

Разработка тест-системы для выявления генов метициллинрезистентности и оценка их распространения среди различных видов стафилококков – возбудителей нозокомиальных инфекций

Актуальность исследования

Инфекции, обусловленные коагулозо-негативными и золотистым стафилококками, составляют, по различным данным, от 35% до 50% от всех случаев гнойно-септических инфекций в стационарах. В последние годы отмечают возрастание роли коагулазо-негативных стафилококков как возбудителей тяжелых нозокомиальных инфекций – шунтов, имплантов, кровотока и т.д. До 2011 года единственным известным геном резистентности к метициллину, который обуславливает неэффективность применения большинства бета-лактамов, был ген *mecA*. Тест-системы для выявления метициллин-резистентности стафилококков молекулярно-генетическими методами были направлены на его выявление. В 2011 году был впервые описан ген резистентности *mecC* с аналогичными свойствами, который не выявляется обычными тест-системами и распространенность которого среди различных видов метициллин-резистентных стафилококков, вызывающих госпитальные инфекции, неизвестна. Планируемое исследование позволит создать тест-систему для экспресс – диагностики генов метициллин-резистентности *Staphylococcus* spp. - возбудителей нозокомиальных инфекций, а также провести оценку их распространенности.

Научная платформа

Микробиология

Планируемый (ые) научные подразделения исполнители (с указанием руководителя исследования)

Руководитель исследования – д. м. н. Е. П. Баранцевич, зав. НИО микробиологии, клеточных технологий и молекулярной биологии, зав. НИЛ внутрибольничных инфекций ФГБУ «СЗФМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России
Исполнители:
НИО микробиологии, клеточных технологий и молекулярной биологии,
НИЛ внутрибольничных инфекций

Ключевые слова

Инфекции, чувствительность к антибиотикам, гены резистентности, стафилококки

Цель проекта

Разработка тест-системы экспресс-диагностики генов метициллинрезистентности стафилококков (*mecA*, *mecC*) для повышения качества медицинской помощи и эпидемиологического надзора в Российской Федерации

Задачи проекта

1. Создание коллекции госпитальных штаммов метициллин-резистентных стафилококков с валидно определенной видовой принадлежностью (оценка последовательности нуклеотидов гена 16S рРНК)

2. Сравнительная оценка методов видовой идентификации коагулазонегативных стафилококков и золотистого стафилококка (фенотипического, MALDI-TOF масс-спектрометрии и секвенирования первых 500 нуклеотидов гена 16S рРНК)
3. Оценка распространенности метициллин-резистентности среди различных видов коагулазо-негативных стафилококков и золотистых стафилококков
4. Разработка метода определения генов метициллин-резистентности стафилококков (mecA и mecC)
5. Оценка эффективности тест-системы в выявлении метициллин-резистентности различных видов стафилококков
6. Оценка распространенности генов mecA и mecC среди стафилококков – возбудителей госпитальных инфекций

Ожидаемые результаты проекта

1. 3 статьи (2018-2020 гг.)
2. Заявка на патент Российской Федерации на изобретение (2020 г.)

Назначение и предполагаемое использование (внедрение) результатов проекта

Планируемая к разработке тест-система по выявлению генов mecA и mecC предназначена для системы здравоохранения и может быть использована в бактериологических и молекулярно-генетических лабораториях.

Описание предлагаемого научного исследования

Стафилококки вызывают тяжелые госпитальные инфекции, которые требуют максимально быстрого назначения адекватной терапии препаратами с бактерицидным эффектом. Среди применяемых при стафилококковых инфекциях антибактериальных препаратов наилучшим профилем безопасности и мощным бактерицидным действием обладают бета-лактамы. Значительная часть стафилококков обладает метициллин-резистентностью, которая, по данным литературы и собственных наблюдений может достигать 40-60% в различных стационарах. Она обуславливает резистентность ко всем известным бета-лактамам, за исключением цефалоспоринов 5 поколения, которые в настоящее время не применяют в широкой клинической практике в связи с высокой стоимостью и резервированием для случаев крайне тяжелых инфекций, при которых неэффективны рутинно применяемые антибиотики.

Для обеспечения своевременного назначения эффективной антибактериальной терапии необходимы тест-системы, позволяющие в течение не более 2 часов определить наличие генов резистентности к широко применяемым антибиотикам, что позволяет своевременно назначить эффективную терапию и обеспечить улучшение прогноза при тяжелых стафилококковых инфекциях.

Применяемые в Российской Федерации тест-системы по выявлению метициллин-резистентности, направлены, как правило, на выявление гена резистентности, кодирующего выработку пенициллин-связывающего белка 2a, который обуславливает резистентность стафилококков к большинству бета-лактамов. В 2011 году был открыт новый белок – ПСБ2с, производство которого обеспечивает ген mecC, который не определяется тестами, направленными на выявление гена mecA. Разрабатываемая тест-система по выявлению генов mecA и mecC среди стафилококков-возбудителей нозокомиальных инфекций будет основана на применении молекулярно-генетических методов. Для разработки будет сформирован биобанк, насчитывающий не менее 100 изолятов *S. aureus* и 200 штаммов коагулазо-негативных стафилококков. Валидацию тест-системы планируется провести на штаммах стафилококков из коллекции ATCC с известными генами резистентности.

В последние годы в большинстве развитых стран наблюдают снижение частоты нозокомиальных инфекций, обусловленных *S. aureus* и повышение частоты

инфекционных осложнений, вызываемых коагулазо-негативными стафилококками. Видовая принадлежность коагулазо-негативных стафилококков – этиологических агентов госпитальных инфекций, в подавляющем большинстве стационаров РФ не определяется, распространенность метициллинрезистентности среди различных видов неизвестна. Планируемое исследование позволит определить видовой состав и резистентность к метициллину среди нозокомиальных штаммов стафилококков. Будут определены наиболее эффективные методы видовой идентификации стафилококков, сформирован биобанк госпитальных штаммов метициллин-резистентных стафилококков. В ходе выполнения проекта будут получены новые данные по распространенности генов *mecA* и *mecC* среди различных видов стафилококков – возбудителей госпитальных инфекций.

Таким образом, в настоящее время крайне актуальным является создание тест-системы по одномоментному выявлению генов резистентности к бета-лактамам (*mecA* и *mecC*) для обеспечения своевременного выбора эффективной антибактериальной терапии и улучшения прогноза при стафилококковых инфекциях, сокращения расходов и повышения качества оказания медицинской помощи в Российской Федерации. Планируемая к разработке тест-система и результаты исследования распространенности генов резистентности среди различных видов стафилококков будут соответствовать мировому уровню и будут востребованы в масштабах мировой медицинской науки.

Описание научных подходов и методов, используемых для решения поставленных задач

Культуральное исследование биосубстратов выявит стафилококки среди возбудителей госпитальных инфекций, определение чувствительности к антибиотикам выявит метициллин-резистентные штаммы. Штаммы будут криоконсервированы для последующего исследования. Применение секвенирования первых 500 пар оснований гена 16S рРНК позволит провести видовую идентификацию стафилококков валидированным методом. Сравнение молекулярно-генетического, масс-спектрометрического и фенотипического метода видовой идентификации стафилококков позволит определить оптимальный алгоритм работы с культурами стафилококков в практических бактериологических лабораториях. Присутствие генов *mecA* и *mecC* в геноме метициллин-резистентных стафилококков будет определено с применением молекулярно-генетических методов. Разработанная тест-система позволит определить распространенность генов *mecA* и *mecC* среди нозокомиальных штаммов стафилококков.