

Исследование резистентности к антибиотикам бактерий рода *Bacillus*, выделенных из Международной космической станции и больницы лаборатория

*Р. Р. ЕНИКЕЕВ, Л. М. ЗАХАРЧУК

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Резюме

Актуальность. К настоящему времени мало данных о клинических характеристиках бактерий рода *Bacillus*, обитающих в чистых комнатах и асептических помещениях. **Цель исследования** — идентификация и определение устойчивости к клинически значимым антибиотикам штаммов *Bacillus*, выделенных с Международной космической станции и медицинской лаборатории. **Материалы и методы.** Идентификация изолятов осуществлена методами анализа гена 16S рРНК, MALDI-TOF и полногеномного секвенирования. Чувствительность к антибиотикам оценивали диско-диффузионным методом. **Результаты.** У семи штаммов *Bacillus* из 13 обнаружена резистентность к имипенему, у каждого из *B. cereus* LR2HG21, HSA01, HSA03, HSA12 — к имипенему, ципрофлоксацину, левофлоксацину и норфлоксацину. Полногеномное секвенирование *B. cereus* LR2HG21, HSA01, HSA03, HSA12 и *B. safensis* SE192, устойчивых к имипенему и меропенему, показало, что резистентность к ним обеспечивает ген *TEM-116*. Кроме *TEM-116*, устойчивость *B. cereus* LR2HG21 к имипенему и меропенему, а *B. cereus* HSA01 и HSA03 к имипенему обеспечивают гены *BclI* и/или *BclII*. Резистентность к эритромицину у *B. subtilis* SE15 и *B. subtilis* SE171 кодирует ген *mphK*. **Заключение.** У разных штаммов *Bacillus* устойчивость к определённому антибиотику может обеспечиваться одним или несколькими механизмами одновременно.

Ключевые слова: Международная космическая станция; бактерии рода *Bacillus*; устойчивость к антибиотикам; гены устойчивости; *Bacillus cereus*; *Bacillus subtilis*; *Bacillus safensis*.

Для цитирования: Еникеев Р. Р., Захарчук Л. М. Исследование резистентности к антибиотикам бактерий рода *Bacillus*, выделенных из Международной космической станции и больницы лаборатория. *Антибиотики и химиотерапия*. 2024; 69 (3–4): 4–13. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-3-4-4-13>. EDN: BKZWDU.

Study of Antibiotic Resistance of *Bacillus* Bacteria Isolated from the International Space Station and a Hospital Laboratory

*RADMIR R. YENIKEYEV, LEONID M. ZAKHARCHUK

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Abstract

Background. To date, there is little data on the clinical characteristics of *Bacillus* bacteria found in clean rooms and aseptic facilities. **The aim of the study** was to identify and determine the resistance of *Bacillus* strains isolated from the International Space Station and medical laboratory to clinically significant antibiotics. **Methods.** Isolates were identified using 16S rRNA gene analysis, MALDI-TOF, and whole-genome sequencing. Antibiotic sensitivity was assessed using the disk diffusion method. **Results.** Seven *Bacillus* strains out of 13 showed resistance to imipenem, and each of *B. cereus* LR2HG21, HSA01, HSA03, and HSA12 showed resistance to imipenem, ciprofloxacin, levofloxacin, and norfloxacin. Whole-genome sequencing of *B. cereus* LR2HG21, HSA01, HSA03, HSA12 and *B. safensis* SE192, resistant to imipenem and meropenem, showed that resistance to them is provided by the *TEM-116* gene. In addition to *TEM-116*, the resistance of *B. cereus* LR2HG21 to imipenem and meropenem, and *B. cereus* HSA01 and HSA03 to imipenem, is provided by the *BclI* and/or *BclII* genes. Resistance to erythromycin in *B. subtilis* SE15 and *B. subtilis* SE171 is encoded by the *mphK* gene. **Conclusion.** Resistance to a particular antibiotic in different *Bacillus* strains can be achieved by one or more mechanisms simultaneously.

Keywords: International Space Station; bacteria of the *Bacillus* genus; antibiotic resistance; resistance genes; *Bacillus cereus*; *Bacillus subtilis*; *Bacillus safensis*.

For citation: Yenykeyev R. R., Zakharchuk L. M. Study of antibiotic resistance of *Bacillus* bacteria isolated from the International Space Station and a hospital laboratory. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2024; 69 (3–4): 4–13. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-3-4-4-13>. EDN: BKZWDU.

*Адрес для корреспонденции: Ленинские горы, д. 1, стр. 12, МГУ им. М. В. Ломоносова, г. Москва, Россия, 119234.
E-mail: radmir.yenykeyev@gmail.com



EDN: BKZWDU

*Correspondence to: 1–12 Leninskiye Gory, Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119234 Russia. E-mail: radmir.yenykeyev@gmail.com



Введение

Рабочие поверхности и воздушные пространства обитаемых помещений на Земле характеризуются микробными сообществами, состоящими из различных видов бактерий и грибов. С помощью влажной уборки и естественной вентиляции в жилых и рабочих помещениях количество микроорганизмов снижают, хотя оно остаётся достаточно высоким.

Однако во многих асептических помещениях, например, родильных отделениях, операционных, цехах для производства медицинских препаратов и других, количество микроорганизмов на поверхностях оборудования и в воздухе поддерживают на минимальном уровне уже с помощью воздушных фильтров, дезрастворов, ультрафиолетового облучения. Лабораторные комнаты для отбора проб крови в больницах являются одним из видов таких асептических помещений. Микроорганизмы в лабораторных комнатах уничтожаются воздействием УФ-излучения и дезинфицирующих средств, обладающих мутагенным действием. Выжившие после такой антисептической обработки микроорганизмы часто приобретают множественную лекарственную устойчивость (МЛУ), связанную ещё и с тем, что посетители лечебных учреждений часто подвергаются лечению различными антибиотиками [1, 2].

Другим видом асептических помещений является Российский сегмент Международной космической станции (РС МКС), который представляет собой закрытую искусственную среду в космосе с собственной экологической нишей, характеризующейся несколькими уникальными для микроорганизмов параметрами, такими как радиация, изолированность и микрогравитация [3]. При этом, в отличие от наземных асептических помещений, например лаборатории для отбора анализов крови, на РС МКС длительное время сохраняется постоянный экипаж и формируется устойчивая микробиота из-за отсутствия постоянного притока новых штаммов микроорганизмов. Кроме того, в герметичной МКС, которая насыщена сложнейшим оборудованием и где работает экипаж, не применяются некоторые традиционные на Земле методы борьбы с микроорганизмами — УФ-облучение, ядовитые дезинфицирующие растворы, газы [4].

Устойчивость к УФ-облучению и дезинфицирующим средствам чаще всего обнаруживают спорообразующие бактерии. Так, установлено, что на МКС одной из самых распространённых групп микроорганизмов являются спорообразующие бактерии рода *Bacillus*, некоторые виды которого способны вызывать множество заболеваний [5, 6]. Однако информации о клинических характеристиках бактерий рода *Bacillus*, обитающих в чистых комнатах и асептических помещениях, ещё очень мало.

Цель работы — выделение с рабочих поверхностей Российского сегмента Международной космической станции (РС МКС) и лаборатории для отбора проб крови изолятов спорообразующих штаммов бактерий рода *Bacillus*, их идентификация, определение устойчивости к ряду клинически значимых антибиотиков и выявление возможных генетических детерминант этой резистентности.

