

**УСТОЙЧИВОСТЬ К КОЛИСТИНУ:
К ВОПРОСУ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АНТИБИОТИКА
В СВИНОВОДСТВЕ**

**RESISTANCE TO COLISTIN: WHAT IS THE FATE
FOR THIS ANTIBIOTIC IN PIG PRODUCTION? /
M. RHOUMA, F. BEAUDRY, A. LETELLIER*//
INTERNATIONAL JOURNAL OF ANTIMICROBIAL
AGENTS AUGUST 2016; 48: 2: 119–126.**

Колистин, катионный полипептидный антибиотик, получил второе рождение в медицине как «последняя линия обороны» в отношении грамотрицательных бактерий с множественной устойчивостью (MDR-GNB). Колистин широко применяется в ветеринарии при лечении желудочно-кишечных заболеваний, вызванных энтеробактериями. О случаях устойчивости грамотрицательных бактерий к колистину, как следствия хромосомальных мутаций, в медицинской и ветеринарной практике уже было известно, но только в последнее время у колистиноустойчивой *Escherichia coli* был идентифицирован локализованный в плазмиде ген *mcr-1*, кодирующий устойчивость к антибиотику. Открытие внехромосомального механизма устойчивости к колистину вызвало бурную реакцию в научном сообществе, особенно у врачей и ветеринаров. Применение колистина в производстве пищевых продуктов животноводства, особенно в свиноводстве, рассматривалось как главная причина возникновения устойчивости к колистину. В обзоре основное внимание обращено на возможную связь между использованием колистина в свиноводстве и распространением устойчивости к нему среди энтеробактерий. Впервые была показана предполагаемая связь между появлением устойчивости к колистину у энтеробактерий и фармакокинетикой/фармакодинамикой перорального колистина, а также использованием других его лекарственных форм. Дискутируется вопрос о возможном влиянии применения колистина в свиноводстве на положение в здравоохранении с точки зрения устойчивости к антибиотику. Выражена уверенность в необходимости переоценки использования его в свиноводстве, дозирования и оптимизации процесса. Более того, поиск решений, альтернативных использованию колистина, является важнейшим условием сохранения эффективности антибиотика при лечении MDR-GNB инфекций у человека.

* Chaire de recherche en salubrité des viands (CRSV), Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, 3200 rue Sicotte, Saint-Hyacinthe, QC J2S 7C6, Canada.

**ТРАНСФЕРАБЕЛЬНАЯ (ПЕРЕДАЮЩАЯСЯ)
УСТОЙЧИВОСТЬ К КОЛИСТИНУ: НОВАЯ
И В ТО ЖЕ ВРЕМЯ СТАРАЯ УГРОЗА.**

**TRANSFERABLE RESISTANCE TO COLISTIN: A NEW BUT
OLD THREAT / S. SCHWARZ*, A. P. JOHNSON //
JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2016;
7: 8: 2066–2070.**

В статье суммированы современные сведения о первом и пока единственном трансферабельном гене устойчивости к колистину *mcr-1*. Локализация на конъюгативной плазмиде обеспечивает его распространение среди энтеробактерий у человека и животных. В результате поисковых работ *mcr-1* был идентифицирован на 5 из 7 континентов, а в ретроспективных исследованиях в Китае он был обнаружен у *Escherichia coli*, выделенной в 1980-е гг., тогда как в Европе первые сообщения о нём относятся к 2005 г. Широкое применение колистина в свиноводстве и птицеводстве в некоторых странах и выделение большого числа штаммов-носителей *mcr-1* у животных, чем у людей, склоняет к заключению о происхождении устойчивости в среде животных. Но каково бы ни было происхождение устойчивости, необходим единый глобальный подход в выборе мер для снижения её распространения, включающий надёжное руководство по снижению необоснованного применения антибиотика, оптимизации профилактики инфекции, контролю и наблюдению за применением колистина и уровнем устойчивости к нему в медицине и ветеринарии.

* Institute of Farm Animal Genetics, Friedrich-Loeffler-Institut (FLI), Neustadt-Mariensee, Germany.

**ВЫЯВЛЕНИЕ В АНГЛИИ И УЭЛЬСЕ ПЛАЗМИДНОГО
ГЕНА *MCR-1*, ОБЕСПЕЧИВАЮЩЕГО УСТОЙЧИВОСТЬ
К КОЛИСТИНУ У ШТАММОВ *SALMONELLA ENTERICA*
И *ESCHERICHIA COLI*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ЧЕЛОВЕКА
И ИЗ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ.**

**DETECTION OF THE PLASMID-MEDIATED *MCR-1*
GENE CONFERRING COLISTIN RESISTANCE IN HUMAN
AND FOOD ISOLATES OF *SALMONELLA ENTERICA*
AND *ESCHERICHIA COLI* IN ENGLAND AND WALES /
M. DOUMITH, G. GODBOLE, P. ASHTON, L. LARKIN,
T. DALLMAN, M. DAY, M. DAY, B. MULLER-PEBODY,
M. J. ELLINGTON, E. DE PINNA, A. P. JOHNSON,
K. L. HOPKINS, N. WOODFORD*// JOURNAL OF
ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2016;
7: 8: 2300–2305.**

