

# Создание базы данных клинических штаммов грамотрицательных бактерий для изучения молекулярных механизмов антибиотикорезистентности

П.В.Слукин, А.И.Лев, Е.И.Асташкин, Э.А.Светоч, Н.К.Фурсова

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Создана и зарегистрирована в Реестре база данных «Клинические штаммы грамотрицательных бактерий для изучения молекулярных механизмов антибиотикорезистентности» (Свидетельство о регистрации № 2017621413 от 01.12.2017 г.), которая содержит информацию о 878 штаммах семейства *Enterobacteriaceae* и неферментирующих грамотрицательных бактерий, выделенных в лечебных учреждениях г. Москвы в 2004–2016 гг. База данных включает в себя 17 таблиц (4 основных, 2 обобщающих, 9 справочных и 2 дополнительных), 22 запроса для анализа спектра чувствительности штаммов к антибактериальным препаратам и 7 форм для введения информации. База данных предназначена для использования при расследовании вспышек и спорадических случаев инфекций, для оценки эпидемиологических и генетических особенностей их возбудителей, для характеристики штаммов грамотрицательных бактерий при депонировании.

**Ключевые слова:** база данных, антибиотикорезистентность, грамотрицательные бактерии, фенотип, генотип

**Для цитирования:** Слукин П.В., Лев А.И., Асташкин Е.И., Светоч Э.А., Фурсова Н.К. Создание базы данных клинических штаммов грамотрицательных бактерий для изучения молекулярных механизмов антибиотикорезистентности. Бактериология. 2018; 3(1): 26–32. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-1-26-32

## The gram-negative bacterial clinical strains database for studying of antibacterial resistance molecular mechanisms

P.V.Slugin, A.I.Lev, E.I.Astashkin, E.A.Svetoch, N.K.Fursova

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Obolensk, Russian Federation

The database «Gram-negative Bacterial Clinical Strains for the Study of Antibiotic Resistance Molecular Mechanisms» has been created and registered in the State Register (Registration Certificate No. 2017621413 of 01.12.2017). The database contains information about 878 strains of the *Enterobacteriaceae* family and nonfermentative Gram-negative bacteria isolated in Moscow medical care units in 2004–2016. The database includes 17 tables (4 basic, 2 generalizing, 9 reference and 2 additional), 22 requests (for analyzing the sensitivity spectrum of strains to antibacterial drugs) and 7 forms (for introducing information). The database was designed for using in investigating outbreaks and sporadic cases of infections, for assessing the epidemiological and genetic characteristics of their agents, for characterizing strains of Gram-negative bacteria for deposition.

**Keywords:** database, antibiotic resistance, gram-negative bacteria, phenotype, genotype

**For citation:** Slugin P.V., Lev A.I., Astashkin E.I., Svetoch E.A., Fursova N.K. The gram-negative bacterial clinical strains database for studying of antibacterial resistance molecular mechanisms. Bacteriology. 2018; 3(1): 26–32. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2018-1-26-32

### Для корреспонденции:

Слукин Павел Владимирович, научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ  
Телефон: (4967) 36-0079  
E-mail: slukin@obolensk.org

Статья поступила 15.01.2018 г., принята к печати 30.03.2018 г.

### For correspondence:

Pavel V. Slugin, researcher of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare

Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation  
Phone: (4967) 36-00-79  
E-mail: slukin@obolensk.org

The article was received 15.01.2018, accepted for publication 30.03.2018

**П**роблема антибиотикорезистентности патогенных микроорганизмов актуальна для здравоохранения во всем мире [1]. Резистентность к антибиотикам у бактерий возникает в результате мутаций или горизонтального переноса генов [2]. В научной литературе описано большое количество молекулярно-генетических механизмов антибиотикорезистентности, основанных на модификации мишени антибиотиков, инактивации молекул лекарства, изменении проницаемости бактериальных мембран, активации эффлюксных насосов и метаболических шунтов [3]. В результате эволюции антибиотикорезистентности появились бактериальные патогены со множественной лекарственной устойчивостью (MDR), экстремальной лекарственной устойчивостью (XDR) и полной лекарственной устойчивостью (PDR) [4].

В последние годы определен спектр наиболее опасных клинических антибиотикорезистентных бактерий (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter spp.*), названный аббревиатурой «ESCAPE патогены» – организмы, «избегающие» антимикробного подавления антибиотиками и представляющие собой новую парадигму в патогенезе, трансмиссии и резистентности [5]. Совокупные данные об уровне антибиотикорезистентности, ее молекулярных механизмах и предполагаемых молекулярных механизмах распространения, наряду с генетической характеристикой штамма, такой как сиквенс-тип и генотип вирулентности, являются очень важной эпидемиологической информацией, поскольку позволяют определить происхождение штаммов, источник и пути распространения инфекции, методики лечения и предупреждения развития заболеваний [6].

