sikisaka R., Ly M., Lum A.G., Salzman J., Boehm T.K. et al.: Human oral viruses are personal, persistent and gender-consistent. *ISME J.* **8**, 1753–1767 (2014)
2. Abreu N.A., Nagalingam N.A., Song Y., Roediger F.C., Pleitcher S.D., Goldberg A.N., Lynch S.V.: Sinus microbiome diversity depletion and *Corynebacterium tuberculostercalis* enrichment mediates rhinosinusitis. *Sci. Transl. Med.* DOI: 10.1126/scitranslmed.3003783 (2012)
3. Ackermann H. W. Phage classification and characterization. *Methods. Mol. Biol.* **501**, 127–140 (2009)
4. Adamiak M., Śliwa-Dominiak J., Bąk K., Tokarz-Deptuła B., Deptuła W.: Bakterie komensalne i odporność układu pokarmowego, oddechowego oraz moczowo-płciowego. *Post. Hig. Med. Dośw.* **70**, X-Y, 2016 (w druku)
5. Akiyama H., Morizane S., Yamasaki O., Oono T., Iwatsuki K.: Assessment of *Streptococcus pyogenes* microcolony formation in infected skin by confocal laser scanning microscopy. *J. Dermatol. Sci.* **32**, 193–199 (2003)
6. Antonio M.A., Hawes S.E., Hillier S.I.: The identification of vaginal *Lactobacillus* species and the demographic and microbiologic characteristics of women colonized by these species. *J. Infect. Dis.* **180**, 1950–1956 (1999)
7. Arumugan M., Ehrlich S.D.: Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, **473**, 174–180 (2011)
8. Avila M., Ojcius D.M., Yilmaz O.: The oral microbiota: living with a permanent guest. *DNA Cell Biol.* **28**, 405–411 (2009)
9. Bachrach G., Leizerovici-Zigmond M., Zlotkin A., Naor R., Steinberg D.: Bacteriophage isolation from human saliva. *Lett. Appl. Microbiol.* **36**, 50–53 (2003)
10. Belay N., Mukhopadhyay B., Conway de Macario E., Galask R., Daniels L.: Methanogenic bacteria in human vaginal samples. *J. Clin. Microbiol.* **28**, 1666–1668 (1990)
11. Beighton D., Gallagher J. et al.: Isolation and identification of Bifidobacteriaceae from human saliva. *Appl. Environ. Microbiol.* **74**, 6457–6460 (2008)
12. Bik E.M., Eckburg P.B., Gill S.R., Nelson K.E., Purdom E.A., Francois F., Perez-Perez G., Blaser M.J., Relman D.A.: Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 732–737 (2006)
13. Boris S., Barbes C.: Characterization of the aggregation promoting factor from *Lactobacillus gasseri*, a vaginal isolate. *J. Appl. Microbiol.* **83**, 413–420 (1997)
14. Boris S., Suarez J.E., Vazquez F., Barbes C.: Adherence of human vaginal *Lactobacilli* to vaginal epithelial cells and interaction with uropathogens. *Infect. Immun.* **66**, 1985–1989 (1998)
15. Bull M.J., Plummer N.T.: The gut microbiome in health and disease. *Integr. Med.* **13**, 17–22 (2014)
16. Chałas R., Wójcik-Chęcińska I., Woźniak M.J. et al.: Płytki bakteryjne jako biofilm – zagrożenia w jamie ustnej oraz sposoby zapobiegania. *Post. Hig. Med. Dośw.* **69**, 1140–1148 (2015)
17. 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)
18. 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**, 536–545 (2012)
19. Colson P., Fancello L., Gimenez G., Armougoum F., Desnaues Ch., Fournous G., Yoosuf N., Million M., La Scola B., Raoult D.: Evidence of megavirome in human. *J. Clin. Virol.* **57**, 191–200 (2013)

20. Costello E.K., Laauber C.L., Hamady M., Fierer N., Gordon J.I., Knight R.: Bacterial community variation in human body habitats across space and time. *Science*, **326**, 1694–1697 (2009)
21. Duerkop B.A., Hooper L.V.: Resident viruses and their interactions with the immune system. *Nat. Immunol.* **14**, 654–659 (2013)
22. de Steenhuijsen Piters W., Sanders E., Bogaert D.: The role of the local microbial ecosystem in respiratory health and disease. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **370**, DOI 10.1098/rstb.2014.0294 (2015)
