

Современные аспекты генетической организации *Pseudomonas aeruginosa* как одного из возбудителей внебольничных и нозокомиальных пневмоний

А.А.Ковалевич, А.С.Водопьянов, Р.В.Писанов

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Внебольничная пневмония остается в ряду наиболее актуальных болезней современного человека, занимая 4-е место в структуре причин смертности после сердечно-сосудистых, цереброваскулярных заболеваний и злокачественных новообразований.

Целью исследования являлось проведение анализа литературы по вопросу современного состояния генетической организации *Pseudomonas aeruginosa* как одного из возбудителей внебольничных и нозокомиальных пневмоний.

Основная часть. Актуальность внебольничной пневмонии в нашей стране во многом обусловлена существующими проблемами диагностики и лечения. Синегнойная палочка была определена как один из шести ведущих патогенов по смертности, связанной с устойчивостью к антибактериальным препаратам. Так, в 2019 г. во всем мире было зарегистрировано 334 000 случаев смерти людей с лекарственно-устойчивой инфекцией этого типа. Синегнойная палочка демонстрирует обширный набор как клеточно-ассоциированных, так и внеклеточных факторов вирулентности, которые определяют патогенез инфекции, контролируемый невероятно сложными системами, взаимосвязанными регуляторными цепями и сигнальными молекулами, придающими этому патогену большую пластичность и вариабельность.

Заключение. На данный момент в России преобладают микробиологические и биохимические методы идентификации синегнойной палочки. С учетом гибкости и изменчивости *P. aeruginosa* целесообразно активно применять современные методы молекулярно-генетического типирования. На сегодняшний день в этом может активно помогать технология полногеномного секвенирования. Использование новых способов идентификации будет способствовать эффективной дифференциации эпидемиологически значимых изолятов, а также выявлению новых факторов патогенности, вирулентности и устойчивости.

Ключевые слова: внебольничная пневмония, синегнойная палочка, *Pseudomonas aeruginosa*, геном, факторы вирулентности

Для цитирования: Ковалевич А.А., Водопьянов А.С., Писанов Р.В. Современные аспекты генетической организации *Pseudomonas aeruginosa* как одного из возбудителей внебольничных и нозокомиальных пневмоний. Бактериология. 2024; 9(1): 87–94. DOI: 10.20953/2500-1027-2024-1-87-94

Modern aspects of the genetic organization of *Pseudomonas aeruginosa* as one of the pathogens of community-acquired and nosocomial pneumonia

A.A.Kovalevich, A.S.Vodopyanov, R.V.Pisanov

Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russian Federation

Introduction. Community-acquired pneumonia (CAP) remains among the most urgent diseases of contemporary man, occupying the 4th place in the structure of causes of death after cardiovascular, cerebrovascular diseases and cancerous tumor. The aim of the study was to analyze the literature on the current state of the genetic organization of *Pseudomonas aeruginosa* as one of the pathogens of community-acquired and nosocomial pneumonia.

The main part. The relevance of CAP in our country is largely due to the existing problems of diagnosis and treatment. *P. aeruginosa* has been identified as one of the six leading pathogens in mortality associated with resistance to antibacterial drugs. So, in 2019, 334,000 deaths of people with drug-resistant infection of this type were registered worldwide. *P. aeruginosa* demonstrates an extensive set of both cell-associated and extracellular virulence factors that determine the pathogenesis of infection, controlled by incredibly complex systems, interconnected regulatory chains and signaling molecules that give this pathogen greater plasticity and variability.

Для корреспонденции:

Ковалевич Алексей Александрович, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора

Адрес: 344002, Ростов-на-Дону, ул. М.Горького, 117
Телефон: (863) 240-9133

Статья поступила 07.10.2023, принята к печати 29.03.2024

For correspondence:

Alexey A. Kovalevich, Junior Researcher, Laboratory of molecular biology of natural focal and zoonotic infections, Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute of Rospotrebnadzor

Address: 117 M.Gorky str., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation
Phone (863) 240-9133

The article was received 07.10.2023, accepted for publication 24.03.2024

Conclusion. Currently, microbiological and biochemical methods of identification of *P. aeruginosa* prevail in Russia. Taking in view the flexibility and variability of *P. aeruginosa*, it is advisable to actively apply modern methods of molecular genetic typing. At present, the technology of whole-genome sequencing can actively help in this. The use of new identification methods will facilitate the effective differentiation of epidemiologically significant isolates, as well as the identification of new factors of pathogenicity, virulence and resistance.

Key words: community-acquired pneumonia, *Pseudomonas aeruginosa*, genome, virulence factors

For citation: Kovalevich A.A., Vodopyanov A.S., Pisanov R.V. Modern aspects of the genetic organization of *Pseudomonas aeruginosa* as one of the pathogens of community-acquired and nosocomial pneumonia. Bacteriology. 2024; 9(1): 87–94. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2024-1-87-94

Внебольничная пневмония (ВП) остается в ряду наиболее актуальных болезней современного человека, занимая 4-е место в структуре причин смертности после сердечно-сосудистых, цереброваскулярных заболеваний и злокачественных новообразований. Актуальность ВП в нашей стране во многом обусловлена существующими проблемами диагностики и лечения [1]. В России в 2015 г. регистрировались 3,9 случая на 1000 человек в год среди лиц старше 18 лет [2]. Среднемноголетняя заболеваемость ВП в период 2011–2019 гг. в РФ составляла 491,7/100000 (от 359,8/100000 среди взрослого трудоспособного населения и до 1505,4/100000 среди детей первых двух лет жизни). Наблюдается тенденция к росту заболеваемости, наиболее выраженная у детей школьного возраста (7–17 лет). Среди пневмоний с установленной этиологией (29,2% от всех пневмоний) преобладают бактериальные формы (94%, заболеваемость 142,5/100000) [3].

Выявление грамотрицательных бактерий в качестве этиологического агента ВП является значимым фактором риска летального исхода. Установлено, что наиболее частыми возбудителями ВП у пациентов, не отвечающих на стартовую антибактериальную терапию, являются представители родов *Acinetobacter*, *Klebsiella* и синегнойная палочка. Синегнойная палочка была определена как один из шести ведущих патогенов по смертности, связанной с устойчивостью к антибактериальным препаратам. Так, в 2019 г. во всем мире было зарегистрировано 334 000 случаев смерти людей с лекарственно-устойчивой инфекцией этого типа [4].