В связи с этим постоянно развиваются методы диагностики антибиотикорезистентности и ее механизмов, что приводит к необходимости разработки пополняемых баз данных для анализа вновь поступающей информации.

База данных (БД) – это интегрированная компьютерная структура, содержащая совокупность систематизированных данных и метаданных, предоставляющая конечному пользователю возможность поиска и обработки информации, содержащейся в ней [7]. В Российской Федерации на сегодняшний день осуществляется государственная регистрация БД в качестве результатов интеллектуальной деятельности (РИД). В качестве примера можно привести БД по антибиотикорезистентности возбудителей инфекций, передающихся половым путем (ИППП) [8], а также БД по характеристикам нуклеотидных последовательностей геномов штаммов возбудителей бактериальных и вирусных инфекций I–II групп патогенности [9].

**Цель настоящей работы** – создание пополняемой БД, позволяющей осуществить поиск и обработку информации об источниках и времени выделения клинических штаммов грамотрицательных бактерий, их фенотипах и генотипах антибиотикорезистентности, наличии у них генов вирулентности, а также систематизировать имеющиеся данные по сиквенс-типам. БД предназначена для специалистов микробиологических лабораторий, расследующих вспышки и спорадические случаи госпитальных и внегоспитальных инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями; при оценке эпидемиологических и генетических особенностей возбудителей, выделяемых из клинического материала, от животных и из окружающей среды; для специалистов, занимающихся коллекционной работой, – для описания новых генотипов штаммов и депонирования в Государственные коллекции патогенных микроорганизмов.

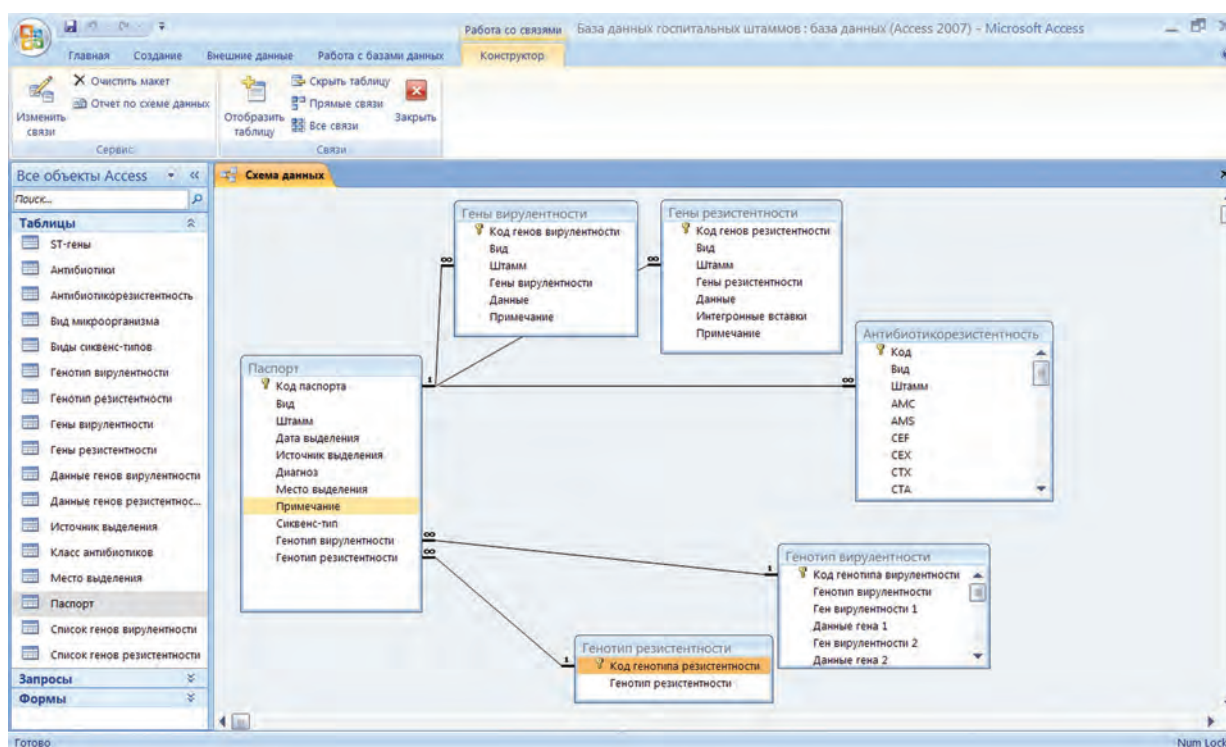


Рис. 1. Схема данных основных таблиц «Паспорт», «Гены вирулентности», «Гены резистентности», «Антибиотикорезистентность» и обобщающих таблиц «Генотип резистентности», «Генотип вирулентности».

