

Микроэкология человека в свете масс-спектрометрии микробных маркеров.

Примеры из онкологии.

Осипов Георгий Андреевич,
докт. биол. наук
osipovga@mail.ru

Масс-спектрометрия микробных маркеров - МСММ

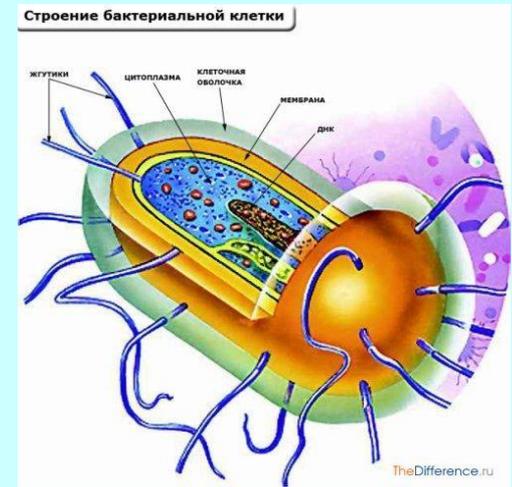
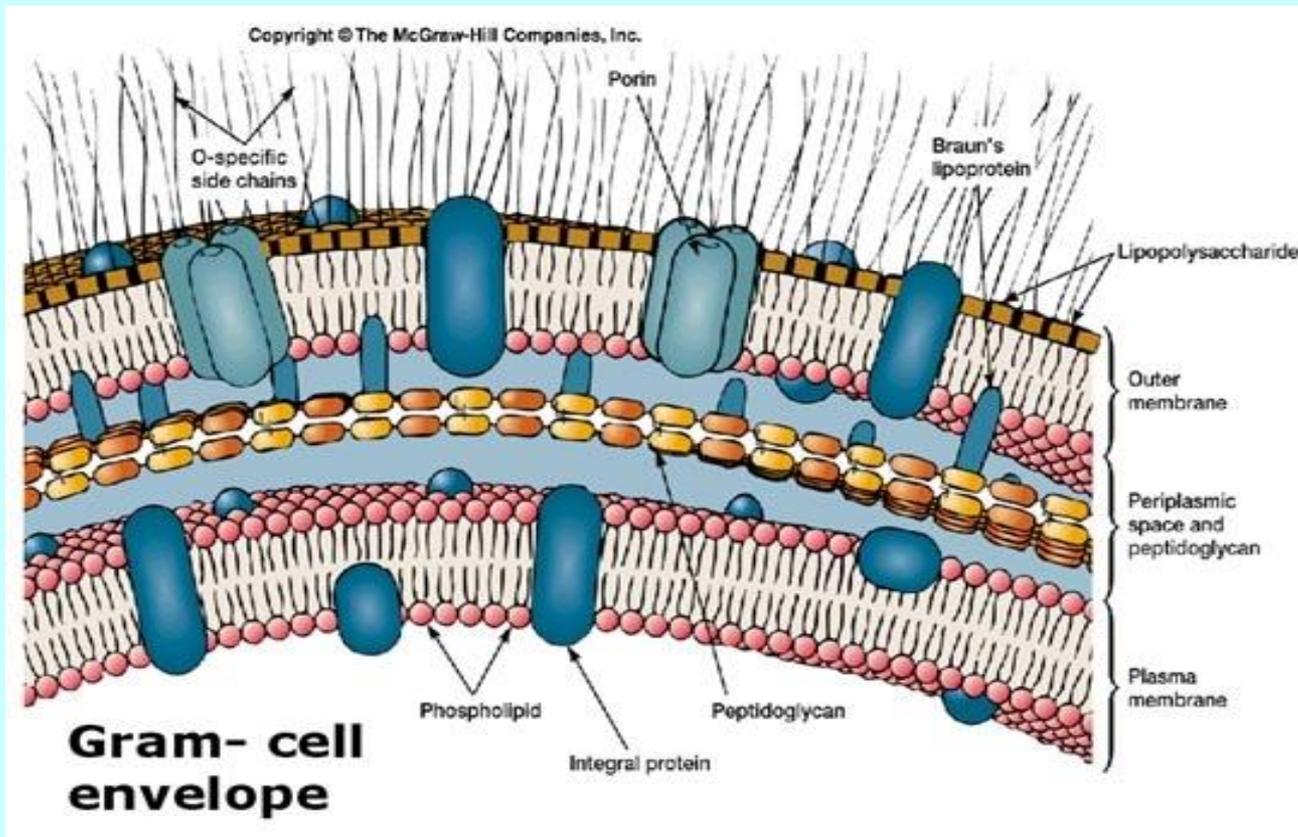
- Высококочувствительный и селективный метод газовой хроматографии – масс спектрометрии позволяет одновременно измерять концентрации более сотни микробных маркеров непосредственно в анализируемом материале: крови, моче, биоптатах и других биологических жидкостях и тканях, а также в небиологических пробах, минуя стадии предварительного посева на питательные среды или использование тестовых биохимических материалов.
- Анализ **60** доминантных родов и видов **за 2 часа** и **130** карбоновых кислот метаболома