После первого сообщения о передаваемой с помощью гена *mcr-1* устойчивости к колистину

Escherichia coli и *Klebsiella* spp., выделенных в Китае от животных и человека, была предпринята попытка выявить наличие его у энтеробактерий, выделенных в Великобритании. С помощью Genefinder был проанализирован PHE (Public Health England) архив последовательностей целого генома (WGS) штаммов из коллекций надзорных референс-служб и исследовательских лабораторий на наличие *mcr-1* и его генетического окружения. При быстром скрининге геномов 24000 штаммов *Salmonella enterica*, *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Campylobacter* spp. и *Shigella* spp., выделенных из пищевых продуктов и от человека, было идентифицировано 15 *mcr-1*-положительных штаммов, включающих 10 штаммов *S. enterica*, выделенных между 2012 г. и 2015 г. (8 *Salmonella* Typhimurium, 1 *Salmonella* Paratyphi B var Java и 1 *Salmonella* Virchow) от 10 больных; 3 штамма *E. coli* — от 2 больных; и 2 штамма *Salmonella* Paratyphi B var Java из мяса птицы, импортированного из Европейского Союза. Ген *mcr-1* был локализован на разных плазидах, относящихся к типам репликона IncHI2, IncI2 и IncX4, ассоциация их с IS*Apl1* варьировала. Шесть *mcr-1*-положительных штаммов *S. enterica* были выделены от больных недавно вернувшихся из путешествия по Азии. Анализ данных WGS подтвердил присутствие *mcr-1* гена плазмидопосредованной устойчивости к колистину при разнообразии генетического окружения и типа плазмиды в штаммах *E. coli* и *Salmonella* spp., выделенных от больных в Англии и Уэльсе, по крайней мере с 2012 г.

* National Infection Service, Public Health England, London NW9 5EQ, UK.

ПОЛНАЯ НУКЛЕОТИДНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ INC12 ПЛАЗМИДЫ, СОДЕРЖАЩЕЙ *BLA*_{CTX-M-55} И *MCR-1*.

COMPLETE NUCLEOTIDE SEQUENCE OF AN INC12 PLASMID COHARBORING *BLA*_{CTX-M-55} AND *MCR-1* / J. SUN, X.-P. LI, R.-S. YANG, L.-X. FANG, W. HUO, S.-M. LI, P. JIANG, X.-P. LIAO, Y.-H. LIU* // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY AUGUST 2016; 60: 8: 5014—5017.

Сообщается о полной нуклеотидной последовательности плазмиды, несущей *bla*_{CTX-M-55} и *mcr-1*, из штамма *Escherichia coli*, выделенной от цыплёнка. Плазида pA31-12 содержала IncI2 репликон и проявляла сильное сходство последовательностей с несущей *bla*_{CTX-M-55} плазмидой pHN1122-1 и *mcr-1* несущей плазмидой pHNSHP45. Инсерционные последовательности IS*Ecp1* и IS*Apl1* были ответственны за мобилизацию *bla*_{CTX-M-55} и *mcr-1*, соответ-

ственно. Совместная локализация *mcr-1* с геном бета-лактамазы расширенного спектра действия на конъюгативной плазмиде может ускорять диссеминацию обоих генов с помощью коселекции.

* National Risk Assessment Laboratory for Antimicrobial Resistance of Animal Original Bacteria, South China Agricultural University, Guangzhou, People's Republic of China

* Guangdong Provincial Key Laboratory of Veterinary Pharmaceutics Development and Safety Evaluation, South China Agricultural University, Guangzhou, People's Republic of China

* Jiangsu Co-innovation Centre for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, Yangzhou, Jiangsu, People's Republic of China.

ОБНАРУЖЕНИЕ ГЕНА УСТОЙЧИВОСТИ К КОЛИСТИНУ *MCR-1* У УСТОЙЧИВЫХ К КАРБАПЕНЕМАМ ENTEROBACTERIACEAE В РАЗНЫХ БОЛЬНИЦАХ КИТАЯ.

DETECTION OF THE *MCR-1* COLISTIN RESISTANCE GENE IN CARBAPENEM-RESISTANT ENTEROBACTERIACEAE FROM DIFFERENT HOSPITALS IN CHINA / H. YU, F. QU, B. SHAN, B. HUANG, W. JIA, C. CHEN, A. LI, M. MIAO, X. ZHANG, C. BAO, Y. XU, K. D. CHAVDA, Y.-W. TANG, B. N. KREISWIRTH, H. DU*, L. CHEN // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY AUGUST 2016; 60: 8: 5033—5035.

