 © Авторы статьи / Authors of the article

КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА/CLINICAL LABORATORY MEDICINE

DOI: https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.141.77 EDN: LFOXMV

ГЕНОМНЫЙ НАДЗОР ЗА ПОЛИРЕЗИСТЕНТНЫМИ ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ

Научная статья

Гумилевский Б.Ю.[1], Комаров А.Г.[2], Котив Б.Н.[3], Иванов Ф.В.[4,] *, Мельникова Е.В.[5], Гумилевская О.П.[6], Сидоренко О.И.[7], Беляева А.С.[8], Хомякова Е.А.[9]

[1] ORCID : 0000-0001-8755-2219;
[3] ORCID : 0000-0001-7537-1218;
[4] ORCID : 0009-0006-5923-2123;
[6] ORCID : 0000-0001-9852-9372;
[8] ORCID : 0009-0006-7548-8460;
[9] ORCID : 0000-0001-5387-5554;

[1, 3, 5] Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Российская Федерация
[2, 7, 8, 9] Московский Научно-Практический Центр Лабораторных Исследований департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Российская Федерация
[4] Военная академия материально-технического обеспечения имени генерала армии А.В. Хрулева, Санкт-Петербург, Российская Федерация
[6] Санкт-Петербургский медико-социальный институт, Санкт-Петербург, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (felache3[at]yandex.ru)

Предложена: 27.02.2024; Принята: 12.03.2024; Опубликована: 18.03.2024

Аннотация

Применение молекулярно-генетических методов в современной микробиологии является перспективным для подтверждения и детализации механизма антибактериальной резистентности у возбудителей хирургических инфекций. *Цель*. Изучить распространение генетических детерминант резистентности и патогенности возбудителей хирургических инфекций в отделении многопрофильной больницы. *Материалы и методы*. Проведено микробиологическое и молекулярно-генетическое исследование выделенных штаммов с множественной лекарственной устойчивостью, полученных от пациентов с хирургическими инфекциями. *Основные результаты*. Были выделены и идентифицированы 37 штаммов госпитальной микрофлоры имеющие высокий уровень антибактериальной резистентности, в том числе *A. baumanii* – 14, *K. pneumonia* – 12, *P. aeruginosa* – 11. Данные полногеномного секвенирования позволили установить, что *K. pneumonia* с множественной лекарственной устойчивостью имеют сиквенс типы ST 395 и ST147. Бактерии ST147 демонстрируют признаки конвергенции свойств антибактериальной резистентности и вирулентности. Мультирезистентные штаммы *P. aeruginosa* были представлены тремя сиквенс типами ST357, ST644, ST773. Штаммы *A. baumannii*, обладающие мультирезистентностью были представлены тремя сиквенс типами ST19, ST25, ST78. *Вывод*. Использование полногеномного секвенирования для выявления генетических детерминант резистентности и патогенности бактерий играет важную роль в комплексе мероприятий эпидемиологического мониторинга и оптимизации тактики антибактериальной терапии. Гены β-лактамаз *K. pneumonia:* blaTEM-150, blaNDM-1, blaCTX-M-15*A*, blaOXA-72; *A. baumannii:* blaCTX-M-115, blaOXA-48, blaOXA-64, blaOXA-69, blaOXA-72, blaCARB-14; *P. aeruginosa:* blaOXA-48, blaOXA-72, blaNDM-1, blaCTX-M-115 являются наиболее важными для оценки антибиотико-резистентности в обследуемом отделении и для ускорения диагностического процесса могут быть рекомендованы к выявлению методом полимеразной цепной реакции.

Ключевые слова: микробиологический мониторинг, клинические изоляты, спектр возбудителей, резистентность микроорганизмов, секвенирование.

A GENOMIC SURVEY OF MULTIDRUG-RESISTANT SURGICAL PATHOGENS

Research article

Gumilevskii B.Y.[1], Komarov A.G.[2], Kotiv B.N.[3], Ivanov F.V.[4,] *, Melnikova Y.V.[5], Gumilevskaya O.P.[6], Sidorenko O.I.[7], Belyaeva A.S.[8], Khomyakova Y.A.[9]

[1] ORCID : 0000-0001-8755-2219;
[3] ORCID : 0000-0001-7537-1218;
[4] ORCID : 0009-0006-5923-2123;
[6] ORCID : 0000-0001-9852-9372;
[8] ORCID : 0009-0006-7548-8460;
[9] ORCID : 0000-0001-5387-5554;

[1, 3, 5] Military Medical Academy named after S.M. Kirov, Saint-Petersburg, Russian Federation
[2, 7, 8, 9] Moscow Scientific and Practical Laboratory Research Center of the Department of Health of the City of Moscow, Moscow, Russian Federation
[4] Military Academy of Logistics named after Army General A.V. Khrulev, Saint-Petersburg, Russian Federation
[6] St. Petersburg Medical and Social Institute, Saint-Petersburg, Russian Federation