## Материалы и методы

Для создания БД «Клинические штаммы грамотрицательных бактерий для изучения молекулярных механизмов антибиотикорезистентности» использовали программу Microsoft Office Access 2007 со стандартным пакетом приложений. Структура БД включает в себя таблицы, предназначенные для хранения информации, а также стандартные методы обработки информации.

Для заполнения таблиц БД использовали информацию о клинических штаммах грамотрицательных бактерий III–IV групп патогенности, полученных в ходе мониторинговой

работы и расследований вспышек инфекционных заболеваний в лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора (ФБУН ГНЦ ПМБ) в 2004–2016 гг. [10, 11]. Для каждого штамма вносили информацию по следующим категориям: клинко-эпидемиологические данные (дата выделения, источник выделения, место выделения, диагноз); фенотип антибиотикорезистентности (минимальные подавляющие концентрации (МПК) антибактериальных препаратов, интерпретация чувствительности); гены антибиотикорезистент-

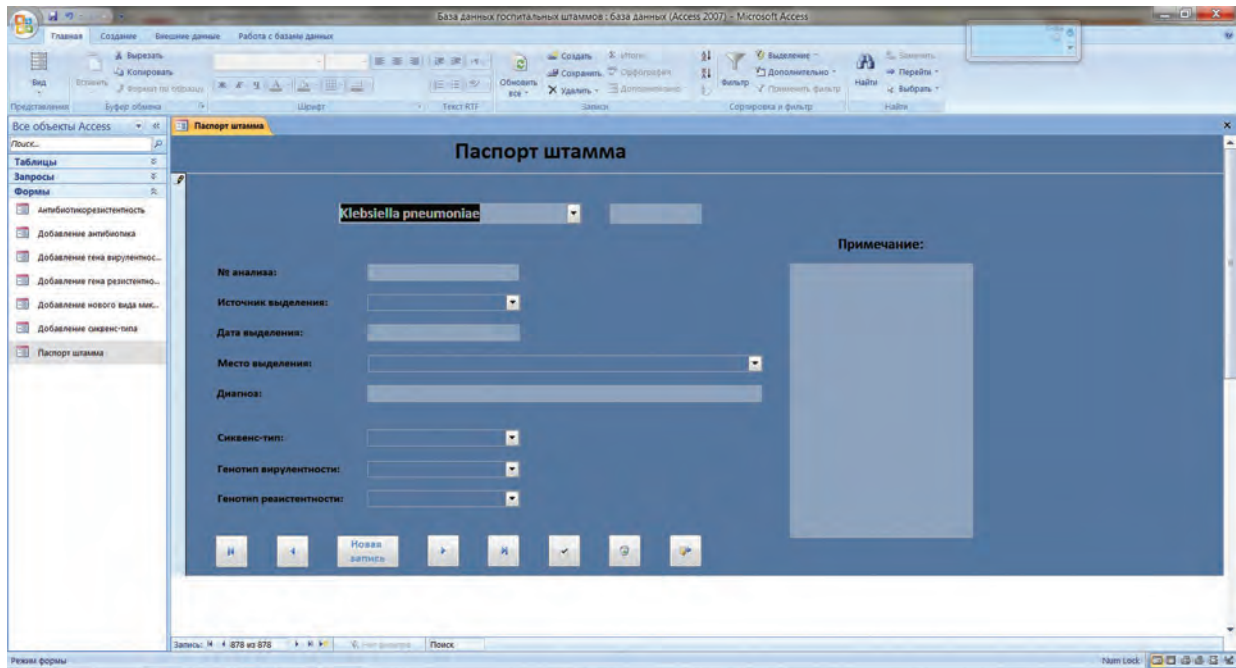


Рис. 2. Форма «Паспорт штамма».

