

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2021

Бочарова Ю. А.¹, Савинова Т. А.¹, Лямин А. В.², Кондратенко О. В.², Поликарпова С. В.³, Жилина С. В.⁴, Федорова Н. И.¹, Семькин С. Ю.¹, Чаплин А. В.¹, Коростин Д. О.¹, Маянский Н. А.¹, Чеботарь И. В.¹

ОСОБЕННОСТИ ГЕНОМОВ И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫЕ СВОЙСТВА ШТАММОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*, ВЫДЕЛЕННЫХ У ПАЦИЕНТОВ С МУКОВИСЦИДОЗОМ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

¹ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ, 117997, Москва, Россия;

²ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 443099, Самара, Россия;

³ГБУЗ «Городская клиническая больница № 15 им. О. М. Филатова» Департамента здравоохранения г. Москвы, 111539, Москва, Россия;

⁴ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница» Департамента здравоохранения г. Москвы, 119049, Москва, Россия

Муковисцидоз (МВ) – распространённое генетическое заболевание, часто проявляющееся бронхообструкцией и развитием в дыхательных путях хронического инфекционного процесса, самым распространённым возбудителем которого является Pseudomonas aeruginosa. Цель работы – определить сиквенс-типы, чувствительность к антимикробным химиопрепаратам (АМП) и гены адаптивной резистентности у штаммов P. aeruginosa, изолированных от пациентов с муковисцидозом в России.

Объект исследования – 84 штамма P. aeruginosa, выделенные из дыхательных путей 64 пациентов с муковисцидозом. Чувствительность к АМП определяли при помощи диско-диффузионного метода. Полногеномное секвенирование осуществляли на платформе MGISEQ-2000. Для анализа геномов использовали программу SPAdes 3.14, платформу Galaxy, сервисы ResFinder и PubMLST. Среди исследованных изолятов обнаружено 53 различных сиквенс-типа (ST) P. aeruginosa, в том числе 6 новых ST. При этом 10% изолятов относились к клону высокого эпидемического риска ST235, 7% – к эпидемическим МВ-специфическим клонам ST17, ST242, ST274. Нечувствительность к тикарциллину/клавуланату, цефепиму и имипенему проявляли 63%, 12%, 25% штаммов, соответственно; к тобрамицину – 24%, к амикацину – 35% изолятов; к ципрофлоксацину и левофлоксацину – 35% и 57% штаммов, соответственно. Фенотип множественной резистентности (МЛУ) демонстрировали 18% изолятов. Генетические детерминанты адаптивной резистентности представлены генами бета-лактамаз VIM-2 (5 штаммов ST235), VEB-1 (два штамма ST2592), GES-1 (1 штамм ST235), PER-1 (1 штамм ST235). Ген ципрофлоксацин-модифицирующего фермента CsrP выявлен у 67% штаммов, гены аминогликозид-модифицирующих ферментов AAD, ANT и AAC – у 7%, 4% и 12% штаммов, соответственно. Изоляты P. aeruginosa, выделенные от пациентов с муковисцидозом в РФ, характеризуются высоким сиквенс-типовым разнообразием, как и при других вариантах синегнойной инфекции. Обнаруживаются изоляты, принадлежащие к клонам высокого эпидемического риска и эпидемическим МВ-специфичным клонам.

Ключевые слова: *Pseudomonas aeruginosa*; муковисцидоз; антибиотикорезистентность; сиквенс-типы.

Для цитирования: Бочарова Ю.А., Савинова Т.А., Лямин А.В., Кондратенко О.В., Поликарпова С.В., Жилина С.В., Федорова Н.И., Семькин С.Ю., Чаплин А.В., Коростин Д.О., Маянский Н.А., Чеботарь И.В. Особенности геномов и антибиотикорезистентные свойства штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных у пациентов с муковисцидозом в Российской Федерации. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66 (10): DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-10-629-634>

Для корреспонденции: Бочарова Юлия Александровна, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. мол. микробиологии; e-mail: ivrin7@gmail.com

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 20-15-00235).

