

Временная динамика резистома микробиоты кишечника здоровой популяции на фоне COVID-19

*А. В. ПАВЛЕНКО¹, А. И. МАНОЛОВ¹, Ю. И. ЕСИН¹, А. Л. АРХИПОВА¹,
А. В. ВВЕДЕНСКИЙ¹, А. В. КУДРЯВЦЕВ², Е. А. КРИГЕР²,
Л. Л. ШАГРОВ², Н. И. БЕЛОВА², Е. Н. ИЛЬИНА¹

¹ Научно-исследовательский институт системной биологии и медицины Роспотребнадзора, Москва, Россия

² Северный государственный медицинский университет Минздрава России, Архангельск, Россия

Резюме

Актуальность. Антибиотики широко использовались в период пандемии COVID-19, что могло привести к увеличению количества и разнообразия генов антибиотикорезистентности. Большинство исследований по оценке резистома человека в этот период проводилось в течение короткого промежутка времени и на разных когортах людей. При этом наиболее информативным является изучение состава резистома людей, переболевших и не переболевших COVID-19, с использованием парных образцов кала, полученных до и после пандемии. **Цель.** Оценить распространённость генов антибиотикорезистентности в микробиоте кишечника взрослого населения Архангельска до пандемии COVID-19 и после пандемии. **Методы.** В исследование включена случайная популяционная выборка жителей Архангельска, предоставивших парные образцы кала, взятые с интервалом в пять лет. Процедура исследования включала опрос и выявление генов антибиотикорезистентности в образцах кала методом полимеразной цепной реакции. Обработка полученных данных проводилась на языке R. **Результаты.** В образцах практически всех участников присутствовали гены, обуславливающие резистентность к макролидам: *mefA* и *ermB*. Частота встречаемости генов резистентности к гликопептидам (*vanA* и *vanB*) в постпандемических образцах значительно снизилась. Среди госпитализированных по поводу COVID-19 наблюдается тенденция к увеличению количества генов антибиотикорезистентности в сравнении с амбулаторными пациентами. Соотношение генов резистентности к макролидам изменилось в сторону увеличения относительной представленности *mefA* в постпандемических образцах. **Заключение.** Резистом участников исследования за время пандемии COVID-19 не претерпел значительных изменений за исключением снижения распространённости генов резистентности к гликопептидам и изменения соотношения генов резистентности к макролидам.

Ключевые слова: резистом; антибиотикорезистентность; гены устойчивости к антибиотикам; COVID-19

Для цитирования: Павленко А. В., Манолов А. И., Есин Ю. И., Архипова А. Л., Введенский А. В., Кудрявцев А. В., Кригер Е. А., Шагров Л. Л., Белова Н. И., Ильина Е. Н. Временная динамика резистома микробиоты кишечника здоровой популяции на фоне COVID-19. *Антибиотики и химиотер.* 2024; 69 (7–8): 17–24. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-7-8-17-24>. EDN: JFFMWU.

Temporal Dynamics of the Resistome of the Intestinal Microbiota of a Healthy Population against the Background of COVID-19

*ALEXANDER V. PAVLENKO¹, ALEXANDER I. MANOLOV¹, YURIY I. ESIN¹,
ANNA L. ARKHIPOVA¹, ANDREY V. VVEDENSKIY¹, ALEXANDER V. KUDRYAVTSEV²,
EKATERINA A. KRIEGER², LEONID L. SHAGROV², NATAL'YA I. BELOVA², ELENA N. ILYINA¹

¹ Research Institute for Systems Biology and Medicine, Moscow, Russia

² Northern State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Arkhangelsk, Russia

Abstract

Background. Antibiotics were widely used during the COVID-19 pandemic, which may have led to an increase in the number and diversity of antibiotic resistance genes. Most studies assessing the human resistome during this period were conducted over a short period of time and on different cohorts of people. In this case, the most informative approach is to study the composition of the resistome in people who have and have not recovered from COVID-19, using paired stool samples obtained before and after the pandemic. **The aim of the study** was to assess the prevalence of antibiotic resistance genes in the intestinal microbiota of the adult population of Arkhangelsk city before and after the COVID-19 pandemic. **Material and Methods.** The study included a random population sample of residents of Arkhangelsk who provided paired stool samples at intervals of five years. The study procedure included surveying and identification of antibiotic resistance genes in stool samples using polymerase chain reaction. Processing of the obtained data was carried out in the R language. **Results.** The samples of almost all participants contained genes that cause resistance to macrolides: *mefA* and *ermB*. The frequency

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: pavav@mail.ru



EDN: JFFMWU

*Correspondence to:
E-mail: pavav@mail.ru



of glycopeptide resistance genes (*vanA* and *vanB*) in post-pandemic samples decreased significantly. There is a trend towards an increase in the number of antibiotic resistance genes among patients hospitalized for COVID-19 compared to outpatients. The proportion of macrolide resistance genes shifted toward an increased relative representation of *mefA* in post-pandemic samples. **Conclusion.** The resistome of study participants did not undergo significant changes during the COVID-19 pandemic, except for a decrease in the prevalence of glycopeptide resistance genes and a change in the ratio of macrolide resistance genes.

