

совершенствовать методы реализации данной задачи и формировать новые подходы, адаптируя их под постоянно меняющиеся современные условия.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации: Федеральный закон от 21.11.2011 N 323-ФЗ (последняя редакция). URL: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_121895/?ysclid=m7klaj5662568823696 /(дата обращения 25.02.2025). Текст: электронный.
2. Об обращении лекарственных средств-Федеральный закон от 12.04.2010 №61-ФЗ. URL: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_99350/ /(дата обращения 25.02.2025). Текст: электронный.
3. Об утверждении профессионального стандарта "Провизор"-Приказ Минтруда России от 09.03.2016 № 91н. URL: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_196697/ /(дата обращения 25.02.2025). Текст: электронный.
4. Об утверждении профессионального стандарта "Фармацевт" -Приказ Минтруда России от 31.05.2021 № 349н. URL: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_389037/ /(дата обращения 25.02.2025). Текст: электронный.
5. О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения-Федеральный закон от 30.03.1999 № 52-ФЗ (последняя редакция). URL: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_22481/ /(дата обращения 25.02.2025). Текст: электронный.
6. ОК 010-2014 (МСКЗ-08). Общероссийский классификатор занятий" (принят и введен в действие Приказом Росстандарта от 12.12.2014 N 2020-ст) (ред. от 18.02.2021)-URL: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_177953/ /(дата обращения 25.02.2025). Текст: электронный.
7. Трудовой кодекс Российской Федерации от 30 декабря 2001 г. N 197-ФЗ. URL: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_34683/ /(дата обращения 25.02.2025). Текст: электронный.

Сведения об авторах

К.М.Шириозданова*- студент

В.А.Маслова - старший преподаватель

Information about the authors

K.M.Shiriozdanova*- Student

V.A.Maslova- Senior Lecturer

***Автор ответственный за переписку (Corresponding author):**

Shiriozdanovakarina13@gmail.com

МИКРОБИОЛОГИЯ, ЭПИДЕМИОЛОГИЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

УДК 579.61

ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЛИНИЙ ВИРУСНЫХ И БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИЗОЛЯТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ В ИНФЕКЦИОННОМ ГОСПИТАЛЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ С COVID– 19

Авдюнин Дмитрий Дмитриевич¹, Смирнова Светлана Сергеевна^{1,2}

¹ ФБУН ФНИИВИ «Виром» Роспотребнадзора

² Кафедра эпидемиологии, социальной гигиены и организации госсанэпидслужбы ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Екатеринбург, Россия

Аннотация

Введение. В условиях изоляции в медицинских организациях формируется закрытая экосистема. Высокопроизводительное секвенирование позволяет определить наличие у патогенов детерминант резистентности и вирулентности, изучить эпидемиологические связи между возбудителями и выявить ведущие факторы передачи инфекций. **Цель исследования** – провести геномный анализ вирусных и бактериальных изолятов, выделенных в инфекционном госпитале для лечения больных с COVID– 19. **Материал и методы.** В 2022– 2023 годах в инфекционных госпиталях осуществлен отбор проб биоматериала от пациентов, смывов с объектов окружающей среды (ООС) и средств индивидуальной защиты персонала (СИЗ). Изучение фенотипических свойств проводилось бактериологическим методом. РНК SARS– CoV– 2 выявляли методом ПЦР в реальном времени и определяли нуклеотидную последовательность по Сэнгеру. Полногеномное секвенирование условно–патогенных микроорганизмов выполнено на Illumina MiSeq. Сборка геномов проведена в SPAdes 3.15.5, бонформатический анализ проведен в AMRFinderPlus 3.12.8 и VirulenceFinder 2.0. **Результаты.** Исследовано 1 063 пробы смывов с ООС и СИЗ персонала, из них – 245 нестандартных (23,1%). Установлено 40 вариантов вирусно– бактериальных ассоциаций. SARS– CoV– 2 был представлен 2 геновариантами – Delta и Omicron. Структура выделенных УПМ: *A. baumannii* (30,8%), *K. pneumoniae* (34,1%), *S. aureus* (11,0%), *E. faecalis* (10,4%), *E. coli* (5,0%), *P. mirabilis* (2,7%), *E. faecium* (2,2%), *P. aeruginosa* (2,7%) и *P. agglomerans* (1,1%).