Материал и методы

Пробы с поверхностей приборов РС МКС и больницы лаборатории отбирали с помощью ватных тампонов на площади 100 см². Получение первичных изолятов бактерий и чистых культур спорообразующих бактерий из образцов, полученных из МКС и больницы лаборатории, осуществляли, как описано ранее [7, 8].

Исследование морфологических, культуральных и физиолого-биохимических признаков бактерий, а также дифференциация бактерий рода *Bacillus* от представителей сходных родов бактерий, образующих эндоспores, основывались на соответствующих руководствах [9]. Идентификацию чистых культур бактерий по сумме признаков, предположительно относящихся к роду *Bacillus*, осуществляли анализом 16S рРНК [7, 8] и методом масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF) на приборе MALDI-TOF autoflex III L200 (Biotyper Bruker, Германия) [10].

Для оценки чувствительности бактерий к антибиотикам диско-диффузионным методом использовали агар Мюллера-Хинтона состава (г/л): мясной экстракт сухой — 3,0; гидролизат казеина сухой — 17,5; крахмал растворимый — 0,5; агар — 18,0; вода дистиллированная — до 1 л, pH = 7,0. Суспензию бактерий 0,5 единиц по стандарту мутности Мак-Фарланда наносили на поверхность питательной среды в чашках Петри в количестве 200 мкл и распределяли с помощью стеклянного шпателя. Диски с антибиотиками (Научно-исследовательский центр фармакотерапии, Россия) наносили на поверхность засеянной среды, через 15 мин после инокуляции среды в чашках суспензией бактерий. Через 15 мин чашки с дисками помещали в термостат и инкубировали при 35°C в течение 20 ч [11]. Определяли специфические значения диаметров зон подавления роста бактерий антибиотиками, используемыми для оценки штаммов, в соответствии с клиническими категориями «чувствительный» или «резистентный» по таблицам критериев интерпретации результатов, представленным European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) [11]. При этом по таблицам критериев изоляты, отнесённые к категории скрининг-отрицательных к норфлоксацину, могут быть отмечены как «чувствительные к повышенному воздействию» ципрофлоксацина и левофлоксацина, то есть к чувствительным штаммам (S), а изоляты, отнесённые к категории положительных по скринингу к норфлоксацину, могут быть устойчивы к ципрофлоксацину и левофлоксацину, и, следовательно, могут быть отнесены к резистентным к ципрофлоксацину и левофлоксацину штаммам (R).

Для полногеномного секвенирования выделение ДНК из клеток штаммов, выращенных на жидкой среде с мясопептонным бульоном и 1% глюкозы, проводили с помощью набора реактивов Fast DNA Spin Kit (MP Biomedicals, США) по протоколу производителя. Геномную ДНК секвенировали с использованием платформ Illumina MiSeq (Illumina Inc., США). Библиотеки Illumina были подготовлены с использованием набора библиотек Kapa Hyperplus (Roche Molecular Systems Inc., Pleasanton, США) в соответствии с инструкциями производителя. Полученные последовательности были идентифицированы с использованием программы сверхбыстрой

классификации метагеномных последовательностей Kraken [12]. Установление наличия в геноме штаммов бактерий рода *Bacillus* генов устойчивости к антибиотикам осуществляли с помощью базы данных The Comprehensive Antibiotic Resistance Database (CARD) [13]. Результаты в их конечном виде получали путём вычисления среднего арифметического (\bar{X}) из результатов всех повторностей (X_n) при условии, что они различались не более чем на 10% ($|X_n - \bar{X}| \leq 0,05 \bar{X}$). При этом расчёт среднего арифметического проводили, исключая «сомнительные результаты» («X»), не входящие в доверительный интервал $|X_n - \bar{X}| = t \sigma$, где \bar{X} — среднее арифметическое без учёта «сомнительных результатов», t — нормированное отклонение при $p=0,95$ для малых выборок ($n < 30$), σ — среднее квадратичное отклонение без учёта «X».

Результаты

Получение и первичная характеристика штаммов бактерий. Получение первичных изолятов бактерий осуществляли высевами образцов материалов, отобранных методом смывов с поверхностей оборудования на PC MKC и в больничной лаборатории для отбора проб крови, на плотные питательные среды, такие как мясо-пептонный агар с 1% глюкозы и бульон сусло-агар [7, 8]. Из первичных изолятов были получены чистые культуры спорообразующих бактерий. Затем исследовали морфологические, культуральные и физиолого-биохимические признаки соответствующих штаммов. Определяли такие свойства выделенных бактерий, как форма и диаметр клеток, образование эндоспор, окраска по Граму, отношение к кислороду, способность синтезировать каталазу и оксидазу, образование кислоты при сбраживании глюкозы, гидролиз крахмала, восстановление нитратов и некоторые другие физиологические и биохимические признаки. По сумме фенотипических признаков с использованием соответствующих руководств [9] осуществлена дифференциация исследуемых штаммов от бактерий сходных родов, образующих эндоспоры, что позволило предположительно отнести 13 штаммов спорообразующих бактерий к роду *Bacillus*.

Идентификация штаммов с помощью анализа гена 16S rPHK. Все штаммы спорообразующих бактерий, выделенные из проб, полученных из PC MKC и больничной лаборатории, на основании анализа последовательностей 16S rPHK были отнесены к роду *Bacillus* (табл. 1). При этом штаммы, выделенные из больничной лаборатории, были определены до вида как *Bacillus cereus* HSA01, *Bacillus cereus* HSA03, *Bacillus cereus* HSA12, *B. subtilis* HSA06, *B. amyloliquefaciens* HSA09. В то же время штаммы бацилл, выделенные из проб, доставленных с PC MKC, идентифицировать до конкретного вида с помощью анализа 16S rPHK не удалось, так как последовательности гена 16S rPHK у этих штаммов оказались одновременно близки к нескольким видам рода *Bacillus*. Эти космические штаммы были обозначены как *Bacillus* sp. LR2HG21, *Bacillus* sp. HEP3B2, *Bacillus* sp. PWN2D, *Bacillus* sp.

DLA64, *Bacillus* sp. SE15, *Bacillus* sp. SE21, *Bacillus* sp. SE171, *Bacillus* sp. SE192 (см. табл. 1).

Идентификация штаммов с помощью MALDI-TOF. Дальнейшую идентификацию штаммов бактерий, по сумме признаков, предположительно отнесённых к роду *Bacillus*, осуществляли методом масс-спектрометрии MALDI-TOF [10]. Все 13 штаммов бактерий — 8 штаммов, выделенных с PC MKC и 5 штаммов, полученных с больничной лаборатории, с использованием масс-спектрометрии, были отнесены к роду *Bacillus*. Штаммы из PC MKC *Bacillus* sp. LR2HG21 и *Bacillus* sp. DLA64 идентифицированы до вида как *B. cereus* LR2HG21 и *B. subtilis* DLA64 соответственно (см. табл. 1). Три штамма бацилл из больничной лаборатории — HSA01, HSA03, HSA12 идентифицированы, как и методом анализа гена 16S rPHK, до вида как *B. cereus* HSA01, HSA03, HSA12, а штаммы HSA06 и HSA09 — как *B. subtilis* HSA06 и *B. amyloliquefaciens* HSA09, соответственно (см. табл. 1).