Без масс-спектрометрии микробных маркеров (МСММ) не обойтись

- ❖ Как оказывается, сохранение и восстановление здоровья (лечение) человека неразрывно связано с состоянием его микробиоты.
- ❖ С одной стороны, она является продуцентом большинства биологически активных веществ, обеспечивающих нормальное функционирование внутренних органов и кожи.
- ❖ С другой – резервуаром терапевтической инфекции, которая, как правило, носит эндогенный характер.
- ❖ Разнообразие эндогенной микробиоты огромно и не укладывается в рамки возможностей современной клинической бактериологической лаборатории, основанной на необходимости культивирования микроорганизмов.

В технологии МСММ маркерами являются

Высшие жирные кислоты - генетически детерминированные компоненты фосфолипидов и ЛПС клеточной стенки микроорганизмов





Серия АА

0000339

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

РАЗРЕШЕНИЕ

НА ПРИМЕНЕНИЕ НОВОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ

ФС № 2010/038

от «24» февраля 2010 г.

**«Оценка микробиологического статуса человека методом
хромато-масс-спектрометрии»**

Разрешение выдано на имя: Учреждения Российской академии наук Государственного научного центра Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН. (123007, г. Москва, Хорошевское шоссе, д.76-А).

Показания к использованию медицинской технологии:

- Определение микробиологического статуса организма и его отклонений от гомеостаза.
- Выявление или уточнение этиологии инфекционно-воспалительного процесса при любых нозологических формах заболеваний в клинической практике.

Противопоказания к использованию медицинской технологии:

Отсутствуют.

Возможные осложнения при использовании медицинской технологии и способы их устранения:

Не выявлено.

Врио руководителя



Е.А.Тельнова

(подпись, печать)

Микробиологический анализатор МАЭСТРО

Готовое решение отечественного производства для работы по методу МСММ (ООО «Интерлаб», Россия)

<http://www.interlab.ru>





Реактивы на 1 пробу:

1. Гексан, 500 мкл
2. Метанол, 500 мкл
3. Соляная кислота, 40 мкл (1М HCl / MeOH)
4. BSTFA, 20 мкл (N,O-бис(триметил-силил)-трифторацетамид)
5. Внутренний стандарт, 5 мкл (C₁₃CD₃)

Время – один час.

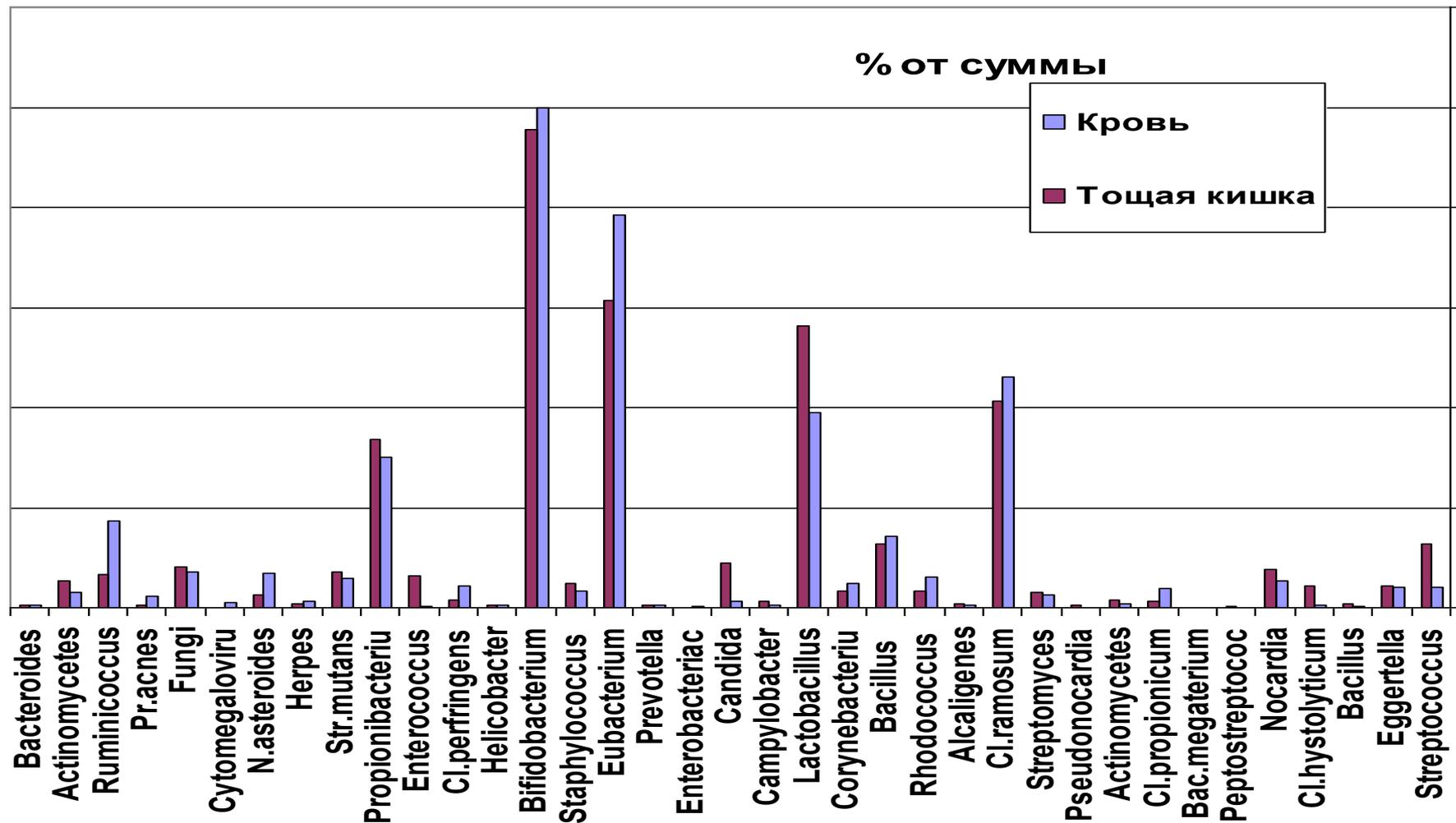
Пробоподготовка чисто химическая – не предполагает культивирования микроорганизмов. Можно определять любые микробы, вне зависимости от их способности расти в искусственных условиях.