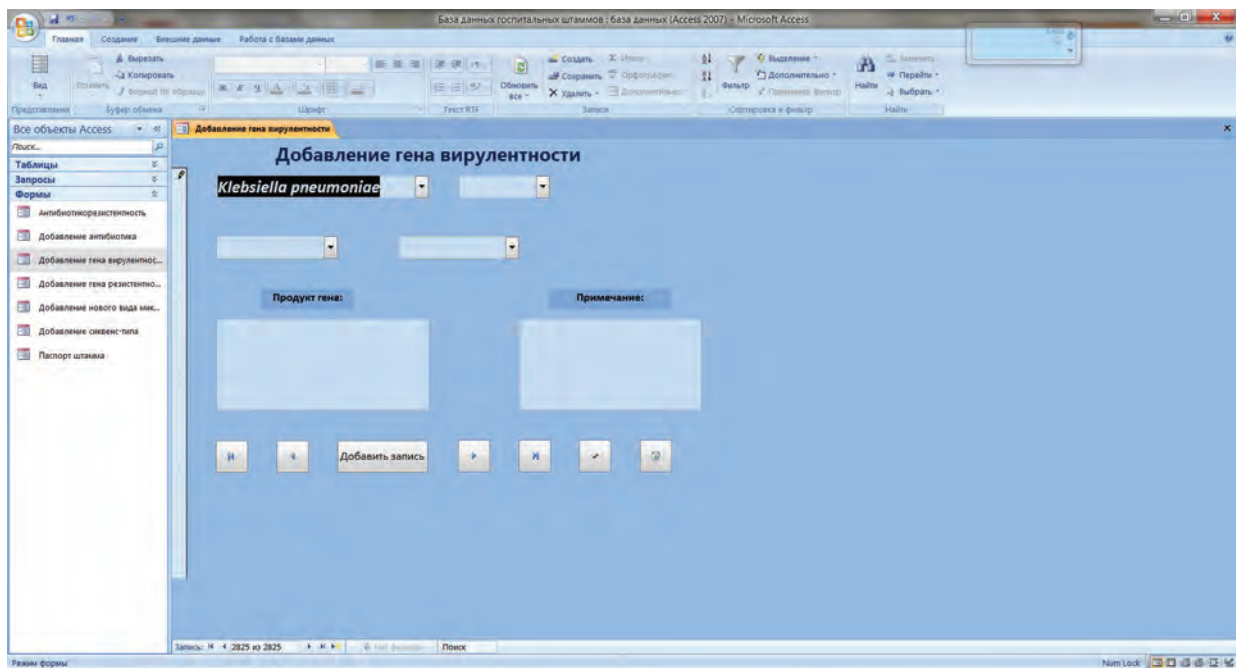


Рис. 3. Форма «Добавление гена вирулентности».



ности; для ряда штаммов описаны гены вирулентности и сиквенс-типы. В соответствии с этическими требованиями БД не содержит персональной информации пациентов (имени и фамилии, возраста, этнической и расовой принадлежности и др.).

### Результаты и обсуждение

БД «Клинические штаммы грамотрицательных бактерий для изучения молекулярных механизмов антибиотикорезистентности» содержит информацию о 878 штаммах семейства *Enterobacteriaceae* и неферментирующих грамотрица-

тельных бактерий (НГОБ), принадлежащих к 23 видам. Клинические штаммы были выделены в лечебных учреждениях города Москвы в период с 2004 по 2016 гг. БД включает в себя 17 таблиц, 22 запроса и 7 форм. Объем программы оптимизирован для удобства работы на флеш-носителях и составляет 9,4 Мбайта. База данных включает четыре основные таблицы, которые содержат уникальную информацию, а также две обобщающие таблицы, девять справочных таблиц и две дополнительные таблицы (рис. 1).

Таблица «Паспорт» содержит основную эпидемиологическую информацию о каждом штамме, а также обобщенную характеристику каждого штамма, генерируемую на