Завершено секвенирование изолятов *A.baumannii*, *S.aureus* и *E.coli*, для которых *in silico* были определены детерминанты резистентности, вирулентности и плазмидные репликоны. **Выводы.** В результате проведенного анализа установлен значительный уровень вирусно– бактериальной контаминации и определены ведущие патогены. Определены наиболее контаминированные точки для вирусов и УПМ. Полученные данные служат основанием для интеграции методов секвенирования в рутинную практику микробиологического и эпидемиологического мониторинга для развития и обеспечения более эффективной защиты общественного здоровья.

Ключевые слова: вирусно– бактериальные ассоциации, инфекционный госпиталь, COVID– 19, генотипирование

GENOMIC ANALYSIS OF GENETIC LINES OF VIRAL AND BACTERIAL ISOLATES ISOLATED IN AN INFECTIOUS DISEASES HOSPITAL FOR THE TREATMENT OF PATIENTS WITH COVID– 19

Avdyunin Dmitry Dmitrievich¹, Smirnova Svetlana Sergeevna^{1,2}

¹FSRIVI «Virome» Rospotrebnadzor

²Department of Epidemiology, Social Hygiene and Organization of the State Sanitary and Epidemiological Service

Ural State Medical University

Ekaterinburg, Russia

Abstract

Introduction. A closed ecosystem is formed in medical organizations in isolation. High– throughput sequencing allows us to determine the presence of resistance and virulence factors in pathogens, study the epidemiological links between them and identify the main factors of infection transmission. **The aim of the study** was to perform a genomic analysis on viral and bacterial isolates collected from an infectious diseases hospital for the treatment of patients with COVID– 19. **Material and methods.** In 2022– 2023, samples of biomaterial from patients, flushes from environmental objects (EO) and personal protective equipment (PPE) were taken in infectious diseases hospitals. The study of phenotypic features was performed using the bacteriological method. SARS– CoV– 2 RNA was detected by real– time PCR and the nucleotide sequence was determined by Sanger. Genome– wide sequencing of opportunistic pathogens (OP) was performed on Illumina MiSeq. The genomes were assembled in SPAdes 3.15.5, bioinformatics analysis was performed in AMRFinderPlus 3.12.8 and VirulenceFinder 2.0. **Results.** 1,063 samples of flushing from the EO and PPE of personnel were analyzed, of these 245 were non–standard (23.1%). Forty variants of viral– bacterial associations have been identified. SARS– CoV– 2 is represented by 2 gene variants: Delta and Omicron. The structure of the isolated OPs: *A. baumannii* (30,8%), *K. pneumoniae* (34,1%), *S. aureus* (11,0%), *E. faecalis* (10,4%), *E.coli* (5,0%), *P. mirabilis* (2,7%), *E. faecium* (2,2%), *P.aeruginosa* (2,7%) и *P.agglomerans* (1,1%). The sequencing of *A. baumannii*, *S. aureus*, and *E.coli* has been completed, for which the determinants of resistance, virulence, and plasmid replicons have been determined *in silico*. **Conclusions.** As a result of the analysis, we have established a significant level of viral and bacterial contamination and identified the leading pathogens. We have identified the most contaminated site for viruses and OPs. These findings provide the basis for integrating sequencing methods into our routine practice of microbiological and epidemiological monitoring in order to develop and provide more effective public health protection.