Pseudomonas aeruginosa (синегнойная палочка) – это грамотрицательная аэробная палочка из семейства *Pseudomonadaceae*, характеризуется высоким уровнем резистентности к антибактериальным препаратам, способностью образовывать биопленки, низкой проницаемостью внешней мембраны и наличием эффлюксных насосов [1, 5]. Входит в группу лидирующих микроорганизмов, включающую в себя шесть самых опасных бактерий-оппортунистов, объединенных термином ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter* spp.) и представляющих опасность для населения различных стран [6].

Многочисленные факторы риска присоединения синегнойной инфекции могут быть классифицированы на несколько групп: эндогенные факторы и экзогенные. Эндогенные – связанные с состоянием пациента, характером медицинской технологии, факторами и особенностями послеоперационного периода. Экзогенные факторы определяются состоянием антиинфекционной защиты лечебно-диагностического процесса, состоянием больничной среды [7]. В совокупности это дает целый комплекс мероприятий, который

необходимо применять на каждом этапе для эффективного противодействия и ликвидации очага заражения.

Таким образом, существует потребность в изучении механизмов и факторов патогенности, которыми обладают штаммы *P. aeruginosa*, для более детального понимания биохимических и молекулярно-генетических механизмов выживания данного микроорганизма.

Распространенность и экология *P. aeruginosa*

Синегнойная палочка распространена повсеместно и способна персистировать в разнообразных экологических ареалах, включая речные и морские бассейны, сточные воды, бутилированную воду, а также почвенные массивы [8–10].

P. aeruginosa считается представителем нормофлоры человека, выявляется на кожных покровах (до 2%), слизистой носа (до 3,3%), в ротоглотке (до 6,6%) и в желудочно-кишечном тракте (от 2,6 до 24%) [11]. Но в то же время она принадлежит к бактериям, которые в естественных условиях патогенны как для человека и животных, так и для растений [12–14].

Одной из проблем, которые стоят перед медиками, является распространенность синегнойной палочки в отделениях реанимации и интенсивной терапии, в которых этим возбудителем обусловлены примерно от 10 до 20% всех бактериальных инфекций, характеризующихся тяжелым течением и высокими показателями устойчивости к антибиотикам [15–17]. Тот факт, что клетки *P. aeruginosa* могут выживать в широком диапазоне температур, от +4°C до 42°C, делает ее актуальным возбудителем внутрибольничных инфекций практически по всей территории Российской Федерации, а также за рубежом. Это, в свою очередь, еще раз подчеркивает необходимость идентификации, типирования и дифференциации внутрибольничных штаммов от бактериальных представителей из экологических ареалов.

Геном *P. aeruginosa*

В международной базе NCBI содержится информация о 6873 полных аннотированных геномах синегнойной палочки. Хромосомный геном *P. aeruginosa* содержит от 5,2 до 7 Mb (примерно 4000 генов). Полный набор генов у различных изолятов *P. aeruginosa* варьирует от 10 000 до 40 000, и, что интересно, их расположение в геноме может отличаться у разных штаммов, поэтому идентификация подходящих областей для генетических маркеров затруднена [18]. Учитывая вариабельность генома, неудивительно и то, что доля содержания регуляторных генов в нем одна из самых высоких среди всех бактериальных геномов (8,4%) [19]. Полногеномное секвенирование изолятов *P. aeruginosa*, полученных от пациентов с муковисцидозом, показало, что во время затяж-

ной инфекции микроорганизм подвергается адаптивным процессам, приводящим к накоплению мутаций [20]. В основном это точечные мутации (SNP), но также могут присутствовать и инсерции и даже крупные делеции, которые сохраняются в зависимости от того, насколько штамму, несущему эти мутации, удается быть конкурентноспособным, чтобы выжить в дыхательных путях пациентов [18]. Среди наиболее изменяемых генов, выявленных в изолятах от пациентов, можно отметить следующие группы генов: связанные с образованием биопленки (*vucA*, *algU*, *morA*), со снижением чувствительности к антибиотикам (*mexZ*, *nfxB*, *mexR*, *mpl*), со снижением выработки факторов вирулентности (*ykoM* и *mpl*) и различными регуляторными системами (*rpoN*, *nfxB*, *gacA*, *gacS*). [19]. Кроме того, исследования 361 изолята *P. aeruginosa* от пациентов выявили 1112 вариантов последовательностей, которые отсутствовали в геномах штаммов, выделенных из окружающей среды. Высокая частота полиморфизмов наблюдалась в генах *spuE*, *mexA*, *gyrA*, *rpoB*, *fusa1*, *mexZ*, *mexY*, *oprD*, *ampD*, *parR*, *parS* и *envZ*, которые, по-видимому, участвуют в защите бактерии от терапевтических препаратов. Интересно, что, по мнению ряда исследователей, относительные доли SNP были обнаружены в генах *fusA1A2*, *mexA*, *pagL*, которые кодируют белки, участвующие в трансляции, транспорте и модификации липополисахарида соответственно. Наряду с генами, участвующими в обновлении клеточной стенки (*ftsZ*, *murG*), гены *ampC* и *ftsI*, кодирующие β-лактамазу и пенициллинсвязывающий белок, также часто мутируют [20]. Данные исследования широко применяются за рубежом для выявления одиночных нуклеотидных полиморфизмов, что дает исследователям полное представление о природе изменчивости данного микроорганизма.

Помимо высокой адаптационной изменчивости у синегнойной палочки существуют интегративные и конъюгативные элементы – ICE [21]. Это модульные мобильные генетические элементы, которые могут интегрироваться в геном хозяина и распространяться посредством репликации клеток или подвергаться горизонтальному переносу после того, как они покинули хромосому [22]. ICE и плазмиды используют одну и ту же систему секреции IV типа для конъюгативного переноса. Разница между ICE и плазмидами заключается в их способности интегрироваться в хромосому [23]. Помимо этого, генетические элементы вовлечены в целый ряд механизмов, помогающих выжить микроорганизму: деградация ксенобиотических соединений, устойчивость к антибиотикам и формирование вирулентности [24, 25]. Несмотря на явную схожесть плазмиды и ICE элементов, частота их встречаемости гораздо выше, чем у плазмид. В совокупности это может позволить *P. aeruginosa* использовать новые ниши для выживания и повысить свою конкурентоспособность [26]. Также установлено что большинство геномов синегнойной палочки обладают активной системой CRISPR-Cas [26, 27]. Однако данный механизм имеет две стороны медали. С одной стороны, это дает преимущество, так как есть возможность получить в состав своего генома профаг или плазмиды, которые могут помочь процессу выживания и адаптации. С другой стороны, представители с активной функцией CRISPR-Cas ассоциированы с уменьшенным размером генома и менее активными процессами

горизонтального переноса генов. В свою очередь, это дает большие возможности для изучения взаимодействия систем CRISPR-Cas и семейства генов анти-CRISPR (Acr) [27]. Вопрос о применении бактериофагов для лечения синегнойных инфекций остается открытым. Весьма актуальной является разработка системы типирования внутрибольничных и экологических изолятов *P. aeruginosa* по CRISPR-Cas-системе.