Благодарности. Мы благодарим Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ за поддержку с методической частью исследования/работы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 01.07.2021

Принята к печати 21.07.2021

Bocharova Yu.A.¹, Savinova T.A.¹, Lyamin A.V.², Kondratenko O.V.², Polikarpova S.V.³, Zhilina S.V.⁴, Fedorova N.I.¹, Semykin S.Yu.¹, Chaplin A.V.¹, Korostin D.O.¹, Mayansky N.A.¹, Chebotar I.V.¹

GENOME FEATURES AND ANTIBIOTIC RESISTANCE OF PSEUDOMONAS AERUGINOSA STRAINS ISOLATED IN PATIENTS WITH CYSTIC FIBROSIS IN THE RUSSIAN FEDERATION

¹Pirogov Russian National Research Medical University, 117997, Moscow, Russia;

²Samara State Medical University, 43099, Samara, Russia;

³Filatov Municipal Clinical Hospital, 111539, Moscow, Russia;

⁴Morozov City Children's Clinical Hospital, 119049, Moscow, Russia

Cystic fibrosis (CF) is a common genetic disease, manifested by airway obstruction and chronic respiratory infection. The most prevalent infectious agent in airways of CF patients is Pseudomonas aeruginosa. This study aimed to determine sequence-types, antimicrobial resistance phenotypes and genes defining adaptive antibiotic resistance in P. aeruginosa isolates recovered from CF patients in Russia. In total, 84 P. aeruginosa strains from 64 CF patients were analyzed. Susceptibility to antibiotics was determined by disk diffusion test. Whole-genome sequencing (WGS) was performed on MGISEQ-2000 platform. SPAdes software,

Galaxy, ResFinder, PubMLST were used for analysis of WGS data. Examined *P. aeruginosa* isolates belonged to 53 different sequence-types (STs), including 6 new STs. High-risk epidemic clone ST235 (10%) and clonal CF *P. aeruginosa* strains ST17, ST242, ST274 (7%) were detected. Non-susceptibility to ticarcillin-clavulanate, cefepime, imipenem was observed in 63%, 12% and 25% of isolates, respectively; to tobramycin – in 24%, to amikacin – in 35%; to ciprofloxacin, levofloxacin – in 35% and 57% of strains, respectively. Multidrug-resistant phenotype was detected in 18% of isolates. In examined strains, genes of beta-lactamases *VIM-2* (5 ST235 strains), *VEB-1* (two ST2592 strains), *GES-1* (1 ST235 strain), *PER-1* (1 ST235 strain) were found. Ciprofloxacin-modifying enzyme *CrpP* gene was detected in 67% of isolates, aminoglycoside-modifying enzymes *AAD*, *ANT*, *AAC* genes – in 7%, 4%, 12% of strains, respectively. *P. aeruginosa* isolates from CF patients in Russia demonstrate a high clonal diversity, which is similar to other *P. aeruginosa* infections. The isolates of high-risk clone and clonal CF *P. aeruginosa* strains are detected.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*; cystic fibrosis; resistance to antibiotics; sequence-types.

For citation: Bocharova Yu.A., Savinova T.A., Lyamin A.V., Kondratenko O.V., Polikarpova S.V., Zhilina S.V., Fedorova N.I., Semykin S.Yu., Chaplin A.V., Korostin D.O., Mayansky N.A., Chebotar I.V. Genome features and antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated in patients with cystic fibrosis in the Russian Federation. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2021; 66 (10): 629-634 (in Russ.). DOI: https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-10-629-634

For correspondence: Bocharova Yu.A., MD, PhD, Senior researcher of the Laboratory of Molecular Microbiology; e-mail: ivrin7@gmail.com

Information about authors:

Bocharova Y., <https://orcid.org/0000-0003-0197-0255>;
Savinova T., <https://orcid.org/0000-0002-5484-5098>;
Lyamin A., <https://orcid.org/0000-0002-5905-1895>;
Kondratenko O., <https://orcid.org/0000-0002-7750-9468>;
Polikarpova S., <https://orcid.org/0000-0003-3201-0804>;
Zhilina S., <https://orcid.org/0000-0003-0084-1013>;
Fedorova N., <https://orcid.org/0000-0001-6244-4182>;
Semykin S., <https://orcid.org/0000-0003-1419-6756>;
Chaplin A., <https://orcid.org/0000-0003-1377-7153>;
Korostin D., <https://orcid.org/0000-0003-1343-2550>;
Mayansky N., <https://orcid.org/0000-0001-8077-5313>;
Chebotar I., <https://orcid.org/0000-0002-6691-2171>.