Keywords: viral and bacterial associations, infectious diseases hospital, COVID– 19, genotyping

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы отмечено увеличение роли вирусных патогенов в развитии инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) [1]. Вирусные патогены повышают вероятность развития бактериальных инфекций у пациентов путем влияния на чрезмерную выработку воспалительных цитокинов и нарушения баланса системного микробиома [2]. Согласно проведенным ранее исследованиям установлено, что у больных COVID– 19 с тяжелым клиническим течением достаточно часто выявлялись вторичные бактериальные инфекции, обусловленные *P. aeruginosa* и *Enterobacterales* [3].

Эпидемические и пандемические периоды распространения инфекций в популяции обуславливают особую необходимость одномоментного проведения вирусологических и бактериологических исследований биологического материала и объектов внешней среды в медицинских организациях. В условиях изоляционных мероприятий в медицинских организациях формируется закрытая экосистема, где циркулируют вирусы и устойчивые к антибиотикам ESCAPE– микроорганизмы. Изучение биологических характеристик вирусных и бактериальных патогенов с применением методов высокопроизводительного секвенирования позволяет не только определить наличие у них детерминант резистентности

и вирулентности, а так же определить степень их однотипности, изучить эпидемиологические связи между возбудителями, выявить ведущие факторы передачи инфекций [4,5].

Цель исследования – провести геномный анализ вирусных и бактериальных изолятов, выделенных в инфекционном госпитале для лечения больных с COVID– 19.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В период с 2022– 2023 гг. в инфекционных госпиталях для лечения больных с COVID– 19 был осуществлены отбор проб биоматериала от пациентов (мокрота/мазок из ротоглотки), смывов с объектов окружающей среды (ООС) и средств индивидуальной защиты (СИЗ) персонала на наличие условно– патогенной микрофлоры (УПМ) и генетического материала вирусов. Отбор проб проводили в соответствии с запатентованной авторами «Схемой отбора проб смывов с объектов внешней среды для одновременной оценки вирусно– бактериальной контаминации» (патент на промышленный образец № 132971 от 05.09.2022) по 20– ти унифицированным точкам отбора, сгруппированным в 3 блока: СИЗ персонала (наружная поверхность перчаток врача, медицинской сестры, уборщика служебных помещений; наружная поверхность комбинезона врача, медицинской сестры, уборщика служебных помещений), объекты больничной среды вокруг пациента (манипуляционный столик у постели больного, поручни и рычаги реанимационной кровати, наружная поверхность шприцевого дозатора, наружная поверхность аппарата ИВЛ), общепольничные точки (наружная поверхность электроотсоса, винты кислородной разводки, выключатели электроосвещения, ручки дверей, дозаторы для жидкого мыла/кожного антисептика, рабочее место врача).

Изучение фенотипических свойств циркулирующей микрофлоры проводилось бактериологическим методом с подтверждением чистоты культуры, постановкой биохимических рядов. Идентификация выделенных штаммов проводилась с помощью автоматического бактериологического анализатора VITEK® 2 Compact (bioMerieux SA, Франция) с использованием следующих карт: AST– N360 для *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Pantoea agglomerans*; AST– P580 для *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* и *Enterococcus faecium*.

Выявление РНК SARS– CoV– 2 в образцах проводили методом ПЦР в реальном времени с применением тест– системы АмплиСенс® Cov– Bat– FL, для выделения нуклеиновых кислот из исследуемых проб использовали набор «РИБО– преп», для проведения обратной транскрипции применяли набор «Реверта– L» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва). Для секвенирования SARS– CoV– 2 проводили амплификацию локусов гена, кодирующего S– белок, с помощью олигонуклеотидных праймеров из Протокола Университета Женевы (Geneva, December 26th, 2020, Rue Gabrielle– Perret– Gentil 4, 1211 Geneva 14, Switzerland) и определяли нуклеотидную последовательность по Сэнгеру.

Экстракция ДНК бактерий осуществлялась с помощью комплекта реагентов «РИБО– преп» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва) согласно протоколу производителя. Подготовка проб для полногеномного секвенирования проводилась в соответствии с инструкциями, изложенными в Reference Guide Illumina DNA Prep. Полногеномное секвенирование выполнено на Illumina MiSeq.