Детектирование микроорганизмов по структурным, генетически детерминированным жирным кислотам (ЖК) непосредственно в объекте исследования

- Так как содержание ЖК в клетках микробов данного вида одинаково и специфично, то их концентрация в клиническом материале пропорциональна численности этого вида микроорганизмов**

**Вестник РАМН. -1996. Т.13, №2, с.52-59.
Журн. Микроб. Эпидем. Иммунол. 2004, № 3: 62-68**

Сопоставление концентрации маркеров микроорганизмов в кишечной стенке и крови

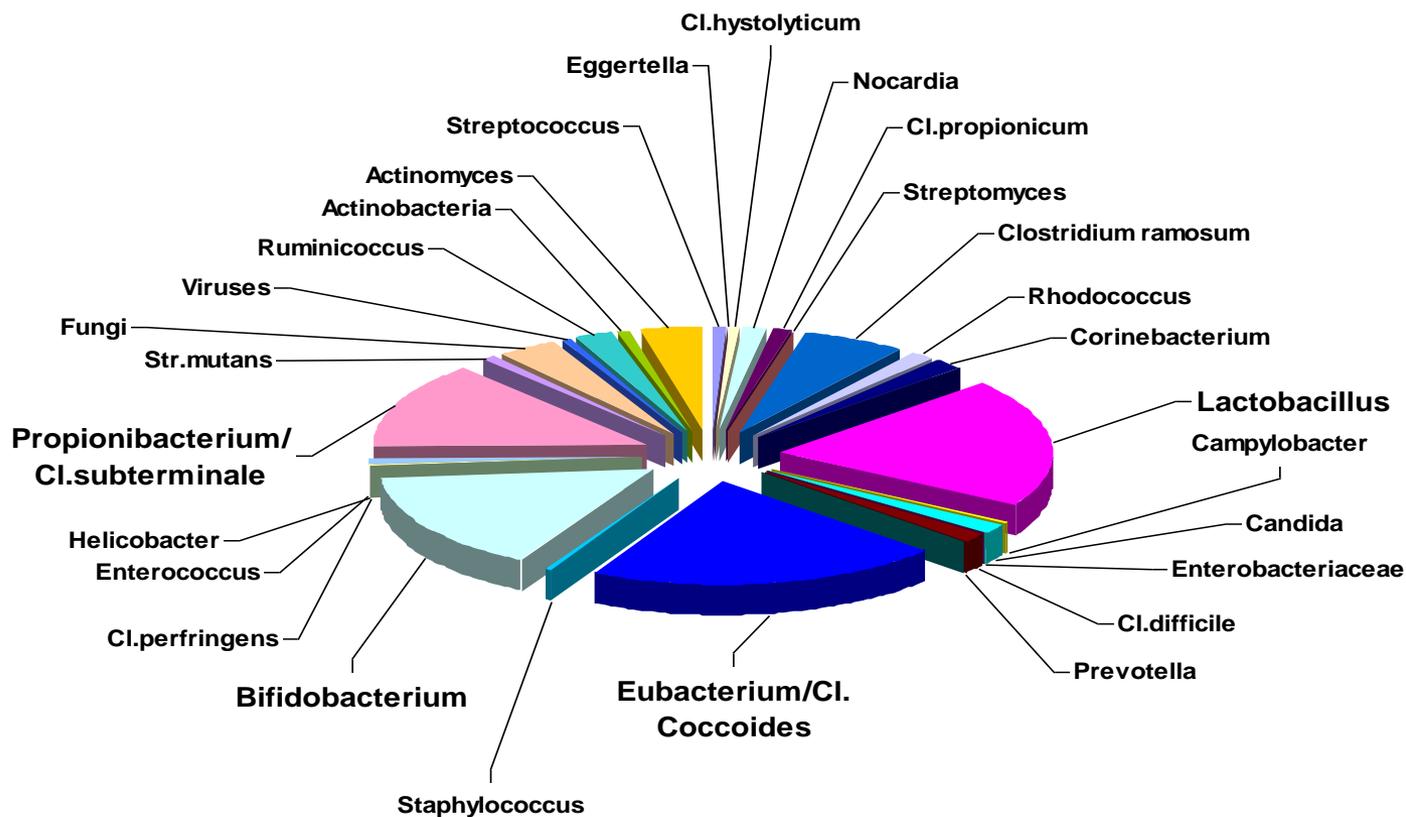


Микробные маркеры в крови – принцип Винни-Пуха: дуб сам по себе жужжать не может, если дуб жужжит, значит там есть пчелы, а если есть пчелы – значит есть мед!
Если в крови обнаруживаются микробные жирные кислоты или альдегиды – значит в организме есть микробы



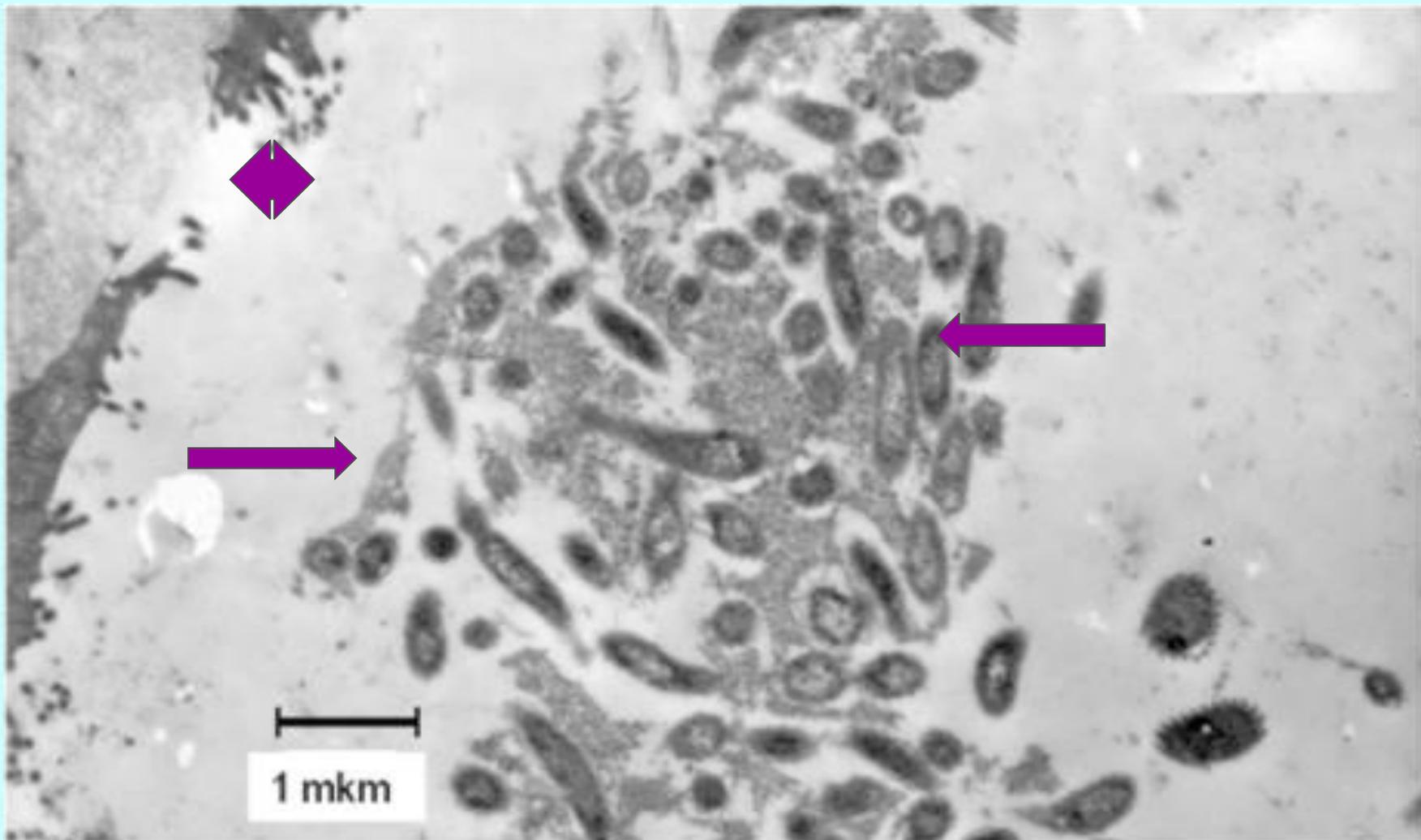
- ❖ Обнаружение специфичных для микробов молекул в крови не означает присутствие в ней самих микробов
- ❖ При бактериемии – да, присутствуют
- ❖ В норме микробные маркеры поступают в кровь при естественном отмирании микробов на кишечной стенке (в основном) и их мест обитания в других органах