23. Dworecka-Kaszak B.: Mycobiome – a cross-talk between fungi and their host. XVI Conference DIGMOL 2015, „Molecular biology in diagnostics if infectious disease and biotechnology”, Warszawa 2015, p. 67–71
24. Drell T., Lillsaar T., Tummeleht L., Simm J. et al: Characterization of the vaginal micro- and mycobiome in asymptomatic reproductive-age estonian women. *PLoS One*, **8**, e54379 (2013)
25. Dupuy A.K., David M.S., Li L., Heider T.N., Peterson J.D., Montano E.A., Dongari-Bagtzoglo A., Diaz P.I., Strausbaugh L.D.: Redefining of the human oral mycobiome with improved practices in amplicon-based taxonomy: Discovery of *Malassezia* as a prominent commensal. *PLoS One*, DOI: 10.1371/journal.pone.0090899 (2014)
26. Eckburg P.B., Bik E.M., Bernstein C.N., Purdom E., Dethlefsen L., Sargent M., Gill S.R., Nelson K.E., Relman D.A.: Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*, **308**, 1635–1638 (2005)
27. Edlund A., Santiago-Rodriguez T.M., Boehm T.K., Pride D.T.: Bacteriophages and their potential roles in the human oral cavity. *J. Oral. Microbiol.* **7**, DOI: 10.3402/jom.v7.27423 (2015)
28. Efenberger M., Wódz K., Brzezińska-Błaszczuk E.: Archeony – istotny składnik mikrobiomu człowieka. *Przegl. Lek.* **71**, 346–351 (2014)
29. El Baze P., Thyss A., Caldani C., Juhlin L., Schneider M., Ortonne J.P.: *Pseudomonas aeruginosa* O-11 folliculitis. Development into ecthyma gangrenosum in immunosuppressed patients. *Arch. Dermatol.* **121**, 873–876 (1985)
30. Erb-Downward J.R., Huffnagle G.B.: Analysis of the Lung Microbiome in the “Healthy” Smoker and in COPD. *PLoS One*, **6**, e16384 (2011)
31. Foulongne V., Eloit M. i wsp.: Human skin microbiota: high diversity of DNA viruses identified on the human skin by high throughput sequencing. *PLoS One*, **7**, e38499 (2012)
32. 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)
33. Fredericks D.N.: Microbial ecology of human skin in health and disease. *J. Invest. Dermatol. Symp. Proc.* **6**, 167–169 (2001)
34. Gao Z., Tseng C., Pei Z., Blaser M.J.: Molecular analysis of human forearm superficial skin bacterial biota. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 2927–2933 (2007)
35. Grice E.A., Segre J.A.: The skin microbiome. *Nature Rev. Microbiol.* **9**, 244–253 (2011)
36. Grice E.A., Segre J.A. i wsp.: Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome. *Science*, **324**, 1190–1192 (2009)
37. Guo R., Zheng N., Lu H., Yin H., Yao J., Chen Y.: Increased diversity of fungal flora in the vagina of patients with recurrent vaginal candidiasis and allergic rhinitis. *Microb. Ecol.* **64**, 918–927 (2012)
38. Hannigan G.D., Meisel J.S., Tyldsley A.S., Zheng Q., Hodgkinson B.P., SanMiguel A.J., Minot S., Bushman F.D., Grice E.: The human skin double-stranded DNA virome: topographical and temporal, genetic enrichment and dynamic associations with the host microbiome. *mBio*, **6**, e01578–15 (2015)
39. He X., Shi W.: Oral microbiology: past, present and future. *J. Oral. Science*, **2**, 47–58 (2009)
40. Hoffmann A.R., Proctor L.M., Surette M.G., Suchodolski J.S.: The microbiome: the trillions of microorganisms that maintain health and cause disease in humans and companion animals. *Vet. Pathol.* **53**, 10–21 (2016)
41. Hoffmann C., Dollive S., Grunberg S., Chen J., Li H., Wu G.D., Lewis J.D., Bushman F.D.: Archea and fungi of the human gut microbiome: Correlations with diet and bacterial residents. *PLoS One*, **8**, e66019 (2013)
42. Holland K.T., Bojar R.A.: Cosmetics: what is their influence on the skin microflora?, *Am. J. Clin. Dermatol.* **3**, 445–449 (2002)