Факторы вирулентности *P. aeruginosa*

Синегнойная палочка демонстрирует обширный набор как клеточно-ассоциированных, так и внеклеточных факторов вирулентности, которые определяют патогенез инфекции, контролируемый невероятно сложными системами, взаимосвязанными регуляторными цепями и сигнальными молекулами, придающими этому патогену большую пластичность и вариабельность.

В данном обзоре мы постараемся более подробно рассмотреть структуру и функции важных факторов вирулентности при инфекциях, вызванных псевдомонадами, а именно: образование биопленок, системы кворум сенсинга (QS), сидерофоры пиовердин и пиохелин, липополисахарид (LPS) и белки внешней мембраны [28, 29].

Интересно отметить также, что на сегодняшний момент не опубликованы работы, направленные на изучение различий в наборе экзотоксинов у клинических культур и штаммов, которые могут присутствовать в качестве нормофлоры человека. Некоторые исследователи полагают, что штаммы *P. aeruginosa*, распространенные в экологических ареалах, генотипически и функционально эквивалентны клиническим [30]. Этот вопрос по-прежнему остается актуальным для изучения.

Липополисахарид

LPS состоит из трех доменов: липида А, коровой области, О-антигена или О-полисахарида (OPS) [31]. Образуются различные гликоформы, которые способствуют его вирулентности. По структуре О-антигена выделяют более 20 серогрупп [32]. О-полисахарид представляет собой сильно изменчивую и иммуногенную периферическую длинную цепочку повторяющихся единиц, которая может быть как линейной, так и разветвленной [31]. Кроме того, одновременно продуцируются два О-антигена: общий полисахаридный антиген (CPA, или А-группа), гомополимер, имеющий консервативную структуру, состоящую из повторяющихся звеньев трисахарида d-рамнозы, и О-специфический антиген (OSA, или В-группа), гетерополимер, изменяемый штаммом, который дает начало 20 серотипам, согласно схеме, предложенной международной системой антигенного типирования (IATS) [33]. Поскольку OPS распространяется во внешнюю среду, он участвует во многих взаимодействиях типа хозяин–патоген: предотвращает уничтожение бактерий путем лизиса мембраны и фагоцитоза, защищает от окислительного стресса, стимулирует нетоз (NET) [34]. Однако клетки, которые не продуцируют CPA, не смогли образовывать устойчивые биопленки и продемонстрировали изменения в морфологии клеток и синтезе матрицы биопленки [35]. CPA также может быть важен для прикрепления бактерий к эпителиальным клеткам бронхов человека [32, 33, 36].

В Российской Федерации серотипирование синегнойной палочки не проводится ни молекулярными методами, ни серологическими. Поэтому вопрос о том, какие серогруппы могут циркулировать в лечебно-профилактических отделениях и в естественных экологических зонах на территории нашей страны, остается открытым и требует дальнейшего изучения.

Образование биопленок

В образовании биопленок *P. aeruginosa* участвуют три экзополисахарида (EPSS): альгинат капсульного полисахарида и два агрегативных полисахарида (Psl и Pel). Они также содержат внеклеточную ДНК (eDNA) и белки. Биопленки характеризуются «закрытыми» грибовидными структурами и сложной сетью, которая распределяет питательные вещества и удаляет продукты жизнедеятельности микроорганизмов [37, 38]. К тому же развитие биопленки является многофакторным процессом. Инициация ее образования происходит с увеличением циклического димерного гуанозинмонофосфата (c-di-GMP), внутриклеточной сигнальной молекулы, которая индуцирует биосинтез адгезинов и факторов, необходимых для перехода от подвижного роста к прикреплению на поверхности и биопленкообразованию [39]. Наконец, малые РНК также регулируют образование биопленок [40]. Следует отметить, что недавнее исследование показало, что существует несколько путей развития биопленок и экспрессии генов, регулирующих реакции на стресс и адаптацию к среде с ограниченным содержанием кислорода и железа, жизненно важных для этого процесса [41].

Образование биопленок – это большая проблема для современной медицины. Невозможно представить современную больницу без применения таких материалов, как силиконы и пластики, которые используются во многих жизненно важных приборах – от катетеров до трубок искусственной вентиляции легких. Однако эти материалы таят в себе опасность, являясь хорошим субстратом для формирования биопленки синегнойной палочки и дальнейшего инфицирования пациента. В этом процессе участвуют также и другие факторы, в частности, кворум сенсинг и пили адгезии.

Кворум сенсинг

Кворум имеет большое значение для регуляции генов, обеспечивая межклеточную коммуникацию и адаптацию к изменениям окружающей среды [42]. *P. aeruginosa* имеет четыре взаимосвязанных системы кворум сенсинга (Las, Iqs, Rhl, Pqs). Система Las является основным регулятором сигналов, положительно контролируя экспрессию трех других систем. Аналогичным образом, система Iqs оказывает стимулирующее воздействие на Pqs и Rhl системы, тогда как Rhl отрицательно регулирует Pqs [42–44]. Подобная сеть молекулярных сигналов обладает высокой адаптивностью и способностью реагировать на внешние стрессовые факторы, обеспечивая исключительную адаптационную гибкость *P. aeruginosa* [42]. Подробнее можно остановиться на каждом из них. LasR и Rhl представляют собой наиболее доминирующие регуляторные паттерны. Система Las также подавляет выработку экзополисахарида Pel [45] и индуцирует апоптоз в эпителиальных клетках дыхательных путей [46, 47]. В системе Las LASI является синтазой аутоиндуктора,

