

Elizabethkingia meningoseptica – характеристика клинически значимого патогена

М.Е.Канашенко, И.П.Мицевич, Н.Н.Карцев, Е.И.Асташкин, Е.В.Детушева,
М.В.Храмов, Э.А.Светоч, Н.К.Фурсова

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора,
Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Elizabethkingia meningoseptica является относительно новым и малоизученным патогеном, представляющим собой внутрибольничную угрозу с высоким риском осложнений и смертности для недоношенных новорожденных и иммунокомпрометированных больных. К сожалению, в нашей стране этиологическая роль данного микроорганизма изучена слабо, а учет выявления данного возбудителя в клинической практике не ведется. В связи с этим изучение данного возбудителя представляется весьма актуальным для практикующих врачей-бактериологов и исследователей. Анализ литературных данных, а также полученные нами результаты свидетельствуют, что *E. meningoseptica* следует рассматривать как потенциальный патоген, для которого характерен уникальный характер восприимчивости к антимикробным препаратам. В статье представлены данные исследования вспышки заболеваемости в одном из перинатальных центров Российской Федерации, где в январе–феврале 2016 г. было зарегистрировано три случая сепсиса с летальным исходом у недоношенных новорожденных, вызванного сочетанной инфекцией *Acinetobacter baumannii* и *E. meningoseptica*. Также приводятся результаты изучения культуральных, микроскопических, биохимических, фенотипических и генетических свойств *E. meningoseptica*, включающих характеристику роста на различных коммерческих питательных средах, определение биохимического профиля, определение способности формирования биопленок, RAPD-генотипирование и секвенирование гена 16S рРНК.

Ключевые слова: *Elizabethkingia meningoseptica*, нозокомиальные инфекции, идентификация микроорганизмов, секвенирование 16S рРНК

Для цитирования: Канашенко М.Е., Мицевич И.П., Карцев Н.Н., Асташкин Е.И., Детушева Е.В., Храмов М.В., Светоч Э.А., Фурсова Н.К. *Elizabethkingia meningoseptica* – характеристика клинически значимого патогена. Бактериология. 2021; 6(1): 8–15. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-1-8-15

Elizabethkingia meningoseptica – characteristics of a significant clinical pathogen

М.Е.Kanashenko, I.P.Mitsevich, N.N.Kartsev, E.I.Astashkin, E.V.Detusheva,
M.V.Khramov, E.A.Svetoch, N.K.Fursova

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

Elizabethkingia meningoseptica is a relatively new and little-studied pathogen that may represent a nosocomial threat with a high risk of complications and mortality for premature infants and immunocompromised patients. Unfortunately, in our country the etiological role of this microorganism is poorly studied and little attention is paid for the identification of this pathogen in clinical practice. In this regard, the study of this pathogen seems to be relevant for practicing bacteriologists and researchers. An analysis of the literature data, as well as our results indicate that *E. meningoseptica* should be considered as a potential pathogen, which is characterized by a unique nature of susceptibility to antimicrobial agents. The article presents data of investigation of an infectious outbreak in one of prenatal centers of the Russian Federation, where three cases of fatal sepsis in premature neonates caused by co-infection of *Acinetobacter baumannii* and *E. meningoseptica* were reported in the period from January to February 2016. The article also presents the data of further cultural, microscopic, biochemical, genetic and phenotypic studies of *E. meningoseptica*, including the characterization of growth on various commercial nutrient media, determination of the biochemical profile, biofilm formation, RAPD analysis and 16S rRNA gene sequence.

Key words: *Elizabethkingia meningoseptica*, nosocomial infections, identification of microorganisms, 16S rRNA sequence

For citation: Kanashenko M.E., Mitsevich I.P., Kartsev N.N., Astashkin E.I., Detusheva E.V., Khramov M.V., Svetoch E.A., Fursova N.K. *Elizabethkingia meningoseptica* – characteristics of a significant clinical pathogen. Bacteriology. 2021; 6(1): 8–15. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2021-1-8-15

Для корреспонденции:

Канашенко Мария Евгеньевна, младший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0079
E-mail: Kanashenko@obolensk.org

Статья поступила 05.04.2021 г., принята к печати 30.06.2021 г.

For correspondence:

Maria E. Kanashenko, junior researcher of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology

Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0079
E-mail: kanashenko@obolensk.org

The article was received 05.04.2021, accepted for publication 30.06.2021

Род *Elizabethkingia* назван в честь Элизабет О. Кинг, впервые описавшей эти бактерии, ставшие причиной менингита у новорожденных в 1959 г. и назвавшей их [*Flavobacterium*] *meningosepticum*. В 1994 г. была произведена реклассификация возбудителя, и его отнесли к семейству *Flavobacteriaceae*, роду *Chryseobacterium*, виду *Chryseobacterium meningosepticum*. В 2005 г. на основании анализа 16S рНК было принято решение выделить в семействе *Flavobacteriaceae* новый род *Elizabethkingia*, к которому на данный момент принадлежат четыре вида возбудителя: *E. meningoseptica*, *E. miricola*, *E. anopheles* и *E. endophytica* [1].

E. meningoseptica встречается повсеместно в почве и воде. Внутрибольничные вспышки могут возникать при использовании загрязненной возбудителем воды или медицинских устройств и инструментария [2–4].

