

Содержание

Болезни и возбудители

- Бочарова Ю.А., Савинова Т.А., Чаплин А.В., Лямин А.В., Кондратенко О.В., Поликарпова С.В., Жилина С.В., Федорова Н.И., Коржанова М., Маянский Н.А., Чеботарь И.В.
- 220** Геномные характеристики штаммов *Achromobacter* spp., выделенных от пациентов с муковисцидозом в России
- Попова М.О., Рогачева Ю.А.
- 226** Мукормикоз: современные возможности диагностики и лечения, существующие проблемы и новые тенденции в терапии
- Овсянников Н.В., Билевич О.А.
- 239** COVID-19-ассоциированный легочный аспергиллез
- Ортенберг Э.А.
- 248** Почти два года с COVID-19: некоторые аспекты использования антибиотиков
- Хостелиди С.Н., Зайцев В.А., Пелих Е.В., Яшина Е.Ю., Родионова О.Н., Богомолова Т.С., Авдеенко Ю.Л., Клишко Н.Н.
- 255** Мукормикоз на фоне COVID-19: описание клинического случая и обзор литературы

Антимикробные препараты

- Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Трушин И.В., Кузьменков А.Ю., Мартинович А.А., Шек Е.А., Шайдуллина Э.Р., Авраменко А.А., Виноградова А.Г., Иванчик Н.В., Сухорукова М.В., Романов А.В., Микотина А.В., Азизов И.С., Дехнич А.В., Козлов Р.С. от имени участников многоцентрового исследования «Оценка чувствительности клинических изолятов Enterobacterales и *P. aeruginosa* к цефтазидиму-авибактаму в России с помощью диско-диффузионного метода»
- 264** Оценка чувствительности клинических изолятов Enterobacterales и *Pseudomonas aeruginosa* к цефтазидиму-авибактаму в России (по данным локальных микробиологических лабораторий)
- Козлов Р.С., Азизов И.С., Дехнич А.В., Иванчик Н.В., Кузьменков А.Ю., Мартинович А.А., Микотина А.В., Сухорукова М.В., Трушин И.В., Эйдельштейн М.В.
- 280** *In vitro* чувствительность к биопенему и другим карбапенемам клинических изолятов *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. и представителей порядка Enterobacterales, выделенных у госпитализированных пациентов в различных регионах России

Антибиотикорезистентность

- Ромашов О.М., Ни О.Г., Быков А.О., Круглов А.Н., Проценко Д.Н., Тюрин И.Н.
- 293** Оценка резистентности микроорганизмов многопрофильного стационара и модернизация схем антимикробной терапии в условиях пандемии COVID-19-инфекции
- Хрульнова С.А., Клясова Г.А., Фёдорова А.В., Фролова И.Н., Бидерман Б.В.
- 305** Генетическое разнообразие ванкомицинорезистентных *Enterococcus faecium*, выделенных из гемокультур больных опухолями системы крови

Опыт работы

- Сыраева Г.И., Мишинова С.А., Колбин А.С., Еременко Е.О.
- 314** Оценка профиля безопасности лекарственных средств, применяемых для патогенетической терапии новой коронавирусной инфекции (COVID-19): обзор литературы
- Валиева Р.И., Лисовская С.А., Исаева Г.Ш.
- 330** Оценка биопленкообразующей активности грибов *Fusarium solani*, выделенных с кожных покровов пациентов

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии
Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России

Учредитель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Издатель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии
www.iacmac.ru

Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати 30.09.1999 г. (№019273) Тираж 3000 экз.

Подписка на сайте издателя
<https://service.iacmac.ru>

Адрес для корреспонденции
214019, г. Смоленск, а/я 5.
Тел./факс: (4812)45 06 02

Электронная почта:
cmac@antibiotic.ru

Электронная версия журнала:
<https://cmac-journal.ru>

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук

Присланные в редакцию статьи проходят рецензирование

Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов публикуемых материалов

Ответственность за достоверность рекламных публикаций несут рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал обязательна

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2021.