* Corresponding author (felache3[at]yandex.ru)

 © Авторы статьи / Authors of the article

Suggested: 27.02.2024; Accepted: 12.03.2024; Published: 18.03.2024

Abstract

The application of molecular genetic methods in modern microbiology is promising for confirmation and detailing of the mechanism of antibacterial resistance in pathogens of surgical infections. *Objective*. To study the distribution of genetic determinants of resistance and pathogenicity of pathogens of surgical infections in the department of a multidisciplinary hospital. *Materials and Methods*. Microbiological and molecular-genetic study of isolated multidrug-resistant strains obtained from patients with surgical infections was carried out. *Main Results*. 37 strains of hospital microflora with high level of antibacterial resistance were isolated and identified, including *A. baumanii* – 14, *K. pneumonia* – 12, *P. aeruginosa* – 11. Whole-genome sequencing data revealed that multidrug-resistant K. pneumonia have sequencing types ST 395 and ST147. ST147 bacteria show evidence of convergence of antibiotic resistance and virulence properties. Multidrug-resistant strains of *P. aeruginosa* were represented by three sequencing types ST357, ST644, ST773. Multiresistant strains of *A. baumannii* were represented by three sequence types ST19, ST25, ST78. *Conclusion*. The use of full genome sequencing to identify genetic determinants of resistance and pathogenicity of bacteria plays an important role in the set of measures of epidemiological monitoring and optimization of antibiotic therapy tactics. *K. pneumonia* β-lactamase genes: blaTEM-150, blaNDM-1, blaCTX-M-15A, blaOXA-72; *A. baumannii*: blaCTX-M-115, blaOXA-48, blaOXA-64, blaOXA-69, blaOXA-72, blaCARB-14; *P. aeruginosa*: blaOXA-48, blaOXA-72, blaNDM-1, blaCTX-M-115 are the most important for the assessment of antibiotic resistance in the studied unit and can be recommended for detection by polymerase chain reaction to speed up the diagnostic process.

Keywords: microbiological monitoring, clinical isolates, pathogen spectrum, microbial resistance, sequencing.

Введение

Наиболее частыми возбудителями нозокомиальных инфекций, нередко приводящих к развитию сепсиса, являются бактерии группы «ESKAPE» (*E. faecium, S. aureus, K. pneumoniae, A. baumanii, P. aeruginosa, Enterobacter spp.*), которые Всемирная организация здравоохранения отнесла к числу наиболее значимых патогенов, поскольку они обладают множеством факторов природной и приобретенной резистентности к антибиотикам [1], [2]. В настоящее время большинство из этих микроорганизмов уже имеют устойчивость к нескольким антибактериальным препаратам, а внутрибольничные штаммы зачастую характеризуются множественной лекарственной устойчивостью. Это значительно осложняет проведение антибактериальной терапии, для эффективности, которой необходимо знание результатов фенотипического определения минимальных подавляющих концентраций. Но на определение этого требуется много времени и первое назначение антибиотиков проводится, как правило, исходя из знаний эпидемиологической обстановки в отделении и данных анамнеза. Такой эмпирический подход может привести к непопаданию в профиль чувствительности патогена, укреплению его резистентности и утяжелению течения инфекционного процесса. Для ускорения получения информации о профиле устойчивости возбудителя существует возможность воспользоваться тестами полимеразной цепной реакции для выявления генов резистентности как в чистой культуре, так и в первичном материале. Для выявления наиболее значимых генетических детерминант необходимо проводить генетический мониторинг факторов резистентности и вирулентности возбудителей в медицинском учреждении, который позволит еще и более пристально проводить противоэпидемические мероприятия для борьбы с распространением антибактериальной резистентности инфекции, связанной с оказанием медицинской помощи [3].

Цель исследования – исследовать распространение генетических детерминант антибактериальной резистентности и патогенности возбудителей абдоминальных хирургических инфекций в хирургическом отделении многопрофильного стационара.

Методы и принципы исследования

Проведено микробиологическое и молекулярно-генетическое исследование 37 образцов биоматериала, отобранного из раневого содержимого у пациентов с хирургическими инфекциями, проходивших лечение в специализированном хирургическом стационаре Санкт-Петербурга. Видовую идентификацию выросших на первичных посевах микроорганизмов проводили методом масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией / ионизацией с использованием прибора BactoSCREEN («Литех», Россия). Определение устойчивости штаммов к антибактериальным препаратам проводили диско-диффузионным методом на среде Мюллера-Хинтон. Результаты устойчивости к карбапенемам, фторхинолонам, аминогликозидам, учитывали в соответствии с рекомендациями «European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 12.0», а устойчивость к цефалоспоринам, пенициллинам, тетрациклинам определяли в соответствии с критериями Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI 2020).