которая опосредует синтез N-3-оксододеcanoил-L-гомосерин лактона (C12HSL). C12HSL также помогает выживанию бактерий, вызывая гибель иммунных клеток хозяина [48]. Она регулирует выработку лектина A (LecA), влияющего на формирование биопленки [49]. Как и система Las, система Pqs создает петлю положительной обратной связи, связывающуюся с промотором оперона *pqsABCDE*, что приводит к выработке белка PqsE, основного эффектора вирулентности системы хинолонов [50]. Кроме того, PqsE положительно регулирует экспрессию генов, связанных с захватом железа, эффлюксными насосами, участвующими в биосинтезе цианистого водорода, эластазы и внеклеточной хитиназы [51]. Вдобавок к этому система Pqs опосредует высвобождение eDNA, что необходимо для создания стабильных и зрелых биопленок [49]. Помимо того, что PQS (2-гептил-3-гидрокси-4-хинолон, называемый хинолоновым сигналом *P. aeruginosa*) является сигнальной молекулой кворум сенсинга, он также действует как посредник в усвоении железа, подавляет секрецию рецепторов интерлейкина-2 (IL-2) и IL-12; стимулирует хемотаксис нейтрофилов, выработку АФК и фактора некроза опухоли- α [50].

Система Iqs была открыта совсем недавно и использует новый тип сигнальной молекулы: 2-(2-гидроксифенил)-триазол-4-карбальдегид (IQS). На сегодняшний день его родственный рецептор неизвестен [52]. Эта система может частично контролировать функции системы Las и при ее нарушении снижает выработку пиоцианина, рамнолипидов и эластаз [52]. Кроме того, IQS ингибирует рост клеток-хозяев и стимулирует апоптоз, нарушая репарацию поврежденной ДНК [53].

Системы захвата и утилизации железа

Чтобы удовлетворить потребность в железе *P. aeruginosa* использует различные стратегии: производство низкомолекулярных органических соединений, называемых сидерофорами (пиовердин и пиохелин), поглощение ксеносидерофоров, поглощение молекул гема из гемопротеинов хозяина через две системы (Has и Phu), восстановление железа фенозаминами через систему Feo [54, 55]. Основным сидерофором является пиовердин, состоящий из переменной пептидной цепи и консервативного хромофора дигидроксихинолина, который связывает железо. Его можно разделить на три типа в зависимости от структуры пептидной цепи: PVDI, PVDII и PVDIII [55]. Ген *pvd* может выступать как индуктором эндопротеиназы (PRPL), так и опосредованно синтезируя пиовердин участвовать в реакциях Фентона, что приводит к образованию высоких концентраций свободных радикалов, которые могут повреждать клетки хозяина. Также пиохелин может вызывать окислительный стресс и воспалительные процессы, особенно в присутствии пиоцианина [54].

Из анализа литературы о системах поглощения *P. aeruginosa* железа следует, что эта бактерия может хорошо адаптировать свою стратегию захвата железа в зависимости от вызываемой инфекции. При моноинфекциях, обусловленных *P. aeruginosa*, бактерии используют свой высокоаффинный пиовердиновый сидерофор, который в то же время действует как сигнальная молекула для выработки факторов вирулентности (протеазы PrpL и экзотоксин А). У синегнойной палочки имеется более 30 генов, кодирующих TBDRs,

большинство из которых участвуют в поглощении сидерофоров [54, 56]. Эти системы могут иметь важное значение в случае полимикробных инфекций, при которых *P. aeruginosa* может иметь преимущество из-за своей способности «красть» сидерофоры, продуцируемые другими микроорганизмами (сидерофорное пиратство), лишая конкурентов железа [57].

С одной стороны, закрепляясь в нише, где микроорганизм может выживать и вызывать воспалительный процесс, он демонстрирует тенденцию к потере способности продуцировать пиовердин. С другой стороны, он может полагаться на альтернативные стратегии поглощения железа, такие как поглощение гема из гемопротеинов и поглощение Fe^{2+} , который образуется за счет окислительно-восстановительной активности феназинов [58, 59]. Безусловно, этот вопрос важен с точки зрения определения степени вирулентности *P. aeruginosa*, а также поиска методов типирования на их основе.

Антибиотикорезистентность

Что же касается устойчивости к антибиотикам, *P. aeruginosa* характеризуется наличием механизмов природной устойчивости к целому ряду препаратов, включая аминопенициллины, тетрациклины/глицилциклины, эртапенемы и большинство цефалоспоринов. Кроме того, важной особенностью данного микроорганизма является быстрое формирование устойчивости ко многим другим антибактериальным препаратам [60].

P. aeruginosa характеризуется высокой избирательностью веществ, проникающих через мембрану, благодаря ограниченному числу крупных трансмембранных каналов. В основном эту функцию выполняют порины OprF (большинство каналов OprF очень малы) и небольшого размера каналы других поринов OprD и OprB, которые связаны с прохождением молекул, таких как антибиотики. В то же время существуют и другие механизмы, такие как: эффлюкс-зависимое удаление антибиотика из периплазматического пространства [61], транспортеры семейства RND (Resistance-Nodulation-Cell Division), MexAB-OprM и MexXY-OprM, синтез β -лактамазы AmpC [62]. Серьезную озабоченность вызывает распространение плазмид-опосредованных β -лактамаз расширенного спектра действия (ESBLs), которые первоначально были описаны у *Enterobacteriaceae*, и металло- β -лактамаз (MBLS), которые инактивируют карбапенемы [63, 64]. Данные механизмы уменьшают поступление или полностью выводят антибиотик через внешнюю мембрану.

В свою очередь мутации, приводящие к сверхэкспрессии эффлюксных насосов, приводят к снижению поглощения антибиотиков и изменению антибиотических мишеней. Например, важным механизмом устойчивости являются мутации в насосах MexAB-OprM и MexCD-OprJ, которые регулируются системами mexR и nfxB соответственно [65]. Благодаря этому бактериальные клетки, которые не обладают устойчивостью, могут выживать, взаимодействуя друг с другом в популяции с использованием кворум сенсинга. Вследствие этого вырабатывается антибиотикорезистентность, опосредованная сверхэкспрессией MexCD-OprJ, что позволяет функционировать этим неустойчивым клеткам под маской устойчивых в смешанных популяциях, колонизи-

рующих легкие пациента. Эта особенность может иметь важные последствия для сохранения устойчивых к антибиотикам бактерий даже при отсутствии естественного отбора [66, 67].