Funding. The study was supported by the Russian Science Foundation (Project ID 20-15-00235).

Acknowledgment. We thank the Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine (Moscow) for the genetic research methods.

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Received 01.07.2021
Accepted 21.07.2021

Введение. Муковисцидоз (МВ) – одно из самых распространённых в мире генетических заболеваний, которое развивается в результате мутаций в гене муковисцидозного белка-регулятора трансмембранной проводимости CFTR (от англ. «cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein»), и, как следствие этого, – нарушения трансэпителиального транспорта хлорид-ионов [1-3]. Наиболее частым проявлением МВ является увеличение вязкости секрета эпителия бронхов, вызывающее развитие бронхобструкции, хронического инфекционного процесса в дыхательных путях, в результате чего формируются бронхэктазы и/или пневмофиброз [4-6]. При этом хронический инфекционный процесс выполняет решающую роль в развитии патологических изменений в лёгких. В соответствии с классификацией, определяющей клиническое значение возбудителей инфекционного процесса при МВ, одним из самых опасных микроорганизмов является *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) [2]. *P. aeruginosa* – патоген, который часто (до 70% случаев) высевается из дыхательных путей пациентов с МВ [7, 8]. При колонизации дыхательных путей *P. aeruginosa* значительно ухудшается прогноз заболевания: её наличие увеличивает показатель 8-летней смертности в 2,6 раза. У пациентов, дыхательные пути которых колонизированы *P. aeruginosa*, регистрируются низкие показатели массы тела, объёма форсированного

выдоха и частые обострения инфекционного процесса (по сравнению с пациентами, у которых этот патоген не обнаруживается) [9].

Опасность *P. aeruginosa* определяется богатым спектром факторов патогенности (адгезины, ферменты, токсины, факторы ускользания от иммунного ответа), высокой генетической пластичностью, позволяющей бактериям быстро адаптироваться к условиям окружающей среды, и широким спектром антибиотикорезистентности. Высокий уровень устойчивости к АМП у *P. aeruginosa* обеспечивается множеством генов адаптивной резистентности: генов бета-лактамаз, аминогликозид- и фторхинолон-модифицирующих ферментов [10].

Наиболее опасные резистентные штаммы *P. aeruginosa* принадлежат к клонам высокого эпидемического риска (ST111, ST175, ST235, ST654) [11-13]. Среди изолятов *P. aeruginosa*, инфицирующих пациентов с МВ, отдельно выделяют эпидемические клоны (эпидемические МВ-специфические клоны) AUST-01, AUST-02, AUST-03, Clone C, DK-1, DK-2, CC274 и др. [14]. Эпидемические МВ-специфические клоны не всегда имеют высокий уровень резистентности к АМП, но, тем не менее, ассоциированы с более тяжёлым течением инфекционного процесса по сравнению с неэпидемическими штаммами.

Цель работы – определить сиквенс-типы, оценить чувствительность к АМП и выявить наличие генов

адаптивной резистентности у штаммов *P. aeruginosa*, изолированных от пациентов с муковисцидозом в Российской Федерации.

Материал и методы. Объект исследования – 84 клинических штамма *P. aeruginosa*, выделенные из верхних дыхательных путей (мазок со слизистой глубоких отделов задней стенки глотки) и мокроты 64 пациентов с муковисцидозом в возрасте от двух лет до 31 года из 29 регионов Российской Федерации в январе-феврале 2020 года. Чувствительность к АМП определяли при помощи диско-диффузионного метода. Определение чувствительности и интерпретацию результатов проводили в соответствии с рекомендациями Института клинических и лабораторных стандартов США (Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI, 2020 г.) [15]. При этом штаммы, соответствующие критериям I и R отнесены к категории нечувствительных, штаммы, соответствующие критерию S – к категории чувствительных.