Микробиота кишечника

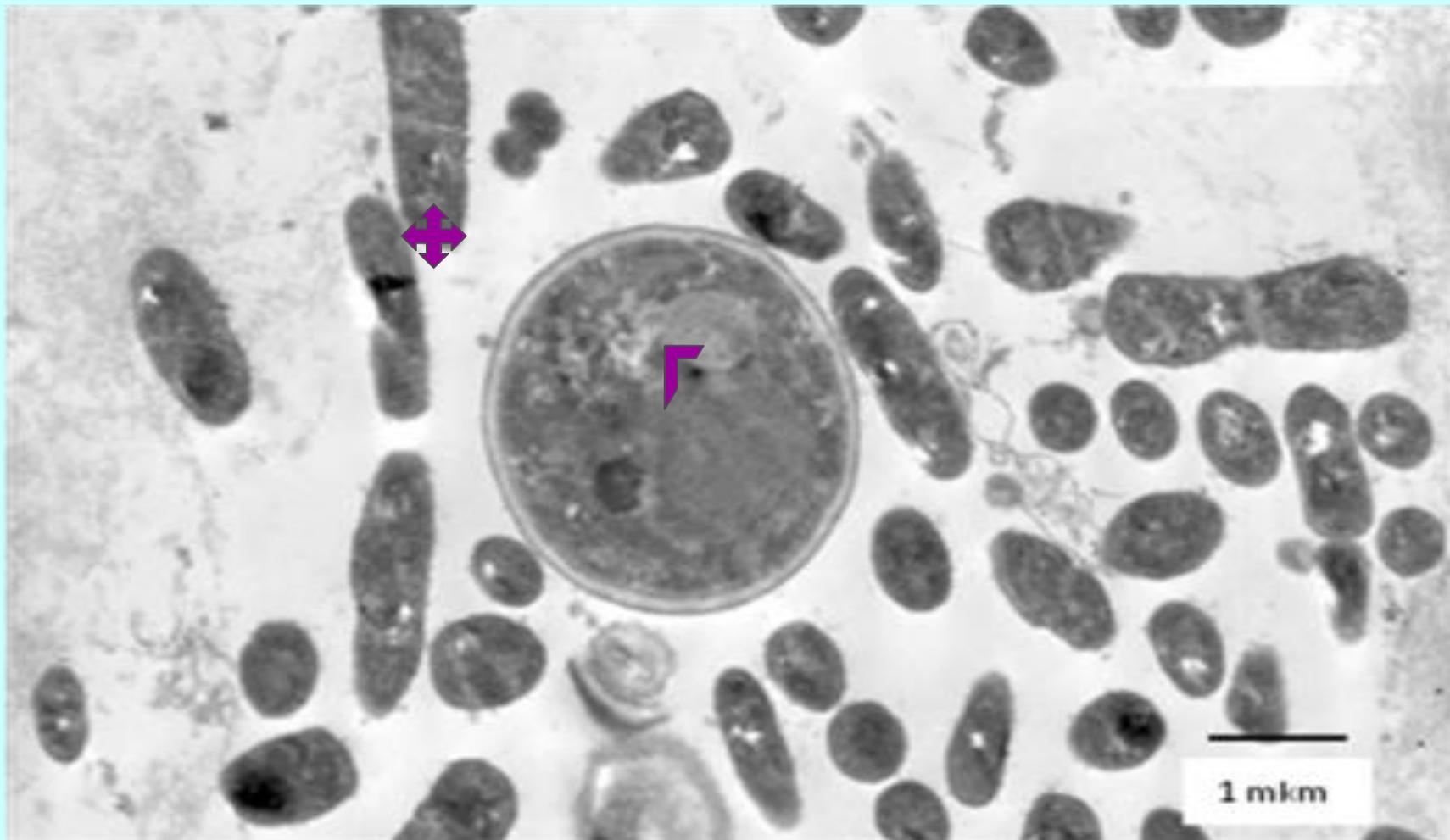


Микробное сообщество (→) на поверхности слизистой оболочки(◆) проксимальной части тонкой кишки крысы. Ультратонкий срез (ТЕМ).

