

## **Классификация, номенклатура и эволюция значимых для медицины бактерий**

*В последние 25 лет достигнуты значительные успехи в изучении мира микробов. Бактерии одна из наиболее распространенных и разнообразных на Земле групп микроорганизмов. Особое значение для медицины имеют паразитические формы бактерий, способные распространяться в популяции человека, внедряться в организм, поражать клетки, ткани и системы организма. В статье отражены современные представления о классификации, номенклатуре и эволюции основных групп бактерий имеющих медицинское значение.*

Большое внимание уделяется анализу молекулярно-генетических основ эволюции бактерий и методическим подходам применимым в клинической и эпидемиологической микробиологии.

Мир микробов чрезвычайно многообразен. Он включает вирусы, бактерии, грибы и простейшие. Бактерии составляют наиболее древнюю и многочисленную группу организмов, относятся к прокариотам т.е. микробам не имеющим организованного ядра. По современным расчетам общее количество прокариотических клеток на Земле составляет от 4 до 6 x 10<sup>30</sup>. Впервые бактерии были открыты голландским естествоиспытателем Антониом ван Левенгуком [1753г.], т.е. позднее всех известных форм жизни. Первые попытки классификации бактерий были предприняты только в 19-м веке, что было обусловлено недостатком знаний, отсутствием необходимых критериев и непониманием биологической роли микробов. К. Леман и Р. Нейман в 1896г. положили начало созданию научно-обоснованной классификации бактерий и подразделили их на 3 семейства – кокки, палочки и спиралилы[6]. Систематика бактерий – раздел биологической науки о месте бактерий в природе, принципах, методах и правилах классификации (объединении бактерий по степени родства в классификационные единицы) и номенклатуры. Систематика микроорганизмов очень сложна, многие бактерии имеют одинаковые морфологические, но разные физиологические свойства. Современная систематика (классификация) бактерий преимущественно базируется на морфологических, физиологических и биохимических критериях с привлечением некоторых генетических характеристик. Бактерии расположены в определенном порядке, исходя из степени их схожести и эволюционных взаимосвязей [3,6,7,11]. Раздел систематики, разрабатывающий принципы классификации, называется таксономией (от греч. taxis – расположение, порядок, potos-закон). Таксон – классификационная единица, обладающая совокупностью характеристик общих для каждой группы (семейства, рода, вида, подвида). Как правило, выделенный от больного или из окружающей среды микроб нельзя быстро и точно идентифицировать. Для этих целей необходимо использовать множество фено-и генотипических признаков, точно выявляемых определенными тестами (методами). При этом большое значение придается дискриминационной силе теста (признака) – т.е. способности выявлять различия между разными видами или вариантами бактерий (дискретным единицам информации). Например, окраска по Граму, форма бактерий, спорообразование. Базовой таксономической единицей у бактерий является вид. Вид – совокупность популяций бактерий, имеющих общее

происхождение, экологическое единство, обладающих сходным обменом веществ и энергии, близких между собой по строению генома, морфологическим и биохимическим свойствам и отличающихся от других видов. В установлении видовой принадлежности (идентификации) бактерий большое значение имеет молярное содержание в молекуле ДНК нуклеотидов-гуанина и цитозина (Г+Ц) (генетическая таксономия) или морфологических, культуральных, биохимических и серологических признаков (фенотипическая таксономия, включая числовую). Каждый вид бактерий имеет типовой штамм, который является своеобразным его эталоном. Часто это штамм определенного микроба, выделенный и охарактеризованный до уровня вида первым. Все выделяемые в баклабораториях мира из разных материалов изоляты, относящиеся к определенному виду должны быть сходны с ним. Типовые штаммы имеют наиболее полную биологическую характеристику и хранятся в специальных коллекциях. Коллекции бактерий имеются во многих странах мира. Наиболее обширные из них находятся в США, Англии, Франции, Германии, Японии, Индии, России. Имеются коллекции микроорганизмов и в Белоруссии. В них в высушенном виде в холодильных камерах хранится более 14 400 видов бактерий (типовых штаммов), 22 200 видов грибов, 4 300 видов дрожжей, 1350 видов вирусов животных и 400 видов вирусов бактерий. Лаборатории практической бактериологии используют в своей работе типовые штаммы бактерий. Подвид – совокупность популяций бактерий определенного вида отличающихся рядом признаков, которые не препятствуют их объединению в вид. Вариант (var) или тип – совокупность популяций бактерий определенного вида отличающихся по тем, или иным свойствам. В зависимости от характера дискриминаторного признака выделяют морфовары (морфологические), резистенсвары (устойчивости к антибиотикам), фаговары (типы) – по чувствительности к бактериофагам, биовары (типы) – по биологическим свойствам, серовары (типы) – по антигенной структуре, хемовары (типы) – по биохимическим свойствам, колициновары – по продукции бактериоцинов, геновары (типы) – по строению части генома. При генетическом типировании бактерий с помощью рестриктаз внутри вида выделяют риботипы – совокупность бактерий, характеризующихся одинаковым или близким профилем фрагментов ДНК, которые образуются при воздействии этих ферментов и выявляются методом электрофореза. Патовар (тип) – штамм или несколько штаммов бактерий одного вида с одинаковыми или близкими патогенетическими свойствами (вирулентностью).

Изолят (isolate) – популяция бактериальных клеток в чистой культуре полученной в лаборатории из одной колонии с питательной среды и идентифицированная до уровня вида. Штамм – изолят или группа изолятов с одинаковыми фенотипическими и/или генотипическими признаками, относящиеся к определенному виду и имеющие отличия от других изолятов этого вида. Авторский штамм (т.е. полученный и описанный определенным автором) называют голотипом. Впервые описанный оригинальный штамм называется неотипом. Клон (отводок) – культура микроорганизмов, полученная в результате размножения одной бактериальной клетки и проявляющая фенотипические и генотипические признаки свойственные типовому виду. Эпидемически значимые патогенные для человека микроорганизмы, склонные к быстрому распространению в популяции и характеризующиеся повышенной мутабельностью, вирулентностью и резистентностью формируются в естественных условиях и также представляют собой своеобразный клон или клональную группу [4,5,22,23].

