

Główną przyczyną zapaleń mózgu (ZM) oraz zapaleń opon mózgowo-rdzeniowych (ZOMR) są zakażenia ośrodkowego układu nerwowego (OUN) wywoływane przez wirusy, bakterie, pasożyty oraz grzyby. Ich konsekwencją mogą być trwałe uszkodzenia mózgu, a nawet śmierć pacjenta. Stąd tak ważne jest jak najszybsze wykrycie patogenu indukującego proces zapalny, co w wielu przypadkach warunkuje wdrożenie właściwego leczenia. Obecny schemat diagnostyczny w ZM i ZOMR charakteryzuje się szeregiem ograniczeń, głównie wynikającym z braku możliwości szybkiej identyfikacji dużej liczby patogenów odpowiedzialnych za neuroinfekcje. Aktualnie stosowany schemat diagnostyczny opiera się na mało swoistej względem patogenów diagnostyce obrazowej oraz testach molekularnych i serologicznych wykonywanych w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR) wykrywających jednak jedynie wybrane czynniki zakaźne.

Konsekwencją tych ograniczeń jest duży odsetek pacjentów z zakażeniem OUN bez potwierdzonej etiologii (do 85%). Rozwiązaniem tego problemu może być zastosowanie w diagnostyce ZM i ZOMR metagenomiki wspartej sekwencjonowaniem następnej generacji (NGS) do badania PMR pobranych od chorych. Metagenomika to metoda kompleksowej analizy kwasów nukleinowych (DNA i RNA) w danej próbce, co umożliwi jednoczesną i szybką identyfikację wszystkich patogenów, w tym mikroorganizmów do tej pory nieznanych lub rzadko występujących na danym terenie.

W ramach realizowanego projektu planujemy ocenić przydatność metagenomiki w diagnostyce zakażeń OUN. W tym celu analizie metagenomicznej poddamy płyn mózgowo-rdzeniowy pacjentów z zapaleniem mózgu (100 pacjentów) oraz zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych (100 pacjentów), a uzyskane wyniki porównamy do wyników testów serologicznych i molekularnych przeprowadzanych w ramach rutynowej diagnostyki. Ponadto projekt przewiduje użycie 150 różnych próbek PMR jako pozytywnych i negatywnych kontroli.

W realizowanym projekcie PMR zostanie poddany trawieniu mieszaniną nukleaz, po czym z materiału zostanie wyizolowany DNA oraz RNA, który poddany zostanie preamplifikacji w celu uzyskania wystarczającej ilości matrycy do przygotowania biblioteki do sekwencjonowania. Uzyskane po etapie sekwencjonowania odczyty zostaną poddane analizie bioinformatycznej uwzględniającej jakościową i ilościową ocenę sekwencji, eliminację artefaktów sekwencjonowania oraz mapowanie odczytów zarówno do genomu ludzkiego, jak też do sekwencji nukleotydowych bazy GenBank. Obecność w PMR wykrytych w analizie metagenomicznej potencjalnie chorobotwórczych patogenów zostanie zweryfikowana wykorzystując swoistą reakcję łańcuchowej polimerazy (PCR). Wyniki analizy metagenomicznej zostaną porównane do wyników testów serologicznych i molekularnych przeprowadzonych w ramach rutynowej diagnostyki.