Бактериальную ДНК выделяли из суточных культур исследуемых изолятов *P. aeruginosa*, выращенных на агаре Мюллера-Хинтона (Becton Dickinson), при помощи наборов QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) по протоколу фирмы-производителя. Образцы ДНК хранили при -20° С.

Для подготовки ДНК-библиотеки брали 400 нг бактериальной ДНК. ДНК-библиотеки готовили, используя ультразвуковую фрагментацию (Covaris) бактериальной ДНК с последующей репарацией концевых последовательностей и лигированием адаптеров (MGI). Очистку ДНК-библиотек проводили при помощи магнитных частиц Agencourt AMPure XP (Beckman). Концентрацию бактериальной ДНК и ДНК-библиотек измеряли при помощи прибора Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific).

Полногеномное секвенирование осуществляли на платформе MGISEQ-2000 (MGI) с длиной прочтений 250 пар оснований. Для сборки бактериального генома использовали программу SPAdes 3.14 [16]. Оценка качества сборки проводилась с помощью QUAST 5.0 [17]. Контроль за полнотой сборки и исключение возможности контаминации осуществлялись с использованием программ CheckM и веб-сервера Contest16S [18, 19]. Для анализа геномов использовали платформу Galaxy и сервис ResFinder [20, 21]. Сиквенс-тип изолятов определяли в соответствии со стандартной схемой мультилокусного сиквенс-типирования для *P. aeruginosa* с использованием данных полногеномного секвенирования (<https://pubmlst.org/paeruginosa/>).

Результаты. Среди исследованных изолятов обнаружено 53 различных сиквенс-типа (ST) *P. aeruginosa*, в том числе 6 новых ST. Каждый из сиквенс-типов ST1157, ST1232, ST1239, ST1665, ST1930, ST207, ST233, ST242, ST245, ST2464, ST2465, ST254, ST266, ST291, ST3005, ST308, ST358, ST412, ST446, ST500, ST526, ST575, ST645, ST655, ST845, ST882, ST9 представлен одним изолятом, все они выделены от разных пациентов. Штаммы сиквенс-типов ST198, ST231, ST274, ST319, ST708, однолокусный вариант (SLV) ST3474 (новый сиквенс-тип) обнаружены дважды, все они выделены от разных пациентов (по одному штамму от одного пациента). У 19/64 (30%) пациентов обнаружено более, чем по одному изоляту *P. aeruginosa* (табл. 1). ST235 представлен восемью изолятами, выделенными от шести пациентов, ST2554 – пятью изолятами, выделенными от двух пациентов, каждый из сиквенс-типов ST17 и ST395 – тремя изолятами, выделенными от двух пациентов. Сиквенс-типы ST1094, ST12, ST1203, ST2592, ST3451,

ST3496, ST499, ST635 и новые ST, которые являлись однолокусным вариантом ST3451 и двухлокусным вариантом (DLV) сиквенс-типа ST200, представлены парами штаммов, каждая из пар выделена от одного пациента. В большинстве случаев, когда от одного пациента выделено более одного штамма *P. aeruginosa*, распределение сиквенс-типов подчинялось закономерности «у одного пациента – штаммы *P. aeruginosa* одного ST». Исключение составили три случая, когда в парах штаммов, каждая из которых выделена от одного пациента, один изолят принадлежал к известному сиквенс-типу, второй – к SLV этого же сиквенс-типа (ST1894, ST685, ST942).

Число однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), выявленных при сравнении геномов штаммов одного сиквенс-типа, выделенных от одного пациента, было ≥ 20 , что свидетельствует о штаммовом различии изолятов (табл. 1). 8/84 (10%) изолятов относились к клону высокого эпидемического риска ST235, 6/84 (7%) – к эпидемическим MB-специфическим клонам ST17, ST242, ST274 (табл. 2).