Рыбальченко О.В. С-ПбГУ

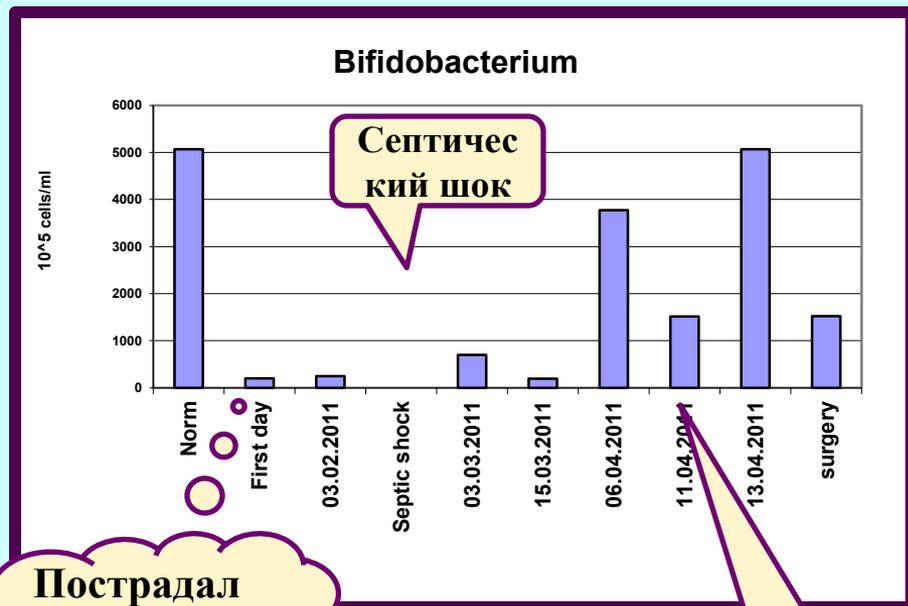


Микробная биопленка в проксимальной части тонкой кишки крысы: бактерии (↕) и микроскопические грибы (Г). Ультратонкий срез (TEM).



Численность микробов в тощей кишке резко уменьшается при стрессе

- ❖ В результате стресса меняется микроэкология
- ❖ Драматически снижается колонизация тощей кишки
- ❖ Следует развитие инфекции поврежденных органов (госпитальная инфекция)



следовательно



Травматический

- одним из первых этапов в реабилитации людей, переживающих стресс (химический, радиационный, травматический, экологический, эмоциональный) должен быть контроль и восстановление микробиоценоза, если он оказался нарушенным



Emotional



В онкологии

- Химический и радиационный стресс испытывают больные онкологическими заболеваниями при радиационной и химиотерапии в стационаре

Экспрессность технологии МСММ позволяет оказывать больному помощь в реальном времени С лабораторного стола к постели больного

