МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ МИКРОБНЫХ КОНТАМИНАНТОВ БОЛЬНИЧНОЙ СРЕДЫ И ГЕН 16S РРНК

© Малышев Владимир Васильевич, Разумова Дина Владимировна, Шаяхметов Линар Кадырович

Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6, E-mail: vladmal_spb@list.ru

Ключевые слова: микробиом, метагеномный анализ, ИСМП, генотипирование, ротавирусы

Введение. Проблема инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) в детских медицинских учреждениях в последнее время стоит как никогда остро. Более того, постоянно приходится отслеживать нозокомиальную ротавирусную инфекцию в соматических отделениях больниц. Большинство микроорганизмов не поддаются культивированию в лабораторных условиях существующими методами, в том числе не обладают цитопатическим действием на ряд вирусов. Помимо этого, в исследуемом материале с объектов больничной среды может быть низкая численность микроорганизмов, а значит и низкая концентрация ДНК, возможно присутствие веществ, которые затрудняют экстракцию патогенов. Эти препятствия можно обойти путем применения методов быстрого и эффективного секвенирования и сборки последовательностей больших фрагментов ДНК. По определению, исходным материалом в метагеномных проектах является смесь фрагментов ДНК, экстрагированной из сообщества микроорганизмов разных надцарств — бактерий, архей, эукариот и вирусов, живущих в определенном местообитании.

Цель исследования состояла в разработке методических подходов к проведению метагеномных исследований материала из больничной среды многопрофильного стационара методом 16S рРНК.

Материалы и методы. При проведении метагеномных исследований применяли Комплекс КВНК для выделения нуклеиновых кислот. Материал для исследований отбирался с эпидемиологически значимых мест (выключатели в палатах, выключатели в туалетах, перила туалета, кнопки лифтов, перила межэтажных лестниц, кнопка смыва туалета, раковина для умывания, ручка дверей палат, сиденье унитаза, стол-поднос, стул, телефоны мобильные медицинских работников, вентилляционные решетки, подкладное судно, штатив капельницы). Метагеномные исследования выполнялись методом анализа разнообразия последовательностей фрагментов генов 16S рРНК. Материал от больных был подвержен полногеномному исследованию (полногеномному картированию). Полногеномный поиск ассоциаций—генетические исследования, устанавливающие связь между разными признаками и генетическими маркёрами является мощным и воспроизводимым методом идентификации эффектов распространенных аллелей.

Результаты. В многопрофильном медицинском учреждении ротавирусы отсутствовали на подкладных суднах и стойках капельниц. Более 50% проб были контаминированы ротавирусами (выключатели в палатах, выключатели в туалетах, перила туалета, кнопки лифтов, мобильные телефоны медицинских работников, перила межэтажных лестниц, решетки вентиляции). Частью этого спектра является ряд научных подходов, объектами изучения которых являются «пулы». общие совокупности однородных веществ в биологической системе. В качестве подобных пулов могут рассматриваться протеом (пул белков), транскриптом (пул РНК), липидом (пул липидов) и т.д. Исследующие их области науки (соответственно, протеомика, транскриптомика, липидомика) в общем виде носят ставшее уже практически официальным название «омики» («omics»). Широко распространен синтез данных различных «омик» в виде сопряженного анализа нескольких пулов веществ. Отдельное направление исследований представляют «омики», изучающие молекулярное пулы не отдельных клеток или организмов, а целых сообществ. Как правило, в их названии имеется приставка «мета». Так, например, метапротеомика и метатранскриптомика занимаются анализом соответственно белков и РНК, принадлежащих всем организмам (как правило — микроорганизмам), обитающим в изучаемой системе. Исключением не является даже метаболомика, изучающая пул низкомолекулярных продуктов биологического обмена ве-

ществ — метаболитов: хотя в ее названии уже содержится приставка «мета», для обозначения данного подхода в изучении сообществ иногда используют термин «метаметаболомика» (Gotelliemail, Ellison, Ballif, 2012).

Заключение. Проведенные молекуляно-генетические исследования материала больничной среды с использованием гена 16S рРНК в метагеномике ИСМП, который используется в качестве филогенетического маркера для классификации прокариот показало риски распространения ротавирусов в лечебных учреждениях. Высокая популярность гена 16S рРНК связана с его универсальностью (присутствует в геноме всех прокариот), подходящим уровнем консервативности (подходит для всего диапазона таксономических уровней классификации прокариот) и наличием колоссального количества данных по его разнообразию. На данный момент ген 16S рРНК является лидирующим по количеству исследований с его помощью в области метагеномики. Наибольшие масштабы изучение 16S рРНК имеет при оценке микробных сообществ человеческого организма, связанных с медициной и фармакологией (97% сходство гена 16S рРНК — как стандарт).