Морфологически *E. meningoseptica* представляет собой тонкие, слегка изогнутые одиночные палочки с закругленными концами, грамотрицательные и неподвижные. Они не образуют эндоспоры и являются облигатными аэробами [1]. О наличии капсулы сообщалось у некоторых штаммов *E. meningoseptica* после постановки биопробы на мышах [5].

E. meningoseptica хорошо растет на обычных питательных средах и не требует дополнительных факторов роста [6]. По некоторым данным, на кровяном агаре гемолиз отсутствует, но у некоторых штаммов среда может иметь зеленое или сероватое обесцвечивание вокруг колоний из-за протеаз и желатиназы. Однако более поздние исследования сообщают о наличии альфа-гемолиза, подтверждаемого обнаружением генов, кодирующих гемолизины [7].

Отличительной чертой *E. meningoseptica* является медленный и слабый рост или его отсутствие на агаре МакКонки. Аэробные условия культивирования при температуре 22–37°C являются оптимальными [8]. Виды *Elizabethkingia* являются галотолерантными – особенность, наблюдаемая у представителей большинства видов семейства *Chryseobacterium* [9].

Данный возбудитель относится к группе неферментирующих грамотрицательных бактерий (НГОБ), однако его биохимические свойства весьма вариабельны, что делает идентификацию микроорганизма на основании биохимических реакций ненадежной. Так, по некоторым литературным данным, при постановке теста на автоматическом микробиологическом анализаторе Vitek 2 Compact (BioMérieux, Франция) *E. meningoseptica* ошибочно принималась за *Sphingobacterium* spp. (микроорганизм, также принадлежащий к семейству *Flavobacteriaceae*) [10].

Elizabethkingia являются типичными условно-патогенными микроорганизмами, которые вызывают инфекционный процесс только у иммунокомпрометированных людей [11]. У новорожденных менингит является наиболее распространенной клинической формой заболевания, вызываемого этим микроорганизмом. Бактериемия и пневмония – другие частые проявления этой инфекции у новорожденных. Ассоциированная с *E. meningoseptica* инфекция обычно возникает у недоношенных детей и часто проходит в виде вспышек болезни [2, 12].

Штаммы *E. meningoseptica* являются природно устойчивыми к полимиксинам, аминогликозидам (например, гента-

мицину, стрептомицину), хлорамфениколу и большинству β-лактамовых антибиотиков, включая пенициллин и ампициллин [13].

В связи с таким широким спектром естественной множественной антибактериальной устойчивости трудно определить наиболее эффективные антимикробные препараты (АМП) для лечения заболеваний, ассоциированных с *E. meningoseptica*. Ранее исследователи рекомендовали ванкомицин, особенно в случаях менингита у новорожденных детей, но впоследствии его эффективность многими исследователями была поставлена под сомнение ввиду высоких минимальных подавляющих концентраций препарата для данного патогена [14–16]. В этой связи появились сообщения об эффективности сочетанного применения ванкомицина и рифампицина при лечении *E. meningoseptica*-инфекции у детей [17].

Согласно некоторым исследованиям, были отмечены несоответствия в паттернах чувствительности *E. meningoseptica* к антибиотикам при постановке тестов диско-диффузионным методом и методом серийных разведений в бульоне, поэтому определение чувствительности диско-диффузионным методом, как правило, не рекомендуется [18, 19].

Цель исследования: изучение культурально-морфологических, фено- и генотипических свойств изолятов *E. meningoseptica*, выделенных от трех погибших недоношенных новорожденных детей.

Материалы и методы

Из Перинатального центра РФ для исследования во ФБУН ГНЦ ПМБ поступили образцы клинического и секционного материала от трех умерших недоношенных детей с предварительным диагнозом «сепсис».

Взвесь паренхиматозных органов (в 0,9%-м водном растворе хлорида натрия), бронхоальвеолярный лаваж и смывы из носоглотки высевали на следующие питательные среды производства ФБУН ГНЦ ПМБ: ГРМ-агар; лактозный ТТХ-агар с тергитолом 7; шоколадный агар на основе FT; бруцелла-агар с 5% бараньей крови; менингококковый агар; легионеллезный агар; стафилококк-агар с эмульсией яичного желтка; агар Эндо; среда накопления – тиогликолевый бульон. Посевы инкубировали в аэробных условиях и при повышенном содержании CO₂ при температуре 37°C.

Выделенные культуры микроскопировали и идентифицировали с помощью автоматической системы MALDI-TOF-Biotyper (Bruker, США). Биохимическую идентификацию проводили на автоматическом микробиологическом анализаторе Vitek 2 Compact (BioMérieux, Франция) с помощью карт GN.

В дальнейшем ходе исследования характер роста культуры *E. meningoseptica* был изучен на 13 различных коммерческих питательных средах (табл. 1) производства ФБУН ГНЦ ПМБ (Оболонск) и среде URISelectAgar (Bio-Rad, США) при культивировании в аэробных условиях при температуре 37°C. Учет роста культур производился через 24 и 48 ч.

Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с RAPD-праймерами (RAPD-ПЦР) с использованием праймеров 1247, OPA11, Wil2 проведено генетическое типирование трех изолятов *E. meningoseptica*, выделенных от трех умерших новорожденных детей.

