

А.Е. Гончаров, Л.П. Зуева

ВНУТРИКЛОНАЛЬНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ГОСПИТАЛЬНЫХ ШТАММОВ АКТУАЛЬНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИЙ, СВЯЗАННЫХ С ОКАЗАНИЕМ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ*ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. Н.П. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург»*

В обзоре обсуждается возможное эволюционное и эпидемиологическое значение внутрикласовой изменчивости условно-патогенных микроорганизмов - возбудителей госпитальных инфекций. Рассмотрены вероятные механизмы, приводящие к изменению генетической структуры госпитальных штаммов в ходе эпидемического процесса.

Ключевые слова: госпитальные штаммы, генетическая структура, мобильные генетические элементы

Генетическое типирование микроорганизмов прочно вошло в общемировую эпидемиологическую практику в качестве наиболее достоверного и воспроизводимого варианта внутривидового типирования, позволяющего выявить эпидемиологические связи, оценить значимость различных источников инфекции. Вместе с тем диагностические возможности молекулярно-генетических методов не исчерпываются использованием их для выявления источников инфекции и факторов передачи возбудителя во время эпидемических вспышек. К настоящему времени накоплены значительные данные об изменениях в структуре популяции возбудителя, наблюдающихся в ходе эпидемического процесса. Авторы теории саморегуляции паразитарных систем [1] постулируют закономерную цикличность изменений генотипического и фенотипического разнообразия популяции возбудителя, соответствующую периодам эпидемического распространения и периодам снижения заболеваемости. Представляется весьма целесообразным использовать изменения генетической гетерогенности популяции возбудителя для прогнозирования тенденций эпидемического процесса и своевременного вмешательства в его ход. Особый интерес в этой связи представляют популяции нозокомиальных патогенов, в которых, ввиду складывающихся в стационарах экологических условий (концентрация в одном месте иммунокомпромированных пациентов, интенсивное перекрестное инфицирование, широкое исполь-

зование антибиотиков), можно предположить наибольшую интенсивность процессов формирования новых генетических вариантов возбудителей.

В отношении возбудителей госпитальных инфекций наиболее важным в связи с обсуждаемой проблемой является вопрос о том, наблюдаются ли какие-либо изменения в генетической структуре популяции в ходе локальной вспышки, вызванной одним штаммом, занесенным в стационар.

В процессе исследования клинических изолятов метициллин-резистентных стафилококков (далее MRSA) было выявлено большое разнообразие пульс-электротипов и подтипов, циркулирующих в стационарах. Так, например, среди 183 изолятов единственного эпидемического штамма, определенного методом пульсэлектрофореза («штамм А») из 8 португальских больниц, было выявлено 28 подтипов [7]. Подобный феномен наблюдался и в одной из барселонских больниц, в которой штамм, обусловивший вспышку, «сгенерировал» восемь отличных друг от друга подтипов. При этом бактерии, сохраняли свой пульсэлектротип после астрономически большого числа делений *in vitro* при пассировании на неселективных средах. [3]. Молекулярная природа этой внутрикласовой изменчивости *in vivo* неизвестна. По-видимому, изменения паттернов пульс-электрофореза подразумевают приобретение или потерю продолжительных участков ДНК (например, при встраивании или потери транспозонов или умеренных бактериофагов). Установлено, что эти события происходят в эпидемически «спокойный» период эпидемического процесса, в частности в спокойные периоды хронических эпидемий, когда отмечена наибольшая генетическая гетерогенность бактериальной популяции. Данные ситуации контрастируют с появлением одиночных доминирующих клонов при острых вспышках. [8]. Таким образом, и в отношении стафилококковой инфекции мы наблюдаем чередование периодов

повышенной генетической гетерогенности с периодами клонального распространения.

При использовании для анализа эволюционных изменений генома метициллин-резистентного стафилококка комбинации двух методов генотипирования: пульс-электрофореза и метода RAPD - ПЦР [9] было установлено, что локальные вспышки стафилококковой инфекции обусловлены субклональными изменениями, когда внутри одного пульс-электротипа отмечается генерация вариантов, различающихся по профилю RAPD-типирования, при этом различия между штаммами, вызвавшими локальные вспышки в различных стационарах более существенны и могут быть зафиксированы обеими методами типирования.

Нами [2] при RAPD - генотипировании госпитальных штаммов *Acinetobacter baumannii* в ожоговом стационаре, было выявлена длительная циркуляция лишь трех клональных линий, причем две из них (линии А и В) доминировали в популяции. Однако, была выявлена также группа штаммов, имеющих уникальные профили RAPD-генотипирования и не отнесенных, в связи с этим, ни к одной из клональных линий. Госпитальное происхождение этих культур не вызывает сомнения, об этом, в частности, свидетельствует тот факт, что они имели такую же степень устойчивости к антибиотикам, применяемым в стационаре, как и штаммы, отнесенные к доминирующим клональным линиям (таб. 1).

Таблица 1

Характеристика штаммов ацинетобактер различных клональных линий

Профиль RAPD	Число изолятов	Среднее число антибиотиков, к которым устойчивы штаммы
А	13	11,1 [9-13]
В	10	12,4 [11-14]
С	5	11,0 [7-14]
Штаммы, не отнесенные по профилю RAPD к какой либо клональной линии	9	12,3 [11-14]

Таким образом, мы можем предположить, что изменения, наблюдаемые в ходе эпидемического процесса в бактериальной популяции, проявляются не только в изменении регуляции

экспрессии генов вирулентности (т.е. изменении фенотипа), но и в серьезных генетических перестройках, что может быть зафиксировано с использованием даже таких низкоразрешающих методов генотипирования, как RAPD. Такие геномные перестройки в бактериальных популяциях возникают вследствие горизонтального генетического обмена. Генетическими элементами, с приобретением которых могут быть связаны изменения в эпидемиологии возбудителя, являются плазмиды, умеренные бактериофаги, IS-элементы и транспозоны. В литературе описаны случаи, когда формирование вспышечного штамма происходило вследствие приобретения возбудителем дополнительной информации путем горизонтального генетического обмена, в том числе, происходящего между разными видами и родами микроорганизмов.