Распространение *mcr-1* гена плазмидопосредованной устойчивости к колистину среди клинических штаммов карбапенемоустойчивых энтеробактерий (CRE) представляет серьёзную угрозу глобальному здравоохранению. Сообщается об идентификации 3-х карбапенемоустойчивых штаммов *Escherichia coli*, содержащих *mcr-1*, выделенных от 3-х больных в 2-х провинциях Китая. Полученные результаты показывают, что *mcr-1*-содержащие штаммы дают начало распространению их в разных больницах Китая. В сообщении впервые дано описание хромосомальной интеграции *mcr-1* в карбапенемоустойчивый штамм *E. coli*.

* Department of Clinical Laboratory, The Second Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou, Jiangsu, China.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЛАЗМИДОПОСРЕДОВАННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К ПОЛИМИКСИНУ (*MCR-1*) МЕТОДОМ ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ В КУЛЬТИВИРУЕМЫХ БАКТЕРИЯХ И ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ИСПРАЖНЕНИЙ.

**REAL-TIME PCR FOR DETECTION
OF PLASMID-MEDIATED POLYMYXIN RESISTANCE
(MCR-1) FROM CULTURED BACTERIA AND STOOLS /
S. BONTRON, L. POIREL*, P. NORDMANN //
JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2016;
71: 8: 2318–2320.**

Разработан простой метод быстрого выявления гена *mcr-1*, недавно идентифицированного в качестве детерминанты плазмидо-опосредованной трансмиссивной устойчивости к полимиксинам у энтеробактерий. В основу был положен SYBR Green - метод ПЦР в реальном времени, который был проверен на культивируемых бактериях, потенциальных носителях гена, и выделенных из испражнений человека и крупного рогатого скота. Как показали результаты, нижняя граница обнаружения гена *mcr-1* составляет 10^2 для культивируемых бактерий. Тестирование очень чувствительное, специфическое и не даёт ложно-положительных результатов. Метод также исключительно надёжен при применении к испражнениям, предположительно содержащим *mcr-1*- положительную *Escherichia coli*. Предлагаемый простой, быстрый, чувствительный и специфический метод может быть полезен при быстром скрининге уровня устойчивости в медицине и ветеринарии.

* Emerging Antibiotic Resistance Unit, Medical and Molecular Microbiology, Department of Medicine, Faculty of Science, University of Fribourg, Fribourg, Switzerland.

МЕХАНИЗМЫ ПРИОБРЕТЕНИЯ bla_{NDM} ГЕНОВ ПЛАЗМИДАМИ INCА/C₂ И INCFII_γ.

**MECHANISMS INVOLVED IN ACQUISITION
OF bla_{NDM} GENES BY INCА/C₂ AND INCFII_γ PLASMIDS /
A. M. WAILAN*, H. E. SIDJABAT,
W. K. YAM, N.-F. ALIKHAN, N. K. PETTY, A. L. SARTOR,
D. A. WILLIAMSON, B. M. FORDE, M.A. SCHEMBRI,
S. A. BEATSON, D. L. PATERSON, T. R. WALSH,
S. R. PARTRIDGE // ANTIMICROBIAL AGENTS
CHEMOTHERAPY JULY 2016; 60: 7: 4082–4088.**

Гены bla_{NDM} , обеспечивающие устойчивость к карбапенемам, обнаружены на трансферабельных плазмидах, относящихся к различным несовместимым (Inc) группам. Представлены полные последовательности 4-х несущих bla_{NDM} ген плазмид, pKP1-NDM-1, pEC2-NDM-3, pECL3-NDM-1 и pEC4-NDM-6, обнаруженных в 4-х клинических штаммах, выделенных от 4-х разных больных. Различные плазмиды из *Acinetobacter* содержали сегменты, пристроенные к разным частям области bla_{NDM} . Плазмиды pKP1-NDM-1 и pEC2-NDM-3 из *Klebsiella pneumoniae* и

Escherichia coli, соответственно, идентифицированы как плазмиды IncA/C₂ 1 типа с почти идентичной основной (скелетной) структурой. Различные области, несущие bla_{NDM} , встроены в разные локусы «островка устойчивости к антибиотикам», известного как ARI-A, и ISCR1 может принимать участие в приобретении bla_{NDM} с помощью pEC2-NDM-3. Плазмиды pECL3-NDM-1 и pEC4-NDM-6 от *Enterobacter cloacae* и *E.coli*, соответственно, имеют сходную основную структуру IncFII_γ, но различную локализацию областей, несущих bla_{NDM} . В приобретении pEC4-NDM-6 гена bla_{NDM} и *rmtC*, гена метилазы 16S rRNA плазмидами IncFII_γ, по-видимому, принимают участие подвижные элементы Tn3-производных с инвертируемыми повторами. Дополнительная характеристика этих плазмид показывает, что даже близко родственные плазмиды могут приобретать гены bla_{NDM} с помощью различных механизмов. Приведённые данные иллюстрируют сложность взаимоотношений между генами антибиотикоустойчивости, подвижными элементами и плазмидами и способствуют пониманию возможных путей перемещения bla_{NDM} среди видов семейства Enterobacteriaceae.