Keywords: resistome; antibiotic resistance; antibiotic resistance genes; COVID-19

For citation: Pavlenko A. V., Manolov A. I., Esin Yu. I., Arkhipova A. L., Vvedenskiy A. V., Kudryavtsev A. V., Krieger E. A., Shagrov L. L., Belova N. I., Ilyina E. N. Temporal dynamics of the resistome of the intestinal microbiota of a healthy population against the background of COVID-19. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2024; 69 (7–8): 17–24. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-7-8-17-24>. EDN: JFFMWU.

Введение

Микробиота кишечника человека является значимым резервуаром генов антибиотикорезистентности (АР). Количество и состав генов АР в микробном сообществе организма человека (резистом) зависит от факторов, влияющих на качественный и количественный состав микробиоты (характер питания, вредные привычки, наличие хронических заболеваний) [1]. Также он может изменяться в результате контакта с устойчивыми к антибиотикам микроорганизмами, например, при нахождении в стационаре [2]. Основной вклад в изменение резистома вносит антибиотикотерапия. Предыдущие исследования показали, что применение антимикробных препаратов приводит к увеличению количества генов АР в микробиоте кишечника [3]. Тенденция к увеличению количества генов АР также отмечалась во время пандемии COVID-19 [4]. Одновременно с этим могло происходить снижение разнообразия и элиминация определённых генов АР. Данный феномен может быть обусловлен неселективным действием антибиотиков, приводящим к исчезновению ряда микроорганизмов — носителей генов АР.

Воздействие антибиотика на микробиоту и резистом человека определяется лечебным спектром и механизмом действия препарата, путём его введения в организм, дозой, длительностью его применения. Пол, возраст человека, состав микробиоты кишечника до приёма антибиотика, особенности диеты, наличие заболеваний, влияющих на метаболизм препарата, также являются немаловажными факторами [5].

Пандемия COVID-19 оказала влияние на частоту назначения антимикробных препаратов населению. В первый год пандемии антибиотики, в частности защищённые пенициллины (амоксциллин с клавулановой кислотой), респираторные фторхинолоны (левофлоксацин, моксифлоксацин, цефалоспорины 3 и 4 поколения, карбапенемы, линезолид), входили в перечень препаратов, рекомендуемых для лечения больных COVID-19, госпитализированных в стационар [6]. Помимо этого, пациентам, находящимся на амбулаторном лечении часто назначались макролиды (азитромицин), которые использовались для

этиотропного лечения COVID-19 в течение первого года пандемии. Цефалоспорины были препаратом выбора для лечения пневмонии при COVID-19 на амбулаторном этапе [7]. Потенциально использование различных антибактериальных препаратов для лечения COVID-19 могло привести к увеличению количества и разнообразия генов АР в составе кишечного резистома.

Исследования, посвящённые изучению резистома кишечника, обычно проводятся путём формирования независимых выборок, получающих разные схемы антибиотикотерапии или различающихся в зависимости от дозы и продолжительности приёма препаратов. При проведении обзора зарубежных и российских источников литературы нам не удалось найти публикаций, описывающих изменение резистома кишечника у одних и тех же здоровых людей на протяжении длительного промежутка времени.

Цель исследования — оценка распространённости генов антибиотикорезистентности в микробиоте кишечника взрослого населения Архангельска до пандемии COVID-19 (2015–2017 гг.) и в конце пандемии (2022 г.).

Материал и методы

Процедура исследования и участники. Проведено когортное исследование с участием представителей взрослого населения Архангельска ($n=201$), предоставивших парные образцы кала с интервалом в 5 лет. Первый образец (2015–2017 гг.) был собран в рамках популяционного исследования сердечно-сосудистых заболеваний «Узнай своё сердце», второй образец — осенью 2022 г. Процедура исследования также включала опрос участников о наличии хронических заболеваний, частоте заболевания ОРВИ, приёме антибиотиков в течение полугода до включения в исследование, вредных привычках. Информация о перенесённом COVID-19 и вакцинации против SARS-CoV-2 была получена из Федерального регистра переболевших COVID-19 и Федерального регистра вакцинированных против COVID-19.

Все участники предоставили информированное добровольное согласие на участие в исследованиях и доступ к их медицинским данным. Протоколы исследований одобрены этическим комитетом ФГБОУ ВО Северный государственный медицинский университет (Архангельск) Минздрава России (СГМУ) (№01/01-15 от 27.01.2015 г., № 07/09-2022 от 28.09.2022 г.).

Биообразцы и лабораторные исследования. В анализ было включено 402 образца кала, собранных у 201 участника исследования в 2015–2017 гг. (допандемические образцы) и в 2022 г. (постпандемические образцы тех же участников).

Участники исследования получили подробную инструкцию, согласно которой перед забором образца кала не принимались сорбенты или слабительные средства, ферменты и другие препараты, влияющие на процессы переваривания и всасывания; образец кала доставлялся в лабораторию в течение 24 часов после дефекации. Собранные образцы хранились в лабораторном биобанке при температуре -80°C .