Геномные характеристики штаммов *Achromobacter* spp., выделенных от пациентов с муковисцидозом в России

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

¹ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия

² ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия

³ Городская клиническая больница № 15 им. О.М. Филатова, Москва, Россия

⁴ Морозовская детская городская клиническая больница, Москва, Россия

Контактный адрес:

Игорь Викторович Чеботарь
Эл. почта: nizarnn@yandex.ru

Ключевые слова: *Achromobacter*, муковисцидоз, антибиотикорезистентность, гены, сиквенс-типы.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Внешнее финансирование: исследование проведено без внешнего финансирования.

Цель. Определить виды и сиквенс-типы изолятов *Achromobacter* spp., выделенных от пациентов с муковисцидозом (МВ) в России, а также выявить среди этих изолятов носительство и интегронную организацию генов вирулентности и адаптивной резистентности.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования использовали штаммы рода *Achromobacter*, выделенные из мокроты и верхних дыхательных путей 168 пациентов с МВ. Все изоляты были подвергнуты полногеномному секвенированию на платформе MGISEQ-2000, MGI с последующей биоинформатической обработкой при помощи стандартных программ.

Результаты. *Achromobacter* spp. был выделен у 16 из 168 (5,3%) обследованных пациентов с МВ; у двоих пациентов было выделено по 2 штамма. Наиболее распространенным видом оказался *A. xylosoxidans* (13/18, 72%). Штаммы характеризовались высоким сиквенс-типовым разнообразием: всего было выявлено 14 сиквенс-типов, из которых 8 оказались новыми. Большинство выделенных штаммов обладали типичным для ахромобактерий набором факторов вирулентности. Носительство генов адаптивной резистентности было редким феноменом (1 из 18 изолятов) для бактерий рода *Achromobacter*, выделенных от пациентов с МВ в России.

Выводы. Среди пациентов с МВ в России показатели колонизации дыхательной системы бактериями рода *Achromobacter* соответствовали данным, зарегистрированным в других странах мира. Наиболее распространенным видом оказался *A. xylosoxidans* (72% от всех изолятов *Achromobacter*). Штаммы характеризовались высоким сиквенс-типовым разнообразием. Большинство выделенных штаммов обладали типичным для ахромобактерий набором факторов вирулентности. Носительство генов адаптивной резистентности было редким феноменом.

Original Article

Genomic properties in *Achromobacter* spp. strains from cystic fibrosis patients in Russia

Bocharova Y.A.¹, Savinova T.A.¹, Chaplin A.V.¹, Lyamin A.V.², Kondratenko O.V.², Polikarpova S.V.³, Zhilina S.V.⁴, Fedorova N.I.¹, Korzhanova M.¹, Mayansky N.A.¹, Chebotar I.V.¹

¹ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

² Samara State Medical University, Samara, Russia

³ Moscow City Clinical Hospital named after O.M. Filatov, Moscow, Russia

⁴ Morozov Moscow City Pediatric Hospital, Moscow, Russia

Contacts:

Igor V. Chebotar
E-mail: nizarnn@yandex.ru

Key words: *Achromobacter*, cystic fibrosis, antimicrobial resistance, genes, sequence type.

Conflicts of interest: all authors report no conflicts of interest relevant to this article.

External funding source: no external funding received.

Objective. To determine species, sequence-types, antimicrobial resistance and virulence genes in *Achromobacter* spp. isolates obtained from cystic fibrosis (CF) patients in Russia.

Materials and methods. Samples (sputum, nasopharyngeal swab) from 168 CF patients from 48 regions were studied. Whole-genome sequencing (WGS) was performed on MGISEQ-2000 platform. SPAdes software, Galaxy, ResFinder, Integrall, PubMLST were used for analysis of WGS data.

Results. A total of 18 strains of *Achromobacter* spp. were isolated from 16 of 168 CF patients. *Achromobacter xylosoxidans* was the most prevalent and detected in 13/18 cases (72%). Studied *Achromobacter* spp. isolates belonged to 14 sequence types, including 8 new sequence types. An adaptive resistance gene carriage was a rare phenomenon (1/18 isolates).

Conclusions. The *Achromobacter* spp. colonization rate of respiratory system in CF patients in Russia corresponds to the data reported in other countries. *A. xylosoxidans* isolates were the most prevalent (72%). *Achromobacter* spp. isolates from CF patients in Russia and show a high clonal diversity.

Бочарова Ю.А. и соавт.