* The University of Queensland, UQ Centre for Clinical Research, Herston, Queensland, Australia.

**ГОРИЗОНТАЛЬНЫЙ ПЕРЕНОС ПЛАЗМИД,
КОДИРУЮЩИХ КАРБАПЕНЕМАЗЫ, И СРАВНЕНИЕ
С ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИМИ ДАННЫМИ БОЛЬНИЦ.**

**HORIZONTAL TRANSFER OF CARBAPENEMASE-
ENCODING PLASMIDS AND COMPARISON WITH
HOSPITAL EPIDEMIOLOGY DATA / C. A. HARDIMAN,
R. A. WEINGARTEN, S. CONLAN, P. KHIL, J. P. DEKKER,
A. J. MATHERS, A. E. SHEPPARD, J. A. SEGRE,
K. M. FRANK* // ANTIMICROBIAL AGENTS
CHEMOTHERAPY AUGUST 2016; 60: 8: 4910–4919.**

Микроорганизмы, продуцирующие карбапенемазы, широко распространены во всём мире, и показатель заболеваемости вызванными ими инфекциями значителен. В распространении грамотрицательных бактерий с множественной устойчивостью важную роль играет горизонтальный перенос плазмид, несущих гены, кодирующие карбапенемазы. Исследовали условия, регулирующие конъюгацию, используя в качестве реципиента лабораторный штамм *Escherichia coli*, лишённый плазмид, или системы рестрикционной модификации фермента, а в качестве донора — штаммы, выделенные от больных. Поскольку конъюгация строго регулируется, был выполнен систематический анализ переноса bla_{KPC} -кодирующих плазмид *Klebsiella pneumoniae* в множество штаммов при различных внешних усло-

виях для определения наиболее важных переменных величин. Были использованы 4 *bla*_{KPC}-несущие плазмиды, полученные из 2-х больниц: pKpQIL и pKPC-47e (National Institutes of Health) и pKPC_UVA01 и pKPC_UVA02 (University of Virginia). Показатели частоты переноса плазмиды существенно различались в зависимости от пары донор-реципиент, кроме этого, на частоту переноса также влияли состав плазмиды, температура, субстрат. Конъюгация pKPC-47e была ослаблена во всех испытанных условиях. Несмотря на присутствие во многих клинических видах микроорганизмов, pKPC_UVA01 имела более низкий показатель частоты конъюгации в реципиентные штаммы, чем pKpQIL. Частота конъюгации этих плазмид в штаммах *K.pneumoniae* и *E.coli*, выделенных от больных, не имела чёткой корреляции с клиническими эпидемиологическими данными. Полученные результаты высветили важность каждой из испытанных переменных величин. На *in vitro* моделях нельзя сделать надёжный прогноз переноса плазмид, имеющего место быть в популяции больных, поэтому необходимы дальнейшие исследования для определения наиболее важных переменных величин, влияющих на горизонтальный перенос *in vivo*.

* National Institutes of Health Clinical Center, Bethesda, Maryland, USA.

ДИССЕМИНАЦИЯ *BLAKPC* ГЕНА КЛОНАЛЬНЫМ РАСПРОСТРАНЕНИЕМ И ГОРИЗОНТАЛЬНЫМ ПЕРЕНОСОМ: СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РАСПРОСТРАНЁННОСТИ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ.

DISSEMINATION OF THE *BLAKPC* GENE BY CLONAL SPREAD AND HORIZONTAL GENE TRANSFER: COMPARATIVE STUDY OF INCIDENCE AND MOLECULAR MECHANISMS / A. ADLER*, E. KHABRA, S. PAIKIN, Y. CARMELI // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2016; 71: 8: 2143–2146.

Наряду с глобальным распространением клонального комплекса (CC)-258 клона KPC-продуцирующей *Klebsiella pneumoniae* (KPC-KP) *bla*_{KPC} ген может также распространяться за счёт горизонтального переноса. Основанием для такого предположения является выделение от одного больного нескольких KPC-продуцирующих видов Enterobacteriaceae (KPC-Ent). Были охарактеризованы распространённость и молекулярные механизмы переноса у KPC-KP штаммов, единственных выделенных в пробе (singular, sKPC-KP), так и при одновременном присутствии других KPC-Ent видов (joint, jKPC-KP). Все штаммы были собраны с апреля 2011 г. по август 2012 г. в Медицинском

центре Laniado. Типирование их было выполнено методами множественной (multiplex) ПЦР CC-258 и MLST. Генетическое окружение *bla*_{KPC} гена было изучено методом секвенирования. В течение 17 месяцев было зафиксировано 281 случай sKPC-KP и 8 случаев jKPC-KP ($p < 0,0001$). У больных с jKPC-KP дополнительными видами KPC-Ent были *Escherichia coli* ($n=6$), *Enterobacter aerogenes* ($n=1$), *Enterobacter cloacae* ($n=1$) и *Citrobacter freundii* ($n=1$). Все протестированные sKPC-KP ($n=27$) принадлежали CC-258 клону и содержали *bla*_{KPC-3} аллель, локализованную в Tn4401a транспозоне, в отличие от jKPC-KP/ KPC-Ent, относящихся к различным сиквенс — типам (ST) и несущих *bla*_{KPC-2} аллель, а ген *bla*_{KPC-2} был локализован в Δ Tn4401c, находящемся на плазмидах IncN/pMLST ST-15 типа, обладающих высокой конъюгативной эффективностью. Настоящее исследование выявило два механизма диссеминации *bla*_{KPC} гена: клональное распространение CC-258 клона и менее общего механизма горизонтального переноса, опосредованного ST-15 плазмидами, которые челночным образом переносятся между различными видами и клонами.