Методом ПЦР со специфичными праймерами 16s 27F (5'-agagtttgatcctggctcag-3') и 16S 1492R (5'-acggctactctgttacgact-3') производили наработку участка гена 16S rPHK. В качестве матрицы для проведения ПЦР использовали клеточный термоллизат штамма. Секвенирование по Сэнгеру проводили в компании «Синтол» (Москва). Полученную последовательность гена 16S rPHK сравнивали с последовательностями, размещенными в базе данных GenBank, с помощью инструмента BLAST (Basic Local Alignment Search Tool, <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Определение способности к образованию биопленки проводили при помощи метода, основанного на способности красителя кристаллического фиолетового связываться с клетками и матриксом биопленок [20, 21]. Для получения биопленок использовали 96-луночные плоскодонные культуральные планшеты, в которые засеивали по 200 мкл суточной бактериальной культуры в концентрации 10⁶ КОЕ/мл и культивировали 20–24 ч при температуре 37°C. Затем из

лунок планшета осторожно отбирали среду с планктонными клетками. Для удаления оставшихся планктонных клеток лунки с биопленками промывали в течение 2–3 мин стерильным буфером PBS в том же объеме, в котором проходило культивирование, после чего буфер полностью удаляли пипетированием. Далее в каждую лунку вносили по 200 мкл отфильтрованного 0,1%-го раствора генциана фиолетового, инкубировали биопленки с красителем в течение 10–15 мин при комнатной температуре, после чего краситель пипетированием полностью удаляли из лунки. Несвязавшийся краситель тщательно смывали PBS-буфером, планшеты переворачивали на фильтровальную бумагу и высушивали. После полного высыхания поверхности в лунки добавляли смесь этанола-изопропанола (1:1) в объеме 200 мкл, смывали краситель с поверхности лунок, отбирали и помещали в чистые плоскодонные планшеты. Оптическую плотность полученной суспензии измеряли при длине волны 590 нм.

Таблица 1. Характер роста *E. meningoseptica* на различных питательных средах

Наименование питательной среды	Наличие роста (аэробные условия, 37°C, 24 ч)	Характер роста через 24 ч культивирования	Характер роста через 48 ч культивирования
Питательный агар для культивирования микроорганизмов ГРМ №1	+	Мелкие, 1–2 мм в диаметре, прозрачные, округлой формы колонии с ровными краями	Увеличение размера колоний на 0,5–1 мм
Питательный агар для культивирования микроорганизмов ТСА с 7% бараньей крови	+	Мелкие, 1–2 мм в диаметре, сероватые, округлой формы колонии с ровными краями с незначительной зоной гемолиза	2–4 мм в диаметре, серовато-желтые, округлые колонии с ровными краями с более выраженной зоной альфа-гемолиза
Шоколадный агар	+	Мелкие, 1–2 мм в диаметре, сероватые, округлой формы колонии с ровными краями без зоны гемолиза	Увеличение размера колоний 0,5–1 мм
URI Select Agar	+	Мелкие, 1–2 мм в диаметре, цвета среды или с легким красно-коричневым оттенком, округлой формы колонии с ровными краями	2–4 мм в диаметре, с выраженным коричневатым центром и ободком цвета среды, шероховатые колонии с неровным краем
Питательная среда с эозин-метиленовым синим (среда Левина)	-/+	Очень мелкие, едва различимые, до 1 мм в диаметре, прозрачные, округлой формы колонии с ровными краями	2–3 мм в диаметре, ярко-розовые, округлые колонии с ровными краями
Питательная среда для выделения энтеробактерий (агар Эндо)	+	Мелкие, 1–2 мм в диаметре, цвета среды, округлой формы колонии с ровными краями	2–4 мм в диаметре, с выраженным розового цвета центром и прозрачным ободком, округлые колонии с ровными краями
Сабуро агар с мальтозой	+	Мелкие, 1–2 мм в диаметре, цвета среды, округлой формы колонии с ровными краями	Увеличение размера колоний на 0,5–1 мм
Сорбитол <i>E.coli</i> O157:H7 агар	+	Мелкие, 1–2 мм в диаметре, цвета среды с более темным центром, округлой формы колонии с ровными краями	2–4 мм в диаметре, со светло-розовым центром и прозрачным ободком, округлые колонии с ровными краями
Питательная среда для обнаружения и выделения колиформных бактерий и кишечных палочек (МакКонки агар)			Рост отсутствует
Питательная среда для выделения и дифференциации патогенных энтеробактерий (XLD-агар)			Рост отсутствует
Питательный агар для обнаружения и учета <i>E. coli</i> и колиформных бактерий (лактозный ТТХ-агар с тергитолом 7)			Рост отсутствует
Питательный агар с бриллиантовым зеленым, феноловым красным, лактозой, сахарозой (БФЛС ГРМ агар)			Рост отсутствует
Питательная среда для выделения энтерококков (энтерококк-агар)			Рост отсутствует
Питательная среда для выделения стафилококков (стафилококк-агар)			Рост отсутствует