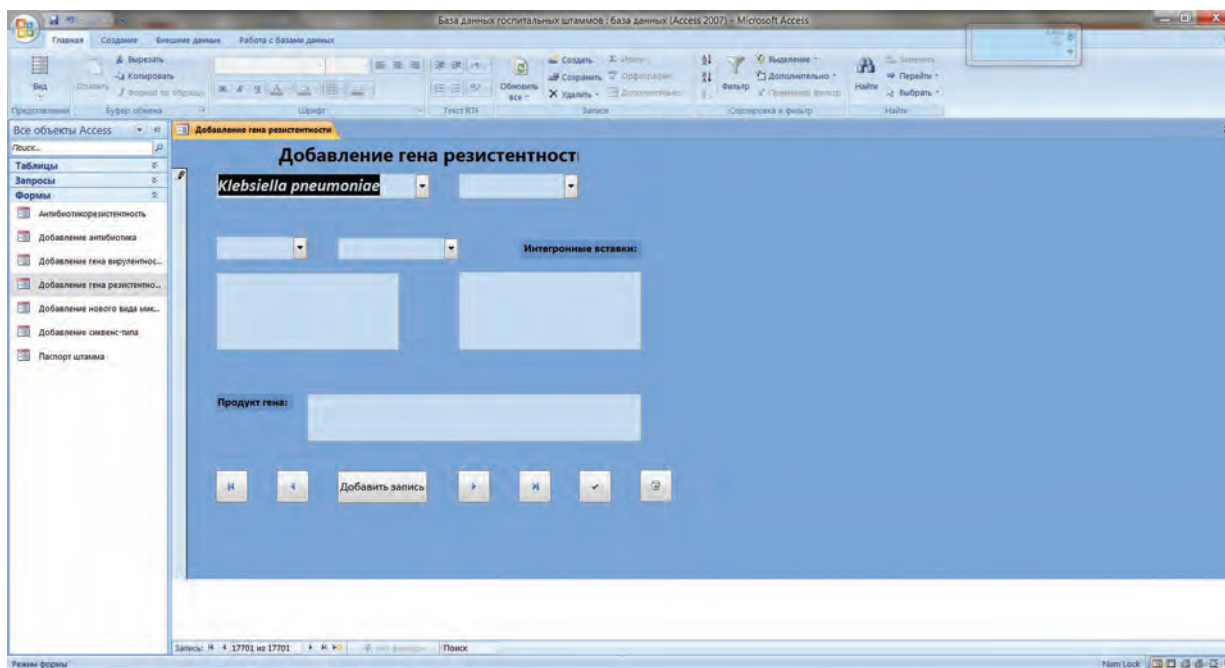


Рис. 4. Форма «Добавление гена резистентности».

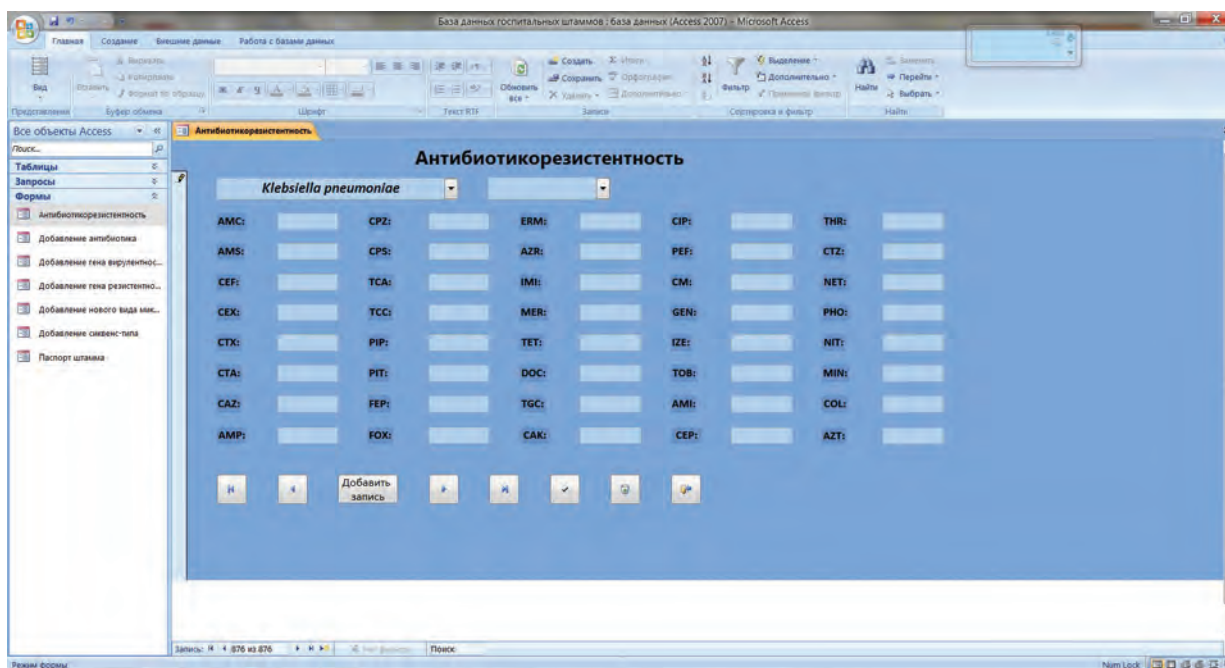


Рис. 5. Форма «Антибиотикорезистентность».

основе других таблиц («Генотип резистентности», «Генотип вирулентности»). Для заполнения таблицы «Паспорт» создана форма «Паспорт штамма», позволяющая вносить данные о виде микроорганизма, названии штамма, дате, источнике и месте выделения, а также о диагнозе заболевания (рис. 2).

Основная таблица «Гены вирулентности» содержит информацию о наличии генов вирулентности у бактерий данного штамма, для заполнения которой создана форма «Добавление гена вирулентности», позволяющая вносить для конкретных штаммов наименования и характеристики генов вирулентности (рис. 3).

Основная таблица «Гены резистентности» содержит информацию о наличии генов антибиотикорезистентности в штаммах бактерий. Для заполнения этой таблицы создана форма «Добавление гена резистентности», позволяющая вносить для конкретных штаммов наименования и характеристики генов антибиотикорезистентности (рис. 4).

В основной таблице «Антибиотикорезистентность» содержится информация о чувствительности штаммов к 40 антибактериальным препаратам. Для заполнения этой таблицы разработана форма «Антибиотикорезистентность», с помощью которой можно вносить значения МПК всех антибиотиков для каждого штамма (рис. 5).