Выделенные микроорганизмы со множественной лекарственной устойчивостью были представлены штаммами: *A. baumanii* (14 штаммов), *K. pneumonia* (12 штаммов) и *P. aeruginosa* (11 штаммов). Из всех штаммов была выделена геномная ДНК при помощи набора «МагноПрайм ЮНИ» (НекстБио, Россия) по инструкции производителя. Концентрацию ДНК измеряли на флуориметре Qubit 2.0 (LifeTechnologies, США) и набора реагентов «QuDyedsDNA» HS (Lumiprobe, Германия). Полногеномное секвенирование проводили на платформе «MiSeq» с использованием набора реагентов v3 с парными считываниями 2x150 п.н. (Illumina, США). Библиотеки были подготовлены согласно руководству «Proxima-D» (Диасистемс, Россия). Полученные единичные прочтения для каждого штамма были собраны в контиги при помощи программы «Unicyclerv.0.4.7». Образцы с величиной средних покрытий геномов выше 100 свидетельствовали о достаточном объеме данных для обработки и реконструкции генома микроорганизма с помощью программы анализа метагеномных данных «KrakenMetagenomics 2». Филогенетический анализ проводили с помощью программного продукта «Wombac 2.0», выявляя SNP полиморфизмы в наиболее значимых участках генома

 © Авторы статьи / Authors of the article

бактерии. Мультиплексное сиквенс-типирование проводили с использованием сервера MLTS 2.0 и программы «Lasergene» по генам: *gapA*, *infB*, *mdh*, *pgi*, phoE, *rpoB*, *tonB*.

Основные результаты

Для исследования генетических детерминант устойчивости выбраны штаммы, проявившие высокую степень антибактериальной резистентности. В результате фенотипической оценки было установлено, что выделенные штаммы *K. pneumoniae* устойчивы к фторхинолонам II поколения (ципрофлоксацин), фторхинолонам III поколения (левофлоксацин), цефалоспоринам III поколения (цефтазидим, цефотаксим), аминогликозидам II поколения (гентамицин, тобрамицин), защищенным пенициллинам (тикарциклин-клавулонат, пиперациллин-тазобактам, амоксиклав), карбапенемам (меропенем, имипенем).

Штаммы *P. aeruginosa* оказались резистентными к фторхинолонам II поколения (ципрофлоксацин), фторхинолонам III поколения (левофлоксацин), цефалоспоринам III поколения (цефтазидим), цефалоспоринам IV поколения (цефепим), к полипептидам (колистин), аминогликозидам II поколения (гентамицин, тобрамицин), III поколения (амикацин), защищенным пенициллинам (ампициллин-сульбактам, тикарциклин-клавулонат, пиперациллин-тазобактам), карбапенемам (меропенем, имипенем).

Штаммы *A. baumanii* оказались резистентными к фторхинолонам II поколения (ципрофлоксацин), фторхинолонам III поколения (левофлоксацин), цефалоспоринам III поколения (цефтазидим), цефалоспоринам IV поколения (цефепим), к полипептидам (колистин), аминогликозидам II поколения (гентамицин, тобрамицин), аминогликозидам III поколения (амикацин), защищенным пенициллинам (ампициллин-сульбактам,), карбапенемам (меропенем, имипенем).

Полногеномное секвенирование выбранных штаммов госпитальной микрофлоры позволило установить, что наиболее резистентные штаммы *K. pneumoniae* представлены двумя сиквенс типами ST147 и ST395 (табл. 1). Оба штамма имели широкий набор генов резистентности и патогенности. Так *K. pneumoniae* ST147 имела 2 гена β-лактамаз широкого спектра класса A blaTEM-150, blaSHV-11. Также выявлен ген β-лактамаз широкого спектра относящийся к функциональной группе 2be blaCTX-M-15, два гена β-лактамаз класса D устойчивых к ингибиторам функциональной группы 2d blaOXA-1, blaOXA-9 и ген металло β-лактамазы blaNDM-1 и ген карбапенемазы OXA-48, придающие устойчивость микробу к карбапенемам. Кроме того, выявлены 2 гена ферментов, модифицирующих аминогликозиды aac(6')-Ib-AKT, aadA1. Выявлены гены устойчивости к хлорамфениколу catA1, catB3. Ген fosA – глютатион S-трансферазы, определяющий устойчивость к фосфомицину. Гены мембранных белков мультилекарственной устойчивости за счет активации эффлюкса oqxA6, oqxB19. Ген устойчивости к фторхинолонам qnrS1, рифампицину arr-3 и сульфаниламидам sul1.