Выделение тотальной ДНК из кала проводилось с использованием набора «НК-магнит» (ООО НПФ «Литех», Россия) на автоматической выделительной станции KingFisher Flex (Thermo Fisher Scientific, США). Концентрация выделенной ДНК определялась с помощью спектрофотометра UV-Vis NanoDrop (Thermo Fisher Scientific, США). Определение АР генов проводилось методом ПЦР в режиме реального времени на амплификаторе CFX96 Touch (Bio-Rad Laboratories, США) с использованием набора реактивов «РЕЗИСТОМ КОМПЛЕКС ESKAPE-V» производства ООО НПФ «Литех», Россия. Набор позволяет определять наличие 15 генов устойчивости к антибиотикам: *bla*_{CTX-M-типа}, *bla*_{DHA}, *bla*_{GES}, *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{OXA-10}, *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-40}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{VIM}, *mecA*, *ermB*, *vanA*, *vanB*, *mefA*. В соответствии с предыдущими исследованиями было обнаружено, что гены устойчивости к тетрациклину доминируют в микрофлоре кишечника [8] и присутствуют практически у каждого человека, поэтому они были исключены из рассмотрения в данном исследовании.

Обработка данных. Обработка данных включала в себя визуализацию и статистический анализ и проводилась на языке R [9]. Для сравнения количественных данных в двух независимых выборках использовался критерий Манна-Уитни (функция *wilcox.test* с параметром *paired=False*), для сравнения зависимых выборок использовался критерий Вилкоксона (функция *wilcox.test* с параметром *paired=True*), для построения линейных моделей и оценки значимости посредством *t*-статистики использовалась функция *lm*. Для сравнения значений категориальных переменных между группами использовался точный тест Фишера (функция *fisher.test*). Значимыми считались различия с $p\text{-value} < 0,05$, различия с уровнем значимости между 0,05 и 0,1 считались тенденций.

Результаты

В исследование включено 128 женщин и 73 мужчины. Возраст участников на момент сбора допандемических образцов составил 37–70 лет, медиана — 56 лет, при сборе постпандемических образцов — 43–75 лет, медиана — 61 год.

Более трети участников исследования переболели COVID-19 ($n=71$, 35,3%), из них 16 человек были госпитализированы во время болезни.

Допандемические и постпандемические образцы кала участников исследования были проанализированы на наличие 15 генов АР, из них *bla*_{GES}, *bla*_{OXA-40}, *bla*_{NDM} отсутствовали во всех образ-

цах. Распределение остальных генов представлено в табл. 1. Статистически значимое изменение представленности генов АР в допандемических и постпандемических образцах наблюдалось для генов *vanA* и *vanB* (точный тест Фишера, значение $p\text{-value}$ для *vanA* составило 0,0006, для *vanB* — 0,001, после поправки на множественные сравнения методом Бенджамини–Хохберга).

Различий в представленности данных генов в разных группах участников, в частности у переболевших и не переболевших COVID-19, госпитализированных и не госпитализированных, не было выявлено. Мы также не выявили различий в группах, разделённых по возрасту: до 65 лет и старше 65 лет на момент исследования в 2022 г. Разделение основывалось на наблюдении, что микробиота кишечника лиц моложе 60 лет является стабильной, а после 60 лет происходит значимое изменение качественного и количественного состава [10].

У всех участников исследования, как в допандемических, так и постпандемических образцах были выявлены гены, обуславливающие резистентность к макролидам — *mefA* и *ermB*. При этом ген *mefA* присутствовал у 100% участников в обоих временных точках. Ген *ermB* присутствовал в 99,0% образцов 2017 г. и в 95,5% образцов 2022 г.

Если рассмотреть общее изменение состава генов АР между 2017 г. и 2022 г., то можно увидеть тенденцию уменьшения количества генов антибиотикорезистентности со временем (изменение количества АР генов, усреднённое по испытуемым составило — 0,25) (рис. 1). Это может быть связано с элиминацией определённых родов бактерий — носителей генов АР вследствие антибиотикотерапии. Можно отметить, что тенденция к уменьшению не наблюдается, если исключить из анализа гены *vanA* и *vanB*.

Влияние госпитализации по поводу COVID-19 на распространённость генов антибиотикорезистентности. Было проведено сравнение изменения количества генов АР в составе резистоста кишечника в допандемических и постпандемических образцах участников, получавших лечение по поводу COVID-19 амбула-

Гены антибиотикорезистентности, выявленные в допандемических и постпандемических образцах кала, $n=201$
Antibiotic resistance genes identified in pre-pandemic and post-pandemic stool samples, $N=201$