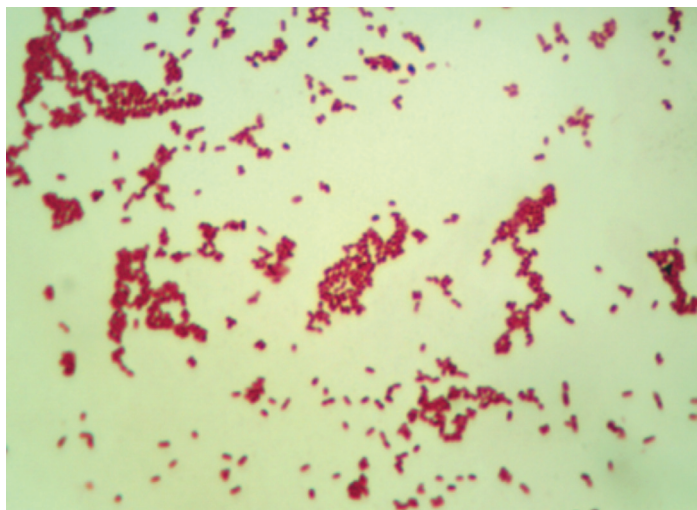


Рис. 1. Мазок *E. meningoseptica*, окраска по Граму, увеличение $\times 100$.

Результаты и обсуждение

Из всех проанализированных образцов от трех умерших новорожденных детей были выделены чистые культуры микроорганизмов, идентифицированные на приборе MALDI-TOF Biotyper как *A. baumannii* и *E. meningoseptica* (табл. 2).

При микроскопическом исследовании суточных культур трех выделенных изолятов *E. meningoseptica*, выращенных на питательной среде ГРМ №1 в аэробных условиях при 37°C, были обнаружены короткие грамотрицательные одиночные палочки с закругленными концами (рис. 1).

На автоматическом анализаторе VITEK 2 Compact (bioMérieux, Франция) с помощью карт GN все три выделенных штамма были идентифицированы как *Sphingobacterium spiritivorum* с вероятностью 89% (табл. 3).

По результатам посева чистых культур трех выделенных изолятов *E. meningoseptica* на 7 средах рост отмечали уже

через 24 ч (ГРМ №1, ТСА с 7% бараньей крови, шоколадный агар, URISelect Agar, агар Эндо, Сабуро агар с мальтозой, сорбитол *E. coli* O157:H7 агар). На питательной среде с эозин-метиленовым синим (среда Левина) отмечали замедленный рост едва различимых прозрачных колоний менее 1 мм в диаметре. На 6 питательных средах рост полностью отсутствовал через 24 и 48 ч (МакКонки агар, XLD-агар, лактозный ТТХ-агар с тергитолом 7, БФЛС ГРМ агар, энтерококк-агар, стафилококк-агар).

Через 48 ч на 5 питательных средах отмечали изменение характера роста. На питательном агаре ТСА с 7% бараньей крови, помимо увеличения в размере, колонии приобрели желтоватый оттенок в центре, а зона альфа-гемолиза увеличилась и приобрела зеленоватый оттенок. На среде URISelect Agar колонии увеличились в размере до 2–4 мм в диаметре, приобрели выраженную коричневатую окраску центральной части, в то время как зона периферии осталась цвета среды, а поверхность колонии поменялась с гладкой на шероховатую с неровным краем. На среде Левина колонии значительно увеличились в размерах (до 2–3 мм в диаметре) и стали отчетливо визуализироваться, а также приобрели ярко-розовую окраску. На средах агар Эндо и Сорбитол *E. coli* O157:H7 агар цвет центральной части колоний приобрел более интенсивное розовое окрашивание, в то время как периферическая часть осталась прозрачной. На остальных средах характер роста значительно не изменился. Результаты изучения культуральных свойств *E. meningoseptica* представлены в табл. 2 и на рис. 2.

По результатам RAPD-ПЦР все три изолята были отнесены к одной генетической линии.

Полученная последовательность гена 16S рРНК изолята *E. meningoseptica* OR-1 продемонстрировала 100%-ю гомологию со штаммами *Elizabethkingia anophelis* O422 (ID: CP016370.1) и *Ch. meningosepticum* ATCC 13254 (ID: AJ704541.1) и была депонирована в GenBank (ID: MW092769).

Используемый метод позволил получить относительные показатели плотности всей биопленки, сформировавшейся на поверхности лунки культурального планшета. Результаты интерпретировали согласно оптической плотности чистого растворителя без добавления красителя. В результате математических расчетов было определено, что все изоляты *E. meningoseptica* обладали способностью к образованию биопленки высокой плотности.

Заключение

Инфекция, вызываемая *E. meningoseptica*, нередко диагностируется в Европе, Азии и других странах, особенно среди новорожденных детей и иммунокомпрометированных людей [2–4, 10–12, 14, 16, 17]. Однако в Российской Федерации этот возбудитель мало известен специалистам, занимающимся диагностикой бактериальных патогенов.