Определение чувствительности к антибиотикам. У выделенных с PC MKC и больничной лаборатории штаммов бацилл изучали устойчивость к действию ряда антибиотиков диско-диффузионным методом [11]. В последнем выпуске EUCAST 2023 [11] присутствуют критерии интерпретации для оценки устойчивости бактерий *Bacillus* spp. с помощью диско-диффузионного метода для таких антибиотиков, как имипенем, меропенем, цiproфлоксацин, левофлоксацин, норфлоксацин, ванкомицин, эритромицин, клиндамицин и линезолид, поэтому именно эти антибиотики были использованы в нашей работе. По размерам зон подавления роста бактерии соответствующим антибиотиком этот штамм можно было отнести к категориям чувствительный (S) или резистентный (R), в соответствии с таблицами, представленными в EUCAST 2023.

Изучение устойчивости к перечисленным антибиотикам 13 штаммов бактерий рода *Bacillus*, выделенных из PC MKC и больничной лаборатории, показало, что семь из них проявляют резистентность к первому из исследуемых антибиотиков — имипенему (см. табл. 1). К следующему антибиотику меропенему большинство штаммов чувствительны и только два штамма, выделенные из PC MKC, устойчивы — LR2HG21 и SE171. К таким антибиотикам, как цiproфлоксацин, левофлоксацин и норфлоксацин проявили устойчивость только один штамм, полученный из PC MKC — LR2HG21 и три штамма бацилл, выделенных из больничной лаборатории — HSA01, HSA03, HSA12 (см. табл. 1). Все 13 штаммов из PC MKC и больничной лаборатории оказались чувствительными к ванкомицину и клиндамицину. К эритромицину проявили резистентность только три штамма из PC MKC — SE15, SE21 и SE171 (см. табл. 1). К последнему ан-

Таблица 1. Диаметры зон подавления роста штаммов бактерий рода *Bacillus* (в мм), выделенных из РС МКС и больницы лаборатории, на среде Мюллера-Хинтон под действием дисков с различными антибиотиками

Table 1. Growth inhibition zone diameters (in millimeters) of *Bacillus* bacterial strains isolated from the ISS RS and the hospital laboratory on Mueller-Hinton agar plates exposed to various antibiotic discs.

Штамм бактерий по 16S рРНК	Антибиотик										Штамм на основании секвенирования	
	имипенем	меропенем	ципрофлоксацин	левофлоксацин	ванкомицин	эритромицин	клиндамицин	линезолид	MALDI-TOF	Штамм на основании секвенирования		
<i>Bacillus</i> sp. LR2HG21	26 (R)	24 (R)	25 (R)	24 (R)	22 (S)	22 (S)	25 (S)	27 (S)	<i>B. cereus</i> LR2HG21	<i>B. cereus</i> LR2HG21		
<i>Bacillus</i> sp. HEP3B2	27 (R)	26 (S)	25 (S)	33 (S)	22 (S)	28 (S)	24 (S)	37 (S)	—	<i>B. safensis</i> HEP3B2		
<i>Bacillus</i> sp. PWN2D	41 (S)	33 (S)	30 (S)	30 (S)	31 (S)	30 (S)	26 (S)	35 (S)	—	<i>B. amyloliquefaciens</i> WVN2D		
<i>Bacillus</i> sp. DLA64	42 (S)	41 (S)	30 (S)	32 (S)	27 (S)	30 (S)	26 (S)	38 (S)	<i>B. subtilis</i> DLA64	—		
<i>Bacillus</i> sp. SE15	35 (S)	35 (S)	35 (S)	30 (S)	30 (S)	26 (S)	25 (S)	35 (S)	—	<i>B. subtilis</i> SE15		
<i>Bacillus</i> sp. SE21	40 (S)	40 (S)	35 (S)	36 (S)	25 (S)	20 (S)	30 (S)	26 (S)	—	<i>B. safensis</i> SE21		
<i>Bacillus</i> sp. SE171	29 (R)	24 (R)	35 (S)	37 (S)	26 (S)	15 (R)	30 (S)	30 (S)	—	<i>B. subtilis</i> SE171		
<i>Bacillus</i> sp. SE192	29 (R)	25 (S)	33 (S)	33 (S)	25 (S)	30 (S)	25 (S)	26 (S)	—	<i>B. safensis</i> SE192		
<i>B. cereus</i> HSA01	26 (R)	26 (S)	23 (R)	24 (R)	20 (R)	27 (S)	25 (S)	21 (R)	<i>B. cereus</i> HSA01	<i>B. cereus</i> HSA01		
<i>B. cereus</i> HSA03	25 (R)	31 (S)	23 (R)	22 (R)	20 (R)	26 (S)	23 (S)	21 (R)	<i>B. cereus</i> HSA03	<i>B. cereus</i> HSA03		
<i>B. cereus</i> HSA12	26 (R)	26 (S)	23 (R)	21 (R)	21 (R)	30 (S)	25 (S)	21 (R)	<i>B. cereus</i> HSA12	<i>B. cereus</i> HSA12		
<i>B. subtilis</i> HSA06	33 (S)	34 (S)	31 (S)	29 (S)	28 (S)	30 (S)	22 (S)	27 (S)	<i>B. subtilis</i> HSA06	—		
<i>B. amyloliquefaciens</i> HSA09	38 (S)	38 (S)	33 (S)	30 (S)	28 (S)	33 (S)	24 (S)	27 (S)	<i>B. amyloliquefaciens</i> HSA09	—		

Примечание. S — чувствительный штамм; R — резистентный; «—» — данное исследование не выполняли (EUCAST) [11].

Note. S — sensitive strain; R — resistant; «—» — the study was not performed (EUCAST) [11].

тибиотику линезолиду показали устойчивость три штамма из больницы лаборатории — HSA01, HSA03, HSA12 (см. табл. 1).

Полногеномное секвенирование и определение наличия генов устойчивости. Проведение полногеномного секвенирования позволило прежде всего уточнить или определить систематическое положение штаммов бацилл, проявивших устойчивость к антибиотикам (см. табл. 1). Этим методом подтверждена принадлежность штаммов LR2HG21, HSA01, HSA03, HSA12 к условно-патогенному виду *B. cereus*, установленная ранее анализом 16S рРНК и методом MALDI-TOF (табл. 2). Было осуществлено полногеномное секвенирование прежде всего условных патогенов *B. cereus* LR2HG21, HSA01, HSA03, HSA12, а также некоторых других штаммов, проявивших устойчивость к имипенему, меропенему, ципрофлоксацину, левофлоксацину, норфлоксацину, эритромицину и линезолиду, с целью определения наличия генов устойчивости к перечисленным антибиотикам (см. табл. 2). Таким образом, в результате использования методов анализа гена 16S рРНК, MALDI-TOF и полногеномного секвенирования установлено, что из 13 штаммов бацилл по четыре принадлежат к видам *B. cereus* и *B. subtilis*, три — к *B. safensis* и два — к *B. amyloliquefaciens*. При этом три из четырёх штаммов *B. cereus* — HSA01, HSA03, HSA12 были выделены с поверхности оборудования больницы лаборатории (см. табл. 2).