Чистая культура – популяция бактерий, состоящая из особей одного вида. Смешанная культура-совокупность популяций бактерий разных видов. Термином «популяция» обозначают совокупность бактерий одного вида, вегетирующих в определенном биотопе или выращенных на искусственной питательной среде из одной или нескольких клеток.

Род – совокупность близкородственных видов. Каждый род имеет типовой вид, на основе которого он формируется. Вид *Escherichia coli* является типовым для рода *Escherichia*, а *Corynebacterium diphtheria*-типовым видом рода *Corynebacterium*. Триба (колono)-группа близкородственных родов. Например, роды *Escherichia* и *Shigella* в семействе энтеробактерий. Семейство – совокупность взаимосвязанных родов. Сходные семейства объединяются в порядок, а они, соответственно, в классы, филии, царство и домен. В практической медицинской бактериологии высшие таксоны – порядок, класс, филия(тип), царство имеют меньшее значение. В 1923 г. американский микробиолог Дэвид Берджи выпустил первый международный определитель бактерий. Н.А. Красильников (1949) в России также издал капитальный труд «Определитель бактерий и актиномицетов». Последующие выпуски определителя бактерий готовились международным комитетом по таксономии бактерий. Последний (одиннадцатый) выпуск состоялся в 2001 г[7]. В соответствии с ним живые организмы подразделяют на три домена – *Bacteria* (прокариоты или истинные бактерии), *Archeae* (предковые бактерии) и *Eukaria* (эукариотические клетки).

Принципы систематики бактерий. Бактерии как биологические объекты обладают комплексом разнообразных свойств. Свойства бактерий, которые реализуются (проявляются) при определенных условиях, получили название фенотипических, а которые передаются по наследству-генотипических. До появления методов молекулярной биологии бактериологу для идентификации бактерий были доступны лишь фенотипические признаки. Два изолята бактерий должны существенно отличаться друг от друга, прежде чем их можно будет классифицировать как разные виды. Для установления видовой принадлежности того или иного микроба необходимо использовать определенные ключи и критерии идентификации (таксономические, идентификационные), а также операционные таксономические единицы (ОТЕ) – совокупность признаков по которым они могут быть сравнены(объединены/разделены)[9,10,13].

Филогенетическая систематика-объединение родственных форм бактерий связанных единством происхождения (наличие общего предка-корня) и установление соподчинения (иерархии) отдельных групп. Фенотипический подход не всегда позволял проводить детальное изучение изменений наследственных свойств бактерий и анализировать механизмы изменчивости. Фенотипическая или нумерическая таксономия использует широкий диапазон признаков характерных для бактерии (окраска по Граму, форма и размер клетки, подвижность, наличие капсулы, тип дыхания, биохимическая активность, антигенные свойства, чувствительность к бактериофагам, антибиотикам и др.). Установление сходства или различия между бактериями основывается на расчетах коэффициента подобия. Шкала измерения варьирует от 0 до 1 или от 0 до 100% (где 1 или 100%) означают полную идентичность. Так, если для типирования чистой культуры микроба используется 100 признаков и изолят А имеет сходство по 80 из них с изолятом В, то коэффициент подобия- $S = 80/100$  или 0.8. Фенотипический коэффициент простого соответствия (подобия) равен:

$$S = (a + d) / (a + b + c + d)$$

Коэффициенты подобия основаны на наличии (+) или отсутствии (-) признаков у штамма А против штамма В, где “а” указывает на наличие положительного результата у обоих изолятов, “b” означает признак отсутствующий у изолята А, но присутствующий у изолята В, “с” – означает наличие признака у изолята А и отсутствие его у изолята В, “d” – признаки не обнаруженные у обоих изолятов. На основании коэффициентов подобия также строятся графические схемы (дендрограммы), отображающие степень родственности бактерий (рис.) [7,8,10,12].

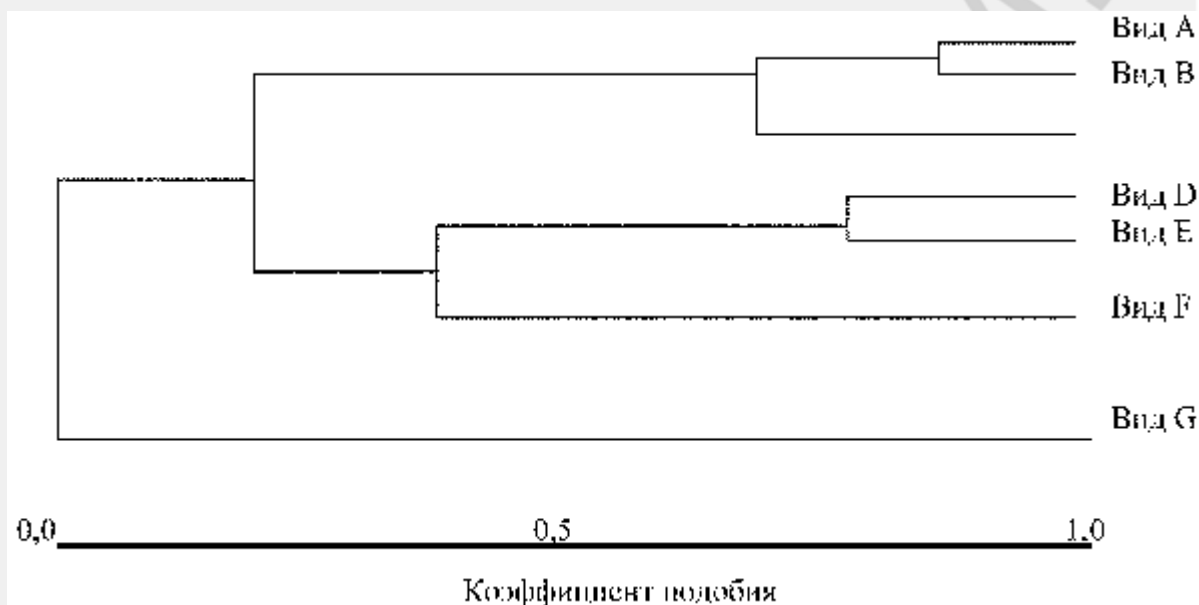


Рис.1. Дендрограмма, построенная на основе коэффициентов подобия между шестью видами бактерий

Из них наиболее близкими являются виды А и В, Д и Е, а наиболее отличающимися-виды А и G. Дендрограммы могут использоваться и для оценки глубины (тесноты) эволюционных взаимосвязей бактерий. Фенотипический период таксономии бактерий способствовал развитию теоретической и прикладной бактериологии. Он продолжался практически с конца 19-го и весь 20-й век. В современных условиях изучение фенотипов бактерий (эковаров, фаговаров, сероваров, резистенсваров, колициноваров, патоваров) – неотъемлемая составляющая получения полноценного представления о биологии бактерий и важное направление молекулярной эпидемиологии бактериальных инфекций.