Сборка геномов осуществлялась *de novo*, методом скаффолдинга (scaffolding), проведена на сервере Galaxy с помощью SPAdes 3.15.5. Анализ детерминант резистентности и вирулентности проведен в AMRFinderPlus 3.12.8 и VirulenceFinder 2.0 соответственно. Типирование изолятов микроорганизмов с использованием схемы мультилокусного типирования последовательностей (MLST) проведено с помощью веб– сайта MLST.

Работа выполнена в рамках реализации НИР (НИОКТР Рег. №121040500099– 5).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Всего отобрано и исследовано 1 063 пробы смывов с ООС и СИЗ персонала, из них – 245 нестандартных (23,1%), в том числе 112 – РНК SARS– CoV– 2 (10,5%), 134 – УПМ (12,6%). Установлено 40 вариантов вирусно– бактериальных ассоциаций, спектр сочетания которых был крайне разнообразен: *K.pneumoniae* + *A.baumannii* (25,0%), SARS– CoV– 2 + *K.pneumoniae*

(17,5%), SARS– CoV– 2 + *S.aureus* (12,5%), SARS– CoV– 2 + *E.faecalis* (10,0%), SARS– CoV– 2 + *K. pneumoniae* + *A.baumannii* (7,5%), *A.baumannii* + *S. aureus* (5,0%), SARS– CoV– 2 + *E.coli*, SARS– CoV– 2 + *P.aeruginosa*, *E.faecalis* + *P.agglomerans*, *E.faecalis* + *E.coli*, *K.pneumoniae* + *E.faecalis* (2,5%), *A.baumannii* + *P.mirabilis*, *K.pneumoniae* + *P.mirabilis*, *K.pneumoniae* + *E.coli* и *K.pneumoniae* + *S.aureus* (по 2,5%). Частота обнаружения вирусов и УПМ представлена в таблице (Таблица 1).

Таблица 1.

Вирусно– бактериальная контаминация различных точек отбора

Точка отбора	PHK SARS– CoV– 2	УПМ
Зона нахождения пациента		
Винты кислородной разводки	7,4%	3,7%
Наружная поверхность электроотсоса	16,7%	13,0%
Наружная поверхность аппарата ИВЛ	9,3%	8,3%
Поверхность шприцевого дозатора	5,6%	8,3%
Поручни и рычаги у реанимационной кровати	11,1%	14,8%
Поверхность манипуляционного стола	10,2%	11,2%
Общепольничные точки		
Рабочее место врача РАО	11,1%	3,7%
Дозаторы для жидкого мыла и кожного антисептика	7,4%	1,9%
Ручки дверей	7,4%	3,7%
Выключатели электроосвещения	15,1%	1,9%
Наружные поверхности СИЗ персонала инфекционного госпиталя		
Наружная поверхность комбинезона врача	9,8%	39,2%
Наружная поверхность верхней пары перчаток врача	11,8%	23,5%
Наружная поверхность комбинезона медицинской сестры	15,3%	25,4%
Наружная поверхность верхней пары перчаток медицинской сестры	13,6%	13,6%
Наружная поверхность комбинезона санитаря	13,6%	29,5%
Наружная поверхность верхней пары перчаток санитаря	9,1%	13,6%

Изучение фенотипического профиля антибиотикорезистентности всех выделенных штаммов УПМ показало наличие устойчивости к пенициллинам (40,5%), фторхинолонам и тетрациклинам (по 33,3%) и цефалоспорином (26,2%). Полная (100% штаммов) устойчивость наблюдалась у *E.faecalis* к макролидам, *K.pneumoniae* к пенициллинам, цефалоспорином, макролидам и сульфаметоксазол/триметоприму, *E.coli* к пенициллинам, *P.aeruginosa* к фосфомицину, *P.agglomerans* к тетрациклинам.