Важный компонент резистентности синегнойной палочки – везикулы наружной мембраны. Они образуются путем выпячивания наружной мембраны и обогащены различными биомолекулами. Установлено, что везикулы наружной мембраны играют ключевую роль в межклеточной коммуникации, устойчивости к антибиотикам, структуре биопленки и доставке молекул и веществ внутри бактериального сообщества, даже таких, как токсины и факторы вирулентности [68]. Генезис везикул неразрывно связан со структурой ЛПС мембраны микроорганизма. Основным фактором, способствующим биогенезу везикул наружной мембраны у *P. aeruginosa*, является выработка хинолонового сигнала псевдомонад (PQS). PQS является одной из молекул сложной схемы определения кворум сенсинга, которая может регулировать групповое поведение *P. aeruginosa*. Высокогидрофобный PQS экспортируется в везикулы наружной мембраны, экскретируется в ней путем взаимодействия с ацильными цепями липида А и фосфатами, что вызывает модификацию мембраны и тем самым делает клетку «незаметной» для антибиотика [69, 70].

Заключение

В настоящее время условно-патогенные микроорганизмы, обладающие мультирезистентностью к различным видам антибактериальных агентов, являются актуальной проблемой эпидемиологии и здравоохранения. К этим микроорганизмам относится и *P. aeruginosa*. В 2017 г. Всемирная организация здравоохранения заявила, что карбапенемрезистентные штаммы *P. aeruginosa* занимают второе место в приоритетном листе патогенов, требующих разработки новых антимикробных препаратов [71]. Поиск новых способов противодействия данному микроорганизму является важной задачей, и он невозможен без глубокого изучения структурной организации генома, факторов персистенции и патогенности новых изменчивых клинических изолятов, формирующихся благодаря широкой горизонтальной передаче генетического материала. Учитывая пластичность и изменчивость рассматриваемой бактерии, необходимо широко внедрять методики молекулярно-генетического маркирования, типирования на основе данных полногеномного секвенирования с целью разделения экологических и клинически значимых изолятов, выявления новых факторов патогенности и полиантибиотикорезистентности.

Информация о финансировании

При проведении исследования внешнее финансирование отсутствовало.

Financial support

The authors state that there is no external funding for the study.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература/References