Геносистематика-объединение бактерий на основе степени сходства геномов. Важнейшими из них являются молекулярно-генетические критерии (молярное содержание Г+Ц, сходство последовательностей оснований в 16S, 18S и 23S РНК, риботипирование, секвенирование). Применяется также и хемосистематика – классификация бактерий на основе хемотаксономических (химический состав клеточных стенок, состав продуцируемых жирных) признаков. На практике часто используется соотношение оснований: моль/литр гуанин+ цитозин (G+C) или показатель специфичности. Он равен:

$$(Г + Ц) / (Г + Ц + Т + А) = \%$$

Содержание G+C (в моль/%) у патогенных для человека бактерий варьирует от 25% до 70%. “Золотым стандартом” определения родственности бактерий является установление сходства последовательности оснований(сиквенсов) структуры

гомологичных фрагментов 16S или 23S рРНК. Общая длина 16S РНК энтеробактерий составляет 1542 оснований. Как известно, в естественных условиях мутации в генах бактерий возникают с определенной частотой, случайно и в большинстве своем являются нейтральными. Если мутация возникла, то дочерние клетки наследуют ее. Некоторые мутации могут улучшать функцию гена и, естественно, являются полезными и такие бактерии приобретают преимущества в выживании. Дупликация (удвоение) гена имеет первостепенное значение в эволюции бактерий. Геном бактерий варьирует в достаточно широком диапазоне – от 800 до 4500 генов[24,25,26,27]. Мутации могут привести к дупликации сегмента ДНК несущего определенный ген. С этого момента мутантный организм имеет дополнительную, измененную копию гена. Оригинальный ген сохраняет свою прежнюю функцию, а копия, обычно, является высокомутабельной. Так возникают семейства и суперсемейства генов с близкой структурой и функциями. Дупликации генов и их изменчивость лежат в основе дивергенции микроорганизмов в процессе эволюции, что в последующем приводит к видо-и родообразованию. Считается, что два организма отличающиеся только несколькими основаниями в определенном фрагменте гена дивергировали в относительно недалеком эволюционном прошлом, а отличающиеся большим числом оснований, соответственно, дивергировали далеко в прошлом. На основании числа мутаций фрагментов определенных генов и установления иерархии строится эволюционное дерево (дендрограмма). Ниже приводится пример построения эволюционного дерева для четырех гипотетических организмов (А, В, С, D) сиквенс ДНК гомологичных областей (рис. 2)[1,2,17,18,19].

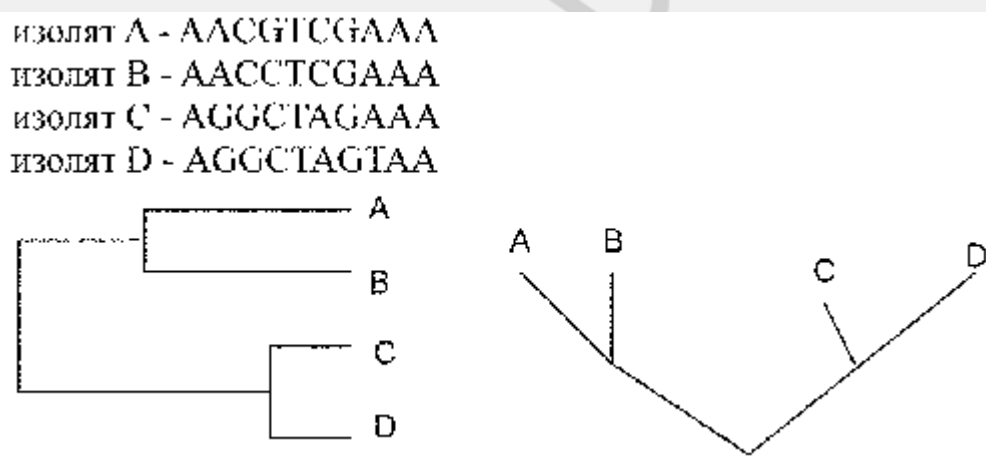


Рис.2. Результаты секвенирования четырех изолятов бактерий и соответствующие им эволюционные деревья (дендрограммы)

Из представленных выше сиквенсов видно, что организмы А и В, равно как и организмы С и D – отличаются только одним основанием. В тоже время, изоляты А и С отличаются тремя, а В и D-четырьмя основаниями. С точки зрения эволюционной истории изоляты А и В, также близки как и С и D изоляты. В то же время изоляты А-С и В-D разделены большим эволюционным временем. Компьютерная графика позволяет построить эволюционное дерево, точно отражающее дивергенцию между изолятами бактерий, с линейным отображением эволюционного расстояния пропорционального числу аккумулированных мутаций(ошибок)[24,26].

Номенклатура – принципы наименования бактерий. Наименования бактерий должны быть стабильными, научно обоснованными и целесообразными[6,7,13].

Различают неформальную (тривиальную, местную) и научную номенклатуру. Неформальная (местная) номенклатура применяется для обозначения изолятов и штаммов бактерий, полученных в лаборатории. Правила научной номенклатуры бактерий изложены в специальном руководстве “International Code for the Nomenclature of Bacteria”. В соответствии с ними вид бактерий обозначается двумя (бинарная номенклатура) латинскими именами – первое характеризует род (genus), а второе-вид (species). Название семейства всегда заканчивается на – aceae. Например, семейство энтеробактерий – Enterobacteriaceae, род-Escherichia, вид-Escherichia coli (E.coli), вариант (серовар) – O157:H7, штамм-хуз. Подвид имеет тройное название (тринарен). Для его обозначения после видового названия добавляют третье слово-подвид (subspecies). Например, Klebsiella pneumoniae subsp rhinoscleromatis (палочка склеромы, где rhinoscleromatis – название подвида).

