

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра микробиологии и физиологии растений

**ДЕТЕКЦИЯ ГЕНОВ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ
БАКТЕРИЙ СЕМЕЙСТВА WEEKSELLACEAE**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 4 курса 422 группы
направления подготовки бакалавриата 06.03.01 Биология
биологического факультета
Чупраковой Илоны Александровны

Научный руководитель

д-р биол. наук, доц.

Д. В. Уткин

Зав. кафедрой

д-р биол. наук, доц.

Д. В. Уткин

Саратов 2026

Введение. Бактерии порядка Flavobacteriales, семейства Weeksellaceae — грамотрицательные, пигментированные, неподвижные, строго аэробные, тонкие, изогнутые и не образующие спор палочки. Ранее считавшиеся сапрофитами, они могут вызывать внутрибольничные инфекции [1, 2]. Эти микроорганизмы относятся к неферментирующим грамотрицательным бактериям (НФГОб) и характеризуются множественной лекарственной устойчивостью представителей родов *Chryseobacterium*, *Elizabethkingia* и *Empedobacter* как среди сапрофитных, так и среди клинических изолятов [3].

Отсутствие актуальных клинических рекомендаций МАКМАХ, EUCAST и CLSI по определению чувствительности для этого семейства усложняет выбор препаратов для этиотропной терапии и повышает риск осложнений [4]. Фенотипическая чувствительность или резистентность к антибактериальным препаратам зависит от наличия или отсутствия специфических генов устойчивости [5]. Рост антибиотикорезистентности глобальный вызов современной медицины: по прогнозам, к 2050 году она может стать причиной 10 миллионов смертей ежегодно, что превысит смертность от онкологических заболеваний [6, 7].

Целью работы являлась детекция генов устойчивости бактерий семейства Weeksellaceae к антибиотикам.

Для решения указанной цели были сформулированы следующие задачи:

1. Выделить представителей семейства Weeksellaceae с кожных покровов и жаберных лепестков аксолотлей и рыб.

2. Выявить факторы патогенности у сапрофитных микроорганизмов и сравнить их с аналогичными данными по клиническим штаммам.

3. Определить чувствительность к антимикробным препаратам сапрофитных штаммов и сравнить их с данными антибиотикограмм клинических штаммов.

4. Выявить гены антибиотикорезистентности *bla*_{CGB-1} и *adeF* у и сапрофитных и клинических изолятов родов *Chryseobacterium*, *Empedobacter* и *Elizabethkingia*.

5. Установить межродовое родство клинических и сапрофитных бактерий родов *Chryseobacterium*, *Empedobacter* и *Elizabethkingia* на молекулярном уровне.

В работе для выделения сапрофитных микроорганизмов были взяты 5 аксолотлей мексиканской амбистомы (*Ambystoma mexicanum*) и 5 особей вида карась обыкновенный *Carassius carassius*. Для выявления генов, ответственных за устойчивость к противомикробным препаратам, использовали ДНК клинических изолятов бактерий семейства Weeksellaceae, предоставленную сотрудниками клинико-диагностической лаборатории ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет».

Идентификацию сапрофитных изолятов проводили по фенотипическим свойствам с использованием определителя «Bergey's manual of determinative bacteriology» (2006) и онлайн-ресурса ABIS. Контроль видовой идентификации осуществляли методом MALDI-ToF масс-спектрометрии на приборе microflex (Bruker Daltonics, Германия) специалистами ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора.

Работа изложена на 59 страницах, включает в себя Введение, 1 раздел обзора литературы, 4 раздела собственных исследований (Материалы и методы исследований; Результаты исследований, Выявление искомым генов резистентности, Оценка действия антимикробны препаратов, Установление генетического родства изолятов семейства Weeksellaceae на основе RAPD-ПЦР), Заключение, Выводы, Список использованных источников. Работа проиллюстрирована (15) рисунками и содержит (12) таблиц. Список использованных источников (45) наименование, из них (43) отечественных, (2) зарубежных.