По результатам определения чувствительности к АМП диско-диффузионным методом нечувствительность к тикарциллину/клавуланату выявлена у 53/84 штаммов (63%), 10/84 (12%) штаммов нечувствительны к цефепиму, 21/84 (25%) – к имипенему. Нечувствительность к тобрамицину и амикацину проявляли соответственно 20/84 (24%) и 29/84 (35%) изолятов. Нечувствительны к ципрофлоксацину 29/84 (35%) штаммов, к левофлоксацину – 48/84 (57%) штаммов. Фенотип множественной резистентности (МЛЮ) демонстрировали 15/84 (18%) изолятов.

Генетические детерминанты адаптивной резистентности исследованных штаммов представлены генами бета-лактамаз VIM-2 (5 штаммов ST235), VEB-1 (два штамма ST2592), GES-1 (1 штамм ST235), PER-1 (1 штамм ST235). Гены *bla*_{GES-1}, *bla*_{PER-1} не сочетались ни между собой и с *bla*_{VIM-2}. В геномах у 56/84 (67%) штаммов обнаружен ген ципрофлоксацин-модифицирующего фермента CtrP. Гены аминогликозид-модифицирующих ферментов AAD выявлены у 6/84 (7%) изолятов, ANT – у 3/84 (4%), AAC – у 10/84 (12%), включая ген фермента AAC(6')-Ib-cr, инактивирующего фторхинолоны и аминогликозиды (1 штамм). Распределение генов адаптивной резистентности среди изолятов эпидемических клонов показано в табл. 2.

Обсуждение. Исследованные MB-изоляты *P. aeruginosa* характеризовались высоким разнообразием сиквенс-типов, что характерно и для других вариантов синегнойной инфекции [22-25]. Большинство выявленных сиквенс-типов ранее не описаны у пациентов с MB на территории РФ [26]. Исключение составили типичные MB-клоны ST233, ST235, ST245, ST274, ST575. Особую опасность представляют выявленные сиквенс-типы ST235, ST17, ST242, ST274, которые принадлежат к клонам высокого эпидемического риска. Они характеризуются всемирной распространенностью и высоким уровнем устойчивости к АМП [12]. 10% изолятов относились к ST235. По сравнению со штаммами других ST они обладали более широким набором генов адаптивной резистентности: генов карбапенемаз *bla*_{VIM-2}, *bla*_{GES-1}, *bla*_{PER-1} и генов аминогликозид-модифицирующих ферментов *aac*, *aad*. К сиквенс-типам международных эпидемических MB-специфических клонов ST17, ST242, ST274 принадлежало 7% исследованных изолятов. Несмотря на невысокий уровень устойчивости к АМП и небо-

Таблица 1

Сиквенс-типовая принадлежность штаммов *P. aeruginosa* в случаях, когда от одного пациента изолировано более одного штамма

Лабораторный ID штамма	№ пациента	ST	Количество SNP
324/2	1	1094	83
324/3			
325/1	2	12	1048
325/2			
294/1	3	1203	242
294/2			
41786/2	4	17	380
41786/3			
316/1	5	235	212
316/2			
41748/2	6		191
41748/3			
41724/1	7	2554	41724/1-41724/2
41724/2			41724/1-41724/3
41724/3			41724/2-41724/3
41723/1	8		1099
41723/2			
17905/1	9	2592	148
17905/2			
17898/1	10	3451	99
17898/2			
62/1	11	3496	236
62/2			
17903/1	12	395	271
17903/2			
295/1	13	499	93
295/2			
17902/1	14	635	185
17902/2			
17896-7/1	15	DLV 200*	20
17896-7/2			
417/1	16	SLV 3451*	104
417/2			
212/1	17	1894	Неприменимо**
212/2		SLV 1894*	
99/1	18	942	Неприменимо**
99/2		SLV 942*	
124/1	19	685	Неприменимо**
124/2		SLV 685*	

Примечание. * – Новый сиквенс-тип, ** – SLV рассматривается как новый сиквенс-тип, поэтому определение SNP неприменимо.