В данной статье номенклатура бактерий представлена в соответствии с руководством Д.Берджи по систематической бактериологии[7]. В иерархии клеточных форм жизни различают три домена (империи) – Bacteria (прокариоты, истинные бактерии или эубактерии), Archaea(архибактерии) и Eucaria(эукариоты-грибы, простейшие, животные, растения), имеющие ранг надцарств. В соответствии с ним среди бактерий выделяют следующие таксономические категории (табл. 1):

Таблица 1

Систематические категории в бактериологии

Категория	Таксон
Домен	Bacteria
Царство	
Тип (филия)	Actinobacteria
Класс	Actinobacteria
Порядок	Actinomycetales
Семейство	Mycobacteriaceae
Род	Mycobacterium
Вид	Mycobacterium tuberculosis

В последнем руководстве Берджи выделено 23 типа (филии) бактерий. В свою очередь в зависимости от строения клеточной стенки они подразделяются на 4 группы-Gracilicutes (бактерии с тонкой клеточной стенкой), Firmicutes (бактерии с толстой клеточной стенкой), Teniricutes (бактерии, лишённые клеточной стенки) и Mendosicutes (бактерии с неправильной клеточной стенкой – архибактерии). Патогенные для человека бактерии относятся к первым трем отделам. В свою очередь они разделены на секции (более 30) в состав которых входят значимые для медицины семейства, роды, виды и подвиды (табл. 2.).

Таблица 2

Классификация бактерий, представляющих интерес для медицинской микробиологии

Группы бактерий (тип клеточной стенки, морфология, тип дыхания)	Таксоны (семейство, род, типовой вид)	Вызываемые заболевания
I. Бактерии с ригидной, толстой клеточной стенкой		
A. Свободнорасполагающиеся (внеклеточные) бактерии		
1. Грамположительные		
A. Кокки	Staphylococcaceae	
	Staphylococcus aureus S. epidermidis S. saprophyticus	абсцессы кожи, органов, сепсис наружные поражения кожи урогенитальные инфекции
	Streptococcaceae	
	Streptococcus pyogenes S. pneumoniae S. agalactiae	тонзиллиты, скарлатина пневмонии, отиты, синуситы менингиты и сепсис новорожденных
	Enterococcaceae	
	Enterococcus faecalis E. faecium	оппортунистические инфекции оппортунистические инфекции
Б. Споробразующие палочки		
1) Аэробные	Bacillaceae	
	Bacillus anthracis B. cereus	сибирская язва пищевые токсикоинфекции
2) Анаэробные	Clostridiaceae	
	Clostridia perfringens C. tetani C. botulinum C. difficile	газовая гангрена столбняк ботулизм псевдомембранозный колит
B. Не образующие спор палочки		
1) нефиламентозные	Corynebacteriaceae	
	Corynebacterium diphtheriae Listeria monocytogenes Erysipelothrix rhusiopathiae Gardnerella vaginalis	дифтерия зева, носа, ран менингиты, сепсис эризипеллоид (встр. редко) бактериальные вагинозы
2) филаментозные	Actinomycetaceae	
	Actinomyces israelii	актиномикоз (цервико-фациальный)
	Nocardiaceae	
	Nocardia asteroides Nocardia brasiliensis	нокардиоз нокардиоз легких, кожи
	Mycobacteriaceae	
Mycobacterium tuberculosis M. leprae M. avium/intracellulare	туберкулез лепра лимфадениты, инф. кожи, костей диссеминированные при СПИДе	
2. Грамотрицательные		

Репозиторий БГМУ



	<i>Burkholderia cepacia</i>	нозокомиальная инфекция
	<i>B. malei</i>	абсцессы кожи
	<i>B. pseudomallei</i>	мелиоидоз
	Legionellaceae	
	<i>Legionella pneumophila</i>	пневмония
	Moraxellaceae	
	<i>Moraxella catarrhalis</i>	отиты, синуситы
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	нозокомиальные инфекции
	<i>Kingella kingae</i>	эндокардиты
	<i>Eikenella corrodens</i>	нозокомиальные инфекции
	<i>Veillonella parvula</i>	инфекции полости рта, дыхат. Путь
(2) зоонозные	Brucellaceae	
	<i>Brucella bovis</i>	бруцеллез животных и человека
	<i>B. melitensis, B. suis, B. canis</i>	бруцеллез животных
	"Fransisellaceae"	
	<i>Fransisella tularensis</i>	туляремия
	Pasteurellaceae	
	<i>Pasteurella multocida</i>	инфекции кожи, целлюлит
(3) кишечные	Enterobacteriaceae	
	<i>Eschericia coli</i>	Диарей, уроинфекции
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Уроинфекции
	<i>Calymmatobacterium granulomatis</i>	венерическая Гранулема
	<i>Citrobacter freundii</i>	нозокомиальные инфекции
	<i>Serratia marcescens</i>	пневмония, нозокомиальные инф
	<i>Klebsiella pneumonia</i>	невмония, нозокомиальные инф.
	<i>K. oxytoca</i>	пневмония
	<i>K. ozaenae</i>	Озена
	<i>K. rhinoscleromatis</i>	склерома
	<i>Morganella morganii</i>	оппортунистические инфекции
	<i>Salmonella enterica</i>	брюшной тиф, сальмонеллезы
	<i>Schigella dysenteriae</i>	дизентерия, энтероколиты
	<i>S. flexneri, S. boydii, S. sonnei</i>	дизентерия
	<i>Proteus mirabilis</i>	уроинфекции
	<i>P. vulgaris</i>	оппортунистические инфекции
	<i>Providencia rottgeri</i>	оппортунистические инфекции
	<i>Yersinia pestis</i>	Чума
<i>Y. enterocolitica</i>	лимфадениты, энтериты	
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	псевдотуберкулез	
(4) извитые	Campylobacteriaceae	
	<i>Campylobacter jejuni</i>	энтериты
	<i>C. fetus</i>	Сепсис, эндокардиты
	<i>Helicobacter pylori</i>	гастриты, язва желудка и 12 п. Кишки
	Vibrionaceae	
	<i>Vibrio cholerae</i>	Холера, диарея, дегидратация
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	пищевые токсикоинфекции
2. Аэробные	Pseudomonadaceae	

