

## ЗНАЧЕНИЕ МЕТАГЕНОМНОГО ПЕЙЗАЖА БОЛЕЗНЕЙ У ЖИВОТНЫХ ИНФЕКЦИОННОЙ ЭТИОЛОГИИ

О. Г. ПЕТРОВА, доктор ветеринарных наук, профессор,  
М. И. БАРАШКИН, доктор ветеринарных наук, профессор,  
В. М. УСЕВИЧ, кандидат ветеринарных наук, доцент  
И. М. МИЛЬШТЕЙН, кандидат ветеринарных наук, доцент,  
Уральский государственный аграрный университет  
(620075, г. Екатеринбург, ул. К. Либкнехта, д. 42)

**Ключевые слова:** метагеномный пейзаж, животные, болезни легких, микроорганизмы, бактерии, вирусы, метагеномный анализ, инфекционная диагностика, геномика, генетический материал.

Бронхолегочная система и прежде всего верхние дыхательные пути содержат сообщество микроорганизмов с высоким разнообразием. Значительная их доля является по отношению к животным комменсалистами, однако широкий спектр бактерий и вирусов, находящихся постоянно или попадающих в респираторный тракт из окружающей среды, являются патогенными и условно-патогенными. Известно, что верхние дыхательные пути являются основным местом инвазии инфекции в организм крупного рогатого скота, и, согласно ветеринарной статистике, наиболее часто регистрируемыми инфекционными заболеваниями являются именно вирусные и бактериальные инфекции респираторного тракта. Основными бактериальными агентами, находящимися в бронхолегочном тракте, являются такие бактерии, как стрептококки, стафилококки, пастерелла, сальмонелла. При этом колонизация слизистых верхних дыхательных путей этими условно-патогенными и патогенными бактериями, как правило, увеличивает риск возникновения пневмоний. Механизмы такого взаимодействия микроорганизмов в настоящее время неизвестны. Среди патогенных вирусов наиболее известным являются вирусы инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи – болезни слизистых, вызывая регулярные эпизоотии. Один из важнейших объектов изучения метагеномики – симбиотический микробиом животного. Он представляет собой не просто совокупность микроорганизмов, обитающих в теле животного и на его поверхности, а сложную и многокомпонентную систему с внутренней структурой, динамикой, активно взаимодействующую по ряду аспектов с организмом хозяина. Патогенез множества заболеваний и одновременно способы их лечения прямо или косвенно связаны с ферментативной и биохимической активностью микрофлоры и ее влиянием на организм животного. Все это и объясняет возрастающий интерес к метагеномным исследованиям. Поэтому изучение метагеномов респираторного тракта является одной из важнейших задач современной ветеринарной медицины.

## THE VALUE OF METAGENOMIC LANDSCAPE OF DISEASES IN ANIMALS INFECTIOUS ETIOLOGY

O. G. PETROVA, doctor of veterinary sciences, professor,  
M. I. BARASHKIN, doctor of veterinary sciences, professor,  
V. M. USEVYCH, candidate of veterinary sciences, associate professor,  
I. M. MILLSTEIN, candidate of veterinary sciences, associate professor,  
Ural State Agrarian University  
(42 K. Liebknehta Str., 620075, Ekaterinburg)

**Keywords:** metagenomic landscape, animals, lung diseases, microorganisms, bacteria, viruses, metagenomic analysis, infectious diagnostics, genomics, genetic material.

The bronchopulmonary system and, above all, the upper respiratory tract contain a microbial community with high diversity. A significant proportion of them are in relation to animal commentators, but a wide range of bacteria and viruses that are constantly or fall into the respiratory tract from the environment, are pathogenic and opportunistic. It is known that the upper respiratory tract is the main place of infection in the body of cattle, and, according to veterinary statistics, the most frequently reported infectious diseases are viral and bacterial infections of the respiratory tract. The main bacterial agents located in the bronchopulmonary tract are bacteria such as streptococci, staphylococci, Pasteurella, Salmonella. At the same time, colonization of the mucous membranes of the upper respiratory tract by these opportunistic and pathogenic bacteria, as a rule, increases the risk of pneumonia. The mechanisms of such interaction of microorganisms are currently unknown. Among pathogenic viruses, the most well-known are viruses of infectious rhinotracheitis and viral diarrhea-diseases of the mucous membranes, causing regular epizootics. One of the most important objects of study of metagenomics is a symbiotic microbiome of an animal. It is not just a collection of microorganisms that live in the body of the animal and on its surface, but a complex and multicomponent system with an internal structure, dynamics, actively interacting in a number of aspects with the host organism. The pathogenesis of many diseases and at the same time methods of their treatment are directly or indirectly related to the enzymatic and biochemical activity of the microflora and its effect on the animal's body. All this explains the growing interest in metagenomic studies. Therefore, the study of metagenomes of the respiratory tract is one of the most important tasks of modern veterinary medicine.