Второй выявленный штамм *K. pneumoniae* ST395 обладал множественной лекарственной устойчивостью за счет 8 генов β-лактамаз широкого спектра класса A blaTEM-150, гена blaSHV-158. Так же выявлен ген β-лактамаз расширенного спектра относящийся к функциональной группе 2be blaCTX-M-15, ген β-лактамаз класса D, устойчивых к ингибиторам, функциональной группы 2d blaOXA-1 и ген металло β-лактамазы blaNDM-1, а так же ген карбапенемазы OXA-48. Набор генов резистентности к другим антибиотикам был схож со штаммом ST395. Так, были выявлены 2 гена ферментов, модифицирующих аминогликозиды aph(3')-VI, aac(6')-Ib-D181Y. Выявлен ген устойчивости к хлорамфениколу catA1. Ген fosA – глютатион S-трансферазы, определяющий устойчивость к фосфомицину. Гены мембранных белков мультилекарственной устойчивости за счет активации эффлюкса oqxA6, oqxB. Ген устойчивости к фторхинолонам qnrS1, сульфаниламидам sul1, тетрациклину tet(A).

Штаммы выделенных сиквенс типов демонстрировали наличие биомаркера вирулентности – генов *iuc A, B, C* (аэробактин), бактерии ST147 дополнительно имели гены ybtP, ybtQ (из острова высокой патогенности иерсиний), что позволяет прогнозировать фенотипы гипервирулентности.

Таблица 1 - Результаты секвенирования штаммов *K. pneumoniae*

DOI: https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.141.77.1

Сиквенс тип	Гены резистентности				Гены вирулентности
	к аминогликозидам	к β-лактамам	к карбапенемам	к другим препаратам	
ST147	aac(6')-Ib-AKT aadA1	blaOXA-1 blaOXA-9 blaSHV-11 blaTEM-150 blaNDM-1 blaCTX-M-15	blaOXA-48	catA1 catB3 fosA_gen oqxA6 oqxB19 qnrS1 arr-3 sul1	iucA, iucB, iucC, iutA, ybtP, ybtQ
ST395	aph(3')-VI aac(6')-Ib-D181Y	blaOXA-1 blaSHV-158 blaTEM-122 blaTEM-135 blaTEM-141	blaOXA-48	catA1 fosA_gen mph(A) oqxA oqxB	iucA, iucB, iucC, iutA

 © Авторы статьи / Authors of the article

Сиквенс тип	Гены резистентности				Гены вирулентности
	к аминогликозидам	к β-лактамам	к карбапенемам	к другим препаратам	
		blaTEM-1B blaTEM-1C blaTEM-29 blaTEM-55 blaTEM-57 blaNDM-1 blaCTX-M-15		qnrS1 sul1 tet(A) dfrA1	

A. baumannii является одним из самых приоритетных внутрибольничных патогенов во всем мире, поскольку обладает многими конститутивными факторами устойчивости и способен легко принимать R-плазмиды от бактерий других видов. В нашем случае штаммы *A. baumannii*, обладающие мультирезистентностью, были представлены тремя сиквенс типами ST19, ST25, ST78 (табл. 2). Все штаммы имели гены β-лактамаз blaADC (26, 152, 185) и bla GES-12. Так же выявлены гены β-лактамаз класса D устойчивых к ингибиторам функциональной группы 2d blaOXA-14, blaOXA-48, blaOXA-64, blaOXA-69, blaOXA-72, blaOXA-90. Обращает на себя внимание ST78, который дополнительно обладал генами blaCTX-M115 и blaCARB-14. У всех выделенных штаммов были гены ферментов, модифицирующих аминогликозиды aac(6')-Ib-AKT, ant(2")-Ia, ant(3")-IIa, aadA2. Штамм ST78 имел ген высокой устойчивости к аминогликозидам armA. Штаммы ST19 и ST78 имели ген устойчивости к хлорамфениколу catA1, причем у штамма ST19 эта устойчивость была связана еще и с наличием гена cmlA1. Штамм ST78 дополнительно имел ген устойчивости к хлорамфениколу floR. Все штаммы *A. baumannii* имели гены устойчивости к сульфаниламидам sul1, возбудители ST19 и ST25 дополнительно имели гены sul2, dfrA7. Штамм ST19 был устойчив к макролидам за счет гена tet(B), ST78 имел гены резистентности mphE и msrE.