Для данного возбудителя характерен исключительно широкий спектр природной резистентности к АМП различных классов: большинству β -лактамовых антибиотиков, включая пенициллин и ампициллин, полимиксином, аминогликозидам, цефалоспорином и амфениколам [11–13, 17]. Это существенно отличает данный патоген от других грамотрицательных бактерий, в том числе группы НГОБ. Множественная

Таблица 2. Результаты MALDI-TOF-идентификации культур микроорганизмов, выделенных из образцов от трех умерших детей

Образец	Объект исследования	Определяемые показатели	Результат исследования
Or-1 (Культуры микроорганизмов, выделенные из носоглотки)	Культура №1	Патогенные и условно патогенные бактерии	<i>E. meningoseptica</i> Score Value 2.262
	Культура №2		<i>A. baumannii</i> Score Value 2.385
Or-2 (Культуры микроорганизмов, выделенные из носоглотки)	Культура №1	Патогенные и условно патогенные бактерии	<i>E. meningoseptica</i> Score Value 2.152
	Культура №2		<i>A. baumannii</i> Score Value 2.585
Or-2 (Культуры микроорганизмов, выделенные из бронхоальвеолярного лаважа)	Культура №1	Патогенные и условно патогенные бактерии	<i>E. meningoseptica</i> Score Value 2.152
	Культура №2		<i>A. baumannii</i> Score Value 2.523
Or-3 (Культуры микроорганизмов, выделенные из носоглотки)	Культура №1	Патогенные и условно патогенные бактерии	<i>E. meningoseptica</i> Score Value 2.232
	Культура №2		<i>A. baumannii</i> Score Value 2.474

Таблица 3. Биохимическая идентификация культур *E. meningoseptica* на автоматическом анализаторе Vitek 2 Compact (карта GN, BioMérieux, Франция)

Биохимический тест	Фермент	Изолят		
		Or-1	Or-2	Or-3
APPA	Ариламидаза	+	+	+
ADO	Адонитол	–	–	–
PyrA	L-пирролидонариламидаза	+	+	+
IARL	L-арабит	–	–	–
dCEL	D-целлобиоза	+	+	+
BGAL	β-галактозидаза	+	+	+
H2 S	Продукция H2S	–	–	–
BNAG	β-N-ацетилглюкозаминидаза	+	+	+
AGLTp	Глютаминариламидаза	+	+	+
dGLU	D-глюкоза	+	+	+
GGT	γ-глутамилтрансфераза	+	+	+
OFF	Сбраживание глюкозы	–	–	–
BGLU	β-глюкозидаза	+	+	+
dMAL	D-мальтоза	+	+	+
dMAN	D-маннит	+	+	+
dMNE	D-манноза	+	+	+
BXYL	β-ксилозидаза	–	–	–
BAlap	β-аланинариламидаза	–	–	–
ProA	L-пролинариламидаза	+	+	+
LIP	Липаза	–	–	–
PLE	Палатиноза	–	–	–
TyrA	Тирозинариламидаза	+	+	+
URE	Уреаза	+	+	+
dSOR	D-сорбит	+	+	+
SAC	Сахароза	+	(–)	+
dTAG	D-тагатоза	–	–	–
dTRE	D-трегалоза	+	+	+
CIT	Цитрат натрия	–	–	–
MNT	Малонат	–	–	–
5KG	5-кето-D-глюконат	–	–	–
ILATk	L-лактат	–	–	–
AGLU	α-глюкозидаза	+	+	+
SUCT	Сукцинат	–	–	–
NAGA	β-N-ацетилгалактозаминидаза	+	+	+
AGAL	α-галактозидаза	+	+	+
PHOS	Фосфотаза	+	+	+
GLyA	Глицинариламидаза	+	+	+
ODC	Орнитиндекарбоксилаза	–	–	–
LDC	Лизиндекарбоксилаза	–	–	–
IHSa	Декарбоксилаза (контроль роста)	–	–	–
CMT	Кумарат	–	–	–
BGUR	β-глюкуронидаза	–	–	–
O129R	Устойчивость к вибриостатическому агенту O/12	–	–	–
GGAA	Glu-Gly-Arg-ариламидаза	+	+	+
IMLTa	L-малат	–	–	–
ELLM	Элман	–	(–)	(–)
ILATa	L-лактат	–	–	–
Интерпретация		<i>Sphingobacterium spiritivorum</i> (89%)	<i>Sphingobacterium spiritivorum</i> (89%)	<i>Sphingobacterium spiritivorum</i> (89%)

«+» – наличие ферментативной реакции; «–» – отсутствие ферментативной реакции; «(–)» – большей частью отсутствие ферментативной реакции.