Введение

Виды *Achromobacter* относят к числу восходящих патогенов, которые поражают иммунокомпрометированных пациентов [1]. Доказано, что виды *Achromobacter* могут вызывать инфекционный процесс с разнообразной локализацией, включая ЛОР-органы (отит), глаза (эндофталмиты, кератиты), центральную нервную систему (церебральные абсцессы, менингиты), систему кровотока (сепсис), кожу и подкожную клетчатку, сердце (эндокардиты), кости, мочевыводящие пути, органы брюшной полости и малого таза [2]. Наиболее часто инфекционный процесс, вызванный *Achromobacter* spp., поражает органы дыхания [3]. Среди болезней органов дыхания, которые сопровождаются развитием *Achromobacter*-ассоциированной инфекции, лидирует муковисцидоз. Муковисцидоз (МВ) – это генетическое заболевание, в основе которого лежат мутации в гене муковисцидозного белка-регулятора трансмембранной проводимости и возникающие вследствие этого нарушения трансэпителиального транспорта хлорид-ионов [4, 5]. Типовым проявлением МВ является увеличение вязкости бронхиального секрета, что приводит к нарушению его эвакуации и развитию инфекционного процесса. Инфекционный процесс является драйвером фатальных патологоанатомических изменений в легких – бронхообструкции, бронхоэктазов и/или пневмофиброза [6, 7]. Возбудители инфекционного процесса при МВ имеют различное патогенетическое и клиническое значение. Несмотря на относительно небольшой процент (8–11%) выделения от пациентов, виды *Achromobacter* spp. относят к группе, несущей самую большую угрозу для больных [5, 8, 9]. Наличие *Achromobacter* spp. в дыхательных путях пациента существенно повышает риск смерти или необходимости трансплантации легких по сравнению со случаями, когда *Achromobacter* spp. не обнаруживается [9].

Бактерии рода *Achromobacter* обладают широким спектром факторов вирулентности. В частности, у штаммов *Achromobacter* spp. выявляют гены систем секреции 3 и 6 типов, гены основной субъединицы пилей *yagZ*/*espA*, гены ферментов синтеза пиоцианина и пиовердина [10]. Появляются сообщения о новых факторах вирулентности у *Achromobacter xylosoxidans*, таких как колицин V, фосфолипаза C, экзотоксин AхoU [3, 11]. Опасность *Achromobacter* spp. усугубляется особыми антибиотикорезистентными свойствами – широким спектром природной устойчивости (ампициллин, амоксициллин, цефтриаксон, цефотаксим, эртапенем) и быстро приобретаемой устойчивостью к карбапенемам, аминогликозидам и фторхинолонам [12, 13].

Исследования, проведенные в различных регионах мира, показали, что при МВ преобладают виды *A. xylosoxidans*, *A. ruhlandii*, *A. insuavis*, *A. aegriфициans*, при этом наиболее опасные эпидемические штаммы (датский эпидемический штамм DES, российский эпидемический штамм ST36) принадлежат к виду *A. ruhlandii* [10, 14]. Следует обратить внимание на то, что виды рода *Achromobacter* неправильно идентифицируются рутинными микробиологическими методами, включая MALDI-

TOF масс-спектрометрию и определение генов 16S рРНК. В связи с этим видовую идентификацию рекомендуют проводить на основе определения последовательности гена *nrdA* [15].

В мире накоплено достаточно информации о геномных особенностях *Achromobacter* spp. при МВ. Описаны особенности молекулярной эпидемиологии, распространенность генов резистентности, профили интегронов, концентрирующих гены резистентности [10, 16, 17]. К сожалению, в России генетические характеристики штаммов *Achromobacter* spp. остаются мало исследованными.

Цель работы – определить виды и сиквенс-типы изолятов *Achromobacter* spp., выделенных от пациентов с муковисцидозом в России, а также выявить среди этих изолятов носительство и интегронную организацию генов вирулентности и адаптивной резистентности.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали штаммы бактерий рода *Achromobacter*, выделенные из мокроты и верхних дыхательных путей (мазок со слизистой глубоких отделов задней стенки глотки) пациентов с МВ в январе – феврале 2020 г. Количество пациентов составляло 168 человек (представители 48 регионов РФ в возрасте от 1 года до 33 лет), что соответствует 5,3% от общего числа пациентов с муковисцидозом в РФ [18]. Первичную идентификацию микроорганизмов проводили при помощи MALDI-TOF масс-спектрометрии на приборе VITEK MS (bioMérieux, Франция).