Положительная рецензия представлена А. П. Порываевой, доктором биологических наук, ведущим научным сотрудником отдела мониторинга и прогнозирования инфекционных болезней Уральского федерального аграрного научно-исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук.

Метагеномика – один из самых развивающихся разделов геномики, посвященный изучению генетического материала (метагенома) сообществ микроорганизмов в совокупности [1]. Термин «метагеномика» (англ. metagenomics) впервые был употреблен Джо Хандельсманом, Джоном Кларди, Робертом Гудманом, Шоном Брэди и другими в публикации 1998 года [9] и означает все, что связано с метагеномом – совокупным генофондом любого сообщества, населяющего конкретную среду и имеющего более или менее выраженную биоценотическую определенность. Термин «метагеном» возник из идеи, что набор генов, собранных из окружающей среды, можно анализировать подобно тому, как анализируют цельные геномы. Кевин Чен и Лайор Пэтчер (исследователи из Университета Калифорнии, Беркли) определили метагеномику как «применение современных методов геномики без необходимости изолирования и лабораторного культивирования отдельных видов». В 2007–2008 годах был запущен глобальный проект, получившего название «Микробиом человека». В 2011 году были представлены некоторые результаты. С 2010 года масштабное исследование метагенома человека наметилось и в России. Консорциум ведущих российских институтов в области гастроэнтерологии и молекулярной биологии в качестве инициативного проекта начал проводить первые эксперименты по широкомасштабному секвенированию образцов ДНК из кишечника человека [4].

#### Цель и методика исследований

Цель исследований – провести анализ литературного обзора по актуальности метагенома животных.

Методика исследований – обзор иностранной литературы.

#### Результаты исследований

Метагеномика организма животного – сравнение бактериальных и вирусных сообществ организмов животных разного возраста, происхождения и состояния здоровья – позволит установить, каким образом микроорганизмы предотвращают или повышают риск развития определенных заболеваний, а также возможные методы управления этими механизмами.

Объектами изучения метагеномики могут являться любые популяции микроорганизмов, обитающих в воде, почве, организме животного, человека или любой другой среде. Данное направление стало логическим продолжением геномики индивидуальных микроорганизмов, связанным с исследованием каждого генома в отдельности. Главной целью метагеномики являются получение и анализ всех геномов для установления видового состава и метаболических взаимосвязей в сообществе [2]. Крупнейшими объединениями по изучению человеческого микробиома являются европейский консорциум MetaHit и американский HMP. MetaHit основан в 2008 году

и финансируется из средств Еврокомиссии. Методы метагеномики применяются для проведения анализа генома микробных популяций. На сегодняшний день можно выделить две области:

1. Метагеномика окружающей среды, изучающая метагеномы биогеоценозов – озер, морей, болот, почвы и прочее. Здесь основной интерес ученых лежит в исследовании синергии действия множества микроорганизмов для получения конкретных результатов, очистка воды или утилизация отходов.

2. Метагеномика организма – сравнение бактериальных сообществ организмов животных разного возраста, происхождения и состояния здоровья позволит установить, каким образом микроорганизмы предотвращают или повышают риск развития определенных заболеваний, а также возможные методы управления этими механизмами.