С использованием диско-диффузионного метода показана устойчивость *B. cereus* LR2HG21, *B. safensis* HEP3B2, *B. subtilis* SE171, *B. safensis* SE192, *B. cereus* HSA01, *B. cereus* HSA03, *B. cereus* HSA12 к бета-лактаму антибиотику имипенему, а у двух из этих штаммов — *B. cereus* LR2HG21 и *B. subtilis* SE171 ещё и к бета-лактаму антибиотику меропенему (см. табл. 1). Как известно, бета-лактамы антибиотики действуют путём ингибирования транспептидаз — ферментов, которые участвуют в биосинтезе клеточных стенок бактерий, а β -лактамазы бактерий инактивируют бета-лактамы антибиотики путём гидролиза их бета-лактамного кольца. На основе данных полногеномного секвенирования штаммов бацилл с использованием базы данных по устойчивости к антибиотикам CARD [13] установлено наличие в геномах большинства штаммов, резистентных к имипенему — *B. cereus* LR2HG21, *B. safensis* SE192, *B. cereus* HSA01, *B. cereus* HSA03, *B. cereus* HSA12, гена *TEM-116*, кодирующего устойчивость бактерий к бета-лактамам антибиотикам (см. табл. 2). Ген *TEM-116* кодирует β -лактамазу расширенного спектра действия (БЛРС). Этот фермент обуславливает резистентность бактерий к таким бета-лактамам антибиотикам, как монобактамы, пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы

Таблица 2. Гены резистентности к антибиотикам, обнаруженные у штаммов бактерий рода *Bacillus* с использованием базы данных CARD [13]

Table 2. Antibiotic resistance genes detected in *Bacillus* strains using the CARD database [13]

Идентификация штаммов на основании полногеномного секвенирования	Ген	Кодирует действие на классы антибиотиков	Механизм действия	Ссылка
<i>B. cereus</i> LR2HG21	<i>TEM-116</i>	Монобактамы, цефалоспорины, пенамы, пенемы	Инактивация антибиотика	[13–17]
	<i>APH(3')-IIa</i>	Цефалоспорины, пенициллины	Инактивация антибиотика	[13]
	<i>BclI</i>	Цефалоспорины, пенамы	Инактивация антибиотика	[13, 18, 20]
<i>B. subtilis</i> SE15	<i>ykkD</i>	Аминогликозиды, тетрациклины, фениколовые антибиотики	Эффлюкс	[13]
	<i>ykkC</i>	Аминогликозиды, тетрациклины, фениколовые антибиотики	Эффлюкс	[13]
	<i>Blt</i>	Фторхинолоны, дезинфицирующие средства и антисептики	Эффлюкс	[13]
	<i>B. subtilis</i>	Пептидные антибиотики	Изменение мишени антибиотика	[13]
	<i>mphK</i>	Макролиды	Инактивация антибиотика	[13, 17, 24–26]
	<i>tmrB</i>	Нуклеозиды	Снижение проницаемости антибиотика	[13]
	<i>aadK</i>	Аминогликозиды	Инактивация антибиотика	[13]
	<i>vmlR</i>	Линкозамиды, стрептограмин, стрептограмин А, оксазолидинон, феникол, плевромутилин	Защита мишени действия	[13]
	<i>catA1</i>	Фениколовые антибиотики	Инактивация антибиотика	[13]
	<i>TEM-181</i>	Монобактам, цефалоспорин, пенам, пенем	Инактивация антибиотика	[13]
	<i>ykkC</i>	Аминогликозиды, тетрациклины, фениколовые антибиотики	Эффлюкс	[13]
<i>B. subtilis</i> SE171	<i>ykkD</i>	Аминогликозиды, тетрациклины, фениколовые антибиотики	Эффлюкс	[13]
	<i>Blt</i>	Фторхинолоны, дезинфицирующие средства и антисептики	Эффлюкс	
	<i>aadK</i>	Аминогликозиды	Инактивация антибиотика	
	<i>mphK</i>	Макролиды	Инактивация антибиотика	[13, 17, 24–26]
	<i>tmrB</i>	Нуклеозиды	Снижение проницаемости антибиотиков	[13]
	<i>B. subtilis</i>	Пептидные антибиотики	Изменение мишени антибиотика	[13]
	<i>mprF</i>	Линкозамиды, стрептограмин, стрептограмин А, оксазолидинон, феникол, плевромутилин	Защита мишени действия	[13]
	<i>vmlR</i>	Линкозамиды, стрептограмин, стрептограмин А, оксазолидинон, феникол, плевромутилин	Защита мишени действия	[13]
	<i>APH(3')-IIa</i>	Аминогликозиды	Инактивация антибиотика	[13]
	<i>TEM-116</i>	Монобактамы, цефалоспорины, пенамы, пенемы	Инактивация антибиотика	[13–17]
	<i>APH(3')-IIa</i>	Аминогликозидные антибиотики	Инактивация антибиотика	[13]
<i>B. safensis</i> SE192	<i>TEM-116</i>	Монобактамы, цефалоспорины, пенамы, пенемы	Инактивация антибиотика	[13–17]
	<i>APH(3')-IIa</i>	Аминогликозидные антибиотики	Инактивация антибиотика	[13]
	<i>APH(3')-IIa</i>	Аминогликозидные антибиотики	Инактивация антибиотика	[13]
<i>B. cereus</i> HSA01	<i>FosBx1</i>	Антибиотики группы производных фосфоновой кислоты	Инактивация антибиотика	[13]
	<i>Bcl</i>	Цефалоспорины, пенемы	Инактивация антибиотика	[13, 14, 18, 19]
	<i>BclI</i>	Цефалоспорины, пенемы	Инактивация антибиотика	[13, 18, 20]
	<i>FosBx1</i>	Антибиотики группы производных фосфоновой кислоты	Инактивация антибиотика	[13]
	<i>TEM-116</i>	Монобактамы, цефалоспорины, пенамы, пенемы	Инактивация антибиотика	[13–17]
<i>B. cereus</i> HSA03	<i>APH(3')-IIa</i>	Аминогликозидные антибиотики	Инактивация антибиотика	[13]
	<i>Bcl</i>	Цефалоспорины, пенемы	Инактивация антибиотика	[13, 14, 18, 19]
	<i>BclI</i>	Цефалоспорины, пенемы	Инактивация антибиотика	[13, 18, 20]
	<i>FosBx1</i>	Антибиотики группы производных фосфоновой кислоты	Инактивация антибиотика	[13]
	<i>TEM-116</i>	Монобактамы, цефалоспорины, пенамы, пенемы	Инактивация антибиотика	[13–17]
<i>B. cereus</i> HSA12	<i>APH(3')-IIa</i>	Аминогликозидные антибиотики	Инактивация антибиотика	[13]
	<i>Bcl</i>	Цефалоспорины, пенемы	Инактивация антибиотика	[13, 14, 18, 19]
	<i>BclI</i>	Цефалоспорины, пенемы	Инактивация антибиотика	[13, 18, 20]
	<i>FosBx1</i>	Антибиотики группы производных фосфоновой кислоты	Инактивация антибиотика	[13]
	<i>TEM-116</i>	Монобактамы, цефалоспорины, пенамы, пенемы	Инактивация антибиотика	[13–17]

путём их гидролиза. При выявлении продуцентов БЛРС препаратами выбора обычно служат бета-лактамы группы карбапенемов — имипенем и меропенем. Ранее считали, что ген *TEM-116* встречается преимущественно у грамотрицательных бактерий, расположен на плазидах, и может передаваться путём конъюгации между грамотрицательными видами бактерий [14, 15]. Однако ген *TEM-116* обнаружен и у многих грамположительных бактерий, в том числе у некоторых видов *Bacillus* — *B. subtilis*, *B. simplex*, *B. thuringiensis*, *B. velezensis* [13, 16, 17]. Важно отметить, что у бацилл ген *TEM-116* может присутствовать на хромосоме или на мобильных элементах плазмидах, поэтому способен передаваться с помощью плазмид не только от штамма к штамму, но, вероятно, и через видовой барьер от вида к виду [16, 17].