Основное содержание работы. В 1 разделе представлены анализ литературных данных о молекулярных механизмах устойчивости бактерий и молекулярно-генетические методы исследования антибиотикорезистентности бактерий семейства Weeksellaceae. Проанализированы пути и альтернативные стратегии преодоления устойчивости к антимикробным препаратам, а также влияние применения антибиотиков в различных сферах жизни человека на развитие и распространение антибиотикорезистентных штаммов. Изучен расширенный спектр ферментов, ответственных за инвазию и персистенцию бактерий, что позволяет расширить представление о патогенезе, механизмов развития и путей распространения инфекционных заболеваний, ассоциированных с данными микроорганизмами.

Материалы и методы. На практическом этапе микробиологического исследования оценили чувствительность микроорганизмов к 12 антимикробным препаратам (амикацин, триметоприм, азитромицин, цефтазидим, левофлоксацин, цефтриаксон, цефоперазон, меропенем, полимиксин, амоксициллин, ципрофлоксацин, тобрамицин) методом диско-диффузионного анализа.

Для установления генетического родства между штаммами бактерий родов *Chryseobacterium*, *Empedobacter* и *Elizabethkingia* использовали метод RAPD-ПЦР с последующим построением дендрограммы иерархической кластеризации (UPGMA). Факторы патогенности исследуемых штаммов бактерий данной систематической группы изучали с помощью стандартных дифференциально-диагностических сред и индикаторных бумаг, а выявление генов, обуславливающих устойчивость к различным классам антибиотиков, проводили методом ПЦР.

В 3 разделе приведены данные видового состава исследуемых штаммов бактерий семейства Weeksellaceae, и спектр ферментативной активности

штаммов родов *Chryseobacterium*, *Elizabethkingia* и *Empedobacter*. Проведена оценка действия антимикробных средств на исследуемых изолятах бактерий данного семейства. Детектированы гены, ответственные за устойчивость к разным классам антибиотиков (карбапенемы, цефалоспорины, фторхинолоны и пенициллины) у штаммов бактерий данного семейства. Все рода продуцировали ферменты, отвечающие за инвазию и персистенцию, однако их профиль и активность могут различаться между видами. В результате эксперимента было установлено, что у 100% клинических штаммов бактерий рода *Chryseobacterium* была обнаружена активность к желатиназе, триптофаназе, плазмакоагулазе и лецитиназе. Лизиндегидролаза и гемолизин были выявлены только у 40% изолятов *C. indologenes* и *C. arthrosphaerae*, у других бактерий она отсутствовала. У штамма *C. arthrosphaerae* отмечалась способность к продукции ферментов аргининдегидролазы и фибринолизина [8]. Ферменты лизиндегидролаза, желатиназа и лецитиназа были выявлены у 100% штаммов *E. brevis* и *E. falsenii*. Однако, они не обладали способностью продуцировать аргининдегидролазу, триптофаназу и гемолизин. Кроме того, у изолятов *E. falsenii* отмечалась фибринолитическая и плазмакоагулазная активность, тогда как у штаммов *E. brevis* она отсутствовала. У всех 100% сапрофитных штаммов *C. gleum*, *E. meningoseptica* и *C. indologenes* были выявлены желатиназа и лецитиназа. Способность продуцировать широкий спектр ферментативной активности была обнаружена у изолята *C. indologenes*, что может быть связано с его потенциальной вирулентностью. При этом гемолитическая активность отсутствовала у всех упомянутых штаммов. Все исследованные изоляты бактерий родов *Chryseobacterium*, *Empedobacter* и *Elizabethkingia* были лецитиназа- и желатиназа-положительными, но уреазо-отрицательными. Наиболее широким спектром ферментативной активности обладали клинические изоляты *C. arthrosphaerae* и *C. indologenes* и сапрофитный штамм *C. indologenes*.