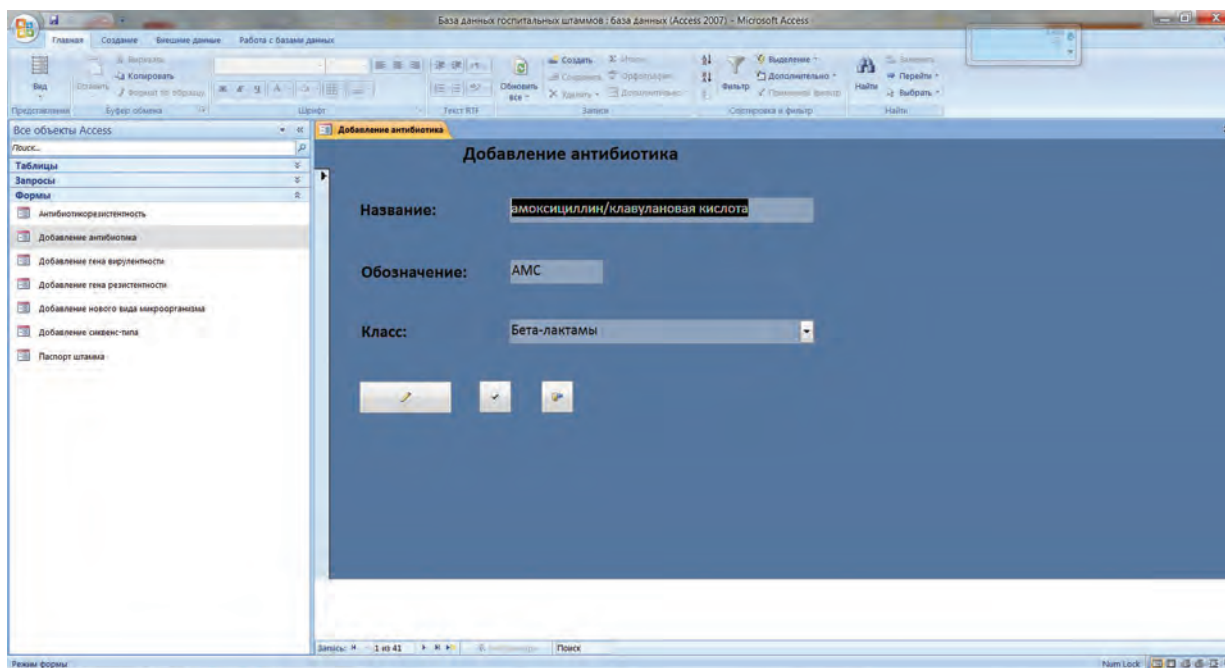


Рис. 6. Форма «Добавление антибиотика».

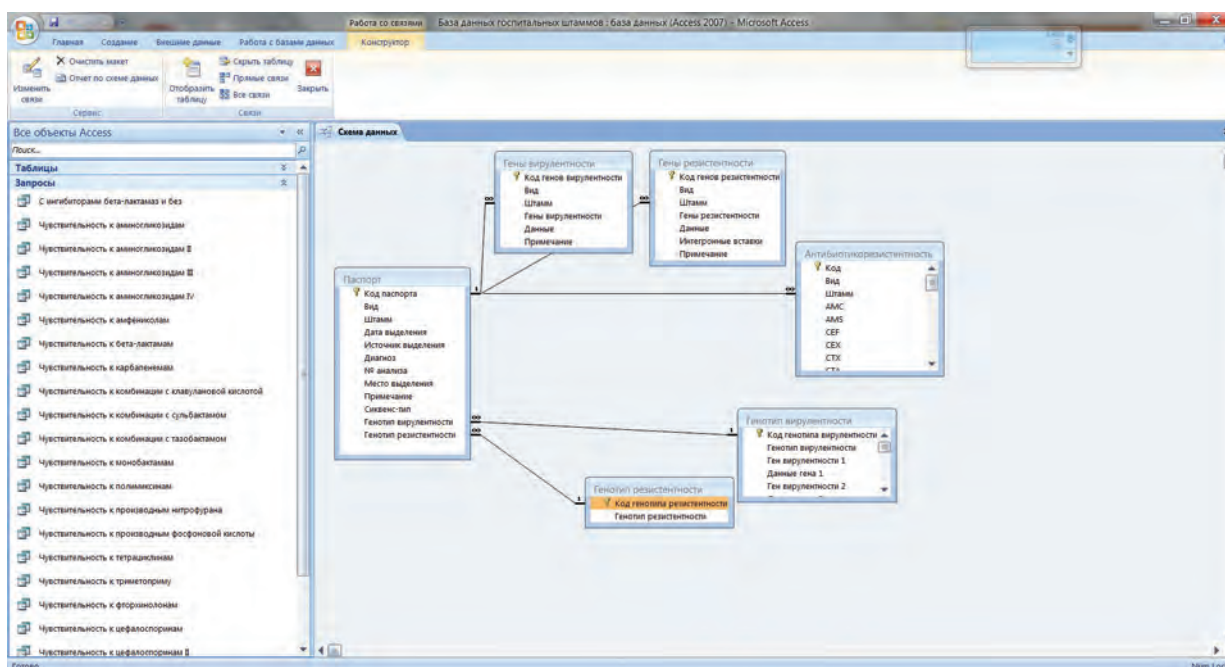


Рис. 7. Запросы базы данных по спектру чувствительности штаммов к отдельным функциональным группам антибиотиков.