Таблица 2 - Результаты секвенирования штаммов *A. baumannii*

DOI: https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.141.77.2

Сиквенс тип	Гены антибактериальной резистентности			
	к аминогликозидам	к β-лактамазам	к карбапенемазам	к другим препаратам
ST19	aph(3')-VIa aac(6')-Ib-AKT ant(2")-Ia ant(3")-IIa aadA2 aph(3")-Ib aph(6)-Id	blaADC-185 blaGES-12	blaOXA-69 blaOXA-72	catA1 cmlA1 sul1 sul2 tet(B) dfrA7
ST78	aac(6')-Ian aac(6')-Ib-AKT ant(2")-Ia ant(3")-IIa aadA2 aadA5	blaADC-152 blaCTX-M-115 blaGES-12	blaCARB-14 blaOXA-72 blaOXA-90	catA1 floR armA mph(E) msr(E) sul1
ST25	aac(6')-Ib-AKT ant(2")-Ia aph(3')-Ia ant(3")-IIa aadA1 aph(3")-Ib aph(6)-Id	blaADC-26 blaGES-12	blaOXA-48 blaOXA-64 blaOXA-72	sul1 sul2 dfrA7

Мультирезистентные штаммы *P. aeruginosa* были представлены тремя сиквенс типами ST357, ST644, ST773 (табл. 3). Все штаммы микроорганизмов имели широкий набор генов резистентности. Так, *P. aeruginosa* ST357 имеет 3 гена β-лактамаз широкого спектра класса blaOXA846, blaPDC374. Так же выявлены гены β-лактамаз расширенного спектра blaVEB14 и ген металло β-лактамазы blaNDM-1, гены карбапенемаз OXA-48, OXA-78 придающие устойчивость микробу к карбапенемам. Кроме того, выявлены 7 генов ферментов, модифицирующих аминогликозиды группы aac(6'), ant(2), apf(3), rmtB4, aadA1. Выявлены гены устойчивости к хлорамфениколу catB7. Ген fosA – глютатион S-трансферазы, определяющий устойчивость к фосфомицину. Ген устойчивости к фторхинолонам crpP, хлорамфениколу catB7, сульфаниламидам sul1, sul2, dfrB2 и макролидам tet(A).

 © Авторы статьи / Authors of the article

P. aeruginosa ST644 по спектру генов резистентности была схожа с ST357 и имела 3 гена β-лактамаз широкого спектра класса blaOXA846, blaPDC374. Также выявлены гены β-лактамаз расширенного спектра blaVEB14 гены карбапенемаз OXA-48, OXA-78 придающие устойчивость микробу к карбапенемам, но вместо blaNDM-1 имела bla CTX-M115. Кроме того, выявлены 3 гена ферментов, модифицирующих аминогликозиды группы aac(6'), apf(3), aadA1. Выявлены гены устойчивости к хлорамфениколу catB7. Ген fosA – глютатион S-трансферазы, определяющий устойчивость к фосфомицину. Ген устойчивости к фторхинолонам crpP, хлорамфениколу catB7, сульфаниламидам sul1, гены эффлюкса ogxA9, aqxB5.

Третий обнаруженный сиквенс тип ST773 имел ген β-лактамаз широкого спектра класса blaOXA-395, blaPDC-385. Так же выявлены гены β-лактамаз расширенного спектра blaPAO. Генов карбапенемаз OXA-48, OXA-78 придающие устойчивость микробу к карбапенемам не обнаружено, однако есть ген металлолактамазы blaNDM-1. Кроме того, выявлены 5 генов ферментов, модифицирующих аминогликозиды группы aac(6'), apf(3), aadA6, rmtB4. Выявлены гены устойчивости к хлорамфениколу catB7. Ген fosA – глютатион S-трансферазы, определяющий устойчивость к фосфомицину. Ген устойчивости к хлорамфениколу catB7, сульфаниламидам sul1.

Таблица 3 - Результаты секвенирования штаммов *P. aeruginosa*

DOI: https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.141.77.3

Сиквенс тип	Гены антибактериальной резистентности			
	к аминогликозидам	к β-лактамам	к карбапенемам	к другим препаратам
ST357	aac(6')-Ian aac(6')-Ib-AKT aac(6')-Il rmtB4 ant(2")-Ia aph(3')-IIb aadA1	blaOXA-846 blaNDM-1 blaPDC-374 blaVEB-14	blaOXA-48 blaOXA-72	catB7 floR2 crpP fosA-354827590 sul1 sul2 tet(A) dfrB2
ST644	aac(6')-Ian aph(3')-IIb aadA1	blaOXA-486 blaACT-15 blaCTX-M-115 blaPDC-374	blaOXA-48 blaOXA-72	catB7 floR crpP fosA fosA-354827590 oqxA9 oqxB5 sul1
ST773	aac(6')-Ib-cr4 aac(6')-Ian rmtB4 aph(3')-IIb aadA6	blaOXA-395 blaNDM-1 blaPDC-385 blaPAO	–	catB7 floR2 fosA-354827590 sul1