* Tel-Aviv Sourasky Medical Center, 6 Weizmann Street, Tel-Aviv 6423906, Israel.

ВЛИЯНИЕ *BLANDM-1* НА ФИТНЕСС И ПАТОГЕННОСТЬ *ESCHERICHIA COLI* И *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*.

IMPACT OF *BLANDM-1* ON FITNESS AND PATHOGENICITY OF *ESCHERICHIA COLI* AND *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* / S. GÖTTIG, S. RIEDEL-CHRIST, A. SALEH, V. A. J. KEMPF, A. HAMPRECHT* // INTERNATIONAL JOURNAL OF ANTIMICROBIAL AGENTS 216 47: 6: 430–435.

Предметом исследования было определение влияния приобретения гена нью-дельийской металло-бета-лактамазы-1 (NDM-1) на фитнесс и вирулентность *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae*. Кинетику роста и оценку фитнесса при носительстве NDM-1 плазмиды оценивали на изогенных штаммах *E.coli* J53 и *K.pneumoniae* PRZ *in vitro* методами парной конкуренции. Патогенность экспрессирующих NDM-1 штаммов *E.coli* и *K.pneumoniae* и изогенный контроль были проанализированы на *in vivo* модели инфекции *Galleria mellonella*. Цитотоксичность NDM-1 экспрессирующих штаммов оценивали на A549 эпителиальных лёгочных клетках человека методом с лактатдегидрогеназой (ЛДГ). Различий в кинетике роста между NDM-1-экспрессирующим и контрольным штаммами не было установлено ($p=0,92$). Снижение фитнесса наблюдали у NDM-1-штаммов *E.coli* J53 и *K.pneumoniae* PRZ [константа скорости селекции (s)= $-1,27 \pm 0,27$ у *E.coli* J53 и $-0,19 \pm 0,14$ у *K.pneumoniae* PRZ].

ae PRZ; $p < 0,0001$]. Выживаемость личинок *G.melonella*, инфицированных NDM-1 и контрольными штаммами *E.coli* J53 и *K.pneumoniae* PRZ, была сходной. Экспрессия NDM-1 не влияла на цитотоксичность в отношении A549 клеток ($p > 0,05$). Наличие *bla*_{NDM-1} не повышало вирулентность и цитотоксичность изогенных штаммов. Однако, носительство pNDM-1 плазмиды значительно снижало фитнес, причём в большей степени у *E.coli* J53 по сравнению с *K.pneumoniae* PRZ.

* Institute for Medical Microbiology, Immunology and Hygiene, University Hospital of Cologne, Goldenfelsstrasse 19-21, 50935 Cologne, Germany.

РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ И РАЗНООБРАЗИЕ INCX ПЛАЗМИД, НЕСУЩИХ ГЕНЫ УСТОЙЧИВОСТИ К ФТОРХИНОЛОНАМ И БЕТАЛАКТАМАМ, У ESCHERICHIA COLI, ВЫДЕЛЕННОЙ ИЗ РАЗНЫХ ИСТОЧНИКОВ В РАЗЛИЧНЫХ ГЕОГРАФИЧЕСКИХ ЗОНАХ.

PREVALENCE AND DIVERSITY OF INCX PLASMIDS CARRYING FLUOROQUINOLONE AND β -LACTAM RESISTANCE GENES IN ESCHERICHIA COLI ORIGINATING FROM DIVERSE SOURCES AND GEOGRAPHICAL AREAS / H. DOBIASOVA*, M. DOLEJSKA // JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY 2016; 71: 8: 2118—2124.

