

Анализ на микробиом методом секвенирования следующего поколения (NGS)

Клиническое обоснование

Вся поверхность человеческого тела, как внешняя, так и внутренняя, заселена разнообразными микроорганизмами. Общее количество микроорганизмов называется микробиота, соответствующая генетическая информация – микробиом.

Кишечная флора здоровых людей

В кишечнике может быть обнаружено до 1000 разных видов бактерий, грибов и других микроорганизмов.

В то время как колонизация верхней части кишечника незначительна – 10 особей на грамм, в толстой кишке обнаруживается приблизительно 10¹¹ микроорганизмов на 1 г кала. Многие из этих микроорганизмов образуют тесный симбиоз с организмом хозяина. С одной стороны, организм хозяина обеспечивает оптимальную защиту и условия для роста многим микроорганизмам, с другой стороны, они предоставляют хозяину витамины и другие питательные вещества из трудноперевариваемых компонентов пищи, стимулируют иммунную систему и защищают против инвазии патогенов. В то же время, организм хозяина защищается против проникновения потенциально патогенных организмов в слизистую путем установлением защитного барьера, который состоит из слизистой (эпителий, подслизистая с фагоцитами и -клетками, слизью), секрецией противомикробных соединений (дефензины) и антител.

Каждый здоровый взрослый индивидум имеет уникальную микробиоту, которая относительно стабильна во времени. Несмотря на огромные индивидуальные различия, в сбалансированной микробиоте доминируют облигатно анаэробные бактерии, принадлежащие к филогенетическому типу Bacteroidetes (Bacteroidaceae, Prevotellaceae); Firmicutes (Clostridia, Lactobacillaceae, Eubacteriaceae); Actinobacteria, Proteobacteria. Также в сбалансированной микробиоте могут быть определены (Enterobacteriaceae) Fusobacteria, но в меньшем количестве.

Таким образом, высокое разнообразие микробиоты является признаком здоровой колонизации кишечника. Численность индивидуально специфических видов бактерий коррелирует со здоровой флорой кишечника.

Ключевые факты

- Сбалансированная микробиальная колонизация кишечника имеет важнейшее значение.
- Сдвиги в составе кишечной микрофлоры приводят к многочисленным проблемам со здоровьем
- Анализ на микробиом с использованием секвенирования нового поколения (NGS) делает возможным исследование сложного комплекса микроорганизмов в полной мере.

Сывороточные уровни антител десмоглеина-1 и десмоглеина-3 хорошо коррелируют с клинической активностью заболевания. Поэтому определение этих аутоантител с помощью количественного иммуноанализа (ELISA), также является критерием оценки.

Дисбактериоз и его последствия

Снижение количества или разнообразия физиологически значимых микроорганизмов, как и увеличение количества потенциально патогенных бактерий может привести к дисбактериозу. Одним из наиболее частых нарушений при дисбактериозе является увеличение численности факультативно анаэробных Enterobacteriaceae. В зависимости от степени дисбактериоза могут случаться различные проблемы со здоровьем, включая развитие булимии, и как следствие сахарного диабета и атеросклероза. При хронических воспалительных заболеваниях кишечника дисбактериоз также имеет патогенетически значимую роль. Согласно экспериментальным данным, у пациентов с болезнью Крона было обнаружено увеличение численности Enterobacteriaceae. Кроме этого, у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника описано уменьшение количества Faecalibacterium prausnitzii. Снижение численности Faecalibacterium prausnitzii является биомаркером болезни Крона и язвенного колита.

Изменения в составе кишечной флоры также наблюдаются при злокачественных заболеваниях кишечника. Эти изменения настолько очевидны, что имеют диагностическое преимущество для ранней диагностики колоректальной карциномы. Неврологические расстройства также могут быть связаны с изменениями в колонизации кишечника. Некоторые публикации предполагают связь между нарушением кишечной микрофлоры и аутизмом. Давно известно, что антибиотикотерапия может привести к латентным и клинически манифестирующим воспалениям кишечной слизистой с разрушением физиологической микробиоты.

Показания

Метод приемлем для определения состава кишечного микробиома. Сдвиг в составе кишечной флоры указывает на болезни кишечного тракта или метаболические нарушения.

Диагностика дисбактериоза

В классических методах диагностики кала бактерии культивируют и определяют на разнообразных питательных средах в аэробных и анаэробных условиях.

Однако в культуре возможно определение только 40 % микроорганизмов кишечной флоры. В частности, количественно доминирующие облигатно анаэробные бактерии могут быть культивированы только частично. Определение этих микроорганизмов требует современных методов молекулярной биологии. Для этой цели подходят такие методы как полимеразная цепная реакция (ПЦР) или ДНК-гибридизация. Однако, при использовании этого метода не может быть отражен общий микробиом. Поскольку в этих методах для определения и оценки количества разных микроорганизмов используются специфические отличия в генетической информации, их генетическую информацию называют микробиом (вместо микробиота). Прорыв в анализе на микробиом произошел в последние несколько лет с появлением метода NGS. NGS это метод секвенирования, в котором параллельно исследуются миллионы коротких фрагментов ДНК. Также для идентификации разных микроорганизмов используются индивидуальные участки последовательностей. Частота обнаружения отдельных последовательностей дает возможность количественной оценки генетической информации различных микроорганизмов.

Исследование на микробиом кала (геномный анализ кала) (1932)

- Исследование включает табличное представление 30 наиболее распространенных бактерий, так же как и некоторых наиболее показательных эукариот
 - Энтеротип (тип внутренней среды)
 - α -разнообразие, то есть определение количества видов бактерий в образце
 - β - разнообразие, то есть сравнение микробиома в образце со здоровой контрольной группой, которые сравнимы в пределах возраста, пола и типа питания
 - По желанию могут быть предоставлены данные всего исследования
 - Анализ микробиома полного комплекса бактерий и грибов может быть выполнен за 21 рабочий день по приемлемой цене.
 - Результаты анализа на микробиом представляют действительное состояние кишечной флоры. Данные могут быть интерпретированы врачом только в связи с клинической картиной.
 - Для анализа на микробиом образец кала (около 1 г) или образцы ткани должны быть глубоко заморожены и транспортированы при -20° C. В дополнение к анализу на микробиом и классическому определению дисбактериоза методом культивирования также могут быть применены некоторые дополнительные параметры диагностики патологических изменений пищеварительного тракта:

панкреатическая эластаза в кале (1034); кальпротектин в кале (0504); альфа-1-антитрипсин в кале (0172) бета-дефензин (0254); лактоферин в кале (0549); зонулин (1650); секреторный иммуноглобулин А в кале (0819).