У *B. cereus* HSA01 и *B. cereus* HSA03, выделенных из больничной лаборатории и проявивших устойчивость к бета-лактаму имипенему (см. табл. 1) с помощью полногеномного секвенирования выявлено наличие генов *BcI* и *BcII* (см. табл. 2). У штамма *B. cereus* LR2HG21, резистентного к имипенему и меропенему, секвенирование показало наличие только гена *BcII* (см. табл. 2). Ген *BcI* кодирует сериновую β -лактамазу I *B. cereus* класса A группы 2A по классификации K. Bush и G. A. Jacoby [14, 18], гидролизующую ряд пенициллинов, цефалоспоринов, карбапенемов у *B. amyloliquefaciens*, *B. anthracis*, *B. cereus*, *B. halotolerans*, *B. subtilis*, *B. tequilensis*, *B. thuringiensis*, *B. velezensis* [13]. Роль β -лактамазы I в гидролизе пенициллинов и цефалоспоринов была впервые изучена у *B. cereus* 569/H/9 [19]. Ген *BcII* *B. cereus* кодирует β -лактамазу II, которая представляет собой термостабильный маннан-связывающий лектин [18], расщепляющий большое количество пенициллинов, цефалоспоринов, карбапенемов у *B. anthracis*, *B. cereus*, *B. thuringiensis* [13]. Впервые β -лактамаза II изучена у *Bacillus cereus* 5/B/6. Она представляет собой металло-бета-лактамазу цинка [20].

Фторхинолоны, которые содержат атом фтора в своей химической структуре, эффективны как против грамотрицательных, так и грамположительных бактерий. Одним из наиболее широко используемых антибиотиков из этой группы во всём мире является цiproфлоксацин [21]. Резистентность к фторхинолонам (хинолоны 3-го поколения) цiproфлоксацину, левофлоксацину и норфлоксацину обнаружена у всех штаммов *B. cereus* — LR2HG21, HSA01, HSA03, HSA12 (см. табл. 1). Однако генов устойчивости к этим антибиотикам у перечисленных штаммов методом полногеномного секвенирования в базе данных CARD обнаружить не удалось (см. табл. 2). Для объяснения резистентности к фторхинолонам следует рассмотреть механизм действия этих

антибиотиков на клетки бацилл [21]. Мишенью действия фторхинолонов у грамположительных бактерий являются два фермента из группы топоизомераз — топоизомераза II (ДНК-гираза) и топоизомераза IV. Эти ферменты обладают способностью увеличивать или уменьшать степень раскручивания ДНК, что важно для таких процессов, как репликация ДНК, сегрегация хромосом, транскрипция и рекомбинация. Ингибирование функции топоизомераз приводит к гибели бактериальной клетки (бактерицидный эффект) в результате конформационных изменений в молекуле бактериальной ДНК и нарушения её нормальной репликации [21, 22]. Основным механизмом резистентности к фторхинолонам у грамположительных бактерий связан с мутациями в генах *gyrA* и *parC*, кодирующих GyrA и ParC субъединицы ферментов (quinolone-resistance-determining region) ДНК-гиразы и топоизомеразы, соответственно [21, 22]. При этом, чем больше мутаций присутствует в этих двух генах, тем выше уровень устойчивости к фторхинолонам. Резистентность бактерий к фторхинолонам развивается относительно медленно. Одиночные мутации возникают с частотой 10^{-7} – 10^{-11} . При отсутствии контакта препарата с микробной клеткой спонтанные мутанты нередко вновь становятся чувствительными. Другой механизм резистентности бактерий к фторхинолонам связан с нарушением процесса проникновения антибиотика в клетку через пориновые каналы. Кроме этого, резистентность может быть связана также с активацией эффлюксных белков, которые выводят фторхинолоны из клетки [23]. При развитии резистентности в результате нарушения транспорта препарата в клетки через пориновые каналы или при активном его оттоке из клетки в результате эффлюкса, устойчивость может носить перекрёстный характер с другими антибиотиками — бета-лактамами, аминогликозидами и другими, для которых подобные процессы также имеют важное значение [23].

У *B. subtilis* SE15, *B. safensis* SE21 и *B. subtilis* SE171, выделенных из ПК МКС, обнаружена резистентность к эритромицину (см. табл. 1). Действие эритромицина заключается в связывании с 23S рРНК 50S субъединицы рибосомы, что нарушает образование пептидных связей между молекулами аминокислот и блокирует синтез бактериальных белков. Известно несколько механизмов устойчивости бактерий к эритромицину. Это снижение внутриклеточной концентрации антибиотика за счёт действия эффлюксных насосов, модификация рибосом в результате метилирования 23S рРНК метилтрансферазами семейства Erm, мутации в 23S рРНК, защита рибосом в результате связывания с ними АТФ-связывающих кассетных белков MsrE, фермента-

тивно катализируемая модификация антибиотика макролид-фосфотрансферазами (Mphs) и макролид-эстеразами (Eres), метилирование 23S рРНК Egm-метилтрансферазами [24]. В результате полногеномного секвенирования трёх штаммов бацилл, показавших устойчивость к эритромицину (см. табл. 1), у двух из них — *B. subtilis* SE15 и *B. subtilis* SE171 обнаружен ген *mphK*, кодирующий хромосомную макролид-фосфотрансферазу у *B. subtilis* [13, 25]. Ген *mphK* является гомологом кодируемых хромосомами макролид-фосфотрансфераз (Mphs), которые инактивируют 14- и 15-членные макролиды — эритромицин, кларитромицин, азитромицин у *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, *B. anthracis* [26]. Ферменты Mphs инактивируют макролид путём его модификации фосфорилированием 2'-ОН незаменимого диметиламина сахара, что предотвращает связывание антибиотика с рибосомой. У *B. subtilis* ген *mphK* находится в хромосоме [17].

У *B. cereus* HSA01, *B. cereus* HSA03, *B. cereus* HSA12, выделенных из больницы лаборатории, обнаружена резистентность к линезолиду (см. табл. 1), используемому для лечения некоторых бактериальных инфекций у людей, таких как стрептококковая инфекция и MRSA. Линезолид обладает бактериостатической активностью за счёт ингибирования синтеза бактериальных белков в результате его связывания с 23S рРНК 50S субъединицы рибосомы. Это предотвращает формирование комплекса инициации, состоящего из субъединиц рибосом и N-формилметионин тРНК, что прерывает процесс трансляции и синтеза белка [21]. При этом полногеномное секвенирование резистентных к линезолиду штаммов бактерий (см. табл. 1, 2) не показало наличия гена устойчивости к этому антибиотику, которым является ген *cfr*. Этот ген получил своё название ввиду того, что его наличие приводит к развитию устойчивости к хлорамфениколу и флорфениколу (*cfr* — chloramphenicol-florfenicol resistance). Кроме устойчивости к хлорамфениколу и флорфениколу, штаммы-носители этого гена также устойчивы к линкозамидам (клиндамицину и линкомицину) и линезолиду. Ген *cfr* кодирует РНК-метилтрансферазу, в результате функционирования которой происходит синтез фермента метилазы, модифицирующего бактериальную рибосому и в результате препятствующему связыванию с ней линезолида, что приводит к возникновению устойчивости [27, 28]. Гены *cfr* обнаружены у многих клинических изолятов, устойчивых к линезолиду. Однако известно, что резистентность к данному антибиотику может обеспечиваться не одним, а несколькими механизмами. К устойчивости к линезолиду у *B. cereus* HSA01, HSA03, HSA12 могли привести мутации в генах 23S рРНК [29] и мутации в генах *rplC*, *rplD*,

кодирующих рибосомальные белки [30]. У грамположительных *Enterococcus faecalis* и *Enterococcus faecium* механизм устойчивости к линезолиду обеспечивается наличием плазмидного гена *optrA*, кодирующего транспортную эффлюксную систему ABC, способную выводить из микробной клетки оксазолидиноны, к которым относится и линезолид [31].