Целью работы было описание распространённости и разнообразия IncX плазмид, содержащих гены антибиотикоустойчивости, у представителей Enterobacteriaceae и определение происхождения семейства плазмид. IncX плазмиды выявлены у 1894 штаммов Enterobacteriaceae, устойчивых к цефотаксиму (2 мг/л) или со сниженной чувствительностью к ципрофлоксацину (0,05 мг/л), выделенных из различных источников на 5 континентах с использованием ПЦР. Штаммы, содержащие IncX плазмиды, были идентифицированы методом MALDI-TOF или биохимическими тестами, гены антибиотикоустойчивости — ПЦР и секвенированием, клональная принадлежность — PFGE. Горизонтальный перенос плазмид определяли трансформацией и конъюгацией. IncX плазмиды были охарактеризованы с помощью S-1 нуклеазы, PFGE, RFLP (полиморфизм длины рестрикционных фрагментов) и гибридизацией. В целом 164 штамма *Escherichia coli* (8,7%, $n=1894$) содержали по крайней мере одну подгруппу IncX. Семь штаммов содержали две разные подгруппы. IncX1 подгруппа была обнаружена у 93 штаммов, IncX2 — 35, IncX4 — 28 и IncX3 — 15 штаммов. Плазмиды IncX4 не подвергались индивидуальному горизонтальному переносу и были исключены из дальнейшего исследо-

вания. Самыми распространёнными были IncX1 плазмиды, содержащие *qnrS1* и *bla*_{TEM-1}, -135 гены и обнаруженные у 36 штаммов *E.coli* из разных источников Европы и Австралии, и IncX2, несущие гены *qnrS1* и *tet(A)*, у 9 штаммов, выделенных от диких животных в Европе. IncX3 плазмиды содержали преимущественно *bla*_{SHV-12} и *qnrS1* или *qnrB7*. IncX плазмиды широко распространены среди диких животных в Европе и, главным образом, ассоциируются с генами устойчивости к фторхинолонам. Плазмиды с неопределённым рестрикционным профилем были выявлены у *E.coli* из разных источников и стран, что предполагает широкую диссеминацию источников происхождения некоторых плазмид.

* Department of Biology and Wildlife Diseases, Faculty of Veterinary Hygiene and Ecology, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Palackeho tr. 1946/1, 612 42 Brno, Czech Republic.

ТРАНСКРИПТОМНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ У PSEUDOMONAS AERUGINOSA.

TRANSCRIPTOME PROFILING OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE IN PSEUDOMONAS AERUGINOSA / A. KHALEDI, M. SCHNIEDERJANS, S. POHL, R. RAINER, U. BODENHOFER, B. XIA, F. KLAUWONN, S. BRUCHMANN, M. PREUSSE, D. ECKWEILER, A. DÖTSCH, S. HÄUSSLER* // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY AUGUST 2016; 60: 8: 4722—4733.

Развивающаяся устойчивость к антимикробным препаратам и недостаток новых антибиотиков подтверждают необходимость оптимизации современной диагностики и лечения в целях снижения развития и распространения множественной устойчивости. Поскольку статус антибиотикоустойчивости патогенной бактерии определяется её геномом, определением характера (профиля) устойчивости и последующим использованием технологий секвенирования (next-generation sequencing, NGS) можно в будущем выполнять идентификацию патогена, чтобы быстро начать индивидуализированное лечение и выполнять оптимизированный контроль за инфекцией. Описан метод качественного секвенирования РНК для идентификации ключевых генетических детерминант антибиотикоустойчивости у 135 клинических штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных в различных географических регионах из разных мест локализации инфекции. С использованием транскриптомных ассоциативных исследований были установлены адаптивные изменения, связанные с устойчивостью к таким классам антибио-

тиков, как фторхинолоны, аминогликозиды и бета-лактамы. Кроме потенциальных новых биомаркеров, напрямую коррелирующих с устойчивостью, с помощью автоматизированных прогностических подходов были определены общие (global) изменения генной экспрессии, ассоциированные с фенотипом, и вариации последовательности. Настоящее исследование имеет целью разработать, основываясь на генотипе, молекулярный диагностический аппарат для определения профиля устойчивости патогенной бактерии в реальном времени и наметить направление развития ускоренной диагностики для стратегий более эффективного прицельного лечения, чтобы ослабить возможности эволюции устойчивости в будущем.

* Department of Molecular Bacteriology, Helmholtz Centre for Infection Research, Braunschweig, Germany.

* Institute for Molecular Bacteriology, TWINCORE GmbH, Centre for Clinical and Experimental Infection Research, Hanover, Germany.

РАЗРУШЕНИЕ ГЛЮТАТИОНОМ БИОПЛЁНОК КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ПРИВОДИТ К УСИЛЕНИЮ АНТИБИОТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА И НОВОЙ ТРАНСКРИПТОМЕ БИОПЛЁНКИ.

GLUTATHIONE-DISRUPTED BIOFILMS OF CLINICAL *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* STRAINS EXHIBIT AN ENHANCED ANTIBIOTIC EFFECT AND A NOVEL BIOFILM TRANSCRIPTOME / W. KLARE*, T. DAS, A. IBUGO, E. BUCKLE, M. MANEFIELD, J. MANOS // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY AUGUST 2016; 60: 8: 4539–4551.