Год исследования\ген АР	<i>mefA</i> <i>n</i> (%)	<i>bla</i> _{CTX-M-типа} <i>n</i> (%)	<i>bla</i> _{OXA-10} <i>n</i> (%)	<i>bla</i> _{DHA} <i>n</i> (%)	<i>bla</i> _{OXA-23} <i>n</i> (%)	<i>vanB</i> * <i>n</i> (%)	<i>ermB</i> <i>n</i> (%)	<i>bla</i> _{NDM} <i>n</i> (%)	<i>vanA</i> * <i>n</i> (%)	<i>bla</i> _{OXA-48} <i>n</i> (%)	<i>bla</i> _{KPC} <i>n</i> (%)	<i>mecA</i> <i>n</i> (%)
2015–2017 гг.	201 (100,0)	36 (17,9)	9 (4,5)	9 (4,5)	1 (0,5)	66 (32,8)	199 (99,0)	0 (0,0)	18 (9,0)	5 (2,5)	1 (0,5)	2 (1,0)
2022 г.	201 (100,0)	41 (20,4)	15 (7,5)	13 (6,5)	1 (0,5)	32 (15,9)	192 (95,5)	1 (0,5)	1 (0,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)

Примечание. * — статистически значимые различия в представленности генов АР в препандемическом и постпандемическом образцах.

Note. * — statistically significant differences in AR gene representation in pre-pandemic and post-pandemic samples.

торно ($n=55$) и в стационаре ($n=16$). Статистически значимых различий в изменении количества генов АР выявлено не было, однако наблюдается тенденция к увеличению количества генов в группе переболевших COVID-19 в стационаре (рис. 2, p -value = 0.1, непараметрический U -критерий Манна–Уитни).

Влияние антибиотикотерапии на изменение представленности генов антибиотикорезистентности в резистоме кишечника. По результатам опроса участники исследования были разделены на две группы. В первую группу вошли люди, получавшие антибиотикотерапию в течение полугода до включения в исследование ($n=9$), во вторую группу — не употреблявшие антибиотики в течение полугода ($n=190$). В образцах кала участников, принимавших антибиотики в течение полугода, было выявлено увеличение количества генов АР (прирост составил 0,78 в среднем на образец, прирост количества генов наблюдался в 66,6% образцов) по сравнению с образцами кала участников, не принимавших антибиотики в указанный период времени (снижение — 0,29 в среднем на образец, прирост количества генов наблюдался в 22,6% образцов), $p=0,017$ (см. рис. 2).

Взаимосвязей между представленностью отдельных генов АР и получением антибиотикотерапии не выявлено (для всех генов значение p -value в точном тесте Фишера с поправкой на множественное сравнение Бенджамини–Хохберга было выше порогового, минимальное значение adjusted p -value составило 0,6).

Сравнение состава генов АР в допандемических и постпандемических образцах. За прошедшие пять лет у большей части исследуемой группы ($n=129$, 64,2%) произошло изменение состава генов АР (рис. 3) как вследствие потери некоторых генов АР, так и в результате их приобретения. Почти у трети участников ($n=71$) состав генов АР остался без изменений. Данные группы (с наличием изменений и без) не различались по полу и возрасту, однако между ними наблюдалось статистически значимое различие в отношении факта заболевания COVID-19 ($p=0,03$, тест Фишера). В группе участников с изменением состава генов АР 69 человек (53,5%) переболели COVID-19. В группе без изменений состава генов АР доля переболевших COVID-19 составила 69,0% (49/71). У одного человека из выборки отсутствовала информация о заболевании COVID-19.

Сравнение соотношения генов АР в допандемических и постпандемических образцах. Практически у всех участников исследования были выявлены гены *tefA* и *ermB*. Для дополнительной оценки стабильности резистомы не только на уровне наличия генов, но и по их относительной представленности было проведено сравнение величин порогового цикла (Ct) коли-

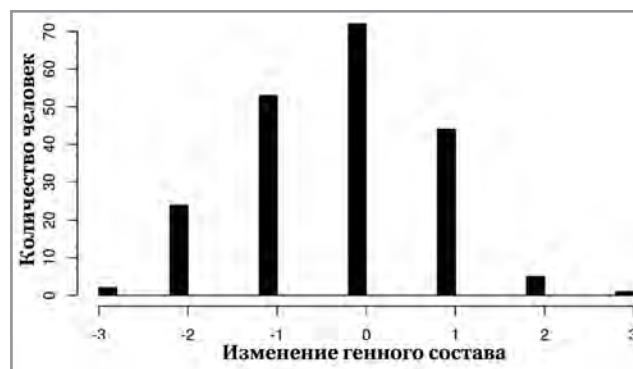


Рис. 1. Гистограмма изменений в составе генов.

По оси ординат показано сколько человек потеряли или приобрели количество генов, заданное по оси абсцисс. Положительные значения по оси абсцисс соответствуют приобретению гена, отрицательные — потере.

Fig. 1. Histogram of changes in the composition of genes. The y axis shows how many people have lost or acquired the number of genes specified by the x axis. Positive values on the x axis correspond to the acquisition of a gene, negative values — to its loss.