По результатам секвенирования PHK SARS– CoV– 2 установлена циркуляция в реанимационном отделении инфекционного госпиталя 2– х геновариантов: Delta (20%) и Omicron (80%), линии BA.4/BA.5 – 77,8% и BA.2.75 – 22,2%, что соответствовало эпидемиологической ситуации на момент проведения исследования. Выделенный от пациентов реанимационного отделения SARS– CoV– 2 линии BA.4/BA.5 присутствовал на винтах кислородной разводки, подвариант BA.2.75 («Кентавр») – на выключателях электроосвещения. Геновариант Delta B.1.617.1 был выделен с наружной поверхности электроотсоса и наружной поверхности комбинезона медицинской сестры.

Структура выделенных УПМ включала в себя штаммы *Acinetobacter baumannii* (56 штаммов; 30,8%), *Klebsiella pneumoniae* (62 штаммов; 34,1%), *Staphylococcus aureus* (20 штамма; 11,0%), *Enterococcus faecalis* (19 штаммов; 10,4%), *Escherichia coli* (9 штаммов; 5,0%), *Proteus mirabilis* (5 штаммов; 2,7%), *Enterococcus faecium* (4 штамма; 2,2%), *Pseudomonas aeruginosa* (5 штамма; 2,7%) и *Pantoea agglomerans* (2 штамма; 1,1%).

Наиболее значимыми являются микроорганизмы группы ESCAPE. В настоящее время завершено секвенирование изолятов *A. baumannii* (n=56), *S.aureus* (n=20) и *E.coli* (n=9). Проведено мультилокусное типирование последовательностей для определения сиквенс– типа (ST) и/или клонального комплекса (CC), присвоение ST осуществлялось по совпадению всех генов домашнего хозяйства в соответствии со схемой, в обратном случае присваивалось n/d (not defined).

Исследуемые изоляты *A. baumannii* принадлежали к трем различным сиквенс– типам:

ST2, ST19, ST78, преобладающий – ST2, доля их составила 35,7% (n=20). Данный сиквенс-тип является наиболее распространенным по миру и связан с внутрибольничными вспышками и множественной лекарственной устойчивостью. По результатам филогенетического анализа, включающий изоляты, выделенные в инфекционном госпитале, и из международной базы данных PubMLST [<https://pubmlst.org/organisms/acinetobacter-baumannii>], исследуемая группа (за исключением двух образцов) сформировала единый кластер со штаммом из Восточной Африки (Кения). Большая часть образцов были выделены с объектов внешней среды – СИЗ медицинского персонала (40,35% от общего количества, 48,94% от образцов с внешней среды). *In silico* было выявлено 27 генов– детерминант устойчивости к антимикробным препаратам: *armA*, *aph(6)–Id*, *aph(3')–Ia*, *aph(3')–VIa*, *aph(3'')–Ib*, *aph(3')–VIb*, *aadA1*, *aac(6')–Ib3*, *blaPER–7*, *blaOXA–23*, *blaOXA–66*, *blaOXA–72*, *blaOXA–90*, *blaADC–25*, *blaCARB–14*, *blaCTX–M–124*, *blaPer–7*, *blaTem–1D*, *msr(E)*, *mph(E)*, *msr(E)*, *catA1*, *catB8*, *cmlA1*, *floR*, *ARR–2*, *sul1*, *sul2*, *tet(B)*. Среди генов вирулентности для большинства характерно наличие таких семейств как *gigA/B/C/D*, *bfmRS* (выживаемость в стрессовых ситуациях), T2SS и T6SS (система секреции VI и II типа соответственно), *adeRS* (регуляция насоса), системы аккумуляции железа (*bas*, *bau*), пили (I и IV типа), ДНК рекомбинатор (*recA*), эффлюксные помпы (мембранные транспортные белки).