Для получения бактериальной ДНК использовали культуры исследуемых штаммов рода *Achromobacter*, выращенные на кровяном агаре (Becton Dickinson, США). ДНК выделяли при помощи наборов QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Нидерланды) по протоколу производителя. Образцы ДНК хранили при -20°C.

Для подготовки ДНК-библиотек применяли ультразвуковую фрагментацию (Covaris) бактериальной ДНК (400 нг) с последующей репарацией концевых последовательностей и лигированием адаптеров (MGI). Концентрацию бактериальной ДНК и ДНК-библиотек измеряли при помощи прибора Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific, США). Для очистки ДНК-библиотек использовали магнитные частицы Agencourt AMPure XP (Beckman, США).

Полногеномное секвенирование осуществляли на платформе MGISEQ-2000 (MGI). Длина прочтений составляла 250 пар оснований. Для сборки бактериального генома применяли программу SPAdes 3.14 [19]. Контроль полноты сборки и исключение возможности контаминации проводили с использованием веб-сервера ContEst16S и программы CheckM [20, 21]. Качество сборки оценивали при помощи QUAST 5.0 [22]. Для анализа геномов использовали сервисы ResFinder, Galaxy, BLAST и базу данных Integrall [23–26]. Реидентификацию вида проводили на основе определения аллели гена *nrdA* [15]. Сиквенс-тип (ST) изолятов определяли

в соответствии со стандартной схемой мультилокусного сиквенс-типирования для *Achromobacter* spp. с использованием данных полногеномного секвенирования [27].

Результаты

Бактерии рода *Achromobacter* были обнаружены у 16/168 (9,5%) пациентов. Всего было обнаружено 18 штаммов, при этом у двух пациентов было выделено по 2, принадлежащих к *Achromobacter* spp. (Таблица 1).

При первичной идентификации при помощи MALDI-TOF масс-спектрометрии 17 штаммов были идентифицированы как *A. xylosoxidans*, 1 штамм – как *A. insolitus*. При реидентификации по аллели гена *nrdA* принадлежность к виду *A. xylosoxidans* подтвердилась у 13/18 (72%) штаммов, к виду *A. insolitus* – у 1 штамма. Остальные изоляты принадлежали к видам *A. ruhlandii* (2 штамма) и *A. insuavis* (2 штамма).

Среди исследованных изолятов было выявлено 14 (в том числе 8 новых) сиквенс-типов (Таблица 1). Штаммы, выделенные от одного пациента, в первом случае принадлежали к одному сиквенс-типу, являясь двухлокусным вариантом (DLV) сиквенс-типа ST157, во втором – к разным сиквенс-типам (ST236 и ST346).

Число однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), выявленных при сравнении геномов штаммов DLV 157, выделенных от одного пациента, составляло 33 SNP, что свидетельствовало о штаммовом различии изолятов.

Наличие генов еноил-КоА-гидратазы, колицина V, фосфолипазы C, гена *aerA* и оперона *pgaABCD* было подтверждено у всех штаммов. Ген основного белка аппарата экспорта системы секреции 3 типа (*bcrD*) был выявлен у всех штаммов, за исключением *A. insolitus*. У всех, кроме одного штамма (*A. insuavis* 59/2), был найден ген убиквитин-активирующей фосфолипазы *ahoU*. Гены кластера *bpl* были выявлены у 8/18 (44%) штаммов. Генов основной субъединицы пилей *yagZ/espA*, генов ферментов синтеза пиоцианина и пиовердина, а также генов системы секреции 6 типа обнаружено не было.

У 1 изолята – *A. xylosoxidans* 418/1 – были выявлены гены адаптивной резистентности – гены аминогликозид-модифицирующего фермента ANT(2'')Ia, бета-лактамазы OXA-2 и устойчивой к сульфаниламидам дигидроптероатсинтазы (*sul1*). Перечисленные гены находились в составе интегрона класса 1. Интегрон состоял из 5'- и 3'-консервативных сегментов и варибельного региона. Консервативные сегменты были представлены геном интегразы *int1* (5'-консервативный сегмент), генами

Таблица 1. Виды и сиквенс-типы бактерий рода *Achromobacter*, выделенных от пациентов с МВ