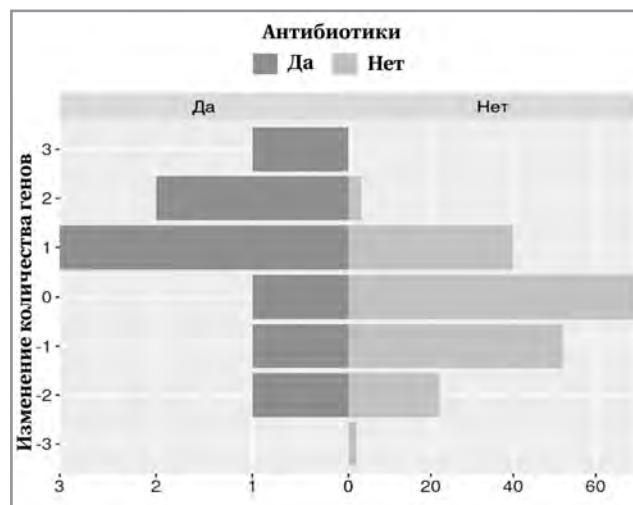


Рис. 2. Изменение количества генов антибиотикорезистентности в составе резистомы кишечника участников, получавших и не получавших антибиотикотерапию в течение полугода до включения в исследование.

По вертикали отложено количество генов, по горизонтали в левую и правую стороны относительно 0 — количество человек с таким изменением генов.

Fig. 2. Change in the number of antibiotic resistance genes in the intestinal resistome of participants who received and did not receive antibiotic therapy for six months before inclusion in the study.

The number of genes is plotted vertically, and the number of people with such a gene change is plotted horizontally to the left and right relative to 0.

чественной ПЦР, измеренных в допандемических и постпандемических образцах. Соотношение представленности данных генов определялось разностью значений Ct для допандемических и постпандемических, принадлежащих одному че-

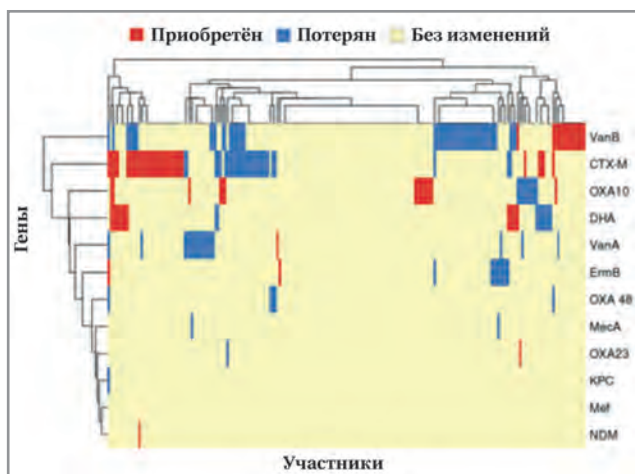


Рис. 3. Тепловая карта, показывающая изменение генов АР в допандемических и постпандемических образцах.

По горизонтали указаны участники, по вертикали — гены, по обеим осям данные сгруппированы методом иерархической кластеризации.

Fig. 3. Heat map showing the change in AR genes in pre-pandemic and post-pandemic samples.

Participants are indicated horizontally, genes are indicated vertically, and data are grouped on both axes using hierarchical clustering.

ловеку (рис. 4). Мы использовали разницу в *Ct* ввиду логарифмической зависимости между *Ct* и концентрацией ДНК в образце.

Была выявлена статистически значимая линейная связь между соотношением генов *mefA* и *ermB*, измеренным в 2017 г. и в 2022 г. ($p < 0,001$,

t-тест реализованный в функции *lm* языка R). При этом мы наблюдали низкое значение объяснённой дисперсии, $R^2 = 0,08$ (см. рис. 4, а). Таким образом, хотя тренд к сохранению значения соотношений имеется и статистически значим, также наблюдается и значительный уровень вариабельности. Также мы наблюдали, что соотношение этих генов сместилось в сторону более высокой относительной представленности *mefA* в 2022 г. ($p < 0,001$, критерий Вилкоксона).

Обсуждение

В ходе анализа образцов кала, полученных у случайной выборки жителей Архангельска в 2017 г. и в 2022 г., было выявлено статистически значимое снижение представленности генов *vanA* и *vanB*. Гены *vanA* и *vanB* обеспечивают устойчивость к гликопептидным антибиотикам. В микрофлоре кишечника основными носителями этих генов являются представители рода *Enterococcus* [11]. Существует несколько возможных вариантов исчезновения генов антибиотикорезистентности у бактерий. Иногда, в процессе деления бактерий, плазмиды могут быть потеряны, и при этом бактерия теряет резистентность к антибиотикам. В некоторых случаях, гены АР могут быть удалены из генома бактерий путём рекомбинации с ДНК других бактерий. Гены АР также могут исчезать из-за мутаций внутри самих генов. Мутации могут привести к изменению структуры гена таким образом, что бактерия больше не будет резистентной к определённым антибиотикам.