<i>Rickettsia prowazekii</i>	сыпной тиф
<i>R. rickettsii</i>	лихорадка скалистых гор
<i>Orientia tsusugamushi</i>	лихорадка цуцугамуши
"Coxiellaceae"	
<i>Coxiella burnetii</i>	Ку-лихорадка
Ehrlichia	
<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	моноцитотропный эрлихиоз
<i>E. ewingii</i>	гранулоцитотропный эрлихиоз
Bartonellaceae	
<i>B. bacilloformis</i>	лихорадка
<i>B. henselae</i>	сепсис у лиц с иммуносупрессией
<i>B. Quintana</i>	5-ая лихорадка, сепсис
Chlamydiaceae	
<i>Chlamidia trachomatis</i>	трахома, хламидиоз
<i>C. psittaci</i>	конъюнктивиты, пситтакоз
<i>C. pneumonia</i>	респираторные инфекции, атеросклероз
II. Подвижные, тонкостенные бактерии (спирохеты):	
Spirochaetaceae	
<i>Treponema pallidum</i>	сифилис
<i>Borrelia burgdorferi</i>	болезнь Лайма
<i>Leptospira interrogans</i>	лептоспироз
III. Бактерии, не имеющие клеточной стенки	
Mycoplasmataceae	
<i>Mycoplasma pneumonia</i>	пневмония
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	уретриты

- обозначены предполагаемые семейства, которые еще официально не утверждены международным таксономическим комитетом.

Эволюция бактерий и ее медицинское значение. Микроорганизмы на Земле возникли примерно за три миллиарда лет до появления человека. В 1822 году Э.Дарвин предложил теорию эволюции, а через 100 лет русский биохимик А.Опарин (1920 г.)-теорию возникновения биологической жизни. В этой системе бактериям принадлежит весьма важное место. Первые, окруженные мембраной самореплицирующиеся формы биологической жизни (протобионты) были неспособны к фотосинтезу и получали энергию путем осуществления простых, одностадийных абиогенных окислительных реакций. Это продолжалось около 1.0 млрд. лет. Энергия (электрохимическая, термальная, фотохимическая), образующаяся в этих реакциях, сохранялась в определенных молекулах и использовалась для осуществления

примитивных процессов. Формирование первичных молекул и реакций положило начало обменным процессам-анаболизму и катаболизму. Переход от протоклетки к прокариотной клетке произошел в промежутке 2.5-3 млрд. лет назад. В атмосфере планеты не было кислорода и первичные прокариоты были анаэробами. Аутотрофный путь фиксации CO<sub>2</sub> явился основой первичной продуктивности на планете. Смена восстановительной атмосферы на кислородную произошла между средним и поздним докембрием (2,8 млрд. лет назад). Для сравнения содержание кислорода в атмосфере планеты 800 млн. лет назад составляло около 1%, 400 млн. лет – уже было 10%, а в настоящее время – 21%. По мере изменения состава атмосферы стали формироваться факультативные фототрофные и гетеротрофные анаэробы, позднее возникли аэробные бактерии[3,6].

Первые формы микроорганизмов были исключительно свободноживущими (сапрофитами) – почвенными или водными[3,6]. На протяжении всего периода эволюции они не только сохранили свои экологические ниши, но и постоянно их расширяли. Возникновение более сложных форм жизни ставило необходимость взаимодействия бактерий с ними и приводило к формированию новых, разнообразных взаимосвязей и взаимоотношений симбиотического и паразитического характера. Бактерии заселяли поверхностные и внутренние ниши новых живых существ, формировали новые экосистемы. Так появились эпифитные (поверхностные) и эндогенные варианты, адаптировавшиеся к новым наземным хозяевам, формировались взаимоотношения с фито-и зоопланктоном водных бассейнов. Каждый новый переход для успешной адаптации требовал совершенствования, как генотипа, так и фенотипа бактерий, носил, как правило, скачкообразный характер. Эволюция микроорганизмов в плане адаптации к жизни в сложных системах многоклеточных организмов и паразитизма шла, вероятно, в следующем направлении: свободно живущие сапрофиты > эпифитные и полостные комменсалы и симбионты > внеклеточные (включая тканевых) паразиты > внутриклеточные паразиты > внутригеномные паразиты[6]. В этом ряду отражается последовательность возрастания интеграции микроорганизмов с их хозяевами и, соответственно, возрастание степени зависимости существования от последних. В результате экологической эволюции на определенных территориях сформировались достаточно прочные, замкнутые или открытые циклы циркуляций паразитических микроорганизмов среди разнообразных популяций животных. Длительный период симбиотических отношений бактерий с одноклеточными эукариотами привел к возникновению внутриклеточных бактерий, трансформировавшихся позднее во внутрицитоплазматические органеллы – митохондрии. То есть, современные эукариотические клетки-результат ассоциации двух генетических линий с образованием новой симбиотической клетки. В ходе эволюции отмечалась редукция количества генов в составе митохондрий. Примитивные (предковые) эукариоты в своем составе имели много митохондриальных (бактериальных) генов, в то время как клетки современного человека и других высших животных имеют небольшое их число. Митохондриальная ДНК – “быстро тикающие” биологические часы, скорость мутаций митохондриальных генов на много выше, чем генов хромосом ядра клетки[9,10,15].