Исследование антимикробной чувствительности у клинических штаммов бактерий рода *Chryseobacterium* выявило 100% устойчивость к меропенему, полимиксину, тобрамицину и ципрофлоксацину [9, 10]. У 60% штаммов микроорганизмов *C. ureilyticum*, *C. arthrosphaerae* и *C. tructae* была обнаружена чувствительность к цефоперазону и триметоприму, в то время как к амоксициллину оказались устойчивыми. К азитромицину, цефтазидиму наблюдалась устойчивость у 60% изолятов *C. oncorhynchi*, *C. ureilyticum* и *C. indologenes*. Восприимчивость к амикацину и цефтриаксону была обнаружена у 40% штаммов *C. tructae* и *C. ureilyticum*. У 40% исследованных штаммов бактерий рода *Empedobacter* наблюдалась устойчивость к триметоприму, цефтазидиму и амоксициллину. При этом штаммы *E. brevis* и *E. falsenii* оказались чувствительными к амикацину, азитромицину, левофлоксацину, цефоперазону, ципрофлоксацину и тобрамицину.

Сапрофитные штаммы бактерий рода *Chryseobacterium* и *Elizabethkingia* характеризовались 100% резистентностью к амикацину и триметоприму, при этом сохраняли восприимчивость к ципрофлоксацину и левофлоксацину. У 66,6% изолятов *E. meningoseptica* и *C. gleum*, в отличие от *C. indologenes*, не были обнаружены зоны ингибирования роста в присутствии азитромицина, меропенема, амоксициллина и ципрофлоксацина.

У штамма *C. indologenes* была обнаружена резистентность к большинству антибиотиков, за исключением левофлоксацина, цефтриаксона, цефоперазона, ципрофлоксацина и тобрамицина. Все изученные изоляты бактерий родов *Chryseobacterium*, *Empedobacter* и *Elizabethkingia* сохраняли чувствительность к левофлоксацину.

Детекцию генетических детерминант *bla_{CGB-1}* и *adeF*, ответственных за устойчивость к антибиотикам проводили методом ПЦР у всех исследуемых штаммов родов *Chryseobacterium*, *Empedobacter* и *Elizabethkingia*. У 40% клинических штаммов *Chryseobacterium* обнаружен ген *bla_{CGB-1}*, тогда как

у *Empedobacter* и сапрофитных штаммов он отсутствует. Ген *adeF* выявлен у 14% клинических изолятов семейства Weeksellaceae и не обнаружен у сапрофитных штаммов. Это может быть связано с нарушением экспрессии гена или возникновением мутаций [11]. Для определения филогенетических взаимоотношений между представителями трех родов, характеризующихся разным профилем антибиотикорезистентности и ферментативной активностью, был использован метод RAPD-ПЦР. Согласно установленной филогенетической связи видов удалось выяснить, что близкородственные микроорганизмы *C. arthrosphaerae* и *C. ureilyticum* проявляли устойчивость к амоксицилину, полимиксину, тобрамицину, меропенему и ципрофлоксацину. У *E. brevis* и *C. oncorhynchi* наблюдалась резистентность к триметоприму, полимиксину и β -лактамным антибиотикам. Отсутствие роста вокруг дисков, пропитанных β -лактамными антибиотиками, полимиксином и тобрамицином, отмечалось у *C. tructae*. Сапрофитный штамм *E. meningoseptica* по сравнению с *C. arthrosphaerae* и *C. ureilyticum*, напротив, был резистентен к более широкому спектру антибиотиков, включая амикацин, триметоприм, цефтазидим, цефтриаксон, цефоперазон, полимиксин и тобрамицин. У *C. gleum* и *C. indologenes*, характеризующихся низким филогенетическим родством, была определена устойчивость к амикацину и триметоприму, но обнаружена чувствительность к цефтриаксону и ципрофлоксацину. Установленная филогенетическая связь *Chryseobacterium*, *Empedobacter* и *Elizabethkingia* подтверждает, что чувствительность к левофлоксацину может являться общесемейственной особенностью для изученных изолятов.

Выводы

1. В ходе проведенной работы были выделены три бактериальных штамма: *E. meningoseptica* – с кожных покровов и жаберных лепестков аксолотлей мексиканской амбистомы (*Ambystoma mexicanum*); *C. gleum* и *C. indologenes* с – наружных покровов рыб (*Carassius carassius*).