Обсуждение

Международные клональные линии высокого риска *полирезистентных и гипервирулентных штаммов K. pneumoniae* связанных с внутрибольничными инфекциями представлены в основном сиквенс-типами ST11, ST147, ST258, ST307, ST395. В наших исследованиях мы выделили два сиквенс типа ST147 и ST395. Похожую ситуацию описывали авторы в 2017 году во Франции [4], когда из 36 изолятов *K. pneumoniae* имеющих устойчивость к фторхинолонам и карбапенемам самыми распространенными были ST147 ST395. Кроме множественной резистентности эти штаммы не показывали увеличения вирулентности. Не так давно была описана *K. pneumoniae* ST147, выделенная от двух пациентов в Канаде и Турции [5], [6]. Генетический профиль устойчивости и патогенности был схожим с описанным нами. Штамм был устойчив к карбапенемам, β-лактамам, цефтазидим-авибактаму и макролидам, но оставался чувствительным к аминогликозидам и тигециклину. При этом выделенный штамм демонстрировал значительно более низкую скорость образования биопленок, а значит, имел низкую вирулентность. В нашем исследовании *K. pneumoniae* ST147 демонстрировали высокий уровень устойчивости и к аминогликозидам, а наличие целого спектра генов вирулентности свидетельствует о более высоком патогенном потенциале выделенных штаммов. Выделенный нами штамм *K. pneumoniae* ST147 свидетельствует о конвергенции свойств вирулентности и антибактериальной резистентности, что является опасным и требует пристального внимания.

Штамм *K. pneumoniae* ST395 выделенный нами также проявлял фенотипические и генотипические признаки множественной лекарственной устойчивости, а по набору генов вирулентности уступал ST147, выявлялись только гены аэробактина, что может говорить о достаточно высокой или, во всяком случае, не сниженной вирулентности.

Способность A. baumannii приобретать устойчивость делает его одним из наиболее важных внутрибольничных патогенов во всем мире. В нашем случае из трех выделенных штаммов *A. baumannii* ST78 обладал наибольшей

 © Авторы статьи / Authors of the article

мультирезистентностью за счет 7 генов устойчивости к аминогликозидам, 6 генов β-лактамаз групп OXA, CTX-M, CARB и 5 генов устойчивости к другим антибактериальным препаратам (хлорамфеникол, макролиды, сульфаниламиды). Описаны два подобных изолята *A. baumannii* ST78, которые были выделены у одного пациента в июле 2012 года в больнице в Гессене, и у второго пациента в сентябре 2013 года в Баварии, причем оба пациента ранее были госпитализированы в Москве после тяжелых дорожно-транспортных происшествий [7]. Авторы делают вывод, что этот сиквенс тип имеет высокое распространение и множественную лекарственную устойчивость за счет большого количества перекрестно работающих ферментов, некоторые из которых можно обнаружить только молекулярно-генетическими методами. Если этого не делать, то создаются условия для распространения антибактериальной резистентности.

Выявленные нами штаммы *P. aeruginosa* являются представителями широко распространенных линий синегнойной палочки, обладающей множественной устойчивостью. Так, *P. aeruginosa* ST 357 с аналогичным спектром генов резистентности была обнаружена в 2023 году в Бангладеш [8]. *P. aeruginosa* ST 773 высоко устойчивая к цефалоспоринам и карбапенемам и широким спектром генов резистентности к другим антибиотикам была обнаружена в 2023 году в Южной Корее [9]. *P. aeruginosa* ST 644 с множественной антибактериальной резистентностью выявлена в 2018 году у магеллановых пингвинов [10].

Можно заключить, что наиболее важными с точки зрения назначения антибактериальной терапии современными β-лактамами, карбапенемами, эпидемиологического мониторинга и выявления резистентности с помощью полимеразной цепной реакции в обследованном отделении являются для *K. pneumonia* гены резистентности blaTEM-150, blaNDM-1, blaCTX-M-15*A*, blaOXA-72; *для A. baumannii* гены резистентности blaCTX-M-115, blaOXA-48, blaOXA-64, blaOXA-69, blaOXA-72, blaCARB-14; для *P. aeruginosa* гены резистентности blaOXA-48, blaOXA-72, blaNDM-1, blaCTX-M-115.