Таблица 2

Характеристики штаммов, принадлежащих к международным МВ-специфическим клонам и клону высокого эпидемиологического риска

Сиквенс-тип	Международное название	<i>n</i>	Гены адаптивной резистентности (<i>n</i>)
ST235*	ST235	8	<i>bla</i> _{VIM-2} (5), <i>bla</i> _{GES-1} (1), <i>bla</i> _{PER-1} (1), <i>aac</i> (8), <i>aad</i> (5)***
ST17	Clone C**	3	<i>crpP</i> (3)
ST242	AUST-03**	1	<i>crpP</i> (1)
ST274	CC274**	2	<i>crpP</i> (2)

Примечание. * – Клон высокого эпидемиологического риска; ** – МВ-специфические клоны; *** – ни *bla*_{GES-1}, ни *bla*_{PER-1} не сочетались ни между собой, ни с *bla*_{VIM-2}.

гаты набор генов резистентности (у штаммов ST17, ST242, ST274 обнаружен только ген ципрофлоксацин-модифицирующего фермента CtrP), изоляты эпидемических МВ-специфических клонов обычно ассоциируются с более тяжёлым течением инфекции дыхательных путей при МВ [14]. Показано, что инфекция, вызванная ST242, протекает с более частыми обострениями инфекционного процесса, требующими госпитализации, по сравнению с инфекцией, вызванной неэпидемическими сиквенс-типами.

Присутствие среди обнаруженных штаммов представителей клона высокого эпидемического риска и эпидемических МВ-клонов может свидетельствовать о внутрибольничном заражении пациентов МВ *P. aeruginosa*.

Выявлена закономерность в распределении сиквенс-типов «один пациент – штаммы *P. aeruginosa* одного сиквенс-типа». *P. aeruginosa*, находясь в дыхательных путях пациентов с МВ, непрерывно эволюционирует [27-30]. Обнаруженная закономерность косвенно подтверждает, что выделение нескольких различных штаммов *P. aeruginosa* от одного пациента является результатом эволюции в дыхательной системе, а не следствием колонизации новыми штаммами извне.

Количество выявленных нечувствительных к АМП штаммов *P. aeruginosa* соответствовало результатам отечественных работ предыдущих лет. Исключение составили показатели устойчивости к фторхинолонам: в предыдущие годы они были значительно ниже и составляли 15-20% [26]. Другие особенности касались имипенема и амикацина. При сравнении полученных значений доли нечувствительных штаммов со значениями, опубликованными в зарубежных исследованиях, наши результаты показали относительно низкое распространение устойчивости к имипенему и амикацину. Примерно 25% изолятов нечувствительны к имипенему и 35% – к амикацину, тогда как в Европе доля нечувствительных к имипенему и амикацину штаммов составляет 52% и 61%, соответственно [31].

Гены адаптивной резистентности, такие как гены карбапенемаз *bla*_{VIM-22}, *bla*_{GES-12}, *bla*_{PER-1}, выявлялись только у представителей ST235. Для большинства штаммов других сиквенс-типов характерно наличие гена ципрофлоксацин-модифицирующего фермента CtrP. Процент штаммов, несущих гены бета-лактамаз и аминогликозид-модифицирующих ферментов, значительно ниже, чем процент штаммов, нечувствительных к бета-лактамам и аминогликозидам. Это может быть объяснено наличием альтернативных механизмов резистентности к бета-лактамам и аминогликозидам – гиперэкспрессией эффлюкс-систем, снижением пориновой проницаемости, модификацией мишени действия АМП [10].

Заключение. Исследования геномных характеристик штаммов *P. aeruginosa*, изолированных от пациентов с МВ в Российской Федерации, выявили высокую степень сиквенс-типического разнообразия, что соответствует микробиологической картине других вариантов синегнойной инфекции в России и мире. Все штаммы, выделенные от конкретного пациента, принадлежат к одному ST либо к его SLV/DLV. У пациентов с МВ обнаружены штаммы, принадлежащие к клонам высокого эпидемического риска и международным эпидемическим МВ-специфичным клоном, которые являются индикатором внутрибольничного заражения синегнойной инфекцией. Хотя в целом уровни фенотипической чувствительности *P. aeruginosa* к АМП соответство-

вали европейским и общемировым показателям, зарегистрирован тревожный рост нечувствительности к фторхинолонам.

