

НАУКА И ПРАКТИКА

Оригинальное исследование
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-574>



Мультиплексная ПЦР в режиме реального времени для выявления генов *qacA/B* и *smr* у грамположительных бактерий

Ковальчук С.Н.[✉], Архипова А.Л., Ковылкова С.Ю., Ильина Е.Н., Федорова Л.С.

Институт системной биологии и медицины, Москва, Россия

Аннотация

Актуальность. Дезинфицирующие вещества (ДВ) являются эффективными средствами неспецифической профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Нарушение режимов применения ДВ приводит к формированию устойчивости микроорганизмов к ним. Для целей мониторинга распространения клинически значимых микроорганизмов, устойчивых к ДВ, остаётся актуальной разработка методов их выявления, в том числе молекулярно-генетических.

Целью исследования была разработка мультиплексной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) для выявления у грамположительных бактерий генов *qacA/B* и *smr* — детерминант устойчивости к ДВ из группы катионных поверхностно-активных веществ (КПАВ).

Материалы и методы. Поиск консервативных участков генов *qacA*, *qacB* и *smr* и разработку праймеров и зондов проводили с помощью программ BLASTN, GeneRunner и Multiple Primer Analyzer. Для оценки аналитической чувствительности мультиплексной ПЦР-РВ были сконструированы плазмиды pTZ57-*qacA/B*, pTZ57-*smr* и pTZ57-16S, содержащие фрагменты генов *qacA/B*, *smr* и 16S рРНК длиной 197, 127 и 287 п. н. соответственно. Апробацию метода проводили с использованием клинических изолятов грамположительных бактерий ($n = 30$).

Результаты. Разработана мультиплексная ПЦР-РВ с использованием зондов TaqMan для выявления генов *qacA/B* и *smr* у грамположительных бактерий. В качестве внутреннего контроля амплификации был использован ген 16S рРНК. Чувствительность мультиплексной ПЦР-РВ составила 10^3 копий для всех генов. Апробация мультиплексной ПЦР-РВ показала, что гены *qacA/B* присутствовали у 30% исследованных изолятов, *smr* — у 10%. Воспроизводимость результатов тестирования составила 100%. Специфичность разработанной мультиплексной ПЦР-РВ составила 100%.

Заключение. Разработанная мультиплексная ПЦР-РВ характеризуется высокой специфичностью и быстротой анализа, а также наличием внутреннего контроля амплификации и может быть использована для выявления грамположительных бактерий, потенциально устойчивых к ДВ из группы КПАВ, при проведении молекулярно-генетических исследований.

Ключевые слова: дезинфектанты, устойчивость, *qacA/B*, *smr*, ПЦР в реальном времени

Источник финансирования. Работа финансировалась Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Государственное задание № 122030900064-9).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Ковальчук С.Н., Архипова А.Л., Ковылкова С.Ю., Ильина Е.Н., Федорова Л.С. Мультиплексная ПЦР в режиме реального времени для выявления генов *qacA/B* и *smr* у грамположительных бактерий. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024;101(5):692–698.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-574>

EDN: <https://www.elibrary.ru/ubbcnj>

Multiplex real-time PCR for detection of *qac A/B* and *smr* genes in Gram-positive bacteria

Svetlana N. Kovalchuk[✉], Anna L. Arkhipova, Svetlana Yu. Kovytkova, Elena N. Ilina, Lyudmila S. Fedorova

Research Institute for Systems Biology and Medicine, Moscow, Russia

Abstract

Background. Disinfectants are effective means of non-specific prevention of infections associated with the provision of medical care. Violation of disinfectant use regimes leads to the formation of microorganism resistance to them. To monitor the spread of clinically significant microorganisms resistant to disinfectants, the development of methods for their detection, including molecular genetic methods, remains relevant.

The aim of the study was to develop a multiplex real-time PCR for the identification of *qacA/B* and *smr* genes, the determinants of resistance to cationic biocides, in Gram-positive bacteria.

Materials and methods. Conserved regions of *qacA*, *qacB* and *smr* genes were searched, and primers and probes were designed using BLASTN, GeneRunner, and Multiple Primer Analyzer programs. To evaluate the analytical sensitivity of the multiplex PCR, plasmids pTZ57-*qacA/B*, pTZ57-*smr*, and pTZ57-16S containing *qacA/B*, *smr* and 16S rRNA gene fragments of 197 bp, 127 bp, and 287 bp, respectively, were constructed. The method was tested on clinical isolates of Gram-positive bacteria ($n = 30$).

Results. A multiplex real-time PCR using TaqMan probes was developed for the detection of *qacA/B* and *smr* genes in Gram-positive bacteria. The 16S rRNA gene was used as an internal amplification control. The sensitivity of the multiplex PCR was 10^3 copies for all genes. Multiplex PCR validation showed that *qacA/B* genes were present in 30%, *smr* genes were present in 10% of the isolates tested. The reproducibility of the results was 100%.

Conclusion. The developed multiplex PCR differs from existing assays by high specificity and short turnaround time, as well as by the presence of an internal amplification control. It can be used for the detection of Gram-positive bacteria potentially resistant to cationic biocides.

Keywords: *disinfectants, resistance, qacA/B, smr, real-time PCR*

Funding source. The work was financed by the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare (State Assignment No. 122030900064-9).