Заключение

Одной из наиболее важных проблем, возникающих из-за устойчивости к противомикробным препаратам, является ее выявление и принятие правильного решения об адекватной терапии у пациентов. b-лактамазы расширенного спектра и карбапенемазы относятся к детерминантам резистентности, распространение которых представляет наибольшую угрозу целой группе антибактериальных препаратов – цефалоспоринам различных поколений и карбапенемам. В настоящее время критерии «CLSI 2020» не рекомендуют какой-либо конкретный подтверждающий фенотипический тест для определения механизмов резистентности, это решает каждая микробиологическая лаборатория самостоятельно. В оптимальной стратегии борьбы с антибактериальной устойчивости необходимо отслеживание фенотипов резистентности клинических изолятов, сбор сведений о генах, приводящих к определенному фенотипу и оценка их значимости. К сожалению, ни один из традиционных фенотипических микробиологических методов не обеспечивают детекции всех механизмов резистентности. Эта проблема обостряется, поскольку все чаще встречаются наличие у бактерий нескольких детерминант устойчивости одновременно. В этих условиях полногеномное секвенирование помогает выявлять широкий диапазон детерминант антибактериальной устойчивости. Применение его в качестве способа генетического надзора за изменениями в спектре генов резистентности позволяет определить мишени для применения полимеразной цепной реакции, с помощью которой можно быстро и точно выявить соответствующие детерминанты и принять обоснованное решение о начальной антибактериальной терапии у каждого пациента.

В некоторых случаях молекулярно-генетические методы позволяют идентифицировать проблемные возбудители и детерминанты антибактериальной резистентности в клиническом материале даже без выделения их в чистой бактериологической культуре, что существенно ускоряет оценку клинически значимых свойств микроорганизма. Поэтому представляется перспективным проведение регулярного микробиологического мониторинга инфекции, связанной с оказанием медицинской помощи методам полногеномного секвенирования.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

1. Яковлев С.В. Программа СКАТ (Стратегия Контроля Антимикробной Терапии) при оказании стационарной медицинской помощи: Российские клинические рекомендации / С.В. Яковлев, Н.И. Брико, С.В. Сидоренко [и др.] — М.: Перо, 2018. — 156 с.

2. Карпищенко А.И. Медицинская лабораторная диагностика: программы и алгоритмы: руководство для врачей / А.И. Карпищенко. — Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2023. — 976 с.

3. Котив Б.Н. Микробиологический мониторинг инфекции, связанной с оказанием медицинской помощи в военно-медицинских организациях Министерства обороны Российской Федерации (методические рекомендации) / Б.Н. Котив, Б.Ю. Гумилевский, Ф.В. Иванов [и др.] — Санкт-Петербург: ВМедА, 2023. — 56 с.

 © Авторы статьи / Authors of the article

4. Muggeo A. Spread of Klebsiella Pneumoniae ST395 Non-Susceptible to Carbapenems and Resistant to Fluoroquinolones in North-Eastern France / A. Muggeo, T. Guillard, F. Klein [et al.] // J Glob Antimicrob Resist. — 2018. — 13. — P. 98-103. — DOI: 10.1016/j.jgar.2017.10.023.

5. Fang J. Analysis of the Hypovirulent Klebsiella Pneumonia with the NDM-5 Gene on IncN Plasmids / J. Fang, G. Wang, X. Kang [et al.] // Microbiol Spectr. — 2024. — 12(1). — P. e0344323. — DOI: 10.1128/spectrum.03443-23.

6. Kutlu H.H. The Emergence of Klebsiella Pneumoniae Sequence Type 395 Non-Susceptible to Carbapenems and Colistin from Turkey / H.H. Kutlu, İ Dolapçı., M. Avcı [et al.] // Indian J Med Microbiol. — 2023. — 46. — P. 100419. — DOI: 10.1016/j.ijmmb.2023.100419.

7. Pfeifer Y. Carbapenem-Resistant Acinetobacter Baumannii ST78 with OXA-72 Carbapenemase and ESBL Gene blaCTX-M-115 / Y. Pfeifer, K.P. Hunfeld, S. Borgmann [et al.] // J Antimicrob Chemother. — 2016. — 71(5). — P. 1426-1428. — DOI: 10.1093/jac/dkv462.

8. Mondol S.M. Unveiling a High-Risk Epidemic Clone (ST 357) of 'Difficult to Treat Extensively Drug-Resistant' (DT-XDR) Pseudomonas Aeruginosa from a Burn Patient in Bangladesh: A resilient beast revealing coexistence of four classes of beta lactamases / S.M. Mondol, M.R. Islam, N.N. Rakhi [et al.] // J Glob Antimicrob Resist. — 2023. — 36. — P. 83-95. — DOI: 10.1016/j.jgar.2023.11.014.

9. Choi Y.J. Emergence of NDM-1-producing Pseudomonas aeruginosa Sequence Type 773 Clone: Shift of Carbapenemase Molecular Epidemiology and Spread of 16S rRNA Methylase Genes in Korea / Y.J. Choi, Y.A. Kim, K. Junglim [et al.] // Ann Lab Med. — 2023. — 43(2). — P. 196-199. — DOI: 10.3343/alm.2023.43.2.196.