Pseudomonas aeruginosa инфекции у больных муковисцидозом (МВ) характеризуются высоким показателем заболеваемости и смертности, часто преждевременной. Эти инфекции осложнены образованием биоплёнок в мокроте. Антибиотикотерапия затруднена из-за устойчивости матрицы биоплёнки к антибиотикам, поэтому очень желательна новая противоплёночная стратегия. Внутри плёнок окислительно-восстановительный потенциал пиоцианина, при взаимодействии его с внеклеточной ДНК, усиливает целостность биоплёнки. Антиоксидант глутатион (GSH), реагируя с пиоцианином, нарушает это взаимодействие. Исследовали разрушающее биоплёнку действие глутатиона, определяя физиологическое влияние GSH и ДНКазы I на биоплёнки клинических МВ штаммов, выросших в искусственной МВ среде (ASMDM+). Конфокальное сканирование в лазерном микроскопе показало, что 2 mM GSH, одного или в комбинации с

ДНКазой I, значительно разрушают незрелую (24 ч) биоплёнку, образованную изогенами AES-1R и AES-1M австралийского эпидемического штамма (AES). Взятый в отдельности GSH сильно разрушал зрелые (72 ч) биоплёнки AES-R1 в результате разностной экспрессии 587 генов, как показал анализ секвенирования РНК (RNA-seq). Активированными оказались системы биосинтеза циклического дигуанилата и пиовердина, выделительной системы IV типа, нитратный метаболизм и механизм трансляции. Разрушение биоплёнки GSH выявило различия в клеточной физиологии зрелых и диспергированных биоплёнок. Результаты RNA-seq были подтверждены биохимическими определениями и с помощью количественной ПЦР. Ряд биоплёнок МВ штаммов, разрушенных GSH и ДНКазой I, был значительно более чувствительным к ципрофлоксацину, эффективность антибиотика возрастала с увеличением концентрации GSH. Исследование показало, что GSH, один или в комбинации с ДНКазой I, в сочетании с соответствующим антибиотиком представляет эффективное антиплёночное средство, что в дальнейшем будет проверено в *in vivo* исследованиях.

* Department of Infectious Disease and Immunology, Charles Perkins Centre, University of Sydney, Sydney, NSW, Australia.

ОБНАРУЖЕНИЕ И АНАЛИЗ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, ПОДАВЛЯЮЩИХ СИНТЕЗ БЕЛКА У *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*.

DISCOVERY AND ANALYSIS OF NATURAL-PRODUCT COMPOUNDS INHIBITING PROTEIN SYNTHESIS IN *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* / Y. HU, M. KENIRY, S. O. PALMER, J. M. BULLARD* // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY AUGUST 2016; 60: 8: 4820–4829.

Синтез белка у бактерий является мишенью многочисленных природных и синтетических антибактериальных соединений. Разработана поли(У) мРНК-управляемая система белкового синтеза через аминокислотилирование/трансляцию (А/Т), включающая фенилаланил-тРНК синтетазы (PheRS), рибосомы и рибосомальные факторы из *Pseudomonas aeruginosa*. Система была использована для скрининга природных соединений. Для каждого компонента системы были разработаны методы определения специфических мишеней соединений с ингибиторными свойствами. В результате поиска были идентифицированы 13 соединений, подавляющих синтез белка и имеющих значения 50% подавляющей концентрации в пределах 0,3–80 мкМ. МПК роста были определены в отношении таких патогенов, как

Enterococcus faecalis, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *P.aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae*. Три соединения характеризовались широким спектром действия и подавляли сверхчувствительный штамм *P.aeruginosa* (МПК) при 8–16 мкг/мл. Молекулярной мишенью всех 3-х соединений была PheRS. Одно соединение обладало бактериостатическим действием, второе — бактерицидным в отношении грам+ и грам- бактерий, третье — бактериостатическим в отношении грам+ и бактерицидным в отношении грам- бактерий. Все три соединения были конкурентами субстрата АТФ; однако с аминокислотным субстратом одно соединение было конкурентным, второе — неконкурентным, третье — noncompetitive. Методами макромолекулярного синтеза было подтверждено подавление синтеза белка указанными соединениями. Согласно данным МТТ теста цитотоксичности, эти соединения были в 25000 раз менее активны, чем стауроспорин (контроль), при тестировании в отношении культивируемых клеток человека.

* Chemistry Department, The University of Texas-RGV, Edinburg, Texas, USA.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ НОВОГО АНТИБИОТИКА POL7001 НА ДОКЛИНИЧЕСКИХ МОДЕЛЯХ ПНЕВМОНИИ, ОБУСЛОВЛЕННОЙ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*.

EFFICACY OF THE NOVEL ANTIBIOTIC POL7001 IN PRECLINICAL MODELS OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* PNEUMONIA /C. CIGANA, F. BERNARDINI, M. FACCHINI, B. ALCALÁ-FRANCO, C. RIVA, I. DE FINO, A. ROSSI, S. RANUCCI, P. MISSON, E. CHEVALIER, M. BRODMANN, M. SCHMITT, A. WACH, G. E. DALE, D. OBRECHT*, A. BRAGONZI // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY AUGUST 2016; 60: 8: 4991–5000.