В табл. 2 включены также гены резистентности, обнаруженные у исследованных видов бацилл в комплексной базе данных по устойчивости к антибиотикам CARD [13] и кодирующие устойчивость к препаратам, не использовавшимся в данном исследовании. Наличие этих генов подтверждает наличие у этих штаммов бацилл МЛУ.

Обсуждение результатов

Результаты исследований показали, что на РС МКС и в больничной лаборатории выявлены 13 штаммов рода *Bacillus*, принадлежащих к 4 видам — *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. safensis*, *B. amyloliquefaciens*. Вероятно, штаммы этих видов обладают наибольшей устойчивостью к средствам борьбы с ними как в условиях РС МКС, так и больничной лаборатории, с учётом того, что на РС МКС, в отличие от лаборатории, не применяется УФ-облучение и аэрозольные антисептики [4]. При этом как в РС МКС, так и в лаборатории выявлены штаммы *B. cereus*, являющегося наиболее опасным для человека, за исключением *B. anthracis*, видом бацилл, формирующим особую группу, включающую *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. weihenstephanensis*, *B. mycoides* и *B. anthracis* и вызывающим такие заболевания, как пищевые отравления, диарея, эндокардит, менингит, сепсис и другие формы генерализованной бактериальной инфекции, часто связанные с использованием внутрисосудистых катетеров и инъекций [5, 6, 32]. Исследование 41 штамма *B. cereus*, выделенного в цехах сборки четырёх предстартовых космических аппаратов, показало наличие в их геномах четырёх генов энтеротоксинов *hlyC*, *cytK*, *nheA* и *entFM* и двух генов рвотного токсина *ces* и *CER* [33]. Диарейная патогенность обнаружена у 90,2% (37 из 41) штаммов *B. cereus*, которые имели один или более генов энтеротоксина. При этом 32, 7, 85 и 42% штаммов содержали гены энтеротоксинов *hlyC*, *cytK*, *nheA* и *entFM*, соответственно, в хромосомной или плазмидной ДНК. Ген рвотного токсина *ces* был обнаружен в плазмидной ДНК около 8% штаммов *B. cereus*, выделенных из предстартовых космических аппаратов [33].

Полученные данные показали, что штаммы бактерий рода *Bacillus* могут обладать МЛУ — резистентностью к нескольким структурно и функционально не родственными антибиотикам

(см. табл. 1). При этом устойчивость к антибиотикам, определённым перечнем EUCAST 2023 для бацилл [11], у *B. cereus*, *B. subtilis* и других видов может обеспечиваться одним или несколькими механизмами, действующими одновременно, поэтому выявить преобладающий механизм резистентности бывает сложно [1, 22, 23]. Так, набор возможных механизмов устойчивости бацилл к эритромицину включает действие эффлюксных насосов, модификацию рибосом в результате метилирования 23S рРНК метилтрансферазами семейства Erm, мутации в 23S рРНК, защиту рибосом в результате связывания с ними АТФ-связывающих кассетных белков MsrE, ферментативно катализируемую модификацию антибиотика макролид-фосфотрансферазами (Mphs) и макролид-эстеразами (Eres), метилирование 23S рРНК Erm-метилтрансферазами [24]. В результате полногеномного секвенирования трёх штаммов бацилл, показавших устойчивость к эритромицину (см. табл. 1), у двух из них — *B. subtilis* SE15 и *B. subtilis* SE171 обнаружен ген *mphK*, кодирующий хромосомную макролид-фосфотрансферазу у *B. subtilis* [25, 13]. Однако у этих штаммов SE15 и SE171 не исключено действие и других, из перечисленных выше механизмов резистентности к эритромицину. Набор механизмов устойчивости к антибиотикам у бацилл может увеличиваться в результате горизонтального переноса генов, как это может быть в случае с геном *TEM-116*, кодирующим β -лактамазу расширенного спектра действия [16, 17] или генами *Bcl* и *BcII*, обеспечивающими резистентность к имипенему и меропенему [34, 35], которые могут находиться не только в бактериальной хромосоме, но и в плазмидах и передаваться другим штаммам.

Однако, кроме перечисленных механизмов устойчивости к различным антибиотикам, необходимо учитывать и мутации генов, которые часто являются основным механизмом резистентности к фторхинолонам, линезолиду и другим антибиотикам у грамположительных бактерий [21–23, 29, 30]. Мутации (аминокислотные замены, делеции, инсерции) происходят в генах, кодирующих мишени действия антибиотиков, белки системы эффлюкса, пориновых каналов [21–23, 31].

Считают, что космические штаммы приобретают в космосе повышенную устойчивость к антибиотикам в результате воздействия микрогравитации, космического излучения, высушивания [3, 5]. В частности, условия космического полёта могут повысить устойчивость *B. cereus* к антибиотикам [32]. Эти изменения клинических свойств бактерий в течение полёта могут создать проблемы при выборе антибиотиков для лечения заболеваний, вызванных *B. cereus* и некоторыми другими видами бацилл. Но и больничная лаборатория для отбора крови также способствует появлению резистентных бактерий, поскольку через неё посто-

янно проходит поток пациентов, в том числе часто подвергающихся бесконтрольному лечению антибиотиками и поэтому способствующих появлению устойчивых форм [1, 2]. Результаты исследований показали (см. табл. 1), что все 4 штамма *B. cereus* проявили резистентность к имипенему, ципрофлоксацину, левофлоксацину, норфлоксацину, а больничные *B. cereus* HSA01, HSA03, HSA12 ещё и к линезолиду (см. табл. 1). Полногеномное секвенирование позволило выявить ген *TEM-116*, обуславливающий резистентность к имипенему и меропенему как у космических штаммов *B. cereus* LR2HG21 и *B. safensis* SE192, так и у больничных штаммов *B. cereus* HSA01, HSA03, SA12 (см. табл. 2). Все земные штаммы *B. cereus* HSA01, HSA03, HSA12, в отличие от космического *B. cereus* LR2HG21, обладают устойчивостью к линезолиду, а космические *B. subtilis* SE15, *B. subtilis* SE171 и *B. safensis* SE21 резистентностью к эритромицину (см. табл. 1). Однако определить конкретные условия, способствующие появлению у штамма бактерий резистентности к определённому антибиотику, очень трудно, поскольку механизмы появления устойчивости зависят от многих факторов — морфологических и физиолого-биохимических особенностей штамма, физико-химических условий его пребывания в окружающей среде, наличия и концентрации в среде других бактерий с определёнными свойствами, концентрации и длительности воздействия на него антисептиков, антибиотиков, УФ-облучения, космического излучения и других факторов, в том числе антропогенного.