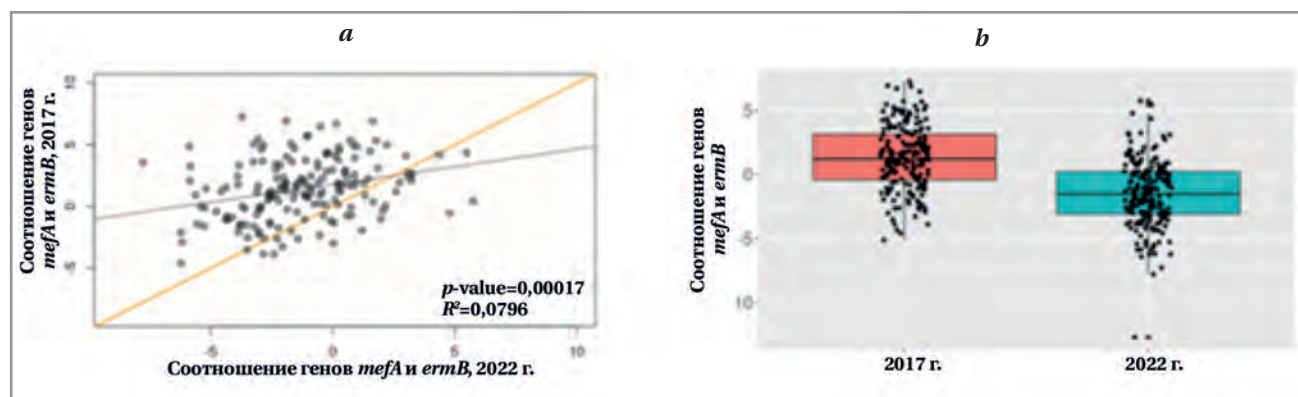


Рис. 4. Соотношение представлений генов *mefA* и *ermB*, рассчитанное как разность значений *Ct* гена *mefA* и гена *ermB* в допандемических и постпандемических образцах участников.

а — сравнение для каждого отдельного человека, по горизонтали показано значение для 2022 г., по вертикали — 2017 г., серая линия показывает линейный тренд, оранжевая линия показывает теоретическое соотношение 1:1 между генами и приведена для сравнения; б — сравнение соотношения представлений генов *mefA* и *ermB* в допандемических и постпандемических образцах.

Fig. 4. The ratio of *mefA* and *ermB* gene representations, calculated as the difference between the *Ct* values of *mefA* and *ermB* genes in pre-pandemic and post-pandemic samples of participants.

а — comparison for each individual; the horizontal axis shows the value for 2022, the vertical axis — for 2017; the gray line shows the linear trend, the orange line shows the theoretical 1:1 ratio between the genes and is given for comparison; б — comparison of the ratio of *mefA* and *ermB* gene representations in pre-pandemic and post-pandemic samples.

Если уровень антибиотиков в окружающей среде снижается, то наличие гена AP может стать невыгодным для бактерии, и преимущество получают клетки, лишённые данного гена.

В условиях конкуренции за питательные ресурсы, наличие у бактерий дополнительных систем защиты, которые синтезируются, но не используются, может замедлять рост и развитие данных микроорганизмов по сравнению с другими видами.

Можно предположить, что исчезновение генов *vanA* и *vanB* связано с редким назначением гликопептидных антибиотиков и отсутствием необходимости защиты от них.

В результате проведённого анализа нами не было выявлено различий в представленности данных генов в разных группах участников, в частности: 1) у переболевших и не переболевших COVID-19; 2) госпитализированных и не госпитализированных; 3) в группах разделённых по возрасту (до 65 лет и старше 65 лет).

Пандемия COVID-19 не оказала существенного влияния на присутствие генов *mefA* и *ermB* в резистоме кишечника. В нашем исследовании данные гены присутствовали практически во всех допандемических и постпандемических образцах. Гены *mefA* и *ermB* обеспечивают устойчивость к макролидам и линкозамидам. Ген *ermB* часто присутствует у бактерий родов *Enterococcus* и *Streptococcus* и является наиболее распространённым геном устойчивости к эритромицину [12]. Ген *mefA* характерен для рода *Streptococcus* [13]. Оба рода бактерий широко представлены в микробиоте кишечника человека и, соответственно, могут иметь данные гены AP. В частности в исследовании по определению генов AP, проведённом с участием здоровой японской популяции в возрасте 21–22 года до наступления пандемии COVID-19, эти гены были обнаружены в кале всех добровольцев ($n=32$) [14].

Во время пандемии COVID-19 широко использовались макролиды, в частности азитромицин [6], что могло дать преимущество для бактерий-носителей данных генов, и привести к увеличению их относительной представленности в резистоме.

В ходе исследования было выявлено увеличение количества генов AP в группе участников, получавших антибиотикотерапию в течение полугода до включения в исследование в 2022 г. При этом анализ по каждому отдельному гену статистически значимых различий не выявил. Вероятно, это является следствием того, что у разных пациентов увеличивалась представленность разных генов AP (что ожидаемо, поскольку они принимали различные препараты). Также возможно, что небольшой размер выборки не позволил выявить существующие различия.

Выявлена статистически незначимая тенденция к увеличению генов AP у людей, проходивших лечение по поводу COVID-19 в стационаре. Отсутствие различий может быть обусловлено длительностью пребывания в стационаре и свидетельствовать в пользу способности к восстановлению и устойчивости резистомы кишечника.