Исследуемые изоляты *S.aureus* принадлежали к четырем различным сиквенс–типам: ST22, ST97, ST5727, ST7614, преобладающий – ST5727, его доля составила 15,0% (n=3). Данные сиквенс–типы являются представителями разных клональных комплексов, а именно: CC8 (ST5727), CC15 (ST7614), CC22 (ST22), CC97 (ST97), к которым были приурочены и некоторые изоляты n/d, так как имеющийся набор маркёров позволял определить клональный комплекс. CC22 имеет статус международного клона. По результатам филогенетического анализа в группе CC22 наблюдается формирование двух кластеров с участием исследуемых изолятов. Первый составляют штаммы из Алжир, Судан, Россия; второй – штаммы из Германии и Сингапура. Большая часть образцов выделены с объектов внешней среды – СИЗ медицинского персонала (70,0% от общего количества, 82,35% от образцов с внешней среды). *In silico* выявлено 17 генов– детерминант устойчивости к антимикробным препаратам: *blaI*, *blaR1*, *blaZ*, *mecA*, *mecR1*, *fosB*, *glpT_A100V*, *murA_E291D*, *murA_T396N*, *murA_G257D*, *tet(38)*, *fusA_A655V*, *catA*, *ant(9)–Ia*, *erm(A)*, *Inu(A)*. Среди генов вирулентности для всех характерно наличие двух групп: токсины, экзоэнзимы. Гены, влияющие на иммунитет хозяина, встречались у 85,5% изолятов. Широкое распространение ($\geq 90\%$) имеют гены *aup* (экзоэнзимы) и *hlgA/B/C* (токсины). У 85,0% отмечается наличие ≥ 1 плазмидного репликона: *rep16*, *rep5a*, *repUS5*, *rep7c*, *rep20*, *rep21*. По данным исследований часть из вышеперечисленных ассоциированы с переносом детерминант резистентности. Из данных плазмидных репликонов таким переносчиком является *rep5a*, переносимый ген *blaZ*.

Исследуемые изоляты *E.coli* не имели определенного сиквенс–типа: 55,56% изолятов были отнесены к клональному комплексу ST14 Cplx (далее – CC14). По результатам филогенетического анализа в группе CC14 наблюдается кластеризация исследуемых образцов с изолятами ST1193 из различных стран, которые так же относятся к CC14, что может говорить о генотипе данных изолятов. Вместе с тем кластеризации с другими подобранными изолятами ST1193 не наблюдается, что может говорить об эндемичности данной популяции кишечной палочки или необходимости дальнейшего поиска. Большая часть образцов были выделены с объектов внешней среды – СИЗ медицинского персонала (55,56% от общего количества, 62,5% от образцов с внешней среды). *In silico* выявлено 21 ген– детерминанта устойчивости к антимикробным препаратам: *aph(3'')–Ib*, *aph(6)–Id*, *blaCTX–M–15*, *blaTEM*, *blaTEM–1*, *blaTEMp_C32T*, *qnrS*, *qnrS1*, *parE_L416F*, *parC_80I*, *gyrA_D87N*, *gyrA_S83L*, *sul2*, *uhpT_E350Q*, *glpT_E448K*, *fosA*, *pmrB_E123D*, *marR_S3N*, *cyaA_S352T*, *nfsB_W94STOP*, *aadA25*. Среди генов вирулентности следует отметить кластер генов, кодирующих фимбрию агрегативной адгезии: *yehA/B/C/D*. В исследуемых изолятах данные гены встречались с частотой 55,56–100%. Встречаемость гена адгезии *fimH* достигает 89%. Распространенность генов, кодирующих белок фибрилл курлей, так же высока – 77,78%. Гены специфических

мембранных путей и транспортеры встречались в 66,67% случаев (sitA, terC, kpsE). У 100% изолятов содержатся ≥ 2 плазмидных репликонов: IncFIA, IncFIB (AP001918), IncFII (pRSB107), IncB/O/K/Z, Col (BS512), IncFII, Col156, IncFII (pHN7A8), IncHI2. Для плазмидных репликонов группы IncF характерно наличие бета-лактомаз, таких как blaTEM-1 и blaCTX-M-15.