Несмотря на то, что биологическая роль плазмид, содержащих детерминанты устойчивости к антибактериальным препаратам хорошо известна, исследований, в которых была бы зафиксирована передача плазмид в ходе эпидемического процесса «в режиме реального времени» немного.

Nashwan Al Naiemi с сотрудниками [6] наблюдали в реанимационном отделении стационара 2 последовательные вспышки: хроническую, обусловленную *Enterobacter cloacae* и острую, вызванную *Acinetobacter baumannii*. В культурах обоих микроорганизмов была обнаружена одна и та же плаزمида SHV-12, детерминирующая синтез β-лактамазы расширенного спектра действия и определяющая устойчивость к цефалоспорином и аминогликозидам, т.е. можно предположить, что формированию госпитального штамма ацинетобактер способствовал горизонтальный генетический обмен с приобретением плазмиды.

Апа Мена с соавт. [5] предположили, что появление карбапенем-устойчивого штамма *Klebsiella pneumonia* в ходе вспышки в реанимационном отделении связано с выключением синтеза поринового белка OmpK36 в связи с встраиванием в геном возбудителя инсерционной вставки IS26.

Возможная эпидемиологическая роль транспозонов была продемонстрирована на примере вспышки инфекции, обусловленной ванкомицин-резистентными энтерококками, охватившей 2 гематологических отделения (детское и взрослое) в многопрофильной больнице города Гданьска (Польша). Возникновение вспышки связыва-

ют с приобретением непатогенными штаммами энтерококков транспозона Tn1546, содержащего гены устойчивости к ванкомицину. Транспозон обнаруживался во вспышечных штаммах нескольких пульс-электротипов в различных генетических вариантах [4].

Таким образом, по-видимому, генетическая гетерогенность популяций госпитальных патогенов поддерживается как за счет «внутренних» механизмов саморегуляции популяции, предполагающих интеграцию в геном мобильных генетических элементов, циркулирующих в стационаре, так и за счет заноса актуальных генетических элементов в стационар. Перспективы будущих исследований, как нам представляется, связаны с изучением популяционной динамики возбудителей, в частности, слежением за их генетической гетерогенностью, а также за циркуляцией мобильных генетических элементов в госпитальной среде.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беляков В.Д. Саморегуляция паразитарных систем: молекулярно-генетические механизмы / В.Д. Беляков, Д.Б. Голубев, Г.Д. Каминский, В.В. Тец. – Л.: Медицина. 1987. – 238 с.
2. Соломенный А.П.. Генетическое разнообразие *Acinetobacter baumannii* в отделении ожоговой реанимации / А.П. Соломенный, Р.Х. Яфаев, А.Е. Гончаров, Б.И. Асланов, К.М. Крылов, А.Ю. Максимов, В.А. Демаков // Журнал эпидемиологии, микробиологии и иммунобиологии. – 2006. – № 2. – С. 25-31.
3. Dominguez M.A. Spread and maintenance of a dominant MRSA clone during an outbreak of a MRSA disease in a Spanish hospital / M.A. Dominguez, H. de Lancaster, J. Linarez, A. Tomasz // *J. Clin. Microb.* – 1994. – Vol. 32. – P. 2081-2087/
4. Kawalec M. Outbreak of vancomycin-resistant enterococci in a hospital in Gdan'sk, Poland, due to horizontal transfer of different Tn1546-like transposon variants and clonal spread of several strains / M. Kawalec, M. Gniadkowski, W. Hryniewicz // *J. of Clin. Microb.* – 2000. – Vol. 38, № 9. – P. 3317–3322
5. Mena A. Characterization of a Large Outbreak by CTX-M-1-producing *Klebsiella pneumoniae* and Mechanisms Leading to In Vivo Carbapenem Resistance Development / A. Mena, V. Plasencia, L. Garcia, et al. // *J. of Clin. Microb.* – 2006. – Vol. 44, № 8. – P. 2831-2837.
6. Naiemi N.A. Widespread Transfer of Resistance Genes between Bacterial Species in an Intensive Care Unit: Implications for Hospital Epidemiology / N.A. Naiemi, P.H. Duim, M. Savelkoul, et al. // *J. of Clin. Microb.* – 2005. – Vol. 43, № 9. – P. 4862-4864.
7. Sousa A. Characterization of MRSA isolates from Portuguese hospitals by multiply genotyping techniques / A. Sousa, M.I. Santos Sanches, A. van Belcum, et. al. // *Microb. drug resistance.* – 1996.
8. Sousa A. Multi-drug resistant Iberian epidemic clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* endemic in a hospital in northern Portugal / A. Sousa, M.I. Santos Sanches, L. Sobral, et al. // *Microb. Drug Resistance.* – 1996. – Vol. 1. – P. 299-306.
9. Van Leeuwen W. Genetic diversification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a function of prolonged geographic dissemination and as measured by binary typing and other genotyping methods / A. van Belkum, B. Kreiswirth, H. Verbrugh // *Res. Microbiol.* – 1998. – Vol. 149, № 7. – P. 497-507.