Бактерии явились не только первичными накопителями генов, но объектом их эволюционного усовершенствования. Скорость эволюции – это количество мутаций на 100 аминокислот молекулы определенного белка в течение 100 млн. лет[10,14]. Она

широко варьирует. На этом построена концепция молекулярных часов, декларирующая, что мутации постепенно аккумулируются в геноме и линейно временному периоду эволюции формируют новый сиквенс для дальнейшей дивергенции вида. Диаграмма, представленная на рис.3. позволяет отобразить эволюцию определенных групп бактерий и примерно установить эволюционное время, когда тот или иной вид (род) дивергировал от общего предка [11,14,16].

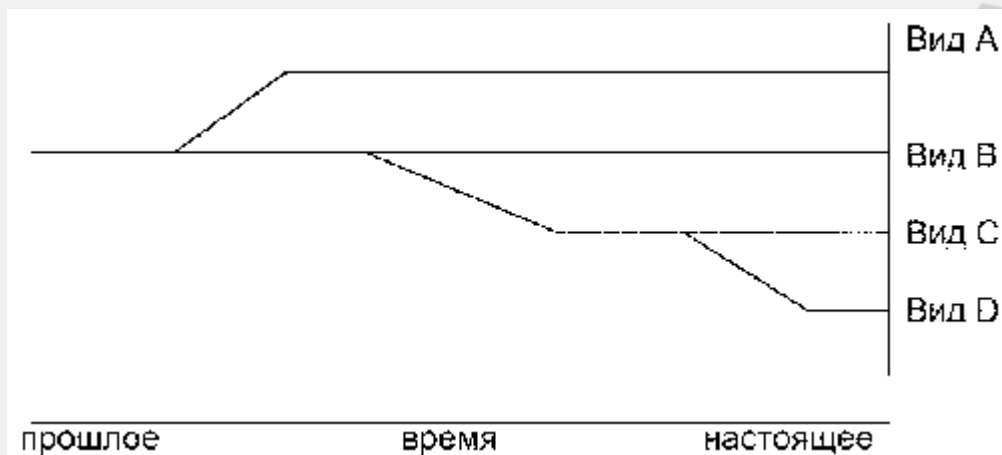


Рис.3. Схема отображения эволюционных взаимосвязей (дивергенции) между видами бактерий.

Как видно из рисунка все четыре представленных вида бактерий в прошлом имели одного предка. С течением времени накопившиеся мутации привели к отделению (дивергенции) вида А, позднее сформировался вид С и не так давно вид D. Это наиболее легкий способ определения времени дивергенции. Скорость эволюции постоянна и зависит от многих факторов – скорости метаболических процессов, времени генерации, потоков движения информации и селективного давления. Например, дивергенция рода *Salmonella* и рода *Escherichia coli* от общего предка произошла примерно 100-140 млн лет назад. Геномы бактерий эволюционировали на протяжении более 50 миллиардов генераций аккумулируя мутации и приобретая новую генетическую информацию посредством горизонтального переноса генов без существенной перестройки предковых генов. В течение года геном сальмонеллы приобретал чужеродной генетической информации примерно 16 kb/млн. лет, а кишечной палочки – 22 kb/млн.лет. В настоящее время их геномы отличаются на 25% [14,16,17]. Значительная часть генома приобретена путем горизонтального переноса. В целом, геном бактерий варьирует по размерам от 0.6 до 9.4 Mb информации (в среднем от 3 до 5 Mb). Некоторые бактерии имеют две хромосомы (*Leptospira interrogans serovar icterohemorrhagiae*, *Brucellae melitensis*) [10,15]. Прогрессивная эволюция бактерий происходила в нескольких взаимосвязанных направлениях – метаболическом, морфологическом (структурно-молекулярном) и экологическом. В природе имеется огромное разнообразие микроорганизмов из которого в настоящее время известно не более 5-7% их, а культивируемые в искусственных условиях бактерии составляют около 1%. Это означает, что мы еще только начинаем узнавать мир микробов.

Стратегии секвенирования генома. Каждая пара оснований генома является одним битом информации. Например, геном *Haemophilus influenzae* содержит 1 830 137, а геном *Escherichia coli* – 4 639 221 бит информации. Сравнительные аспекты

секвенирования геномов бактерий позволяют определить наличие общих генов, регуляторных механизмов, установить эволюционные внутри и межвидовые связи и являются основой структурной и эволюционной геномики. Математическим анализом геномов микроорганизмов занимается новая наука – биоинформатика. Предметом исследований являются сиквенсы фрагментов или полных геномов бактерий с помощью разрабатываемых компьютерных программ и баз данных информации о нуклеиновых кислотах и белках [14,15,20,21,22].

На основе анализа строения геномов (секвенирования) сформировано 36-40 крупных таксонов (отделов). Члены каждого из них имеют общего предка, который на определенном этапе дивергировал от другого таксона-предшественника. Некоторые из отделов включают большее число видов известных бактерий, чем другие. Обычно это относится к тем из них, которые хорошо культивируются в лабораторных условиях. Наибольшее число видов бактерий (от 40 до 80%) описано среди таксонов протеобактерий, актинобактерий, грамположительных бактерий с низким содержанием Г+Ц. Вместе с тем в некоторых отделах культивируемые представители бактерий неизвестны. Следует отметить, что из 36-40 отделов царства Bacteria только представители 7 крупных таксонов способны вызывать заболевания у человека. Специализация и адаптация этих бактерий к организму животных привело к образованию блоков генов, контролирующих факторы патогенности (островки патогенности). Они могут локализоваться в хромосоме, плазмидах и, возможно, в фагах бактерий. Установление направления и порядка эволюции микроорганизмов на основе изменчивости их геномов является перспективным направлением молекулярной эпидемиологии [10,17].

Молекулярная эпидемиология изучает факты варьирования геномов бактерий на уровне первичной структуры нуклеиновых кислот (нуклеотидов) и установления их первоначальной характеристики на уровне структуры белков их составляющих. Характеристика бактерий на уровне варьирования нуклеотидов определенных генов полезна не только в эпидемиологических целях, но и для понимания механизмов патогенеза, прогрессии заболевания и эффективности противомикробного лечения. Эволюционные взаимосвязи между существующими бактериями представлены на рис. 4.