ОБСУЖДЕНИЕ

За последние годы было доказано, что поведение медицинских работников, характеристики пациентов и факторы, связанные с больничной средой, в том числе с поверхностями, играют решающую роль в распространении внутрибольничных патогенов. В исследованиях показано, что при поступлении нового пациента в больничную среду (экосистему), в которой ранее находился пациент – больной/носитель микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), новый пациент подвержен колонизации теми же микроорганизмами. Это говорит о том, что чистота в медицинских учреждениях, по-видимому, является важным фактором, предотвращающим передачу бактерий с МЛУ [6].

Данные по исследуемым изолятам были получены как фенотипические, так и генотипические, что способствует минимизации ошибок на соответствие. Гетерогенность популяции УПМ высокая, представлена всеми основными возбудителями ESCAPE-группы. Доминирующими бактериальными патогенами оказались *A.baumannii* и *K.pneumoniae*, что согласуется с их лидирующим положением среди бактериальной микрофлоры по миру. Все исследуемые группы обладали генетическими детерминантами устойчивости к широкому спектру антимикробных препаратов, в том числе к карбапенемам (*A.baumannii*). Вирулентность представлена преобладанием различных функциональных групп, так для *A.baumannii* и *E.coli* отмечаются гены, ответственные за выживаемость, а у *A.aureus* – за токсичность, что демонстрирует вклад данных микроорганизмов в формирование очагов инфекций и влияние на тяжесть течения инфекционных заболеваний соответственно.

Таким образом, необходимость совершенствования микробиологического мониторинга является важной задачей, для решения которой необходимо одновременное исследование объектов в медицинских организациях на вирусы и УПМ с применением методов высокопроизводительного секвенирования как фрагментарного, так и полногеномного.

ВЫВОДЫ

1. Установлен значительный уровень вирусно-бактериальной контаминации зоны нахождения пациента, общебольничных точек и наружных поверхностей СИЗ персонала инфекционного госпиталя, ведущие патогены в роли ассоциантов выступали *K. pneumoniae*, SARS-CoV-2 (52,5%), *A. baumannii* (32,5%). Наибольшая устойчивость к антимикробным препаратам установлена у штаммов *K.pneumoniae* (100%), что может свидетельствовать о формировании госпитального штамма. *A.baumannii* оказался представлен в большей степени сиквенс-типом ST2, изоляты которого обладают генами устойчивости к карбапенемам. SARS-CoV-2 представлен 2 геновариантами: Delta – 20,0% и Omicron – 80,0%, что соответствует эпидемиологической ситуации на момент проведения исследования.

2. Точки, наиболее контаминированные вирусами: винты кислородной разводки, наружная поверхность электроотсоса, наружная поверхность аппарата ИВЛ, рабочее место врача, дозаторы для жидкого мыла и кожного антисептика, ручки дверей, выключатели электроосвещения. Точки, наиболее контаминированные УПМ: поручни и рычаги у реанимационной кровати, поверхность манипуляционного стола, наружная поверхность комбинезона медицинских сотрудников (врача, медицинской сестры, санитары), наружная поверхность верхней пары перчаток медицинских сотрудников (врача, медицинской сестры, санитары)

3. Интеграция методов секвенирования в рутинную практику микробиологического и эпидемиологического мониторинга открывает новые возможности для изучения вирусно-бактериальных ассоциаций, минимизирует возможные ошибки определения и позволяет устанавливать наиболее достоверные эпидемиологические цепочки, следовательно, является