43. Holland K.T., Knapp J.S., Shoesmith J.G.: *Anaeroba bacteria*. Blackie & Son, New York 1987.
44. Hooper L.V., Gordon J.I.: Commensal Host-Bacterial Relationships in the Gut. *Science*, **292**, 1115–1118 (2001)
45. Horz H.P., Conrads G.: The discussion goes on: what is role of Euryarchaeota in humans? *Archaea*, DOI: 10.1155/2010/967271 (2010)
46. Hu J., Han S. Chen Y., Ji Z.: Variations of tongue coating microbiota in patients with gastric cancer. *Biomed. Res. Int.* DOI: 10.1155/2015/173729 (2015)
47. Huynh H.Y.Y., Verneau J., Levasseur A., Drancourt M., Aboudharam G.: Bacteria and archea paleomicrobiology of the dental calculus: a review. *Mol. Oral. Microbiol.* DOI: 10.1111/omi.2118 (2015)
48. Hyman R.W., Fukushima M., Diamond L., Kumm J., Giudice L., Davis R.W.: Microbes on the human vaginal epithelium. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 7952–7957 (2005)
49. Jenkinson H.F., Lamont R.J.: Oral microbial communities in sickness and in health. *Trends. Microbiol.* **12**, 589–595 (2005)
50. Kapusinszky B., Minor P., Delwart E.: Nearly constant shedding of diverse enteric viruses by two healthy infants. *J. Clinical. Microbiol.* **50**, 3427–3434 (2012)
51. Kong H.H., Segre J.A.: The skin microbiome: looking back to move forward. *J. Invest. Dermatol.* **132**, 933–939 (2012)
52. Krakowiak O., Nowak R.: Mikroflora przewodu pokarmowego człowieka – znaczenie, rozwój, modyfikacje. *Post. Fit. 3*, 193–200 (2015)
53. Lagier J.C., Armougom F., Million M., Hugon P., Pagnier I., Robert C., Bittar F., Fournous G., Gimnez G., Maraninchi M., Trape J.F., Koonin E.V., La Scola B., Raoult D.: Microbial culturomics: paradigm shift in the human gut microbiome study. *Clin. Microbiol. Infect.* **18**, 1185–1193 (2012)
54. La Scola B., Marrie T.J., Auffray J.P., Raoult D.: Mimivirus in pneumonia patients. *Emerg. Infect. Dis.* **11**, 449–452 (2005)
55. Lecuit M., Eloit M.: The human virome: new tools and concept. *Trends Microbiol.* **21**, 510–515 (2013)
56. Ley R.E., Peterson D.A., Gordon J.I.: Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell*, **124**, 287–293 (2006)
57. Leyden J.J., McGinley K.J., Nordstrom K.M., Webster G.F.: Skin microbiota. *J. Invest. Dermatol.* **88**, 65–72 (1987)
58. Libudzisz Z., Żakowska Z., Kowal K.: *Mikrobiologia techniczna tom 1*. Wyd. Naukowe PWN, Warszawa, 2015
59. Lina G., Boutite F., Tristan A., Bes M., Etienne J., Vandensch F.: Bacterial competition for human nasal cavity colonization: role of *Staphylococcal agr* alleles. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**, 18–23 (2003)