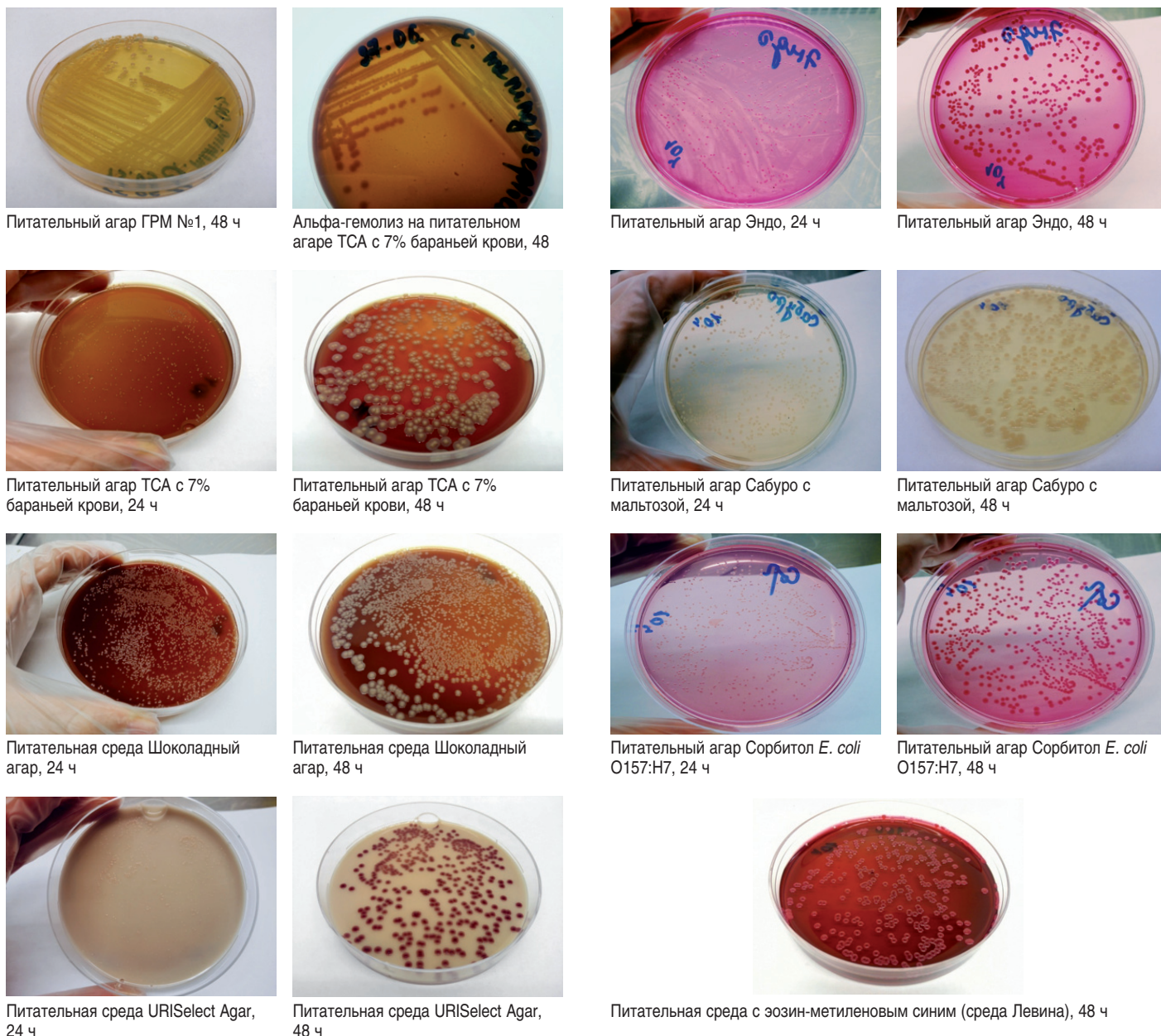


Рис. 2. Характер роста *E. meningoseptica* на различных питательных средах через 24 и 48 ч культивирования.

лекарственная устойчивость *E. meningoseptica* к АМП существенно осложняет выбор эффективных этиотропных средств лечения.

В настоящей работе мы представляем данные о выделении, идентификации и свойствах клинических штаммов *E. meningoseptica*, изолированных от трех новорожденных недоношенных детей, умерших от смешанной инфекции, обусловленной *A. baumannii* и *E. meningoseptica*.

Первой задачей работы явился подбор оптимального метода быстрой и достоверной идентификации *E. meningoseptica*. Было установлено, что результаты биохимической идентификации с помощью автоматического анализатора Vitek 2 Compact (карта GN, bioMérieux, Франция) соответствовали известным литературным данным, согласно которым *E. meningoseptica* зачастую ошибочно типировается как *S. spiritivorum* (микроорганизм из семейства *Flavobacterium*) [10].

Кроме того, по характеру роста на различных коммерческих питательных средах было показано, что возможность четко дифференцировать данный микроорганизм от других возбудителей, входящих в группу НГОБ, представляется маловероятной. Однако, принимая во внимание отсутствие роста на таких дифференциальных питательных средах, как МакКонки агар, XLD-агар, лактозный ТТХ-агар с тергитолом 7, БФЛС ГМ агар, энтерококк-агар, стафилококк-агар, замедленный рост на среде Левина, характерный рост на среде URISelect Agar и наличие альфа-гемолиза на среде ТСА с 7% бараньей крови, можно провести первичную дифференциацию *E. meningoseptica* от бактерий кишечной группы и кокковой микрофлоры.

Наиболее достоверными методами родовой и видовой идентификации данного микроорганизма явились масс-спектрометрический анализ (на примере прибора MALDI-TOF, Biotyper Bruker, США) и секвенирование гена 16S рПНК.