1. Сушалина АГ. Респираторная медицина. Руководство: в 3 т. М.: Литтерра, 2017;2:29-74. / Susalina AG. Respiratornaya meditsina. Rukovodstvo: v 3 t. M.: Litterra Publ., 2017;2:29-74. (In Russian).
2. Чучалин АГ. Пневмония: актуальная проблема медицины XXI века. Пульмонология. 2015;25(2):133-142. / Chuchalin AG. Pnevmoniya: aktual'naya problema meditsiny XXI veka. Pulmonologiya. 2015;25(2):133-142. (In Russian).
3. Брико НИ, Коршунов ВА, Ломоносов КС. Пневмококковая инфекция в Российской Федерации: состояние проблемы. Вестник РАМН. 2021;76(1):28-42. / Briko NI, Korshunov VA, Lomonosov KS. Pneumococcal Infection in Russia: State of the Issue. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2021;76(1):28-42. DOI: 10.15690/vramn1404 (In Russian).
4. Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. Lancet. 2022 Feb 12;399(10325):629-655. Erratum in: Lancet. 2022 Oct 1;400(10358):1102. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)02724-0
5. Lister PD, Wolter DJ, Hanson ND. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. Clin Microbiol Rev. 2009 Oct;22(4):582-610. DOI: 10.1128/CMR.00040-09
6. Rice LB. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE. J Infect Dis. 2008 Apr 15;197(8):1079-81. DOI: 10.1086/533452
7. Егорова ОН. Эпидемиология и профилактика синегнойной инфекции. Федеральные клинические рекомендации. М.: Мин. здравоохранения РФ, 2014. / Egorova ON. Epidemiologiya i profilaktika sinegnoinoi infektsii. Federal'nye klinicheskie rekomendatsii. M.: Min. zdravookhraneniya RF, 2014. (In Russian).
8. Morrison AJ Jr, Wenzel RP. Epidemiology of infections due to *Pseudomonas aeruginosa*. Rev Infect Dis. 1984 Sep-Oct;6 Suppl 3:S627-42. DOI: 10.1093/clinids/6.supplement_3.s627
9. Starkey M, Rahme LG. Modeling *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis in plant hosts. Nat Protoc. 2009;4(2):117-24. DOI: 10.1038/nprot.2008.224
10. Коробейко ЕС, Наказная ЕН, Овечкина ИГ. Распространение клебсиелл и синегнойных палочек в водной среде и их значение в возникновении острых кишечных инфекций при водопользовании. Актуальные проблемы и методические подходы к диагностике, лечению и профилактике болезней животных. 2019;143-148. / Korobeiko ES, Nakaznaya EN, Ovechkina IG. Distribution of bacteria of the klebsiella strain in water objects and their value in developing of the water caused acute intestinal infections. Aktualnye problemy i metodicheskie podkhody k diagnostike, lecheniyu i profilaktike boleznei zhivotnykh. 2019;143-148. (In Russian).
11. Кузнецова МВ. Распространенность возбудителя и разнообразие нозологических форм синегнойной инфекции (обзор). Здоровье семьи – XXI век. 2014(2):84-112. / Kuznetsova MV. Rasprostranennost' vzbudatelya i raznobraziye nozologicheskikh form sinegnoinoi infektsii (obzor). Zdorov'e sem'i – XXI vek. 2014(2):84-112. (In Russian).
12. Fatima A, Naqvi SB, Khaliq SA, Perveen S, Jabeen S. Antimicrobial susceptibility pattern of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients of lower respiratory tract infections. Springerplus. 2012 Dec;1(1):70. DOI: 10.1186/2193-1801-1-70
13. Chahtane H, Nogueira Füller T, Allard PM, Marcourt L, Ferreira Queiroz E, Shanmugabalaji V, et al. The plant pathogen *Pseudomonas aeruginosa* triggers a DELLA-dependent seed germination arrest in Arabidopsis. Elife. 2018 Aug 28;7:e37082. DOI: 10.7554/eLife.37082
14. Новгородова АЮ. Экологические аспекты бактерий рода *Pseudomonas* на территории Украины. Сельскохозяйственные науки и агропромышленный комплекс на рубеже веков. 2014;5:248-251. / Novgorodova AYU. Ekologicheskie aspekty bakterii roda *Pseudomonas* na territorii Ukrainy. Sel'skokhozyaistvennyye nauki i agropromyshlennyy kompleks na rubezhe vekov. 2014(5):248-251. (In Russian).
15. Custovic A, Smajlovic J, Hadzic S, Ahmetagic S, Tihic N, Hadzagic H. Epidemiological surveillance of bacterial nosocomial infections in the surgical intensive care unit. Mater Sociomed. 2014 Feb;26(1):7-11. DOI: 10.5455/msm.2014.26.7-11
16. Agodi A, Barchitta M, Auxilia F, Brusafiero S, D'Errico MM, Montagna MT, et al; Collaborators. Epidemiology of intensive care unit-acquired sepsis in Italy: results of the SPIN-UTI network. Ann Ig. 2018 Sep-Oct;30(5 Suppl 2):15-21. DOI: 10.7416/ai.2018.2247
17. Pachori P, Gothwal R, Gandhi P. Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review. Genes Dis. 2019 Apr 17;6(2):109-119. DOI: 10.1016/j.gendis.2019.04.001
18. Mielko KA, Jabłoński SJ, Milczewska J, Sands D, Łukaszewicz M, Młynarz P. Metabolomic studies of *Pseudomonas aeruginosa*. World J Microbiol Biotechnol. 2019 Nov 7;35(11):178. DOI: 10.1007/s11274-019-2739-1
19. Kung VL, Ozer EA, Hauser AR. The accessory genome of *Pseudomonas aeruginosa*. Microbiol Mol Biol Rev. 2010 Dec;74(4):621-41. DOI: 10.1128/MMBR.00027-10
20. Jurado-Martin I, Sainz-Mejias M, McClean S. *Pseudomonas aeruginosa*: An Audacious Pathogen with an Adaptable Arsenal of Virulence Factors. Int J Mol Sci. 2021 Mar 18;22(6):3128. DOI: 10.3390/ijms22063128
21. Johnson CM, Grossman AD. Integrative and Conjugative Elements (ICEs): What They Do and How They Work. Annu Rev Genet. 2015;49:577-601. DOI: 10.1146/annurev-genet-112414-055018
22. Chen F, Wang P, Yin Z, Yang H, Hu L, Yu T, et al. VIM-encoding IncpSTY plasmids and chromosome-borne integrative and mobilizable elements (IMEs) and integrative and conjugative elements (ICEs) in *Pseudomonas*. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2022 Mar 9;21(1):10. DOI: 10.1186/s12941-022-00502-w
23. Carter MQ, Chen J, Lory S. The *Pseudomonas aeruginosa* pathogenicity island PAPI-1 is transferred via a novel type IV pilus. J Bacteriol. 2010 Jul;192(13):3249-58. DOI: 10.1128/JB.00041-10
24. Chang W, Small DA, Toghrol F, Bentley WE. Microarray analysis of *Pseudomonas aeruginosa* reveals induction of pyocin genes in response to hydrogen peroxide. BMC Genomics. 2005 Sep 8;6:115. DOI: 10.1186/1471-2164-6-115
25. Chibeu A, Ceysens PJ, Hertveldt K, Volckaert G, Cornelis P, Matthijs S, et al. The adsorption of *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophage phiKMV is dependent on expression regulation of type IV pili genes. FEMS Microbiol Lett. 2009 Jun;296(2):210-8. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2009.01640.x
26. Wheatley RM, MacLean RC. CRISPR-Cas systems restrict horizontal gene transfer in *Pseudomonas aeruginosa*. ISME J. 2021 May;15(5):1420-1433. DOI: 10.1038/s41396-020-00860-3
27. León LM, Park AE, Borges AL, Zhang JY, Bondy-Denomy J. Mobile element warfare via CRISPR and anti-CRISPR in *Pseudomonas aeruginosa*. Nucleic Acids Res. 2021 Feb 26;49(4):2114-2125. DOI: 10.1093/nar/gkab006
28. Balasubramanian D, Schneper L, Kumari H, Mathee K. A dynamic and intricate regulatory network determines *Pseudomonas aeruginosa* virulence. Nucleic Acids Res. 2013 Jan 7;41(1):1-20. DOI: 10.1093/nar/gks1039
29. Jimenez PN, Koch G, Thompson JA, Xavier KB, Cool RH, Quax WJ. The multiple signaling systems regulating virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. Microbiol Mol Biol Rev. 2012 Mar;76(1):46-65. DOI: 10.1128/MMBR.05007-11
30. Streeter K, Katouli M. *Pseudomonas aeruginosa*: A review of their Pathogenesis and Prevalence in Clinical Settings and the Environment. 2016.
31. Maldonado RF, Sá-Correia I, Valvano MA. Lipopolysaccharide modification in Gram-negative bacteria during chronic infection. FEMS Microbiol Rev. 2016 Jul;40(4):480-93. DOI: 10.1093/femsre/fuw007
32. Huszczyński SM, Lam JS, Khursigara CM. The Role of *Pseudomonas aeruginosa* Lipopolysaccharide in Bacterial Pathogenesis and Physiology. Pathogens. 2019 Dec 19;9(1):6. DOI: 10.3390/pathogens9010006