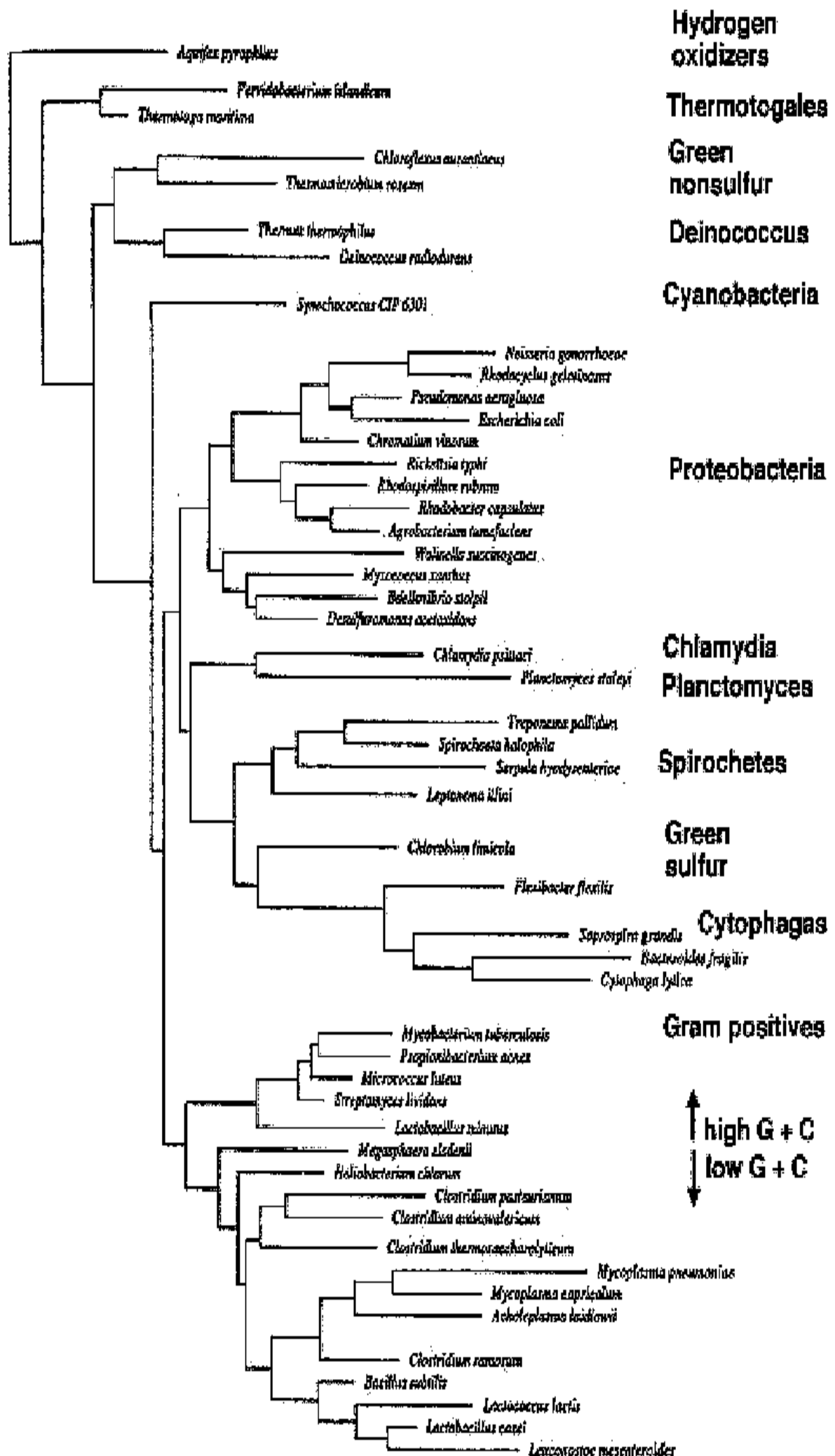


Рис. 4. Таксономическая дендрограмма бактерий, построенная на основе кластерного анализа филогенетических связей

Изучение генетических признаков имеет большое значение не только для фундаментальных исследований, но и для практической медицинской бактериологии и эпидемиологии. Секвенирование фрагментов ДНК или РНК бактерий предоставляет большие возможности для исследования и установления филогенетических взаимосвязей и молекулярно-эпидемиологических исследований, расшифровки вспышек инфекций, прогноза определенного заболевания и эпидемического процесса, решении проблем биологической безопасности[1].

Заключение. Эволюция генома – биологический процесс посредством которого содержание и организация генетической информации определенного вида бактерий изменяется во времени. Мир паразитических микробов эволюционирует быстрее, чем их хозяева, так как скорость их репродукции и нестабильность генома (способность к изменчивости) многократно выше[4]. В этот процесс вовлечены следующие механизмы изменчивости: а) точечные мутации и конверсия генов; б) генетические перестройки(инверсии, транслокации, интеграция плазмид и транспозонов) меняющие топологию хромосомы с незначительным изменением генетической информации; в) делеции, приводящие к утрате информации; г) инсерции чужеродного материала, привносящие новую информацию [5,8,16]. Эволюция паразитических форм бактерий представляет большой научный и практический интерес для биологии и медицины. Медицинская бактериология в 20-м веке развивалась как никогда в истории весьма интенсивно. За прошедший период получены новые уникальные научные данные о строении и функции бактериальной клетки, расшифрованы механизмы передачи генетической информации, установлены закономерности регуляции экспрессии генов, фенотипической изменчивости, молекулярные механизмы патогенности для человека и резистентности к факторам внешней среды. Расшифрованы геномы около 200 микроорганизмов (70% из них выделены из клинического материала), открываются новые, ранее неизвестные микроорганизмы и вызываемые ими заболевания. Произошел существенный прогресс, как в методологическом, так и в методическом арсенале ученых и практиков. В настоящее время медицинская бактериология использует широкий арсенал новых методов, информационных баз данных о строении генома бактерий, базы данных белков (пептидов) и нуклеиновых кислот. Разработаны новые автоматические анализаторы нуклеиновых кислот, белков, биологические зонды и чипы для одновременного анализа сотен и тысяч образцов материалов от больного или объектов внешней среды. Новые молекулярно-генетические подходы позволяют одновременно проводить индикацию и идентификацию большого количества изолятов бактерий, оценивать наличие и экспрессию сотен генов, ответственных за резистентность, либо патогенность возбудителей инфекций[1,5]. Достигнутый в области медицинской микробиологии прогресс позволяет по-новому взглянуть на патогенез многих заболеваний, ранее не считавшихся инфекционными (онкологических, эндокринологических, аутоиммунных, аллергических, заболеваний ЦНС, кардиоваскулярных, желудочно-кишечных, половой сферы). Междисциплинарный подход в медицине позволит более эффективно решать встающие перед здравоохранением и медицинской микробиологической наукой проблемы.