Заключение

Исследовали 13 штаммов спорообразующих бактерий, из которых восемь получены с поверхностей оборудования РС МКС и пять из больничной лаборатории для отбора проб крови. Изучение морфологических, культуральных и физиолого-биохимических свойств этих бактерий позволило отнести все штаммы к роду *Bacillus*. Методами анализа гена 16S рРНК, MALDI-TOF и полногеномного секвенирования установлено, что из 13 штаммов бацилл по четыре принадлежат к видам *B. cereus* и *B. subtilis*, три — к *B. safensis* и два — к *B. amyloliquefaciens*. При этом три из четырёх штаммов *B. cereus* были выделены с поверхности оборудования больничной лаборатории. В соответствии с требованиями и нормами EUCAST 2023 изучена устойчивость выделенных бацилл к таким антибиотикам, как имипенем, меропенем, ципрофлоксацин, левофлоксацин, норфлоксацин, ванкомицин, эритромицин, клиндамицин и линезолид. У семи штаммов из 13 обнаружена резистентность к имипенему, а у каждого из *B. cereus* LR2HG21, HSA01, HSA03, HSA12 — к имипенему, ципрофлоксацину, левофлоксацину и норфлоксацину. Кроме того, у *B. cereus*

HSA01, HSA03, HSA12 из больницы лаборатория выявлена устойчивость к линезолиду. К эритромицину проявили устойчивость только *B. subtilis* SE15, *B. subtilis* SE21 и SE171, выделенные с ПК МКС. Ни один из 13 штаммов не показал резистентности к ванкомицину и клиндамицину. Анализ полного генома штаммов бактерий, у которых была обнаружена устойчивость к имипенему и меропенему, показал, что резистентность к этим антибиотикам у *B. cereus* LR2HG21, HSA01, HSA03, HSA12 и *B. safensis* SE192 обеспечивает ген *TEM-116*. Кроме *TEM-116*, у *B. cereus* LR2HG21 устойчивость к имипенему и меропенему кодирует ген *BclI*, а у *B. cereus* HSA01 и *B. cereus* HSA03 резистентность к имипенему обеспечивают гены *BclI* и/или *BclII*. Резистентность к эритромицину у *B. subtilis* SE15 и *B. subtilis* SE171 кодирует ген *mphK*.

Результаты исследования показывают, что одной из проблемой как на МКС, так в условиях больницы лаборатория является возможность распространения резистентности к антибиотикам путём горизонтального переноса генов [1, 16, 17]. Поэтому изучение у бацилл резистентности к антибиотикам, а также механизмов, генетических де-

терминант и возможностей распространения резистентности в микробиоме асептических помещений является актуальной задачей, направленной на обеспечение выбора адекватных методик лечения заболеваний, вызываемых бактериями рода *Bacillus*. Это особенно важно в условиях МКС, где медицинская помощь ограничена.

Дополнительная информация

Финансирование. Исследование осуществлялось в рамках научного проекта по выполнению государственного задания МГУ №23-1-21 (регистрационный номер ЦИТИС 121032300094-7) без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов. Еникеев Р. Р. — выполнение методик, получение данных для анализа, интерпретация результатов, написание текста, редактирование; Захарчук Л. М. — постановка проблемы, анализ и интерпретация результатов, написание текста, редактирование, финальное утверждение рукописи.

Литература/References

- Nikaido H. Multidrug resistance in bacteria. *Annu Rev Biochem.* 2009; 78: 119–146. doi: 10.1146/annurev.biochem.78.082907.145923.
- Freedberg D.E., Salmasian H., Cohen B., Abrams J.A., Larson E.L. Receipt of antibiotics in hospitalized patients and risk for *Clostridium difficile* infection in subsequent patients who occupy the same bed. *JAMA Intern Med.* 2016; 176 (12): 1801–1808. doi: 10.1001/jamainternmed.2016.6193.
- Quagliariello A., Cirigliano A., Rinaldi T. Bacilli in the International Space Station. *Microorganisms.* 2022; 10 (12): 2309. doi: org/10.3390/microorganisms10122309.
- Novikova N., De Boever P., Poddubko S., Deshevaya E., Polikarpov N., Rakova N., Coninx I., Mergeay M. Survey of environmental biocontamination on board the International Space Station. *Res Microbiol.* 2006; 157 (1): 5–12. doi: 10.1016/j.resmic.2005.07.010.
- Ehling-Schulz M., Lereclus D., Koehler T.M. The *Bacillus cereus* group: *Bacillus* species with pathogenic potential. *Microbiol Spectr.* 2019; 7 (3): 10.1128/microbiolspec.GPP3-0032-2018. doi: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0032-2018.
- Furuta Y., Tsujinouchi M., Shawa M., Zorrig T., Miyajima Y., Paudel A. et al. Complete genome sequences of 24 strains of *Bacillus cereus* isolated from nosocomial infection and bacteremia cases in Japan. *Microbiol Resour Announc.* 2022; 11 (4): e0120321. doi: 10.1128/mra.01203-21.
- Yenikeyev R., Tatarinova N., Zakharchuk L. Mechanisms of resistance to clinically significant antibiotics of bacterial strains of the genus *Bacillus* isolated from samples from the International Space Station. *Moscow University Biological Sciences Bulletin.* 2020; 75: 224–230. doi: https://doi.org/10.3103/S0096392520040045.
- Yenikeyev R., Tatarinova N., Zakharchuk L., Vinogradova E. Mechanisms of resistance to clinically significant antibiotics in *Bacillus* strains isolated from samples obtained from a medical institution. *Moscow University Biological Sciences Bulletin.* 2022; 77: 84–91. doi: https://doi.org/10.3103/S009639252202002X.
- De Vos P., Garrity G., Jones D., Krieg N.R., Ludwig W., Rainey F.A., Schleifer K.H., Whitman W.B., editors. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd ed. Vol. 3, The Firmicutes. New York: Springer; 2009; 1450.
- Hrabák J., Chudácková E., Walková R. Matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight (maldi-tof) mass spectrometry for detection of antibiotic resistance mechanisms: from research to routine diagnosis. *Clin Microbiol Rev.* 2013; 26 (1): 103–114. doi: 10.1128/CMR.00058-12.
- The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 13.0, 2023. Available from: <http://www.eucast.org>.
- Wood D.E., Salzberg S.L. Kraken: ultrafast metagenomic sequence classification using exact alignments. *Genome Biol.* 2014; 15: R46. doi: 10.1186/gb-2014-15-3-r46.
- Alcock B.E., Huynh W., Chalil R., Smith K.W., Raphenya A.R., Wlodarski M.A. et al. CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistance prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Nucleic Acids Res.* 2023; 51 (D1): D690–D699. doi: 10.1093/nar/gkac920.
- Bush K., Jacoby G.A. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010; 54 (3): 969–976. doi: 10.1128/AAC.01009-09.
- Tóth A.G., Csabai I., Judge M.F., Maróti G., Becsei Á., Spisák S. et al. Mobile antimicrobial resistance genes in probiotics. *Antibiotics (Basel).* 2021; 10 (11): 1287. Published 2021 Oct 21. doi: 10.3390/antibiotics10111287.
- Berbers B., Saltykova A., Garcia-Graells C., Philipp P., Arella F., Marchal K. et al. Combining short and long read sequencing to characterize antimicrobial resistance genes on plasmids applied to an unauthorized genetically modified *Bacillus*. *Sci Rep.* 2020; 10 (1): 4310. Published 2020 Mar 9. doi: 10.1038/s41598-020-61158-0.
- Sultan I., Ali A., Gogry E.A., Rather I.A., Sabir J.S.M., Haq Q.M.R. Bacterial isolates harboring antibiotics and heavy-metal resistance genes co-existing with mobile genetic elements in natural aquatic water bodies. *Saudi J Biol Sci.* 2020; 27 (10): 2660–2668. doi: 10.1016/j.sjbs.2020.06.002.
- Torkar K.G., Bedenić B. Antimicrobial susceptibility and characterization of metallo-β-lactamases, extended-spectrum β-lactamases, and carbapenemases of *Bacillus cereus* isolates. *Microb Pathog.* 2018; 118: 140–145. doi: 10.1016/j.micpath.2018.03.026.
- Davies R.B., Abraham E.P. Separation, purification and properties of beta-lactamase I and beta-lactamase II from *Bacillus cereus* 569/H/9. *Biochem J.* 1974; 143 (1): 115–127. doi: 10.1042/bj1430115.
- Lim H.M., Pène J.J., Shaw R.W. Cloning, nucleotide sequence, and expression of the *Bacillus cereus* 5/B/6 beta-lactamase II structural gene. *J Bacteriol.* 1988; 170 (6): 2873–2878. doi: 10.1128/jb.170.6.2873-2878.1988.
- Wilson D.N., Schluenzen F., Harms J.M., Starosta A.L., Connell S.R., Fucini P. The oxazolidinone antibiotics perturb the ribosomal peptidyl-transferase center and effect tRNA positioning. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008; 105 (36): 13339–13344. doi: 10.1073/pnas.0804276105.
- Hooper D.C. Mechanisms of action of antimicrobials: focus on fluoroquinolones. *Clin Infect Dis.* 2001; 32 Suppl 1: S9–S15. doi: 10.1086/319370.
- Xia L.N., Li L., Wu C.M., Liu Y.Q., Tao X.Q., Dai L. et al. A survey of plasmid-mediated fluoroquinolone resistance genes from *Escherichia coli* isolates and their dissemination in Shandong, China. *Foodborne Pathog Dis.* 2010; 7 (2): 207–215. doi: 10.1089/fpd.2009.0378.