важным направлением для развития и обеспечения более эффективной защиты общественного здоровья.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Тенденции в многолетней динамике заболеваемости населения острыми кишечными инфекциями и эпидемиологические особенности вспышек в последние годы / В.И. Сергеев, Е.Ж. Кузовникова, М.А. Трясолобова, Ю.И. Ладейщикова // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2015. – Т. 4, № 20. – С. 17–21.
2. Bacteria Associated with Healthcare–Associated Infections on Environmental Samples Obtained from Two Fire Departments. / K. L. Barr, R. X. Sturdivant, D. N. Williams, D. Harris // International journal of environmental research and public health. – 2021. – Vol. 18, № 22. – P 11885.
3. The lower respiratory tract microbiome of critically ill patients with COVID–19 / Gaibani P., Viciani E., Bartoletti M. [et al.] // Scientific reports. – 2021. – Т. 11, №. 1. – P. 10103.
4. SARS–CoV–2 and the role of fomite transmission: a systematic review / I.J.Onakpoya, C.J. Heneghan, E.A. Spencer [et al.] // F1000Research. – 2021. – Vol. 10. – P. 233.
5. Послова, Л.Ю. Оценка контаминации больничной среды кишечными вирусами в рамках эпидемиологического надзора за острыми кишечными инфекциями вирусной этиологии / Л.Ю. Послова, А.В. Сергеева, О.В. Ковалишена // Медицинский альманах. – 2018. – Т. 4, № 55. – С. 42–46.
6. 16S rRNA amplicon sequencing and antimicrobial resistance profile of intensive care units environment in 41 Brazilian hospitals / D.C.de Bastiani, C.V. Silva, A.P. Christoff [et al.] // Frontiers in Public Health. – 2024. – Т. 12. – С. 1378413.

Сведения об авторах

Д.Д. Авдюнин* – младший научный сотрудник

С.С. Смирнова – старший научный сотрудник

Information about the authors

D.D. Avdyunin* – Researcher

S.S. Smirnova – Senior Researcher

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

Avdyunin_dd@niivirom.ru

УДК: 615.339

ВОЗМОЖНОСТИ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ ИДЕНТИФИКАЦИИ УРОПАТОГЕННЫХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

Аминева Полина Геннадьевна^{1,2}, Сац Ольга Александровна¹, Ставровская Софья Александровна¹, Костенев Ярослав Алексеевич¹, Ворошилина Екатерина Сергеевна¹

¹Кафедра медицинской микробиологии и клинической лабораторной диагностики
ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России

²ООО «Кволити Мед»

Екатеринбург, Россия

Аннотация

Введение. Идентификация уропатогенных бактерий имеет решающее значение для подтверждения бактериальной инфекции мочевой системы и для подбора адекватной антимикробной терапии. Клиническим лабораториям становятся доступными более быстрые, экономически эффективные и надежные методы идентификации бактерий по сравнению с традиционными способами. **Цель исследования** – провести сравнительную оценку разных методов идентификации уропатогенных бактерий. **Материал и методы.** Проведена идентификация 15 штаммов грамотрицательных бактерий, выделенных от пациентов с инфекциями мочевыводящих путей. Использованы несколько инструментов идентификации: посев на хромогенную среду, автоматизированная система на основе биохимических тестов, MALDI–TOF масс–спектрометрия и ПЦР. **Результаты.** При сопоставлении результатов идентификации бактерий выявлено полное совпадение идентификации всеми методами на родовом и видовом уровне в 60% случаев (9 штаммов). В 6 случаях (40%) – баканализатор выдал неверный результат идентификации или идентификация не была выполнена. Среднее время идентификации на баканализаторе составило 7,08±1,57 часов, среднее время идентификации методом масс–спектрометрии – 12,3±1,3 минут, методом ПЦР – около 2 часов. **Выводы.** Проведенное исследование показало совпадение результатов идентификации грамотрицательных уропатогенных бактерий на уровне рода/вида в 100% случаев методами масс–спектрометрии и ПЦР, результаты биохимической идентификации совпали с этими двумя методами только в 60% случаев. Использование хромогенных сред обеспечивает высокую чувствительность в случае выделения E.coli.

Ключевые слова: идентификация, MALDI–TOF масс–спектрометрия, ПЦР, хромогенные среды, биохимическая идентификация.

POSSIBILITIES OF MODERN METHODS OF IDENTIFICATION OF PATHOGENIC GRAM–NEGATIVE BACTERIA