### **Литература**

1. Ажикина Т.Л., Монастырская Г.С., Свердлов Е.Д. Полногеномные сравнительные анализы патогенов-неотъемлемый компонент мероприятий биобезопасности. Молекулярная медицина. 2004. №3. Стр. 33-40.
2. Барковский Е.В., Хрусталева В.В. Сравнительная характеристика матричных РНК аденилатциклаз актиномицетов. Белорусский медицинский журнал. 2004. №3. Стр.27-30.
3. Поздеев О.К. Медицинская микробиология. Под редакцией В.И.Покровского. – 2-е изд., испр.-М.:ГЭОТАР-МЕД,2004.-768 с.
4. Титов Л.П. Проблемы новых и вновь возникающих инфекций на современном этапе. В кн. «Актуальные проблемы микробиологии». Минск. 1998. Стр. 4-10.
5. Титов Л.П., Ключенович В.И. Стратегии контроля резистентности микроорганизмов к антибиотикам: международный и национальный опыт. В кн. Резистентность микроорганизмов к антимикробным препаратам. Минск. 2003. Стр. 4-13.
6. Титов Л.П., Вотяков В.И, Кожемякин А.К, Мосина Л.И.. Эволюция микробов и ее медицинское значение. Здоровоохранение. 2002. №8. Стр.30-35.
7. Berdgy's Manual of Systematic Bacteriology, 2001. Vol.1. pp.155-166.
8. Cerdeno-Tarrada A.M., Efstratiou A, Dover L.G. et al. The complete genome sequence and analysis of *Corynebacterium diphtheria* NCTC13129. Nucleic Acid Res. 2003. Vol.31. P.6516-23.
9. Clark D.P., Russel L.D. Molecular biology. 2nd edition. Cache River Press. 2000. 486 p.
10. Cole S.T., Saint-Girons I. Bacterial genomes-all shapes and sizes. In book. Organization of the Prokariotic Genome. Edited by R.L.Charlebois. 1999. P.35-57.
11. Crandall K.A., Posada D. Phylogenetic Approaches to Molecular Epidemiology. In book "The molecular Epidemiology of Human Viruses". Kluwer Academic Publishers. Norwell. 2002. P.25-40.
12. Faruque S.M., Chowdhury N, Kamruzzaman M, Dziejman N, Rahman M.H, Sack D.A, Nair G.B, Mekalanos J.J. Genetic diversity and virulence potential of environmental *Vibrio cholerae* population in a cholera-endemic area. PNAS. 2004. Vol.101. P.2123-2128.
13. Greenwood D., Slack R.C.B, Peutherer J.F. Medical microbiology. Churchill Livingstone.
14. Hughes D. Impact of homologous recombination on genome organization and stability. In book. Organization of the Prokariotic Genome. Ed. By R. L.Charlebois. 1999. ASM. Washington. P.109-128.
15. Konstanidis K., Tiedje J.M. Microbial Diversity and genomics. In book. Microbial Functional genomics. Edited by J.Zhou, D.K.Thompson, Y.Xu, J.M.Tiedje. John Wiley & Sons. 2004. P. 21-40.
16. Lawrence J.G., Roth J.R. Genomic flux: genome evolution by gene loss and acquisition. In book. Organization of the prokariotic Genome. Ed. By R. Charlebois. 1999. ASM.Washington. P.263-287.
17. Mccllland M., Sanderson K, Speith J at al. Complete genome sequence of *Salmonella enterica* serovar typhimurium LT2. Nature. 2001. Vol.413. P.852-856
18. Podschun R., Ullmann U. Klebsiella spp. as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors. Clinical Microbiology Reviews. 2003. Vol.11. P.589 – 615



19. Relman D.A. Sequence-Based Methods for pathogen discovery: the complex associations of microbes, microbial sequences, and host. In book. Emerging infections 4. Edited by W.M.Scheld, W.A.Craig, J.M.Hughes. ASM press. Washington, D.C. 2000. P.69-81.
20. Riley L.W. Molecular epidemiology of infectious diseases. Principles and practices. ASM PRESS. Washington. 2004. 348p.
21. Tatusov R.L., Galperin M.Y., Natale D.A, Koonin E.V. The COG database: a tool for genomescale analysis of protein functions and evolution. Nucleic Acids Research. 2000. Vol.28. N1.P.33-36.
22. Titov L.P., Lebedkova N.V, Tang Y.A, Cohen S.H, Silva J. Isolation and molecular characterization of *Clostridium difficile* strains from patients and the hospital environment in Belarus. J.Clin. Microbiology. 2000. Vol.38.N3. P.1200-1202.
23. Titov L.P., Kolodkina V.L, Dronina A.M, Grimont F, Grimont P.A., Lejay-Collin M, Zoysa A.De, Andronescu C, Diasconescu A, Marin B, Efstratiou A. J.Clin. Microbiol. 2003. Vol.41.N3. P.1285-1288.
24. Trun N., Trempey J. Fundamental bacterial genetics. Blackwell Publishing. 2004.287 p.
25. Tsonis P.A. Anatomy of gene regulation. Cambridge university press. 2003. 282P.
26. Volf J.N., Altenbuchner J. A new beginning with new ends: linearisation of circular chromosomes during bacterial evolution. FEMS Microbiology Letters. 2000. Vol.186.P.143-150.
27. Yanai I., Derti A, DeLisi C. Genes linked by fusion events are generally of the same functional category: a systematic analysis of 30 microbial genomes. PNAS. 2001. Vol.98. P.7940-7945