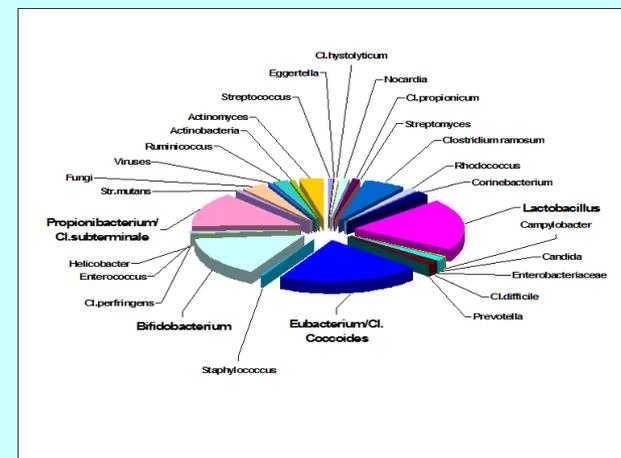


2 часа



Требуется всего два часа для
получения информации об инфекции и
дисбиозе

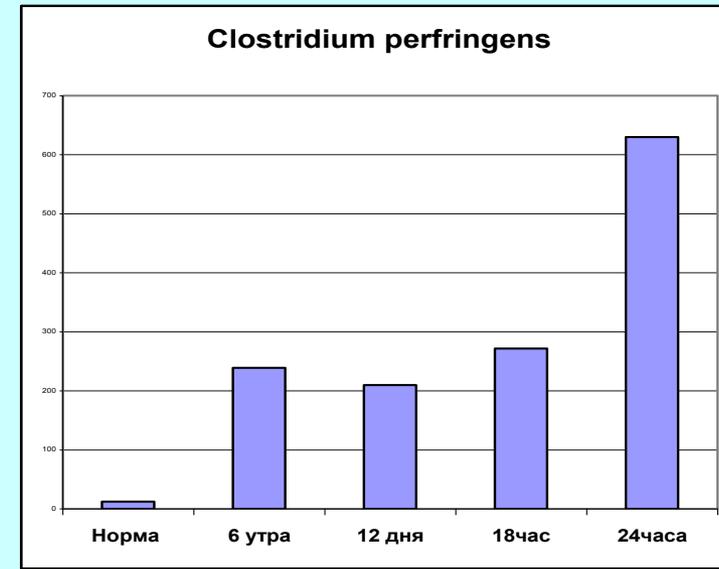
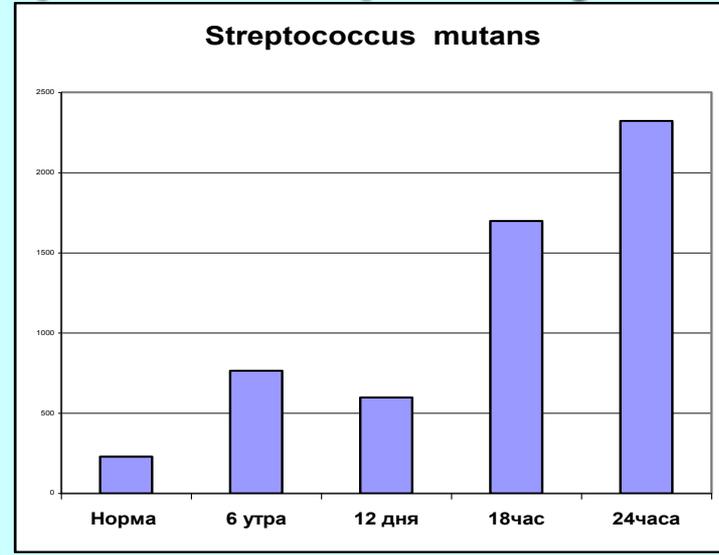
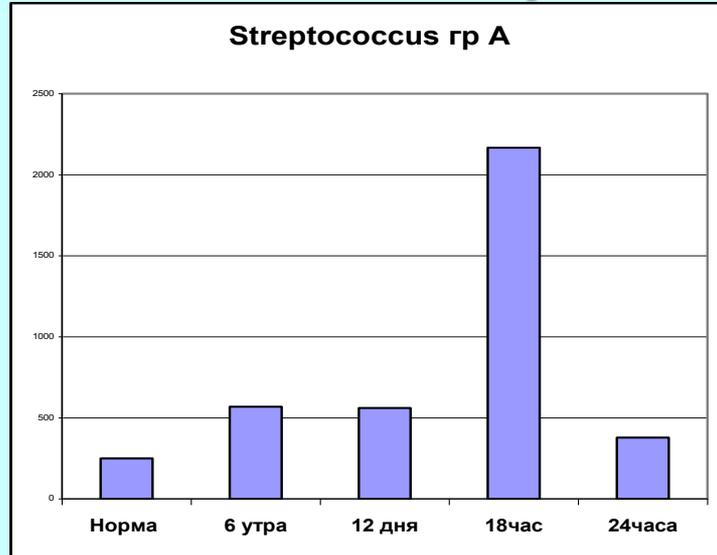
Контроль 170 микробов и 130