33. Lam JS, Taylor VL, Islam ST, Hao Y, Kocincová D. Genetic and Functional Diversity of *Pseudomonas aeruginosa* Lipopolysaccharide. *Front Microbiol.* 2011 Jun 1;2:118. DOI: 10.3389/fmicb.2011.00118
34. Pieterse E, Rother N, Yanginlar C, Hilbrands LB, van der Vlag J. Neutrophils Discriminate between Lipopolysaccharides of Different Bacterial Sources and Selectively Release Neutrophil Extracellular Traps. *Front Immunol.* 2016 Nov 4;7:484. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00484
35. Murphy K, Park AJ, Hao Y, Brewer D, Lam JS, Khursigara CM. Influence of O polysaccharides on biofilm development and outer membrane vesicle biogenesis in *Pseudomonas aeruginosa* PA01. *J Bacteriol.* 2014 Apr;196(7):1306-17. DOI: 10.1128/JB.01463-13
36. Lam JS, Taylor VL, Islam ST, Hao Y, Kocincová D. Genetic and Functional Diversity of *Pseudomonas aeruginosa* Lipopolysaccharide. *Front Microbiol.* 2011 Jun 1;2:118. DOI: 10.3389/fmicb.2011.00118
37. Yan S, Wu G. Can Biofilm Be Reversed Through Quorum Sensing in *Pseudomonas aeruginosa*? *Front Microbiol.* 2019 Jul 23;10:1582. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01582
38. Mann EE, Wozniak DJ. *Pseudomonas* biofilm matrix composition and niche biology. *FEMS Microbiol Rev.* 2012 Jul;36(4):893-916. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2011.00322.x
39. Wei Q, Ma LZ. Biofilm matrix and its regulation in *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Mol Sci.* 2013 Oct 18;14(10):20983-1005. DOI: 10.3390/ijms141020983
40. Miller CL, Romero M, Karna SL, Chen T, Heeb S, Leung KP, RsmW, *Pseudomonas aeruginosa* small non-coding RsmA-binding RNA upregulated in biofilm versus planktonic growth conditions. *BMC Microbiol.* 2016 Jul 19;16(1):155. DOI: 10.1186/s12866-016-0771-y
41. Thöming JG, Tomasch J, Preusse M, Koska M, Grahl N, Pohl S, et al. Parallel evolutionary paths to produce more than one *Pseudomonas aeruginosa* biofilm phenotype. *NPJ Biofilms Microbiomes.* 2020 Jan 10;6:2. DOI: 10.1038/s41522-019-0113-6
42. Lee J, Zhang L. The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa*. *Protein Cell.* 2015 Jan;6(1):26-41. DOI: 10.1007/s13238-014-0100-x
43. Wade DS, Calfee MW, Rocha ER, Ling EA, Engstrom E, Coleman JP, et al. Regulation of *Pseudomonas* quinolone signal synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol.* 2005 Jul;187(13):4372-80. DOI: 10.1128/JB.187.13.4372-4380.2005
44. Alfinyah C, Bees MA, Wood AJ. Quorum machinery: Effect of the las system in rhl regulation of *P. aeruginosa*. *AIP Conference Proceedings.* AIP Publishing LLC. 2019;2192(1).
45. Ueda A, Wood TK. Connecting quorum sensing, c-di-GMP, pel polysaccharide, and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* through tyrosine phosphatase TpbA (PA3885). *PLoS Pathog.* 2009 Jun;5(6):e1000483. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000483
46. Schwarzer C, Ravishankar B, Patanwala M, Shuai S, Fu Z, Illek B, et al. Thapsigargin blocks *Pseudomonas aeruginosa* homoserine lactone-induced apoptosis in airway epithelia. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2014 May 1;306(9):C844-55. DOI: 10.1152/ajpcell.00002.2014
47. Jurado-Martín I, Sainz-Mejías M, McClean S. *Pseudomonas aeruginosa*: An Audacious Pathogen with an Adaptable Arsenal of Virulence Factors. *Int J Mol Sci.* 2021 Mar 18;22(6):3128. DOI: 10.3390/ijms22063128
48. Song D, Meng J, Cheng J, Fan Z, Chen P, Ruan H, et al. *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing metabolite induces host immune cell death through cell surface lipid domain dissolution. *Nat Microbiol.* 2019 Jan;4(1):97-111. DOI: 10.1038/s41564-018-0290-8
49. Lin J, Cheng J. Quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* and its relationship to biofilm development. *Introduction to Biofilm Engineering.* American Chemical Society. 2019;1-16.
50. Lin J, Cheng J, Wang Y, Shen X. The *Pseudomonas* Quinolone Signal (PQS): Not Just for Quorum Sensing Anymore. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018 Jul 4;8:230. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00230
51. García-Reyes S, Soberón-Chávez G, Cocotl-Yanez M. The third quorum-sensing system of *Pseudomonas aeruginosa*: *Pseudomonas* quinolone signal and the enigmatic PqsE protein. *J Med Microbiol.* 2020 Jan;69(1):25-34. DOI: 10.1099/jmm.0.001116
52. Cornelis P. Putting an end to the *Pseudomonas aeruginosa* IQS controversy. *Microbiologyopen.* 2020 Feb;9(2):e962. DOI: 10.1002/mbo3.962
53. Lee J, Wu J, Deng Y, Wang J, Wang C, Wang J, et al. A cell-cell communication signal integrates quorum sensing and stress response. *Nat Chem Biol.* 2013 May;9(5):339-43. Erratum in: *Nat Chem Biol.* 2013 Jun;9(6):406. DOI: 10.1038/nchembio.1225
54. Cornelis P, Dingemans J. *Pseudomonas aeruginosa* adapts its iron uptake strategies in function of the type of infections. *Front Cell Infect Microbiol.* 2013 Nov 14;3:75. DOI: 10.3389/fcimb.2013.00075
55. Dauner M, Skerra A. Scavenging Bacterial Siderophores with Engineered Lipocalin Proteins as an Alternative Antimicrobial Strategy. *Chembiochem.* 2020 Mar 2;21(5):601-606. DOI: 10.1002/cbic.201900564
56. Rezzoagli C, Wilson D, Weigert M, Wyder S, Kümmerli R. Probing the evolutionary robustness of two repurposed drugs targeting iron uptake in *Pseudomonas aeruginosa*. *Evol Med Public Health.* 2018 Sep 10;2018(1):246-259. DOI: 10.1093/emph/eoy026
57. Traxler MF, Seyedsayamdost MR, Clardy J, Kolter R. Interspecies modulation of bacterial development through iron competition and siderophore piracy. *Mol Microbiol.* 2012 Nov;86(3):628-44. DOI: 10.1111/mmi.12008
58. Hunter RC, Asfour F, Dingemans J, Osuna BL, Samad T, Malfroot A, et al. Ferrous iron is a significant component of bioavailable iron in cystic fibrosis airways. *mBio.* 2013 Aug 20;4(4):e00557-13. DOI: 10.1128/mBio.00557-13
59. Schalk IJ, Cunrath O. An overview of the biological metal uptake pathways in *Pseudomonas aeruginosa*. *Environ Microbiol.* 2016 Oct;18(10):3227-3246. DOI: 10.1111/1462-2920.13525
60. Склеенова ЕЮ, Азизов ИС, Шек ЕА, Эйдельштейн МВ, Козлов РС, Дехнич АВ. *Pseudomonas aeruginosa* в РФ: история одного из наиболее успешных нозокомиальных патогенов. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2018;20(3):164-171. / Skleenova EYu, Azizov IS, Shek EA, Eidelshstein MV, Kozlov RS, Dekhnich AV. *Pseudomonas aeruginosa*: the history of one of the most successful nosocomial pathogens in Russian hospitals. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya.* 2018;20(3):164-171. (In Russian).
61. Li XZ, Zhang L, Poole K. Interplay between the MexA-MexB-OprM multidrug efflux system and the outer membrane barrier in the multiple antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother.* 2000 Apr;45(4):433-6. DOI: 10.1093/jac/45.4.433
62. Jacoby GA. AmpC beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2009 Jan;22(1):161-82. Table of Contents. DOI: 10.1128/CMR.00036-08
63. Bush K. Bench-to-bedside review: The role of beta-lactamases in antibiotic-resistant Gram-negative infections. *Crit Care.* 2010;14(3):224. DOI: 10.1186/cc8892
64. Chairat S, Ben Yahia H, Rojo-Bezares B, Sáenz Y, Torres C, Ben Slama K. High prevalence of imipenem-resistant and metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in the Burns Hospital in Tunisia: detection of a novel class 1 integron. *J Chemother.* 2019 May;31(3):120-126. DOI: 10.1080/1120009X.2019.1582168
65. Suresh M. Mutational and Phylogenetic Analysis of nfxB Gene in Multidrug-Resistant Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* Hyperexpressing MexCD-OprJ Efflux Pump. *Advances in Microbiology.* 2019;9(12).
66. Alcalde-Rico M, Olivares-Pacheco J, Alvarez-Ortega C, Cámara M, Martínez JL. Role of the Multidrug Resistance Efflux Pump MexCD-OprJ in the *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing Response. *Front Microbiol.* 2018 Nov 23;9:2752. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02752
67. Knöppel A, Näsvalld J, Andersson DI. Evolution of Antibiotic Resistance without Antibiotic Exposure. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017 Oct 24;61(11):e01495-17. DOI: 10.1128/AAC.01495-17

