

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 мобильных медицинских работников, вентиляционные решетки, подкладное судно, штатив капельницы). Метагеномные исследования вы-

полнялись 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 маркерами 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 «метаметабономика» (Gotelliemail, Ellison, Ballif, 2012).

Заключение. Проведенные молекулярно-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 свя-

зана 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).