Новое направление ориентировано прежде всего на компоненты сообществ микробиологической принадлежности, наиболее представительные и значимые с генетико-экологических и прикладных позиций. Исследования метагеномов человека и животных (жвачных, свиней, птиц, мышей) к настоящему времени уже позволили получить ряд перспективных данных и наметить пути прикладного использования метагеномного анализа в интересах инфекционной диагностики [5, 7, 10]. Оказалось, что большинство бактерий и вирусов, обитающих в организме млекопитающих, в частности в респираторном тракте, являются «некультивируемыми» (т. е. неизвестными) и определяются только по нуклеотидным последовательностям ДНК в пробах слизистых [3, 7, 11]. Первичной информацией для метагеномных исследований являются нуклеотидные последовательности, получаемые при секвенировании нуклеиновых кислот. С помощью праймеров к константным районам гена рРНК проводят ПЦР и получают набор ДНК-фрагментов. Микробиом животных является одним из основных и наиболее важных объектов изучения метагеномики. Для детального изучения микробиоты животных требуется проведение метагеномных исследований множества выборок образцов, полученных от животных в разное время. В организме животных есть несколько основных зон максимальной концентрации микроорганизмов. Это респираторный и пищеварительный тракты, органы мочеполовой системы, а также кожа. Наиболее изученными в настоящее время являются метагеномы желудочно-кишечного тракта и верхних дыхательных путей, поскольку именно они вовлечены в наибольшее число процессов, влияющих на состояние организма.

Респираторный тракт (прежде всего верхние дыхательные пути) содержат сообщество микроорганизмов с высоким разнообразием. Значительная их доля является по отношению к животному коммен-

салистами, однако широкий спектр бактерий и вирусов, находящихся постоянно или попадающих в респираторный тракт из окружающей среды, является патогенными и условно-патогенными. Известно, что верхние дыхательные пути – основное место инвазии инфекции в организме животных, и, согласно ветеринарной статистике, наиболее часто регистрируемыми инфекционными заболеваниями являются именно вирусные и бактериальные инфекции респираторного тракта.

Однако изучение влияния отдельных бактерий на развитие заболеваний – это лишь первый шаг к пониманию роли микробиоты в патогенезе. Бактерии и вирусы существуют не изолированно друг от друга, они взаимодействуют между собой, обмениваются генетической информацией. Для понимания этих процессов требуются дальнейшие детальные исследования, поэтому можно ожидать значительное увеличение количества метагеномных исследований микрофлоры респираторного тракта уже в ближайшем будущем. Один из важнейших объектов изучения метагеномики – симбиотический микробиом животного. Он представляет собой не просто совокупность микроорганизмов, обитающих в теле животного и на его поверхности, а сложную и многокомпонентную систему с внутренней структурой, динамикой, активно взаимодействующую по ряду аспектов с организмом хозяина. Патогенез множества заболеваний и одновременно способы их лечения прямо или косвенно связаны с ферментативной и биохимической активностью микрофлоры и ее влиянием на организм животного. Все это и объясняет возрастающий интерес к метагеномным исследованиям.

Метагеномика, известная также как экологическая геномика, предполагает анализ «суммарной» ДНК исследуемого сообщества [6, 8]. Преимуществом метагеномики является ее универсальная применимость для анализа любого сообщества, из которого можно выделить необходимое количество ДНК. Функциональная метагеномика базируется на скрининге клональных экспрессионных библиотек с целью поиска генов с определенными функциями. Структурная метагеномика включает биоинформационный анализ данных, полученных при секвенировании метагеномной ДНК [9–11]. Первый подход хотя и позволяет открывать новые гены, даже не имеющие сходства с уже известными, фокусируется на поиске отдельных функций, а не на описании целого сообщества.

Для интеграции метаданных и данных о геномных последовательностях в медицинской практике разработаны специальные сервисы. В 2007 году был создан доступный сервис для анализа данных метагеномных экспериментов Metagenomics Rapid Annotation с использованием Subsystem Technology server (MG-RAST). К 2012 году в эту базу данных было загружено около 50 000 метагеномов. Сравнительный анализ метагеномов позволяет разобраться в особенностях функционирования микробиологических сообществ и для симбиотических микроорганизмов установить их роль в поддержании здоровья хозяина.

Основная цель метагеномики заключается в определении групп микроорганизмов, которые определяют характеристики конкретного участка окружающей среды. Эти характеристики являются результатом взаимодействий групп микроорганизмов. С этой целью была разработана программа Community-Analyzer. Она позволяет сравнить таксономический состав сообществ и выявить возможные взаимодействия между обнаруженными группами микроорганизмов.