60. Lung HIV Microbiome Project, <https://lhmp.bsc.gwu.edu> (17.05.2016 r.)
61. Ma B., Forney L.J., Ravel J.: The vaginal microbiome: rethinking health and diseases. *Annu. Rev. Microbiol.* **66**, 371–389 (2012)
62. Malinowska M., Tokarz-Deptuła B., Deptuła W.: Mikrobiom układu oddechowego w warunkach w warunkach fizjologicznych i patologicznych. *Post. Mikrobiol.* 2016 (w druku)

63. Mu C., Yang Y., Zhu W.: Gut microbiota: the brain peacekeeper. *Front. Microbiol.* **7**, 1–11 (2016)
64. Marples R.R.: Sex, constancy, and skin bacteria. *Arch. Dermatol. Res.* **272**, 317–320 (1982)
65. Marsland B.J., Gollwitzer E.S.: Host-microorganism interactions in lung disease. *Nature*, **14**, 827–835 (2014)
66. Marshall B.J., Warren J.R.: Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet*, **321**, 1273–1275 (1983)
67. Martinsen T.C., Bergh K., Waldum H.L.: Gastric juice: a barrier against infectious disease. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* **96**, 94–102 (2005)
68. Minot S., Sinha R., Chen J., Li H., Keilbaugh S.A., Wu G.D., Lewis J.D., Bushman F.D.: The human gut virome: inter-individual variation and dynamic response to diet. *Genome Res.* **21**, 1616–1625 (2011)
69. Naidu M., Robles-Sikisaka R., Abeles S.R., Boehm T.K., Pride D.T.: Characterization of bacteriophage communities and CRISPR profiles from dental plaque. *BMC Microbiol.* DOI: 10.1186/1471-2180-14-175 (2014)
70. Nasidze I., Li J., Quinque D., Tang K., Stoneking M.: Global diversity in the human salivary microbiome. *Genome Res.* **19**, 636–643 (2009)
71. Nelson K.E.: *Metagenomics of the human body*. Springer Science + Business Media. London, 2011.
72. Ngyen L.D., Viscogliosi E., Delhaes L.: The lung mycobiome: an emerging field of the human respiratory microbiome. *Front Microbiol.* DOI: 10.3389/fmicb.2015.00089 (2015)
73. Noble W.C.: Skin bacteriology and the role of *Staphylococcus aureus* in infection. *Br. J. Dermatol.* **139**, 9–12 (1998)
74. O'Hara A.M., Shanahan F.: The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep.* **7**, 688–693 (2006)
75. Olsen I., Namork E., Myhrvold V.: Electron microscopy of phages in serotypes of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Oral. Microbiol. Immunol.* **8**, 383–385 (1993)
76. Oxley A.P., Lanfranchi M.P.: Halophilic archaea in the human intestinal mucosal. *Environ. Microbiol.* **12**, 2398–2410 (2010)
77. Pagnier I., Ikanga reteno D.-G., Saadi H., Boughalmi M., Gaia M., Slimani M., Ngounga T., Beklitz M., Colson P., Raoult D., La Scola B.: A decade of improvements in Mimiviridae and Marseilleviridae isolation from amoeba. *Intervirology*, **56**, 354–363 (2013)
78. Paulino L.C., Tseng C.T., Strober B.E., Blaser M.J.: Molecular analysis of fungal microbiota in samples from healthy human skin and psoriatic lesion. *J. Clin. Microbiol.* **44**, 2933–2941 (2006)
79. Popgeorgiev N., Temmam S., Raoult D., Desnues C.: Describing the silent human virome with an emphasis in giant viruses. *Intervirology*, **56**, 395–412 (2013)
80. Preus H.R., Olsen I., Namork E.: Association between bacteriophage-infected *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and rapid periodontal destruction. *J. Clin. Periodontol.* **14**, 245–247 (1987)
81. Pride D.T., Salzman J., Haynes M., Rohwer F., Davis-Long C., White R.A., Loomer P., Armitage G.C., Relman D.A.: Evidence of a robust resident bacteriophage population revealed through analysis of the human salivary virome. *ISME J.* **6**, 915–26 (2012)