Номер пациента	Номер штамма	Вид (идентификация с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии)	Сиквенс-тип (ST)	Вид (идентификация по гену <i>nrdA</i>)
1	418/1	<i>A. xylosoxidans</i>	DLV* ST7	<i>A. xylosoxidans</i>
2	451/1	<i>A. xylosoxidans</i>	DLV ST157	<i>A. xylosoxidans</i>
	451/2	<i>A. xylosoxidans</i>	DLV ST157	<i>A. xylosoxidans</i>
3	471/1	<i>A. xylosoxidans</i>	ST144	<i>A. insuavis</i>
4	561/1	<i>A. xylosoxidans</i>	SLV** ST261	<i>A. ruhlandii</i>
5	17893/1	<i>A. xylosoxidans</i>	SLV ST212	<i>A. xylosoxidans</i>
6	17901/1	<i>A. xylosoxidans</i>	ST346	<i>A. xylosoxidans</i>
7	17909/1	<i>A. xylosoxidans</i>	ST324	<i>A. xylosoxidans</i>
8	55/1	<i>A. xylosoxidans</i>	ST236	<i>A. xylosoxidans</i>
	55/2	<i>A. xylosoxidans</i>	ST346	<i>A. xylosoxidans</i>
9	59/2	<i>A. xylosoxidans</i>	Новый ST***	<i>A. insuavis</i>
10	74/3	<i>A. xylosoxidans</i>	ST182	<i>A. xylosoxidans</i>
11	232/2	<i>A. xylosoxidans</i>	ST433	<i>A. xylosoxidans</i>
12	234/1	<i>A. xylosoxidans</i>	ST346	<i>A. xylosoxidans</i>
13	244/3	<i>A. xylosoxidans</i>	Новый ST****	<i>A. ruhlandii</i>
14	41 726/4	<i>A. xylosoxidans</i>	SLV ST166	<i>A. xylosoxidans</i>
15	41 779/2	<i>A. xylosoxidans</i>	ST182	<i>A. xylosoxidans</i>
16	177/3	<i>A. insolitus</i>	Новый ST*****	<i>A. insolitus</i>

ST – сиквенс-тип.

* Двухлокусный вариант.

** Однолокусный вариант.

*** Отличается по 3 локусам от ST63.

**** Отличается по 4 локусам от ST262 и ST302.

***** Отличается по 3 локусам от ST98.

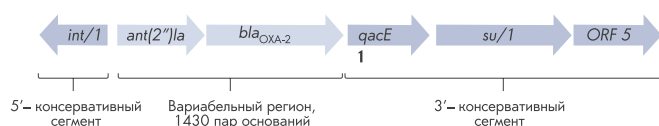


Рисунок 1. Строение *blaOXA-2*-несущего интегрона, обнаруженного в геноме штамма *A. xylosoxidans* 418/1

Серым цветом показаны консервативные сегменты интегрона, белым цветом – варибельный регион.

qacEΔ1, *su/1* и открытой рамкой считывания *orf5* (3'-консервативный сегмент). Варибельный регион интегрона имел размер 1430 пар оснований и был представлен генными кассетами *ant(2'')la* и *blaOXA-2* (Рисунок 1).

Обсуждение

В проведенном исследовании бактерии рода *Achromobacter*, выделенные от пациентов с МВ, были представлены видами *A. xylosoxidans* (самый распространенный вид, 72%), *A. ruhlandii*, *A. insuavis* и *A. insolitus*, что соответствует результатам европейских исследований. Например, в работе Gabrielaite M. и соавт. показано, что *A. xylosoxidans*, *A. ruhlandii*, *A. insuavis* обнаруживаются у пациентов с МВ в 52%, 25% и 20% случаев соответственно [10]. Однако полученные данные отличаются от результатов отечественных исследований предыдущих лет. В 2015 г. наиболее распространенным среди пациентов с МВ представителем рода *Achromobacter* был вид *A. ruhlandii* (58,5%), а доля *A. xylosoxidans* составляла 35,4% [14]. Большинство обнаруженных в проведенном исследовании сиквентипов не выявлялись ранее у пациентов с МВ на территории России. Исключение составили ST346 и ST182, зарегистрированные, в соответствии с базой данных PubMLST, у российских пациентов в 2014–2015 гг. [27].