Обобщающие таблицы «Генотип вирулентности» и «Генотип резистентности» позволяют консолидировать данные таблиц «Гены вирулентности» и «Гены резистентности» соответственно и получить на выходе характеристики генотипов вирулентности и антибиотикорезистентности, которые адресуются в таблицу «Паспорт».

Перечень значений ячеек, используемых в основных таблицах, содержится в девяти справочных таблицах: видовая принадлежность бактерии – в таблице «Вид микроорганизма», название города – в таблице «Место выделения», перечень клинических материалов – в таблице «Источник выделения», наименования функциональных групп антибиотиков – в таблице «Класс антибиотиков», названия антибактериальных препаратов – в таблице «Антибиотики», наименования генов вирулентности – в таблице «Список генов вирулентности», названия генов антибиотикорезистентности – в таблице «Список генов резистентности», наименования генов «домашнего хозяйства», используемых для определения сиквенс-типов – в таблице «ST-гены», номера сиквенс-типов – в таблице «Виды сиквенс-типов». Для заполнения таблиц «Антибиотики», «Вид микроорганизма» и «Виды сиквенс-типов» созданы формы «Добавление антибиотика», «Добавление нового вида микроорганизма» и «Добавление сиквенс-типа» соответственно (рис. 6).

Все формы, используемые для введения информации в БД, снабжены интерактивными кнопками и выпадающими списками, а также защищены стандартными для программы Microsoft Office Access 2007 макросами от случайного введения данных.

База данных позволяет проводить анализ спектра чувствительности штаммов к отдельным функциональным группам антибиотиков с помощью 22 стандартных запросов (рис. 7).

Таким образом, разработанная БД «Клинические штаммы грамотрицательных бактерий для изучения молекулярных механизмов антибиотикорезистентности» позволяет осуществить поиск и обработку информации о клинических штаммах, в том числе об их клинико-эпидемиологических характеристиках, фенотипах и генотипах антибиотикорезистентности и вирулентности, содержании генов антибиотикорезистентности и вирулентности, а также по принадлежности к генетическим линиям (сиквенс-типам).

БД зарегистрирована в Реестре баз данных 1 декабря 2017 г. под № 2017621413.

#### Финансирование работ

Данная работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

#### Литература

1. World Health Organization. Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014. ISBN 978 92 4. Available from: <http://bit.ly/1rOb3cx>
2. Andersson DI, Hughes D. Selection and Transmission of Antibiotic-Resistant Bacteria. *Microbiol Spectr.* 2017;5(4). DOI: 10.1128/microbiolspec.MTBP-0013-2016
3. Wright GD. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Chem Commun (Camb).* 2011;47(14):4055-61. DOI: 10.1039/c0cc05111j
4. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an

international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(3):268-81. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x. Epub 2011 Jul 27

5. Pendleton JN, Gorman SP, Gilmore BF. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2013;11(3):297-308. DOI: 10.1586/eri.13.12
6. Bevan ER, Jones AM, Hawkey PM. Global epidemiology of CTX-M  $\beta$ -lactamases: temporal and geographical shifts in genotype. *J Antimicrob Chemother.* 2017;72(8):2145-2155. DOI: 10.1093/jac/dkx146
7. Coronel C, Morris SA, Rob P. Database Systems: Design, Implementation, and Management. 12<sup>th</sup> ed. Cengage Learning, 2017. 818 p. in color. ISBN: 978-1-305-62748-2
8. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2014617611 от 29 июля 2014 г. «Программа для анализа и визуализации данных по лекарственной устойчивости и молекулярному типированию возбудителей ИПП». Доступно на: <https://istina.msu.ru/certificates/8740969/>
9. Яшечкин ЮИ, Найденова ЕВ, Бугоркова ТВ, Щербакоева СА. Создание базы данных по характеристикам нуклеотидных последовательностей геномов штаммов возбудителей бактериальных и вирусных инфекций I-II групп патогенности. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2013;1:70-73.
10. Прячук СД, Фурсова НК, Абаев ИВ, Ковалев ЮН, Шишкова НА, Печерских ЭИ, и др. Генетические детерминанты устойчивости к антибактериальным средствам в нозокомиальных штаммах *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* и *Enterobacter spp.*, выделенных в России в 2003-2007 гг. *Антибиотики и химиотерапия.* 2010;55(9-10):3-10
11. Fursova NK, Astashkin EI, Knyazeva AI, Kartsev NN, Leonova ES, Ershova ON, et al. The spread of *bla*<sub>OXA-48</sub> and *bla*<sub>OXA-244</sub> carbapenemase genes among *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* and *Enterobacter spp.* isolated in Moscow, Russia. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2015;14:46. DOI: 10.1186/s12941-015-0108-y