Метод ПЦР в режиме реального времени позволяет оценить относительную представленность исследуемой ДНК. Есть данные, что при воздействии антибиотиков количество генов AP может остаться прежним, но при этом может поменяться их соотношение [8]. Нами было проанализировано соотношение представленности генов AP, которые встречались практически у всех участников исследования (*mefA* и *ermB*) в образцах 2017 г. и 2022 г. Данное соотношение имеет слабую, но статистически значимую корреляцию. Это может свидетельствовать о том, что существует оптимальное для данного человека соотношение данных генов или же оптимальное соотношение микробов-носителей данного гена. Также мы наблюдали, что соотношение этих генов сместилось в сторону более высокой относительной представленности *mefA* в 2022 г.

Заключение

Анализ резистомы кишечника одних и тех же участников с интервалом в пять лет показал, что набор генов AP в организме относительно здорового человека незначительно изменился во время эпидемии COVID-19 за исключением снижения распространённости генов резистентности к гликопептидам (*vanA* и *vanB*). При этом наблюдалось увеличение количества генов AP при приёме антибиотиков в течение полугода до включения в исследование. При исследовании соотношения генов AP к макролидам было выявлено увеличение относительной представленности *mefA* в постпандемических образцах.

Дополнительная информация

Финансирование. Работа выполнена при поддержке государственного задания № 122030900064-9 Роспотребнадзора.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов при подготовке данной статьи.

Участие авторов. Павленко Александр Владимирович — анализ данных, написание текста статьи; Манолов Александр Иванович — анализ данных, написание текста статьи; Есин Юрий Игоревич — пробоподготовка биообразцов; Архипова Анна Леонидовна — пробоподготовка биообразцов, постановка ПЦР; Введенский Андрей Владимирович — пробоподготовка биообразцов, постановка ПЦР; Кудрявцев Александр Валерьевич —

набор группы участников, организация сбора биоматериала, редактирование текста статьи; *Кригер Екатерина Анатольевна* — набор группы участников, организация сбора биоматериала, редактирование текста статьи; *Шагров Леонид Леонидович* — набор группы участников, органи-

зация сбора биоматериала; *Белова Наталья Игоревна* — набор группы участников, организация сбора биоматериала; *Ильина Елена Николаевна* — руководство исследованием, написание текста статьи, финальное утверждение рукописи.

Литература/References

1. Sekirov I., Shannon L., Russell L., Caetano M., Antunes, and Finlay, B. B. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev.* 2010;90:859–904 doi: 10.1152/physrev.00045.2009.
2. León-Sampedro R., DelaFuente J., Díaz-Agero C., Crellen T., Musicha P., Rodríguez-Beltrán J., San Millán Á. Pervasive transmission of a carbapenem resistance plasmid in the gut microbiota of hospitalized patients. *Nat Microbiol.* 2021; 6 (5): 606–616. doi: <https://doi.org/10.1038/s41564-021-00879-y>.
3. Konstantinidis T., Tsigalou C., Karvelas A., Stavropoulou E., Voidarou C., Bezirtzoglou E. Effects of Antibiotics upon the Gut Microbiome: A Review of the Literature. *Biomedicine.* 2020; 8 (11): 502. doi: 10.3390/biomedicine8110502.
4. Su Q., Liu Q., Zhang L., Xu Z., Liu C., Lu W., Ching J.Y., Li A., Mak J.W.Y., Lui G.C.Y., Ng S.S.S., Chow K.M., Hui D.S., Chan P.K., Chan F.K.L., Ng S.C. Antibiotics and probiotics impact gut antimicrobial resistance gene reservoir in COVID-19 patients. *Gut Microbes.* 2022; 14: 2128603. doi: 10.1080/19490976.2022.2128603.
5. Fishbein S.R.S., Mahmud B., Dantas G. Antibiotic perturbations to the gut microbiome. *Nat Rev Microbiol.* 2023; 21: 772–788. doi: 10.1038/s41579-023-00933-y.
6. Краевой и др. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (2019-nCoV). версия 2 (03.02.2020). [Краевой и др. Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (2019-nCoV). версия 2 (03.02.2020). (in Russian)]
7. Кароли Н. А., Апаркина А. В., Григорьева Е. В., Магдеева Н. А., Никитина Н. М., Смирнова Н. Д., Ребров А. П. Антибактериальная терапия пациентов с COVID-19 на амбулаторном и стационарном этапах. Антибиотики и химиотер. 2022; 67 (1–2): 24–31. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2022-67-1-2-24-31>. [Karoli N.A., Aparkina A.V., Grigoryeva E.V., Magdeeva N.A., Nikitina N.M., Smirnova N.D., Rebrov A.P. Antibacterial Therapy of Patients With COVID-19 During The Outpatient and Hospital Stages. *Antibiot Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2022; 67 (1–2): 24–31. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2022-67-1-2-24-31>.
8. Kang Y., Chen S., Chen Y., Tian L., Wu Q., Zheng M., Li Z. Alterations of fecal antibiotic resistome in COVID-19 patients after empirical antibiotic exposure. *Int J Hyg Environmental Health.* 2021; 240: 113882. doi: 10.1016/j.ijheh.2021.113882.
9. The R Project for Statistical Computing [Internet] [updated 2023 Oct 31; cited 2023 Nov 23] Available from: <https://www.r-project.org/>
10. Zhu Q., Jiang S., Du G. Effects of exercise frequency on the gut microbiota in elderly individuals. *Microbiologyopen.* 2020; 9 (8): e1053. doi: 10.1002/mbo3.1053.
11. Moosavian M., Ghadri H., Samli Z. Molecular detection of vanA and vanB genes among vancomycin-resistant enterococci in ICU-hospitalized patients in Ahvaz in southwest of Iran. *Infect Drug Resist.* 2018; 11: 2269–2275. doi: 10.2147/IDR.S177886.
12. Seville L.A., Patterson A.J., Scott K.P., Mullany P., Quail M.A., Parkhill J., Ready D., Wilson M., Spratt D., Roberts A.P. Distribution of tetracycline and erythromycin resistance genes among human oral and fecal metagenomic DNA. *Microb Drug Resist.* 2009; 15: 159–166. doi: 10.1089/mdr.2009.0916.
13. Klaassen C.H.W., Mouton J.W. Molecular detection of the macrolide efflux gene: to discriminate or not to discriminate between mef(A) and mef(E). *Antimicrob Agents Chemother.* 2005; 49: 1271–1278. doi: 10.1128/AAC.49.4.1271-1278.2005.
14. Ohashi Y., Fujisawa T. Detection of antibiotic resistance genes in the feces of young adult Japanese. *Biosci Microbiota Food Health.* 2017; 36: 151–154. doi: 10.12938/bmfh.17-004.