Интересным наблюдением стало обнаружение у двух пациентов парных штаммов *A. xylosoxidans*. Для многих клинически значимых микроорганизмов – *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* complex, и в том числе *Achromobacter* spp., – доказан факт их постоянной эволюции в легких пациентов с МВ [28–30]. Полученные результаты подтверждают, что выделение нескольких штаммов *A. xylosoxidans* от одного пациента может быть не только результатом колонизации новыми штаммами из окружающей среды или от других пациентов (как в случае выявления парных штаммов ST236 и ST346), но и следствием эволюции штамма внутри дыхательной системы (как в случае выявления парных штаммов DLV 157).

Исследованные штаммы обладали широким спектром факторов вирулентности, функция которых направлена на инвазию в ткани дыхательной системы и формирование биопленок. В частности, белок-регулятор АерА, способствующий продукции целлюлазы и протеазы, и колицин V обеспечивают инвазию в ткани, фосфолипаза С гидролизует фосфолипиды альвеолярного сурфактанта, оперон *pgaABCD* отвечает за синтез полисахаридов, обе-

спечивающих поверхностную и межклеточную адгезию, а еноил-КоА-гидратаза способствует формированию биопленок [3, 31]. Белок АхОУ является субстратом системы секреции 3 типа *A. xylosoxidans* и обладает цитотоксическим действием [11]. Система секреции 3 типа, помимо основной функции – доставки эффекторных субстратов бактерии в клетки легочной ткани, оказывает непосредственное повреждающее действие на альвеолы и способствует развитию воспалительного ответа [3]. Особое значение среди обнаруженных факторов вирулентности имеют гены кластера *bpl*, отвечающие за синтез удлиненной полисахаридной цепочки липополисахарида. Преимущество *bpl*-положительных бактерий заключается в том, что они защищены от одного из основных факторов иммунитета – системы комплемента, так как удлиненная полисахаридная цепочка препятствует лизису бактериальной клетки конечным продуктом активации комплемента – мембраноатакующим комплексом [32]. По данным европейских исследований, доля штаммов-носителей генов *bpl* среди МВ-ассоциированных штаммов рода *Achromobacter* составляла 66%, а доля носителей гена основного белка аппарата экспорта системы секреции 3 типа (*bcrD*) – 84%, что соответствует результатам, полученным в нашем исследовании.

Консервативные сегменты интегрона класса 1, обнаруженного в настоящем исследовании, имели классическое строение: 5'-консервативный сегмент был представлен геном интегразы *int1*, 3'-консервативный сегмент – геном *qacEΔ1*, продукт которого представляет собой неполную версию белка, обеспечивающего устойчивость к детергентам, геном устойчивой к сульфаниламидам дигидроптероатсинтазы (*su/1*) и открытой рамкой считывания *orf5*, предположительно кодирующей ацетилтрансферазу [33]. Однако по набору генных кассет варибельного региона (*ant(2'')la* и *blaOXA-2*) интегрон, выявленный в нашем исследовании, отличался от известных *blaOXA-2*-несущих интегронов. Наиболее близкий по строению интегрон In327 был описан в работе Schluter A. и соавт.: в состав варибельного региона In327 входили генные кассеты *blaOXA-2* и *aadA4* [26, 34]. Следует отметить, что носительство гена *blaOXA-2* свойственно для *P. aeruginosa*, а у бактерий рода *Achromobacter* ранее зарегистрировано не было [35].

Выводы

Исследование показало, что среди пациентов с МВ в России частота колонизации дыхательной системы бактериями рода *Achromobacter* примерно соответствует данным, зарегистрированным в других регионах мира. Как и в других странах, наиболее распространенным видом оказался *A. xylosoxidans* (72% от всех представителей рода *Achromobacter*). Штаммы характеризовались высоким сиквентиповым разнообразием. Большинство выделенных штаммов обладали типичным для ахромобактерий набором факторов вирулентности. Носительство генов адаптивной резистентности было редким феноменом (1 из 18 изолятов) для бактерий рода *Achromobacter*, выделенных от пациентов с МВ в России.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации по Государственному заданию «Молекулярно-генетические механизмы возникновения и утраты антибиотикорезистентности у актуальных оппортунистических патогенов» (ЕГИСУ НИОКТР № 121060200152-8).