2. Для всех использованных в работе штаммов было характерно наличие таких факторов патогенности, как лецитиназы и желатиназы У 70% исследуемых штаммов была выявлена способность к продукции плазмокоагулазы, у 50 % - лизиндегидролазы. Наибольшее количество факторов патогенности было выявлено у клинического штамма *C. ureilyticum* и сапрофитного штамма *C. indologenes*.

3. Большинство исследованных штаммов *Chryseobacterium*, *Elizabethkingia* и *Empedobacter* показали значительную резистентность к ряду антибиотиков, включая полимиксин, тобрамицин, меропенем, ципрофлоксацин, триметоприм и цефтазидим. Сапрофитные штаммы *E. meningoseptica*, *C. gleum* и *C. indologenes* продемонстрировали резистентность к амикацину и триметоприму, однако все они были чувствительны к ципрофлоксацину. Все исследованные изоляты бактерий сохраняли чувствительность к левофлоксацину.

4 У 40% клинических штаммов *Chryseobacterium* обнаружен ген *bla_{CGV-1}*, тогда как у *Empedobacter* и сапрофитных штаммов он отсутствует. Ген *adeF* выявлен у 14% клинических изолятов семейства *Weeksellaceae* и не обнаружен у сапрофитных штаммов.

5. По результатам RAPD-анализа установлено наблюдалось наибольшее генетическое родство между *C. arthrophaerae* и *C. ureilyticum*, а также между *E. brevis* и *C. oncorhynchi*.

Список использованных источников

- 1 Характеристика ультрамелких бактерий рода *Chryseobacterium* FM1и FM2, выделенных с кожных покровов шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* / Д. В. Росс [и др.] // Микробиология. – 2019. – Т.88, №2. – С.184 – 196.
- 2 Profile and multidrug resistance determinants of *Chryseobacterium indologenes* from seawater and marine fauna / Ana Maravić [et al] // World Journal of Microbiology and Biotechnology . – 2013. – V.29, №3. – С. 515 – 522.
- 3 Зубова, К. В. Бактерии порядка Flavobacteriales: экологические особенности и клиническое значение в развитии патологии человека: обзор / К. В. Зубова // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. – 2023. №1.– С.58 – 64.
- 4 Чупракова, И. А. Детекция генов устойчивости и фенотипических профилей резистентности сапрофитных и клинических штаммов бактерий семейства Weeksellaceae / И. А. Чупракова, К. В. Зубова // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2026. – Т. 15, № 1. – С. 167– 169.
- 5 Антибиотикорезистентность и новые антимикробные стратегии: изучение проблем устойчивости к антибиотикам и разработки новых лекарственных средств / Д. А. Бурмистров [и др.] // Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина. – 2024. Т. 19, № 3. – С.265–277.
- 6 Бактерии, выделенные из вечной мерзлоты Антарктики – эффективные продуценты антибиотиков / Т. А. Ефименко [и др.] // – 2018. – С. 3 – 12.
- 7 Козлов, Р. С. Стратегия управления антибиотикорезистентностью: задачи и пути решения на современном этапе/ Р. С. Козлов // Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. – 2025. – Т. 15, №1. – С. 8 –12.
- 8 Чупракова, И. А. Оценка факторов патогенности сапрофитных и клинических штаммов бактерий рода *Chryseobacterium* / И. А. Чупракова, К.

В. Зубова // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2025. – Т. 14, № 1. – С. 160 –162.

9 Род *Chryseobacterium* (Flavobacterium): клиническое значение, идентификация, чувствительность к антибиотикам / Л. Г. Боронина [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2003. – Т. 5, №3. – С. 243 –250.

10 Голубева, А. О. Характеристика и клиническое значение некоторых малоизученных возбудителей рода *Chryseobacterium* / А. О. Голубева, А. П. Бондаренко, О. Е. Троценко // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2023. – № 44. – С. 86 – 98.

11 Чупракова, И. А. Детекция генов устойчивости и фенотипических профилей резистентности сапрофитных и клинических штаммов бактерий семейства Weeksellaceae / И. А. Чупракова, К. В. Зубова // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2026. – Т. 15, № 1. – С. 167– 169.