В случае не поддающихся лечению форм лёгочных инфекций, обусловленных *Pseudomonas aeruginosa*, первоочередной задачей является исследование в клинике антибиотиков с новыми механизмами действия в сочетании с эффективной доставкой лекарства в лёгкие. Макроциклический антибиотик POL7001 с избирательной высокой активностью в отношении *P.aeruginosa* относится к новому классу миметиков эпитопа белка. Для установления клинической эффективности нового антибиотика при лечении *P.aeruginosa* лёгочных инфекций в качестве индикаторных инфекций были выбраны вентиляторно-ассоциированная пневмония (ВАП) и муковисцидоз (МВ). Были определены значения МПК POL7001 и антибиотиков сравнения в отношении референс- и клинических штам-

мов *P.aeruginosa*. Терапевтическую эффективность оценивали при введении антибиотика в лёгкие мышам с острой и хронической *P.aeruginosa* пневмонией. POL7001 продемонстрировал высокую *in vitro* активность в отношении большого набора штаммов *P.aeruginosa*, выделенных от больных МВ, включая штаммы с мультилекарственной устойчивостью и адаптированными фенотипами, как-то мукоидным и гипермутабильным. Эффективность POL7001 была показана как на обычных, так и на МВ мышах. Кроме снижения бактериальной нагрузки в лёгких, у мышей, леченных POL7001, наблюдали прогрессирующее увеличение массы тела, снижение маркёров воспаления, что свидетельствовало об общем улучшении их состояния. Как показали фармакокинетические исследования, после лёгочного введения POL7001 его концентрации в лёгких достигали значительных значений, при низкой системной экспозиции. Предполагаются дальнейшие исследования. POL7001 в качестве нового терапевтического средства при лечении лёгочных инфекций, вызываемых *P.aeruginosa*.

* Polyphor Ltd., Allschwil, Switzerland.

ИНДИВИДУАЛЬНОЕ И КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ МЕРОПЕНЕМА, ИМИПЕНЕМА, СУЛБАКТАМА, КОЛИСТИНА И ТИГЕЦИКЛИНА НА КЛЕТКИ *ACINETOBACTER BAUMANNII* В БИОПЛЁНКЕ И СТРУКТУРУ БИОПЛЁНКИ.

INDIVIDUAL OR COMBINED EFFECTS OF MEROPENEM, IMIPENEM, SULBACTAM, COLISTIN, AND TIGECYCLINE ON BIOFILM-EMBEDDED *ACINETOBACTER BAUMANNII* AND BIOFILM ARCHITECTURE / Y.-C. WANG, S.-C. KUO, Y.-S. YANG, Y.-T. LEE, C.-H. CHIU, M.-F. CHUANG, J.-C. LIN, F.-Y. CHANG, T.-L. CHEN* // ANTIMICROBIAL AGENTS CHEMOTHERAPY AUGUST 2016; 60: 8: 4670–4676.

Биоплёнки *Acinetobacter baumannii* трудно поддаются удалению. Исследовали действие меропенема (2 мг/л), имипенема (2 мг/л), сулбактама (4 мг/л), колистина (2 мг/л) и тигециклина (2 мг/л), взятых по отдельности и в комбинации, на включённые в биоплёнку клетки *A.baumannii* устойчивого и чувствительного к карбапенемам (CRAb и CSAb, соответственно) штаммов, а также на строение биоплёнки. Были использованы *A.baumannii* ATCC 15151 (Ab15151) и его трансформант, суперпродуцент OXA-82, 2 клинических CSAb и 2 клинических CRAb штамма разной клональности. Значения МПК для заключённых в биоплёнку клеток всех 6 испытанных штаммов были более чем в 50 раз выше значений МПК для планктонных клеток. По числу оставшихся жизнеспособ-

ных клеток CSAb в плёнке меропенем проявил наивысшую бактерицидную активность по сравнению с остальными антибиотиками. В отношении 2-х клинических CRAb штаммов комбинации меропенем+сульбактам и сульбактам+тигециклин после 48 ч обработки показали активность, более чем в 100 раз превышающую активность антибиотиков, взятых в отдельности. Действие антибиотиков на структуру биоплёнки исследовали на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе после окрашивания зелёным фосфоресцирующим с использованием программы COMSTAT. После экспозиции с меропенемом и имипенемом наблюдали значительное снижение толщины биоплёнки. Комбинация меропенем+сульбактам существенно снижала биомассу и

толщину биоплёнки, увеличивала коэффициент её шероховатости, сочетание сульбактам+тигециклин уменьшало максимальную и среднюю толщину биоплёнки в отличие от отдельно взятых антибиотиков. Меропенем был активен в отношении клеток CSAb, включённых в биоплёнки, тогда как комбинация меропенем+сульбактам проявляла синергидный эффект в отношении клеток CRAb и значительно нарушала структуру биоплёнки, чем при обработке отдельными антибиотиками.

* Institute of Clinical Medicine, School of Medicine, National Yang-Ming University, Taipei, Taiwan.

Подготовлено Н. С. Бондаревой (Москва)