Литература

1. Marion-Sanchez K., Pailla K., Olive C., Le Coutour X., Derancourt C. *Achromobacter* spp. healthcare associated infections in the French West Indies: a longitudinal study from 2006 to 2016. *BMC Infect Dis.* 2019;19(1):795. DOI: 10.1186/s12879-019-4431-3
2. Chandrasekar P.H., Arathoon E., Levine D.P. Infections due to *Achromobacter xylosoxidans*. Case report and review of the literature. *Infection.* 1986;(6):279-282. DOI: 10.1007/BF01643962
3. Swenson C.E., Sadikot R.T. *Achromobacter* respiratory infections. *Ann Am Thorac Soc.* 2015;12(2):252-258. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201406-288FR
4. Boucher R.C. New concepts of the pathogenesis of cystic fibrosis lung disease. *Eur Respir J.* 2004;23(1):146-158. DOI: 10.1183/09031936.03.00057003
5. Elborn J.S. Cystic fibrosis. *Lancet.* 2016;388(10059):2519-2531. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)00576-6
6. Kulkarni H., Kansra S., Karande S. Cystic fibrosis revisited. *J Postgrad Med.* 2019;65(4):193-196. DOI: 10.4103/jpgm.JPGM_263_18
7. 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. DOI: 10.1038/nrdp.2015.10
8. Edwards B.D., Greysson-Wong J., Somayaji R., Waddell B., Whelan F.J., Storey D.G., et al. Prevalence and outcomes of *Achromobacter* species infections in adults with cystic fibrosis: a North American cohort study. *J Clin Microbiol.* 2017;55(7):2074-2085. DOI: 10.1128/JCM.02556-16
9. Somayaji R., Stanojevic S., Tullis D.E., Stephenson A.L., Ratjen F., Waters V. Clinical outcomes associated with *Achromobacter* species infection in patients with cystic fibrosis. *Ann Am Thorac Soc.* 2017;14(9):1412-1418. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201701-071OC
10. Gabrielaite M., Bartell J.A., Nørskov-Lauritsen N., Pressler T., Nielsen F.C., Johansen H.K., Marvig R.L. Transmission and antibiotic resistance of *Achromobacter* in cystic fibrosis. *J Clin Microbiol.* 2021;19;59(4):e02911-20. DOI: 10.1128/JCM.02911-20
11. Pickrum A.M., DeLeon O., Dirck A., Tessmer M.H., Riegert M.O., Biller J.A., et al. *Achromobacter xylosoxidans* cellular pathology is correlated with activation of a type III secretion system. *Infect Immun.* 2020;88(7):e00136-20. DOI: 10.1128/IAI.00136-20
12. Expert rules and intrinsic resistance. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Available at: www.eucast.org/expert_rules_and_intrinsic_resistance/. Accessed July 2021.
13. Menetrey Q., Sorlin P., Jumas-Bilak E., Chiron R., Dupont C., Marchandin H. *Achromobacter xylosoxidans* and *Stenotrophomonas maltophilia*: emerging pathogens well-armed for life in the cystic fibrosis patients' lung. *Genes (Basel).* 2021;12(5):610. DOI: 10.3390/genes12050610
14. Voronina O.L., Kunda M.S., Ryzhova N.N., Aksenova E.I., Semenov A.N., Lazareva A.V., et al. Diversity and hazard of respiratory infection of *Achromobacter* spp. in cystic fibrosis patients. *Pulmonology.* 2015;25(4):389-401. Russian. (Воронина О.Л., Кунда М.С., Рыжова Н.Н., Аксенова Е.И., Семенов А.Н., Лазарева А.В. и соавт. Разнообразие и опасность *Achromobacter* spp., поражающих дыхательные пути больных муковисцидозом. Пульмонология. 2015;25(4):389-401.) DOI: 10.18093/0869-0189-2015-25-4-389-402
15. Spilker T., Vandamme P., Lipuma J.J. Identification and distribution of *Achromobacter* species in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2013;12(3):298-301. DOI: 10.1016/j.jcf.2012.10.002
16. Pongchaikul P., Santanirand P., Antonyuk S., Winstanley C., Darby A.C. AcGI1, a novel genomic island carrying antibiotic resistance integron In687 in multidrug resistant *Achromobacter xylosoxidans* in a teaching hospital in Thailand. *FEMS Microbiol Lett.* 2020;367(14):fnaa109. DOI: 10.1093/femsle/fnaa109
17. Liu C., Pan F., Guo J., Yan W., Jin Yi., Liuet C., et al. Hospital acquired pneumonia due to *Achromobacter* spp. in a geriatric ward in China: clinical characteristic, genome variability, biofilm production, antibiotic resistance and integron in isolated strains. *Front Microbiol.* 2016;7:621. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00621
18. Register of patients with cystic fibrosis in the Russian Federation. 2019. Available at: https://mukoviscidoz.org/doc/registr/site_Registre_2019.pdf. Accessed July 2021.
19. 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;19:455-477. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021
20. 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;67:2053-2057. DOI: 10.1099/ijsem.0.001872