ЛИТЕРАТУРА (пп.1, 3, 5, 6, 8, 9, 11-14, 16-25, 27-31 см. REFERENCES)

2. Данные с сайта Всероссийской ассоциации для больных муковисцидозом. Available at: <https://mukoviscidoz.org/doc/konsensus/2019/konsensus-2019-bez-rentgenogramm.pdf> (дата обращения: май 2021 г.).
4. Данные с сайта Ассоциации медицинских генетиков. Available at: <http://amg-genetics.ru/pdf/mukoviscidoz.pdf> (дата обращения: июнь 2021 г.).
7. Данные с сайта Всероссийской ассоциации для больных муковисцидозом. Регистр больных муковисцидозом в РФ. Available at: https://mukoviscidoz.org/doc/registr/site_Registre_2019.pdf (дата обращения: май 2021 г.).
10. Чеботарь И.В., Бочарова Ю.А., Маянский Н.А. Механизмы резистентности *Pseudomonas aeruginosa* к антибиотикам и их регуляция. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2017; 19(4): 308-19.
15. Данные с сайта Института клинических и лабораторных стандартов США. Available at: <http://em100.edaptivedocs.net/dashboard.aspx> (дата обращения: апрель 2021 г.).
26. Сянова Е.А., Чернуха М.Ю., Аветисян Л.Р., Шагинян И.А., Прилипов А.Г., Усачев Е.В. и др. Мониторинг хронической инфекции легких у больных муковисцидозом, вызванной бактериями *Pseudomonas aeruginosa*. *Педиатрия*. 2018; 97(2):77-86.

REFERENCES

1. Boucher R.C. New concepts of the pathogenesis of cystic fibrosis lung disease. *Eur. Respir. J.* 2004; 23(1):146-58.
2. Russian Association for patients with cystic fibrosis. Available at: <https://mukoviscidoz.org/doc/konsensus/2019/konsensus-2019-bez-rentgenogramm.pdf> (accessed May 2021). (in Russian)
3. Watson M.J., Lee S.L., Marklew A.J., Gilmore R.C., Gentsch M., Sassano M.F. et al. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) uses its C-terminus to regulate the A2B adenosine receptor. *Sci. Rep.* 2016; 6:27390.
4. Association of Medical Geneticists. Available at: <http://amg-genetics.ru/pdf/mukoviscidoz.pdf> (accessed June 2021). (in Russian)
5. Kulkarni H., Kansra S., Karande S. Cystic fibrosis revisited. *J. Postgrad. Med.* 2019; 65(4):193-6.
6. Ratjen F., Bell S.C., Rowe S.M., Goss C.H., Quittner A.L., Bush A. Cystic fibrosis. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 2015; 1:15010.
7. Russian Association for patients with cystic fibrosis. Available at: https://mukoviscidoz.org/doc/registr/site_Registre_2019.pdf (accessed May 2021). (in Russian)
8. Crull M.R., Somayaji R., Ramos K.J., Caldwell E., Mayer-Hamblett N., Aitken M.L. et al. Changing rates of chronic *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis: a population-based cohort study. *Clin. Infect. Dis.* 2018; 67(7):1089-95.
9. Emerson J., Rosenfeld M., McNamara S., Ramsey B., Gibson R.L. *Pseudomonas aeruginosa* and other predictors of mortality and morbidity in young children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 2002; 34(2): 91-100.
10. Chebotar' I.V., Bocharova Yu.A., Mayansky N.A. Mechanisms and regulation of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2017; 19(4): 308-19. (in Russian)
11. Oliver A., Mulet X., Lopez-Causape C., Juan C. The increasing threat of *Pseudomonas aeruginosa* high-risk clones. *Drug Resist. Updat.* 2015; 21-22: 41-59.
12. Aguilar-Rodea P., Zuniga G., Rodriguez-Espino B.A., Olivares Cervantes A.L., Gamino Arroyo A.E., Moreno-Espinosa S. et al. Identification of extensive drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains: New clone ST1725 and high-risk clone ST233. *PLoS One.* 2017; 12(3): e0172882.