метаболитов позволяет фиксировать
изменения микроэкологии и
метаболизма пациента



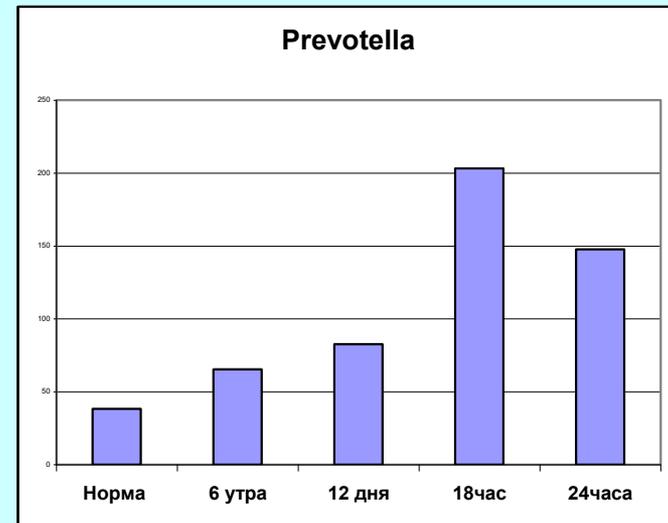
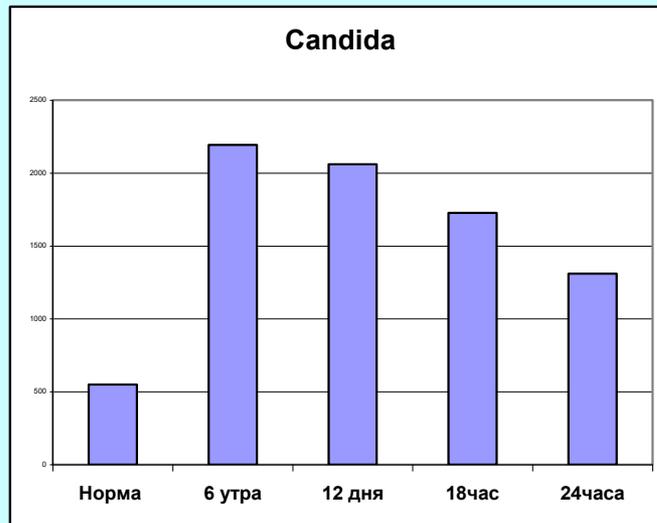
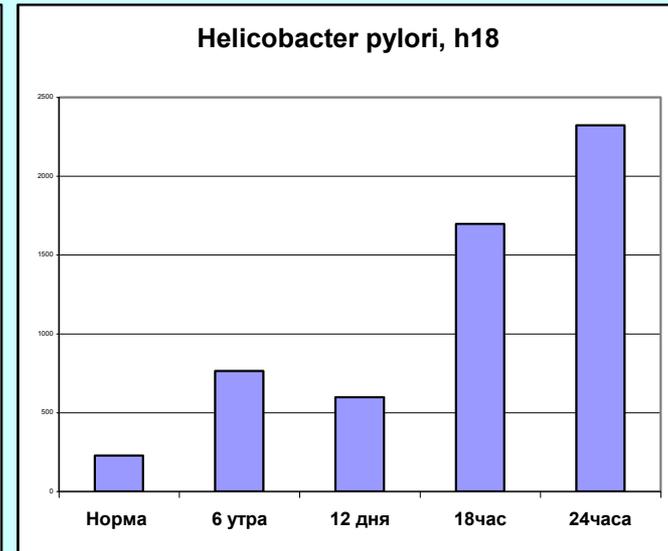
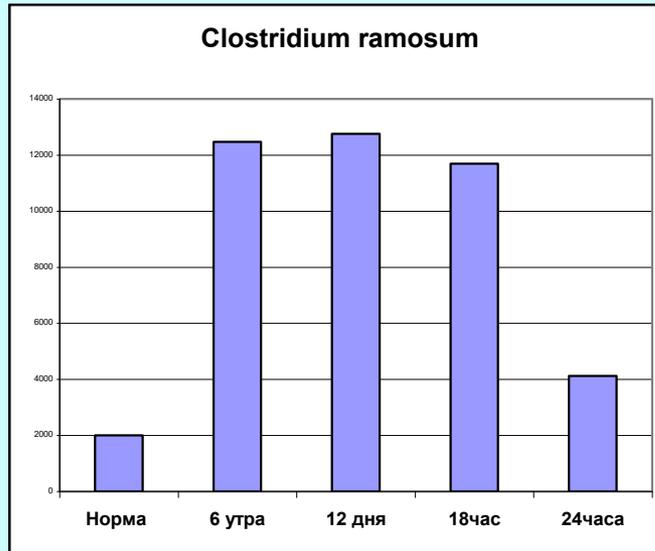
Инфекция и ее триггер