24. Golkar T., Zieliński M., Berghuis A.M. Look and outlook on enzyme-mediated macrolide resistance. *Front Microbiol.* 2018; 9: 1942. Published 2018 Aug 20. doi: 10.3389/fmicb.2018.01942.
25. Pawlowski A.C., Stogios P.J., Koteva K., Skarina T., Evdokimova E., Savchenko A. et al. The evolution of substrate discrimination in macrolide antibiotic resistance enzymes. *Nat Commun.* 2018; 9 (1): 112. Published 2018 Jan 9. doi: 10.1038/s41467-017-02680-0.
26. Wang C., Sui Z., Leclercq S.O., Zhang G., Zhao M., Chen W. et al. Functional characterization and phylogenetic analysis of acquired and intrinsic macrolide phosphotransferases in the *Bacillus cereus* group. *Environ Microbiol.* 2015; 17 (5): 1560–1573. doi: 10.1111/1462-2920.12578.
27. Silva-Del Toro S.L., Greenwood-Quaintance K.E., Patel R. *In vitro* activity of tedizolid against linezolid-resistant staphylococci and enterococci. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2016; 85 (1): 102–104. doi: 10.1016/j.diag-microbio.2016.02.008.
28. Зубарева В.Д., Соколова О.В., Безбородова Н.А., Шкуратова И.А., Кривоногова А.С., Бытов М.В. Молекулярные механизмы и генетические детерминанты устойчивости к антибактериальным препаратам у микроорганизмов. *Сельскохозяйственная биология.* 2022; 57 (2): 237–256. doi: <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2022.2.237rus>. [Zubareva V.D., Sokolova O.V., Bezborodova N.A., Shkuratova I.A., Krivinogova A.S., Bytov M.V. Molecular mechanisms and genetic determinants of resistance to antibacterial drugs in microorganisms (review). *Sel'skhoz-yaystvennaya Biologiya* [Agricultural Biology], 2022; 57 (2): 237–256. doi: <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2022.2.237rus>. (in Russian)]
29. Tsiodras S., Gold H.S., Sakoulas G., Eliopoulos G.M., Wennersten C., Venkataraman L. et al. Linezolid resistance in a clinical isolate of *Staphylococcus aureus*. *Lancet.* 2001; 358 (9277): 207–208. doi: 10.1016/S0140-6736(01)05410-1.
30. Pournaras S., Ntokou E., Zarkotou O., Ranellou K., Themeli-Digalaki K., Stathopoulos C. et al. Linezolid dependence in *Staphylococcus epidermidis* bloodstream isolates. *Emerg Infect Dis.* 2013; 19 (1): 129–132. doi: 10.3201/eid1901.111527.
31. Wang Y., Lv Y., Cai J., Schwarz S., Cui L., Hu Z. et al. A novel gene, *optr A*, that confers transferable resistance to oxazolidinones and phenicols and its presence in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* of human and animal origin. *J Antimicrob Chemother.* 2015; 70 (8): 2182–2190. doi: 10.1093/jac/dkv116.
32. Madrigal P., Singh N.K., Wood J.M., Gaudioso E., Hernández-Del-Olmo F., Mason C.E. et al. Machine learning algorithm to characterize antimicrobial resistance associated with the International Space Station surface microbiome. *Microbiome.* 2022; 10 (1): 134. Published 2022 Aug 24. doi: 10.1186/s40168-022-01332-w.
33. Mohammadi B., Gorkina N., Pérez-Reyes M.E., Smith S.A. Profiling toxin genes and antibiotic resistance in *Bacillus cereus* isolated from pre-launch spacecraft. *Front Microbiol.* 2023; 14: 1231726. Published 2023 Nov 15. doi: 10.3389/fmicb.2023.1231726.
34. Jorgensen J.H., McElmeel M.L., Fulcher L.C., Zimmer B.L. Detection of CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamase (ESBLs) by testing with MicroScan overnight and ESBL confirmation panels. *J Clin Microbiol.* 2010; 48 (1): 120–123. doi: 10.1128/JCM.01507-09.
35. Meini M.R., Llarrull L.I., Vila A.J. Overcoming differences: the catalytic mechanism of metallo- β -lactamases. *FEBS Lett.* 2015; 589 (22): 3419–3432. doi: 10.1016/j.febslet.2015.08.015.

Поступила / Received 29.01.2024

Принята в печать / Accepted 20.02.2024

Информация об авторах

Еникеев Радмир Рустамович — кафедра микробиологии, Биологический факультет, Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-8467-9051

Захарчук Леонид Михайлович — д. б. н., доцент кафедры микробиологии, биологический факультет МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0003-3783-3279

About the authors

Radmir R. Yekikeyev — Department of Microbiology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-8467-9051

Leonid M. Zakharchuk — D. Sc. in Biology, Associate Professor of the Department of Microbiology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0003-3783-3279