10. Sellera F.P. Draft Genome Sequence of an Extensively Drug-Resistant Pseudomonas Aeruginosa Isolate Belonging to ST644 Isolated from a Footpad Infection in a Magellanic Penguin (Spheniscus magellanicus) / F.P. Sellera, M.R. Fernandes, Q. Moura [et al.] // J Glob Antimicrob Resist. — 2018. — 12. — P. 88-89. — DOI: 10.1016/j.jgar.2017.12.009.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Jakovlev S.V. Programma SKAT (Strategija Kontrolja Antimikrobnoj Terapii) pri okazanii stacionarnoj medicinskoj pomoshhi: Rossijskie klinicheskie rekomendacii [The SCAT program (Antimicrobial Therapy Control Strategy) in the provision of inpatient medical care: Russian clinical recommendations] / S.V. Jakovlev, N.I. Briko, S.V. Sidorenko [et al.] — M.: Pero, 2018. — 156 p. [in Russian]

2. Karpishhenko A.I. Medicinskaja laboratornaja diagnostika: programmy i algoritmy: rukovodstvo dlja vrachej [Medical laboratory diagnostics: programs and algorithms: a guide for doctors] / A.I. Karpishhenko. — Moscow: GJeOTAR-Media, 2023. — 976 p. [in Russian]

3. Kotiv B.N. Mikrobiologicheskij monitoring infekcii, svjazannoj s okazaniem medicinskoj pomoshhi v voenno-medicinskih organizacijah Ministerstva oborony Rossijskoj Federacii (metodicheskie rekomendacii) [Microbiological monitoring of infection associated with the provision of medical care in military medical organizations of the Ministry of Defense of the Russian Federation (methodological recommendations)] / B.N. Kotiv, B.Ju. Gumilevskij, F.V. Ivanov [et al.] — Saint-Petersburg: VMedA, 2023. — 56 p. [in Russian]

4. Muggeo A. Spread of Klebsiella Pneumoniae ST395 Non-Susceptible to Carbapenems and Resistant to Fluoroquinolones in North-Eastern France / A. Muggeo, T. Guillard, F. Klein [et al.] // J Glob Antimicrob Resist. — 2018. — 13. — P. 98-103. — DOI: 10.1016/j.jgar.2017.10.023.

5. Fang J. Analysis of the Hypovirulent Klebsiella Pneumonia with the NDM-5 Gene on IncN Plasmids / J. Fang, G. Wang, X. Kang [et al.] // Microbiol Spectr. — 2024. — 12(1). — P. e0344323. — DOI: 10.1128/spectrum.03443-23.

6. Kutlu H.H. The Emergence of Klebsiella Pneumoniae Sequence Type 395 Non-Susceptible to Carbapenems and Colistin from Turkey / H.H. Kutlu, İ Dolapçı., M. Avcı [et al.] // Indian J Med Microbiol. — 2023. — 46. — P. 100419. — DOI: 10.1016/j.ijmmb.2023.100419.

7. Pfeifer Y. Carbapenem-Resistant Acinetobacter Baumannii ST78 with OXA-72 Carbapenemase and ESBL Gene blaCTX-M-115 / Y. Pfeifer, K.P. Hunfeld, S. Borgmann [et al.] // J Antimicrob Chemother. — 2016. — 71(5). — P. 1426-1428. — DOI: 10.1093/jac/dkv462.

8. Mondol S.M. Unveiling a High-Risk Epidemic Clone (ST 357) of 'Difficult to Treat Extensively Drug-Resistant' (DT-XDR) Pseudomonas Aeruginosa from a Burn Patient in Bangladesh: A resilient beast revealing coexistence of four classes of beta lactamases / S.M. Mondol, M.R. Islam, N.N. Rakhi [et al.] // J Glob Antimicrob Resist. — 2023. — 36. — P. 83-95. — DOI: 10.1016/j.jgar.2023.11.014.

9. Choi Y.J. Emergence of NDM-1-producing Pseudomonas aeruginosa Sequence Type 773 Clone: Shift of Carbapenemase Molecular Epidemiology and Spread of 16S rRNA Methylase Genes in Korea / Y.J. Choi, Y.A. Kim, K. Junglim [et al.] // Ann Lab Med. — 2023. — 43(2). — P. 196-199. — DOI: 10.3343/alm.2023.43.2.196.

10. Sellera F.P. Draft Genome Sequence of an Extensively Drug-Resistant Pseudomonas Aeruginosa Isolate Belonging to ST644 Isolated from a Footpad Infection in a Magellanic Penguin (Spheniscus magellanicus) / F.P. Sellera, M.R. Fernandes, Q. Moura [et al.] // J Glob Antimicrob Resist. — 2018. — 12. — P. 88-89. — DOI: 10.1016/j.jgar.2017.12.009.