Метагеномное секвенирование применяется при изучении вирусных сообществ. Поскольку вирусы не имеют общего универсального филогенетического маркера, единственный способ доступа к изучению генетического разнообразия вирусного сообщества в экологической пробе возможен с помощью метагеномики. Вирусные метагеномы (также называемые виромами) должны, таким образом, обеспечить все больше и больше информации о вирусном разнообразии и эволюции. Метагеномика имеет потенциал для изучения в самых разных областях применения. Метагеномику можно применять для решения практических проблем в таких областях, как медицина, инженерия, сельское хозяйство и экология.

#### Выводы. Рекомендации

Микробные сообщества играют ключевую роль в поддержании здоровья животных, но их состав и механизмы функционирования до сих пор остаются неразрешенными. Метагеномное секвенирование используется для описания микробных и вирусных сообществ у животных. Его главные цели – определить базовый набор микробов и вирусов животного; понять, как изменение микрофлоры животного коррелирует с изменением здоровья; разработать технологическую и биоинформатическую базу для достижения этих целей.

#### Литература

1. Бестен Г. Роль короткоцепочечных жирных кислот во взаимодействии диеты, микробиоты кишечника и энергетического метаболизма хозяина // Журнал липидных исследований. 2013. Т. 54. № 9. С. 2325–2340.
2. Занг Ж. [и др.] Разнообразие кишечной микробиоты монголов, проживающих во Внутренней Монголии, Китае // Микробиология. 2013. Т. 4. С. 319–328.

3. Кандела М. Функциональное метагеномное профилирование кишечного микробиома // Микробиология. 2013. Т. 5. № 12. С. 902–912.
4. Лепег Д. Метагеномное понимание микробиома кишечника // Микробиология. 2013. Т. 62. № 1. С. 146–158.
5. Лот МОН РФ по метагеномике [Электронный ресурс]. URL : [mon.gov.ru/work/zakup/lot/6891](http://mon.gov.ru/work/zakup/lot/6891).
6. Прихода Т. Л. Метагеном человека: функциональный анализ // Микробиология. 2013. Т. 13. С. 116.
7. Проект Метагеном [Электронный ресурс]. URL: [metagenome.ru](http://metagenome.ru).
8. Санли К. [и др.] Функциональный и таксономический анализ метагеномов // Биоинформатика. 2013. Т. 14. П. 38.
9. Феррейра М. [и др.] Микробиота и радиационно-индуцированная токсичность кишечника: уроки воспалительной болезни кишечника для лучевого онколога // Онкология. 2014. Т. 15. № 3. С. 139–147.
10. Шателье Е. Богатство микробиома кишечника человека и метаболические маркеры / Е. Шателье // Природа. 2013. Т. 500. С. 7464.
11. Шнорра С. Л. Микробиом кишечника // Микробиология. 2014. Т. 5. С. 3654.

#### References

1. Besten G. The role of short-chain fatty acids in the interaction of diet, intestinal microbiota and energy metabolism of the host // *Journal of lipid studies*. 2013. Vol. 54. No. 9. Pp. 2325–2340.
2. Zang, J., et al. Variety of intestinal microbiota of Mongols living in Inner Mongolia, China // *Microbiology*. 2013. Vol. 4. Pp. 319–328.
3. Kandela M. Functional metagenomic profiling of intestinal microbiome // *Microbiology*. 2013. Vol. 5. No. 12. Pp. 902–912.
4. Metagenomic understanding of intestinal microbiome // *Microbiology*. 2013. Vol. 62. No. 1. Pp. 146–158.
5. Lot of mon of the Russian Federation on metagenomic [Electronic recourse]. URL : [mon.gov.ru/work/zakup/lot/6891](http://mon.gov.ru/work/zakup/lot/6891).
6. Ward T. L. Metagenome human: functional analysis // *Microbiology*. 2013. Vol. 13. P. 116.
7. The project Metagenome [Electronic resource]. URL: [metagenome.ru](http://metagenome.ru).
8. Sanli K., et al. Functional and taxonomic analysis of metagenomes // *Bioinformatics*. 2013. Vol. 14. P. 38.
9. Ferreira M., et al. Microbiota and radiation-induced bowel toxicity: lessons from inflammatory bowel disease for the radiation oncologist // *Oncology*. 2014. Vol. 15. No. 3. Pp. 139–147.
10. Chatelier E. The richness of the microbiome of the human gut and metabolic markers // *Nature*. 2013. Vol. 500. P. 7464.
11. Snorre S. L. Intestinal microbiome // *Microbiology*. 2014. Vol. 5. P. 3654.