Также было установлено, что изоляты *E. meningoseptica* обладают высокой способностью к образованию биопленок, что может существенно сказываться на чувствительности к антибактериальным препаратам у представителей госпитальных патогенов и требует углубленного анализа, включая моделирование бактериальных биопленок для оценки реальной чувствительности к антисептикам и дезинфектантам.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Financial support

The work was carried out within the framework of the sectorial program of Rosпотребнадзор.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература / References

- Krieg NR, Ludwig W, Whitman W, Hedlund BP, Paster BJ, Staley JT, et al. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume 4: The *Bacteroidetes*, *Spirochaetes*, *Tenericutes (Mollicutes)*, *Acidobacteria*, *Fibrobacteres*, *Fusobacteria*, *Dictyoglomi*, *Gemmatimonadetes*, *Lentisphaerae*, *Verrucomicrobia*, *Chlamydiae*, and *Planctomycetes*, Second edition. Springer-Verlag, 2011; pp. 202-10.
- Ceyhan M, Yildirim I, Tekeli A, Yurdakok M, Us E, Altun B, et al. A *Chryseobacterium meningosepticum* outbreak observed in 3 clusters involving both neonatal and non-neonatal pediatric patients. *Am J Infect Control*. 2008 Aug;36(6):453-7. DOI: 10.1016/j.ajic.2007.09.008
- Bloch KC, Nadarajah R, Jacobs R. *Chryseobacterium meningosepticum*: an emerging pathogen among immunocompromised adults. Report of 6 cases and literature review. *Medicine (Baltimore)*. 1997 Jan;76(1):30-41. DOI: 10.1097/00005792-199701000-00003
- Hoque SN, Graham J, Kaufmann ME, Tabaqchali S. *Chryseobacterium (Flavobacterium) meningosepticum* outbreak associated with colonization of water taps in a neonatal intensive care unit. *J Hosp Infect*. 2001 Mar;47(3):188-92. DOI: 10.1053/jhin.2000.0908
- Holmes B, Owen RJ, McMeekin TA. Genus *Flavobacterium*. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 1. Baltimore, Williams&Wilkins Co.; 1984; pp. 353-61.
- Kim KK, Bae HS, Schumann P, Lee ST. *Chryseobacterium daecheongense* sp. nov., isolated from freshwater lake sediment. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2005 Jan;55(Pt 1):133-138. DOI: 10.1099/ijs.0.02931-0
- Chen S, Soehnlén M, Downes FP, Walker ED. Insights from the draft genome into the pathogenicity of a clinical isolate of *Elizabethkingia meningoseptica* Em3. *Stand Genomic Sci*. 2017 Sep 16;12:56. DOI: 10.1186/s40793-017-0269-8
- Bruun B, Ursing J. Phenotypic characterization of *Flavobacterium meningosepticum* strains identified by DNA-DNA hybridization. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand B*. 1987 Feb;95(1):41-7. DOI: 10.1111/j.1699-0463.1987.tb03085.x
- Bernardet JF, Vancanneyt M, Matte-Tailliez O, Grisez L, Tailliez P, Bizet C, Nowakowski M, Kerouault B, Swings J. Polyphasic study of *Chryseobacterium* strains isolated from diseased aquatic animals. *Syst Appl Microbiol*. 2005 Sep;28(7):640-60. DOI: 10.1016/j.syapm.2005.03.016
- Tuon FF, Campos L, Duboc de Almeida G, Gryscek RC. *Chryseobacterium meningosepticum* as a cause of cellulitis and sepsis in an immunocompetent patient. *J Med Microbiol*. 2007 Aug;56(Pt 8):1116-1117. DOI: 10.1099/jmm.0.47111-0
- Hsu MS, Liao CH, Huang YT, Liu CY, Yang CJ, Kao KL, Hsueh PR. Clinical features, antimicrobial susceptibilities, and outcomes of *Elizabethkingia meningoseptica (Chryseobacterium meningosepticum)* bacteremia at a medical center in Taiwan, 1999-2006. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2011 Oct;30(10):1271-8. DOI: 10.1007/s10096-011-1223-0
- Hawley HB, Gump DW. Vancomycin therapy of bacterial meningitis. *Am J Dis Child*. 1973 Aug;126(2):261-4. DOI: 10.1001/archpedi.1973.02110190231025
- Rossolini GM, Franceschini N, Riccio ML, Mercuri PS, Perilli M, Galleni M, Frere JM, Amicosante G. Characterization and sequence of the *Chryseobacterium (Flavobacterium) meningosepticum* carbapenemase: a new molecular class B beta-lactamase showing a broad substrate profile. *Biochem J*. 1998 May 15;332 (Pt 1):145-52. DOI: 10.1042/bj3320145
- Lin PY, Chen HL, Huang CT, Su LH, Chiu CH. Biofilm production, use of intravascular indwelling catheters and inappropriate antimicrobial therapy as predictors of fatality in *Chryseobacterium meningosepticum* bacteraemia. *Int J Antimicrob Agents*. 2010 Nov;36(5):436-40. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2010.06.033
- Fraser SL, Jorgensen JH. Reappraisal of the antimicrobial susceptibilities of *Chryseobacterium* and *Flavobacterium* species and methods for reliable susceptibility testing. *Antimicrob Agents Chemother*. 1997 Dec;41(12):2738-41. DOI: 10.1128/AAC.41.12.2738
- Chang JC, Hsueh PR, Wu JJ, Ho SW, Hsieh WC, Luh KT. Antimicrobial susceptibility of flavobacteria as determined by agar dilution and disk diffusion methods. *Antimicrob Agents Chemother*. 1997 Jun;41(6):1301-6. DOI: 10.1128/AAC.41.6.1301
- Issack MI, Neetoo Y. An outbreak of *Elizabethkingia meningoseptica* neonatal meningitis in Mauritius. *J Infect Dev Ctries*. 2011 Dec 13;5(12):834-9. DOI: 10.3855/jidc.1885
- Aber RC, Wennersten C, Moellering RC Jr. Antimicrobial susceptibility of flavobacteria. *Antimicrob Agents Chemother*. 1978 Sep;14(3):483-7. DOI: 10.1128/aac.14.3.483
- Johny M, Khuffash FA, Elhag KM. Antimicrobial treatment of *Flavobacterium meningosepticum* infection. *Ann Trop Paediatr*. 1983 Sep;3(3):125-8. DOI: 10.1080/02724936.1983.11748282
- Suzuki K, Sasaki J, Uramoto M, Nakase T, Komagata K. *Agromyces mediolanus* sp. nov., nom. rev., comb. nov., a species for "*Corynebacterium mediolanum*" Mamoli 1939 and for some aniline-assimilating bacteria which contain 2,4-diaminobutyric acid in the cell wall peptidoglycan. *Int J Syst Bacteriol*. 1996 Jan;46(1):88-93. DOI: 10.1099/00207713-46-1-88
- O'Toole GA, Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis. *Mol Microbiol*. 1998 May;28(3):449-61. DOI: 10.1046/j.1365-2958.1998.00797.x