- Стабильно в течение дня очень высокий уровень *Clostridium ramosum* - это основной патоген и токсиген. К ночи падает втрое. Перед приступом (18 час) происходит резкое увеличение концентрации маркеров цитомегаловируса, стрептококков гр А.
- В приступе (в полночь) лидируют *C. perfringens* и анаэробные стрептококки *Streptococcus mutans*
- Следовательно, ЦМВ и стрептококки гр А являются триггерами приступа, а *C. ramosum*, *C. perfringens*, *H. pylori*, *Prevotella*, *Candida* поддерживают постоянный инфекционный статус организма, то есть представляют терапевтическую инфекцию.

ЦМВ и стрептококки гр А являются триггерами приступа



C. ramosum, C. perfringens, H. pylori, Prevotella, Candida представляют терапевтическую инфекцию



Медицинские центры, работающие по методу МСММ

1. МНИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Москва
2. Институт медико-биологических проблем РАН, Москва
3. Лечебно-реабилитационный центр Росздрава, Москва
4. Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург
5. Лаборатория микробной хроматографии, Санкт-Петербург
6. Лаборатория коллективного пользования СФУ, Красноярск
7. ЦНИЛ Красноярского государственного медицинского института, Красноярск
8. Байкальский институт природопользования СО РАН, Улан-Удэ
9. Международный аналитический центр ИОХ РАН, Москва
10. Городская клиническая больница № 2, Владивосток
11. НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва
12. Нижневартровский ПНД, Нижневартовск
13. НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, Москва
14. Челябинский государственный университет, Челябинск
15. Институт аналитической токсикологии, Москва

Вывод:

метод МСММ, позволяет значительно сократить время подбора рациональной антибактериальной терапии и противостоять гнойно-септическим осложнениям, улучшить исход заболевания и сократить сроки госпитализации. Метод МСММ дополняет бактериологическое исследование и может быть использован как скрининговый

Информация о методе

▶ На веб-сайте Русского медицинского сервера
rusmedserv.com/microbdiag

▶ На веб сайте отечественного производителя
МБА Маэстро - ООО «Интерлаб»

о приборе: **<http://www.interlab.ru/katalog-oborudovaniya/mass-spektrometriya/gazovyj-hromato-mass-spektrometr-maestro-2ms/mikrobiologicheskij-analizator/>**

статьи: **<http://www.interlab.ru/oblasti-primeneniya/meditsina-i-biologiya/meditsina/>**

▶ На веб сайте Института аналитической
ТОКСИКОЛОГИИ
<http://www.iat.com.ru/blank-x0ir6>

▶ По электронной почте **osirovga@mail.ru**