68. Schwechheimer C, Kuehn MJ. Outer-membrane vesicles from Gram-negative bacteria: biogenesis and functions. *Nat Rev Microbiol*. 2015 Oct;13(10):605-19. DOI: 10.1038/nrmicro3525
69. Schertzer JW, Whiteley M. A bilayer-couple model of bacterial outer membrane vesicle biogenesis. *mBio*. 2012 Mar 13;3(2):e00297-11. DOI: 10.1128/mBio.00297-11
70. Li A, Schertzer JW, Yong X. Molecular conformation affects the interaction of the *Pseudomonas* quinolone signal with the bacterial outer membrane. *J Biol Chem*. 2019 Jan 25;294(4):1089-1094. DOI: 10.1074/jbc.AC118.006844
71. Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, Harbarth S, Mendelson M, Monnet DL, et al; WHO Pathogens Priority List Working Group. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect Dis*. 2018 Mar;18(3):318-327. DOI: 10.1016/S1473-3099(17)30753-3

Информация о соавторах:

Водопьянов Алексей Сергеевич, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора

Писанов Руслан Вячеславович, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора

Information about co-authors:

Alexey S. Vodopyanov, PhD, MD, Leading Researcher, Laboratory of molecular biology of natural focal and zoonotic infections, Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute of Rosptrebnadzor

Ruslan V. Pisanov, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher, Laboratory of molecular biology of natural focal and zoonotic infections, Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute of Rosptrebnadzor

НОВОСТИ НАУКИ

Гены устойчивости к антибиотикам распространены между бактериями более широко, чем считалось ранее

Глобальное распространение плазмидной устойчивости к карбапенемам является постоянной проблемой общественного здравоохранения; однако природа таких событий горизонтального переноса генов среди сложных бактериальных сообществ остается плохо изученной.

Ученые исследовали перенос *in-situ* глобально доминирующей металло-β-лактамазы Нью-Дели (NDM)-5-положительной плазмиды IncX3 (обозначенной рХ3_NDM-5) в сточных водах больницы, чтобы смоделировать реальный контекст устойчивости к противомикробным препаратам One Health.

Для исследования передачи поместили рХ3_NDM-5 геном зеленого флуоресцентного белка *gfp*, используя метод на основе CRISPR, и перенесли плазмиду донорскому штамму *Escherichia coli*. Бактерии были извлечены из больницы станции очистки сточных вод (Провинциальная родильная и детская больница провинции Фуцзянь, Фучжоу, Китай) в качестве бактериального сообщества-реципиента. Сообщество реципиентов смешали с донорским штаммом *E. coli*, несущим плазмиду, меченную *gfp*, как с гипохлоритом натрия (NaClO), так и без него в качестве стрессора окружающей среды, и провели несколько культуральных и независимых от культуры анализов конъюгации. События конъюгации наблюдали микроскопически и количественно определяли путем сортировки клеток, активируемой флуоресценцией. Проанализировали таксономический состав отсортированного трансконоъюгантного пула методом секвенирования ампликона гена 16S рPHK и оценили стабильность плазмиды в выделенных трансконоъюгантах и ее способность переносить обратно в *E. coli*.

Показано, что плаزمида рХ3_NDM-5 имеет широкий круг хозяев и может передаваться между различными типами бактерий, в том числе между грамотрицательными и грамположительными бактериями. Хотя экологический стресс NaClO не влиял на общую частоту переноса плазмиды, он уменьшал ширину пула трансконоъюгантов. Таксономический состав трансконоъюгантного пула отличался от такового в сообществах-реципиентах, а стресс окружающей среды модулировал способность некоторых операционных таксономических единиц к приобретению рХ3_NDM-5. Примечательно, что трансконоъюганты рХ3_NDM-5 включали грамположительный патоген *Enterococcus faecalis*, и плазмиду впоследствии можно было реконъюгировать обратно в *E. coli*. Эти данные позволяют предположить, что *E. faecalis* может действовать как естественный челночный вектор для широкого распространения плазмид рХ3_NDM-5.

Данные показывают, что плазмиды распространяются более широко по родам и типам, чем считалось ранее. Эти результаты имеют существенное значение при рассмотрении распространения устойчивости к противомикробным препаратам в секторах One Health.

Yang QE, Ma X, Zeng L, Wang Q, Li M, Teng L, et al.
Interphylum dissemination of NDM-5-positive plasmids in hospital wastewater from Fuzhou, China: a single-centre, culture-independent, plasmid transmission study.
Lancet Microbe. 2023 Nov 22:S2666-5247(23)00227-6. DOI: 10.1016/S2666-5247(23)00227-6