Информация об авторах:

Мицевич Ирина Петровна, старший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0079
E-mail: mitzevich_i_p@obolensk.org

Карцев Николай Николаевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0079
E-mail: kartsev@obolensk.org

Асташкин Евгений Ильич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0079
E-mail: astashkin@obolensk.org

Детушева Елена Владимировна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0079
E-mail: detushevaev@obolensk.org

Храмов Михаил Васильевич, кандидат медицинских наук, заместитель директора по качеству и развитию ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0079
E-mail: khramov@obolensk.org

Светоч Эдуард Арсеньевич, доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0079
E-mail: svetoch@obolensk.org

Фурсова Надежда Константиновна, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0079
E-mail: fursova@obolensk.org

Information about authors:

Irina P. Mitsevitch, senior researcher of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0079
E-mail: mitsevich_i_p@obolensk.org

Nikolay N. Kartsev, MD, PhD, senior researcher of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0079
E-mail: kartsev@obolensk.org

Evgeny I. Astashkin, MD, PhD, senior researcher of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0079
E-mail: astashkin@obolensk.org

Elena V. Detusheva, PhD (Biological Science), senior researcher of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0079
E-mail: detushevaev@obolensk.org

Mikhail V. Khramov, MD, PhD, Deputy Director for Quality and Development, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0079
E-mail: khramov@obolensk.org

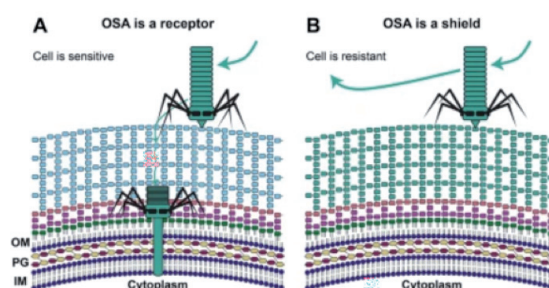
Edward A. Svetoch, PhD, DSc (Veterinary Science), professor, chief researcher of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology.
Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0079
E-mail: svetoch@obolensk.org

Nadezhda K. Fursova, PhD (Biological Science), leader researcher of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзора
Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279 Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0079
E-mail: fursova@obolensk.org

НОВОСТИ НАУКИ

«Самонаводящиеся ракеты» бактерий

Тайлоцины представляют собой бактерицидные белковые комплексы, продуцируемые широким спектром бактерий, которые убивают близкородственные штаммы и могут играть роль в структуре микробного сообщества. Благодаря своей высокой специфичности тайлоцины были предложены в качестве прецизионных антибактериальных средств для терапевтического применения. По сравнению с хвостатыми фагами, с которыми они связаны эволюционным и морфологическим родством, бактериально продуцируемые тайлоцины убивают своего хозяина при производстве, но продуцирующие штаммы проявляют устойчивость к самоотравлению. Хотя было показано, что липополисахарид (ЛПС) действует как рецептор для тайлоцинов, спектр факторов, участвующих в чувствительности к тайлоцину, и механизмы, лежащие в основе устойчивости к самоотравлению, остаются неясными. Здесь мы использовали полногеномный скрининг четырех немодельных псевдомонад для выявления мутантов с измененной приспособленностью в присутствии тайлоцинов, продуцируемых близкородственными псевдомонадами. Наши мутантные скрининги определили состав и отображение О-антигена как наиболее важные для определения чувствительности к нашим тайлоцинам. Кроме того, скрининги предполагают истончение ЛПС как механизм, с помощью которого устойчивые штаммы могут стать более чувствительными к тайлоцинам. Мы подтверждаем многие из этих новых результатов и расширяем эти наблюдения чувствительности к тайлоцину на 130 псевдомонад с секвенированием генома. Эта работа предлагает понимание взаимодействия тайлоцинов с бактериями, информируя о потенциальном использовании тайлоцинов в манипуляциях с микробиомом и антибактериальной терапии.



Carim S., Azadeh A.L., Kazakov A.E., et al.

Systematic discovery of pseudomonad genetic factors involved in sensitivity to tailocins. ISME J 2021. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-00921-1>