82. Probst A.J., Auerbach A.K., Miossl-Eichinger C.: Archaea on Human skin. *PLoS One*, **8**, e65388 (2013)
83. Qin J., Wang J. i wsp.: A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*, **490**, 55–60 (2012)
84. Rasmussen T.T., Kirkeby L.P., Poulsen K., Reinholdt J., Kilian M.: Resident aerobic microbiota of the adult human nasal cavity. *APMIS*, **108**, 663–675 (2000)
85. Robles-Sikisaka R., Ly M., Boehm T., Naidu M., Salzman J., Pride D.T.: Association between living environment and human oral viral ecology. *ISME J.* **7**, 1710–1724 (2013)
86. Roth R.R., James W.D.: Microbial ecology of the skin. *Annu. Rev. Microbiol.* **42**, 444–464 (1988)
87. Saadi H., Pagnier I., Colson P., Kanonou Cherif J., Beji M., Boughalmi M., Azza S., Armstrong N., Robert C., Fournous G., La Scola B., Raoult D.: First isolation of Mimivirus in a patient with pneumonia. *CID* **57**, e127 (2013)
88. Seed P.C.: The human mycobiome. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* (2014) DOI 10.1101/cshperspect.a019810.
89. Sekirov L., Russell S.L., Antunes L.C., Finlay B.B.: Gut microbiota in health and disease. *Physiol. Rev.* **90**, 859–904 (2010)
90. Sheh A., Foz J.G.: The role of the gastrointestinal microbiome in *Helicobacter pylori* pathogenesis. *Gut Microbes*, **6**, 505–531 (2013)
91. Shulman S.T., Friedmann H.C., Sims R.H.: Theodor Escherich: The First Pediatric Infectious Diseases Physician? *Clin. Infect. Dis.* **45**, 1025–1029 (2007)
92. Stevens R.H., Preus H.R., Dokko B., Russell D.T., Furgang D., Schreiner H.C., Goncharoff P., Figurski D.H., Fine D.H.: Prevalence and distribution of bacteriophage phi Aa DNA in strains of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *FEMS Microbiol. Lett.* **119**, 329–337 (1994)
93. Struzycka I.: The oral microbiome in dental caries. *Pol. J. Micro.* **63**, 127–135 (2014)
94. Underhill D.M., Illiev I.D.: The mycobiota: interactions between commensal fungi and the host immune system. *Nature Rev. Immunol.* **14**, 405–416 (2014)
95. 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)
96. Vitali B., Cruciani F., Parolin C., Donders G., Laghi L.: Vaginal microbiome and metabolome highlight specific signatures of bacterial vaginosis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **34**, 2367–2376 (2015)
97. Willner D., Furlan M., Haynes M., Schmieder R., Angly F.E., Silva J., Tammadoni S., Nosrat B., Conrad D., Rohwer F.: Metagenomic analysis of respiratory tract DNA viral communities in cystic fibrosis and non-cystic fibrosis individuals. *PLoS ONE*, DOI: 10.1371/journal.pone.0007370 (2009)
98. Willner D., Haynes M. i wsp.: Metagenomic detection of phage-encoded platelet-binding factors in the human oral cavity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 4547–5325 (2011)
99. www.hmpdacc.org (31.05.2016)
100. www.homd.org (31.05.2016)
101. Yi H., Yong D., Cho YJ., Chun J.: Profiling bacterial community in upper respiratory tract. *BMC Infect. Dis.* DOI:10.1186/s12879-014-0583-3 (2014)
102. Zheng N.N., Guo X.C., Lu W., Chen X.X., Feng G.F.: Characterization of the vaginal fungal flora in pregnant diabetic women by 18S rRNA sequencing. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **32**, 1031–1040 (2013)
103. Zhou X., Brown C., Abdo Z., Davis C.C., Hansmann M.A., Joyce P., Foster J.A., Forney L.J.: Differences in the composition of vaginal microbial communities found in healthy Caucasian and black women. *ISME J.* **1**, 121–133 (2007)