STŘEVNÍ MIKROBIOM PSA pod drobnohledem

Mgr. Helena Juřicová, Ph.D. | VÚVeL, Brno

STŘEVNÍ MIKROBIOTA

Soubor mikroorganismů osídlujících střevo.

STŘEVNÍ MIKROBIOM

Jejich genetický materiál a funkční výbava.

KULTIVAČNÍ METODY

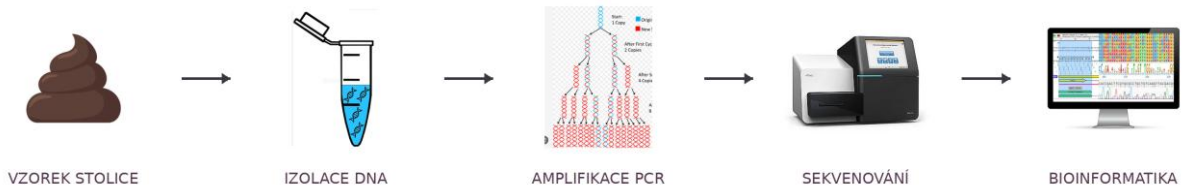
Jsou vhodné pro záchyt patogenních mikroorganismů. Umožňují izolaci a charakterizaci životaschopných bakterií. Pro analýzu střevní mikrobioty nejsou ideální, zachytí jen část bakteriálních taxonů.

SEKVENAČNÍ METODY (analýza 16S rRNA)

Analyzují DNA v komplexním bakteriálním společenstvu, i obtížně kultivovatelných bakterií, jsou vysoce citlivé, získáme velký soubor dat. Nerozlišují však živé a neživé buňky.

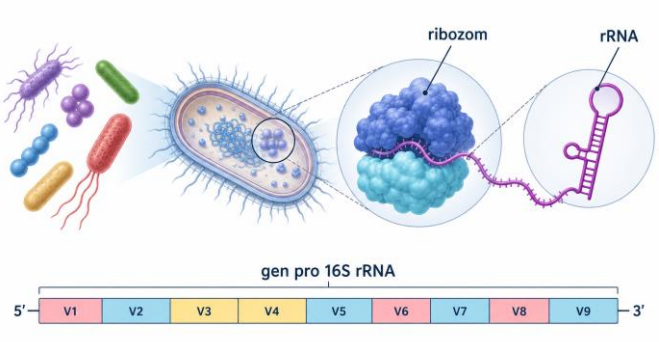
Jak se zpracovává vzorek stolice na sekvenační analýzu?

Vzorek stolice → izolace DNA → PCR oblasti V3/V4 genu pro 16S rRNA → sekvenování → bioinformatika → taxonomický profil.

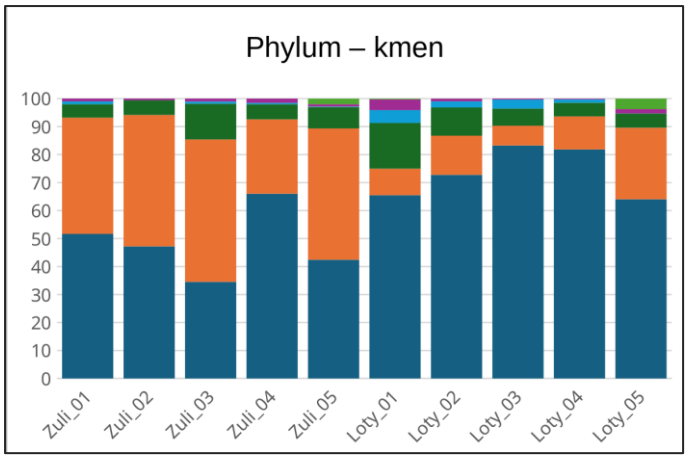


Proč gen pro 16S rRNA?

- Bakteriální ribozomy zajišťují v buňce syntézu bílkovin. Jsou to makromolekulární komplexy složené z proteinů a ribozomální RNA (rRNA).
- Gen pro 16S rRNA (~1 500 bp) obsahuje oblasti, které jsou mezi všemi prokaryotickými mikroorganismy velmi konzervované, ale také oblasti, které jsou variabilní a charakteristické pro každý bakteriální druh.
- Sekvenujeme variabilní oblast V3/V4 a získané sekvence taxonomicky klasifikujeme.



Jak vypadá výsledek sekvenování?



1 sloupec = 1 vzorek psa

1 barva = 1 bakteriální taxon (např. kmen)

Výška segmentu = relativní abundance (%)

ASV (amplicon sequence variant) = konkrétní varianta sekvence analyzovaného amplikonu.

ASV klasifikujeme: druh → rod → čeleď → řád → třída → kmen

Jedna ASV nemusí odpovídat právě jednomu bakteriálnímu druhu.

Důležité: Relativní zastoupení čtení (%) neznamená absolutní počet bakteriálních buněk.

Hlavní hráči psího mikrobiomu

BACILLOTA (Firmicutes)

Grampozitivní bakterie. Jejich funkcí je fermentace (oligo)sacharidů, tvorba SCFA (acetát, propionát, butyrát) a dalších metabolitů. *Peptacetobacter hiranonis* přeměňuje primární žlučové kyseliny na sekundární. Další zástupci – *Lactobacillus*, *Faecalibacterium*, *Blautia*, *Turicibacter*.

BACTEROIDOTA (Bacteroidetes)

Gramnegativní, striktně anaerobní bakterie. Jejich funkcí je fermentace komplexních polysacharidů a vlákniny, rozklad glykanů střevního mucinu, produkce SCFA a dalších metabolitů (sukcinát). Zástupci - *Bacteroides*, *Prevotella*, *Phocaeicola*.

FUSOBACTERIA

Gramnegativní anaerobní bakterie, jsou klíčové v metabolismu masožravců. Jejich funkcí je metabolismus proteinů, peptidů a aminokyselin, tvorba SCFA a BCFA (isobutyrát, isovalerát). Zástupci - *Fusobacterium* (patří do zdravé psí mikrobioty).

PSEUDOMONADOTA / CAMPYLOBACTEROTA

Gramnegativní bakterie. Zástupci kmene Pseudomonadota - *Escherichia*, *Salmonella*; fakultativně anaerobní bakterie. Zástupci kmene Campylobacterota - *Campylobacter*, *Helicobacter*. Někteří zástupci mohou být patogenní; zvýšení vybraných taxonů může doprovázet dysbiózu.

ACTINOMYCETOTA (Actinobacteria)

Grampozitivních bakterie. Ve střevní mikrobiota méně zastoupená skupina. Jejich funkcí je fermentace (oligo)sacharidů. Zástupci - *Bifidobacterium*, *Collinsella*.

CO JE DŮLEŽITÉ PRO STŘEVO?

SCFA: acetát, propionát, butyrát – ovlivňují střevní prostředí. Butyrát je zdrojem energie pro kolonocyty. Sekundární žlučové kyseliny zasahují do metabolických a signalizačních procesů.

Sekvenační profil jako mikrobiální otisk jedince

Každý pes je jiný a stejně tak je jiná jeho střevní mikrobiota.

Mikrobiální profil je individuální, ale může se v čase měnit.

Neexistuje univerzální „zdravý“ mikrobiom.

Sekvenování je začátek biologické interpretace, nikoli její konec.