21. 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;25:1043-1055. DOI: 10.1101/gr.186072.114
22. Gurevich A., Saveliev V., Vyahhi N., Tesler G. QUAST: Quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics.* 2013;29:1072-1075. DOI: 10.1093/bioinformatics/btt086
23. ResFinder 4.1. Available at: <https://cge.cbs.dtu.dk/services/ResFinder>. Accessed July 2021.
24. Galaxy Australia. Available at: <https://usegalaxy.org.au/>. Accessed July 2021.
25. Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). Available at: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. Accessed July 2021.
26. Integrall. The Integron Database. Available at: <http://integrall.bio.ua.pt/>. Accessed July 2021.
27. Public databases for molecular typing and microbial genome diversity (PubMLST). *Achromobacter* spp. Available at: <https://pubmlst.org/organisms/achromobacter-spp>. Accessed July 2021.
28. Rossi E., La Rosa R., Bartell J.A., Marvig R.L., Haagen- sen J.A.J., Sommer L.M., et al. *Pseudomonas aeruginosa* adaptation and evolution in patients with cystic fibrosis. *Nat Rev Microbiol.* 2021;19(5):331-342. DOI: 10.1038/s41579-020-00477-5
29. Silva I.N., Santos P.M., Santos M.R., Zlosnik J.E.A., Speert D.P., Buskirk S.W., et al. Long-Term evolution of *Burkholderia multivorans* during a chronic cystic fibrosis infection reveals shifting forces of selection. *mSystems.* 2016;1(3):e00029-16. DOI: 10.1128/mSystems.00029-16
30. Ridderberg W., Nielsen S.M., Nørskov-Lauritsen N. Genetic adaptation of *Achromobacter* sp. during persistence in the lungs of cystic fibrosis patients. *PLoS One.* 2015;10(8):e0136790. DOI: 10.1371/journal.pone.0136790
31. Cameron L.C., Bonis B., Phan C.Q., Kent L.A., Lee A.K., Hunter R.C. A putative enoyl-CoA hydratase contributes to biofilm formation and the antibiotic tolerance of *Achromobacter xylosoxidans*. *NPJ Biofilms Microbiomes.* 2019;6;5(1):20. DOI: 10.1038/s41522-019-0093-6
32. Novikov A., Marr N., Caroff M. A comparative study of the complete lipopolysaccharide structures and biosynthesis loci of *Bordetella avium*, *B. hinzii*, and *B. trematum*. *Biochimie.* 2019;159:81-92. DOI: 10.1016/j.biochi.2018.12.011
33. Domingues S., da Silva G.J., Nielsen K.M. Integrons: Vehicles and pathways for horizontal dissemination in bacteria. *Mob Genet Elements.* 2012;2(5):211-223. DOI: 10.4161/mge.22967
34. Schlüter A., Heuer H., Szczepanowski R., Poler S.M., Schneiker S., Pühler A., Top E.M. Plasmid pB8 is closely related to the prototype IncP-1beta plasmid R751 but transfers poorly to *Escherichia coli* and carries a new transposon encoding a small multidrug resistance efflux protein. *Plasmid.* 2005;54(2):135-148. DOI: 10.1016/j.plasmid.2005.03.001
35. Maurya A.P., Talukdar A.D., Dhar Chanda D., Chakravarty A., Bhattacharjee A. Genetic environment of OXA-2 beta-lactamase producing Gram-negative bacilli from a tertiary referral hospital. *Indian J Med Res.* 2015;141(3):368-369. DOI: 10.4103/0971-5916.156584