#### References

1. World Health Organization. Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014. ISBN 978 92 4. Available from: <http://bit.ly/1rOb3cx>
2. Andersson DI, Hughes D. Selection and Transmission of Antibiotic-Resistant Bacteria. *Microbiol Spectr.* 2017;5(4). DOI: 10.1128/microbiolspec.MTBP-0013-2016
3. Wright GD. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Chem Commun (Camb).* 2011;47(14):4055-61. DOI: 10.1039/c0cc05111j
4. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(3):268-81. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x. Epub 2011 Jul 27
5. Pendleton JN, Gorman SP, Gilmore BF. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2013;11(3):297-308. DOI: 10.1586/eri.13.12
6. Bevan ER, Jones AM, Hawkey PM. Global epidemiology of CTX-M  $\beta$ -lactamases: temporal and geographical shifts in genotype. *J Antimicrob Chemother.* 2017;72(8):2145-2155. DOI: 10.1093/jac/dkx146
7. Coronel C, Morris SA, Rob P. Database Systems: Design, Implementation, and Management. 12<sup>th</sup> ed. Cengage Learning, 2017. 818 p. in color. ISBN: 978-1-305-62748-2
8. Certificate of state registration of the computer program No. 2014617611 of July 29, 2014 "Program for the analysis and visualization of data on drug resistance and molecular typing of STI agents". Available from: <https://istina.msu.ru/certificates/8740969/> (In Russian).
9. Yashechkin Yul, Naydenova EV, Bugorkova TV, Shcherbakova SA. Setting-up of the Database on the Nucleotide Sequences of the Genomes of the Strains of Bacterial and Viral Infections Agents of the I-II Pathogenicity Groups. *Problems of Particularly Dangerous Infections.* 2013;1:70-73. (In Russian).



10. Priamchuk SD, Fursova NK, Abaev IV, Kovalev IuN, Shishkova NA, Pecherskikh EI. Genetic Determinants of Antibacterial Resistance Among Nosocomial *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, and *Enterobacter spp.* Isolates Collected in Russia within 2003-2007. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2010;55(9-10):3-10. (In Russian).
11. Fursova NK, Astashkin EI, Knyazeva AI, Kartsev NN, Leonova ES, Ershova ON, et al. The spread of *bla*<sub>OXA-48</sub> and *bla*<sub>OXA-244</sub> carbapenemase genes among *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* and *Enterobacter spp.* isolated in Moscow, Russia. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2015;14:46. DOI: 10.1186/s12941-015-0108-y

#### Информация об соавторах:

Лев Анастасия Игоревна, младший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора  
Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ  
Телефон: (4967) 36-0079

Асташкин Евгений Ильич, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора  
Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ  
Телефон: (4967) 36-0079

Светоч Эдуард Арсеньевич, доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора  
Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ  
Телефон: (4967) 36-0079

Фурсова Надежда Константиновна, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора  
Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ  
Телефон: (4967) 36-0079

#### Information about co-authors:

Anastasia I. Lev, junior researcher of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare  
Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation  
Phone: (4967) 36-0079

Eugeny I. Astashkin, MD, PhD, leading researcher of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare  
Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation  
Phone: (4967) 36-0079

Edward A. Svetoch, PhD, DSc (Vet.), professor, chief researcher of antimicrobial agents laboratory, Molecular Microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare  
Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation  
Phone: (4967) 36-0079

Nadezhda K. Fursova, PhD (Biol.), head of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare  
Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation  
Phone: (4967) 36-0079

## НОВОСТИ НАУКИ

### Агар Мюллера–Хинтон II

ФБУН ГНЦ ПМБ с конца 2017 года начал выпуск питательной среды для определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, сухой (агар Мюллера–Хинтон II).

Питательная среда соответствует требованиям современных нормативных документов EUCAST и клинических рекомендаций «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам».

Агар Мюллера–Хинтон II стандартизирован по содержанию ионов Ca, Mg, Mn и Zn, имеет минимальную концентрацию тимила/тимидина.

Питательная среда зарегистрирована в качестве медицинского изделия и имеет регистрационное удостоверение №РЗН 2017/5962 от 10 июля 2017 года.