Поступила / Received 22.12.2023
Принята в печать / Accepted 01.02.2024

Информация об авторах

Павленко Александр Владимирович — научный сотрудник НИИ Системной биологии и медицины Роспотребнадзора, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-9549-0289

Манолов Александр Иванович — к. б. н., научный сотрудник НИИ Системной биологии и медицины Роспотребнадзора, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0003-3912-429X

Есин Юрий Игоревич — студент, НИИ Системной биологии и медицины Роспотребнадзора, Москва, Россия

Архипова Анна Леонидовна — младший научный сотрудник НИИ Системной биологии и медицины Роспотребнадзора, Москва, Россия

Введенский Андрей Владимирович — младший научный сотрудник НИИ Системной биологии и медицины Роспотребнадзора, Москва, Россия

Кудрявцев Александр Валерьевич — заведующий международным центром научных компетенций центральной научно-исследовательской лаборатории Северного государственного медицинского университета, Архангельск, Россия. ORCID ID: 0000-0001-8902-8947

Кригер Екатерина Анатольевна — к. м. н., доцент, научный сотрудник международного центра научных компетенций центральной научно-исследовательской лаборатории, доцент кафедры инфекционных болезней Северного государственного медицинского университета, Архангельск, Россия. ORCID ID: 0000-0001-5179-5737

About the authors

Alexander V. Pavlenko — Researcher of Research Institute for Systems Biology and Medicine, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-9549-0289

Aleksandr I. Manolov — Researcher of Research Institute for Systems Biology and Medicine, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0003-3912-429X

Yuriy I. Esin — Student, Research Institute for Systems Biology and Medicine, Moscow, Russia

Anna L. Arkhipova — Junior researcher of Research Institute for Systems Biology and Medicine, Moscow, Russia

Andrey V. Vvedenskiy — Junior researcher of Research Institute for Systems Biology and Medicine, Moscow, Russia

Alexander V. Kudryavtsev — Head of the International Research Competence Centre, Central Scientific Research Laboratory, Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia. ORCID ID: 0000-0001-8902-8947

Ekaterina A. Krieger — candidate of medical science, associate professor, research fellow of the International Research Competence Centre, Central Scientific Research Laboratory, associate professor of the department of infectious diseases, Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia. ORCID ID: 0000-0001-5179-5737

Шагров Леонид Леонидович — младший научный сотрудник центра коллективного пользования лабораторным оборудованием центральной научно-исследовательской лаборатории Северного государственного медицинского университета, Архангельск, Россия

Белова Наталья Игоревна — младший научный сотрудник центра коллективного пользования лабораторным оборудованием центральной научно-исследовательской лаборатории Северного государственного медицинского университета, Архангельск, Россия

Ильина Елена Николаевна — д.б.н., член-корр РАН, главный научный сотрудник НИИ Системной биологии и медицины Роспотребнадзора; заведующий лабораторией математической биологии и биоинформатики. Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0003-0130-5079

Leonid L. Shagrov — Junior Researcher, Central Research Laboratory, Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia

Natal'ya I. Belova — Junior Researcher, Central Research Laboratory, Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia

Elena N. Ilina — doctor of biology science, corresponding member of RAS, chief scientist of Research Institute for Systems Biology and Medicine; Head of laboratory for mathematical biology and bioinformatics, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0003-0130-5079