MICROBIOLOGY

13. Oliver A. Epidemiology and carbapenem resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa*: Role of high-risk clones in multidrug resistance. *Enferm. Infect. Microbiol. Clin.* 2017; 35(3): 137-8.
14. Parkins M.D., Somayaji R., Waters V.J. Epidemiology, biology, and impact of clonal *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 2018; 31(4): e00019-18.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Available at: <http://em100.edaptivedocs.net/dashboard.aspx> (accessed April 2021). (in Russian)
16. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S. et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012; 19: 455-77.
17. Gurevich A., Saveliev V., Vyahhi N., Tesler G. QUAST: Quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics.* 2013; 29: 1072-5.
18. Parks D.H., Imelfort M., Skennerton C.T., Hugenholtz P., Tyson G.W. CheckM: assessing the quality of microbial genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes. *Genome Res.* 2015; 25: 1043-55.
19. Lee I., Chalita M., Ha S.M., Na S.I., Yoon S.H., Chun J. ContEst16S: an algorithm that identifies contaminated prokaryotic genomes using 16S RNA gene sequences. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2017; 67: 2053-7.
20. Afgan E., Baker D., Batut B., van den Beek M., Bouvier D., Cech M. et al. The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses: 2018 update. *Nucleic Acids Res.* 2018;46(W1): W537-44.
21. Bortolaia V., Kaas R.S., Ruppe E., Roberts M.C., Schwarz S., Cattoir V. et al. ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes. *J. Antimicrob. Chemother.* 2020; 75(12): 3491-500.
22. Liu H., Kong W., Yang W., Chen G., Liang H., Zhang Y. Multilocus sequence typing and variations in the *oprD* gene of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from a hospital in China. *Infect. Drug. Resist.* 2018; 11: 45-54.
23. Fan X., Wu Y., Xiao M., Xu Z.P., Kudinha T., Bazaj A. et al. Diverse genetic background of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from Mainland China, and emergence of an extensively drug-resistant ST292 clone in Kunming. *Sci. Rep.* 2016; 6: 26522.
24. de Oliveira F.P., Pires B.M.F.B., de Cassia Ferreira de Almeida Silva K., de Carvalho B.T.F., Teixeira L.A., de Paula G.R. et al. Prevalence, antimicrobial susceptibility, and clonal diversity of *Pseudomonas aeruginosa* in chronic wounds. *J. Wound. Ostomy. Continence Nurs.* 2017; 44(6): 528-35.
25. Rodrigues Y.C., Furlaneto I.P., Maciel A.H.P., Quaresma A.J.P.G., de Matos E.C.O., Conceicao M.L. et al. High prevalence of atypical virulotype and genetically diverse background among *Pseudomonas aeruginosa* isolates from a referral hospital in the Brazilian Amazon. *PLoS One.* 2020; 15(9): e0238741.
26. Siyanova E.A., Chernukha M.Y., Avetisyan L.R., Shaginyan I.A., Prilipov A.G., Usachev E.V. et al. Monitoring of chronic lung infection in patients with cystic fibrosis caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Pediatriya.* 2018; 97(2): 77-86. (in Russian)
27. Rossi E., La Rosa R., Bartell J.A., Marvig R.L., Haagenen J.A.J., Sommer L.M. et al. *Pseudomonas aeruginosa* adaptation and evolution in patients with cystic fibrosis. *Nat. Rev. Microbiol.* 2021; 19(5): 331-42.
28. Schick A., Kassen R. Rapid diversification of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung-like conditions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018; 115(42):10714-19.
29. Dettman J.R., Kassen R. Evolutionary genomics of niche-specific adaptation to the cystic fibrosis lung in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol. Biol. Evol.* 2021; 38(2): 663-75.
30. Winstanley C., O'Brien S., Brockhurst M.A. *Pseudomonas aeruginosa* evolutionary adaptation and diversification in cystic fibrosis chronic lung infections. *Trends Microbiol.* 2016; 24(5): 327-37.
31. Mustafa M.H., Chalhoub H., Denis O., Deplano A., Vergison A., Rodriguez-Villalobos H. et al. Antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from cystic fibrosis patients in Northern Europe. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2016; 60(11): 6735-41.