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Kovalchuk S.N., Arkhipova L.S., Kovytkova S.Yu., Ilina E.N., Fedorova L.S. Multiplex real-time PCR for detection of *qac A/B* and *smr* genes in Gram-positive bacteria. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology.* 2024;101(5):692–698.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-574>

EDN: <https://www.elibrary.ru/ubbcnj>

Введение

Распространение в последние десятилетия штаммов патогенных бактерий, устойчивых к антимикробным препаратам и дезинфицирующим веществам (ДВ), — одна из острых проблем современного здравоохранения. ДВ являются одним из наиболее эффективных средств при проведении неспецифической профилактики инфекционных заболеваний и играют ведущую роль в системе мер по профилактике инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, а также широко используются на предприятиях общественного питания, пищевой промышленности, на коммунальных объектах, в образовательных учреждениях и в быту. Однако

наблюдаемый с 1950-х гг. феномен устойчивости микроорганизмов к ДВ приводит к резкому снижению эффективности дезинфекционных мероприятий [1], что связано с использованием неэффективных режимов их применения, приводящим к формированию устойчивости микроорганизмов к ДВ, а также к перекрестной устойчивости к антибиотикам в силу наличия общих механизмов действия [2, 3].

Катионные поверхностно-активные вещества (КПАВ), к которым относятся четвертичные аммониевые соединения (ЧАС), производные гуанидина и третичные амины, являются наиболее часто используемыми ДВ [4, 5]. В 2023 г. ЧАС занимали

наибольшую долю ДВ на мировом рынке¹, и сохранение этой тенденции прогнозируется на ближайшие 10 лет². Согласно имеющимся данным, на российский рынок их доля составляет 50–70% [6, 7].

Основным механизмом формирования микробной резистентности к ЧАС является снижение их внутриклеточной концентрации за счёт выведения из клетки с помощью эффлюксных насосов [5, 8], которые на основе структурного сходства и особенностей функционирования объединены в 6 суперсемейств:

- 1) RND (Resistance-Nodulation Division);
- 2) SMR (Small Multidrug Resistance);
- 3) MATE (Multidrug And Toxic compound Extrusion);
- 4) MFS (Major Facilitator Superfamily);
- 5) ABC (ATP Binding Cassette);
- 6) PACE (Proteobacterial Antimicrobial Compound Efflux) [9, 10].

Устойчивость к ЧАС грамположительных бактерий в основном связана с эффлюксными насосами QacA, QacB (суперсемейство MFS), а также Smr (QacC), QacG, QacH и QacJ, относящимися к надсемейству SMR [11, 12]. Мониторинг распространённости этих эффлюксных насосов среди грамположительных бактерий с помощью молекулярно-генетических методов ведётся во многих странах и показал, что наиболее часто встречаются гены *qacA*, *qacB* и *smr* [13–16]. При этом информация о распространении этих генов среди российских изолятов грамположительных бактерий практически отсутствует. Лишь в одной публикации были представлены данные о наличии генов *qacA* и *qacB* у изолятов стафилококков, выделенных из смывов с поверхностей в общественных местах Новосибирска [17]. С учётом того, что гены *qacA*, *qacB* и *smr* имеют преимущественно плазмидную локализацию, они могут широко распространяться посредством горизонтального переноса, приводя к формированию приобретённой устойчивости к КПАВ у грамположительных бактерий [12].

Целью исследования была разработка мультиплексной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с флуоресцентно-мечеными зондами для выявления генов *qacA/B* и *smr* у грамположительных бактерий.

¹ Global antiseptics and disinfectants market size, share, trends & growth forecast report — segmented by type (alcohol and aldehyde, phenols and derivatives, biguanides and amides, quaternary ammonium compounds, iodine compounds and others), end user (domestic user and institutional user) and region — industry forecast from 2024 to 2029. URL: <https://www.marketdataforecast.com/market-reports/antiseptics-and-disinfectants-market> (дата обращения 23.10.2024).

² Global antiseptics and disinfectants market size to exceed USD 79.25 Billion by 2033 | CAGR of 10.67%. URL: <https://finance.yahoo.com/news/global-antiseptics-disinfectants-market-size-160000859.html> (дата обращения 23.10.2024).

Материалы и методы

Бактериальные изоляты

В исследовании были использованы изоляты грамположительных бактерий видов *Staphylococcus aureus* ($n = 12$), *S. haemolyticus* ($n = 6$), *Enterococcus faecium* ($n = 6$) и *E. faecalis* ($n = 4$), *Streptococcus parasanguinis* ($n = 1$) и *S. epidermidis* ($n = 1$), полученные от медицинских учреждений Москвы. Изоляты выделены из смывов, взятых с объектов внутрибольничной среды — поверхностей аппаратов ИВЛ и УЗИ, прикроватных тумбочек, поручней кроватей. Бактерии культивировали в течение 16 ч при 37°C в ГРМ-бульоне (ГНЦ ПМБ). Видовую принадлежность изолятов определяли с помощью масс-спектрометра «SMART MS 5020» («Zhuhai DL Biotech Co., Ltd»).

Выделение ДНК

ДНК выделяли из бактериальной культуры с помощью набора для выделения ДНК «ExtractDNA Blood & Cells» (ЗАО «Евроген») согласно рекомендациям производителя и хранили при –20°C. Концентрацию образцов ДНК определяли с помощью спектрофотометра «NanoDrop 2000C» («ThermoFIS»).

Разработка праймеров и зондов

Нуклеотидные последовательности генов эффлюксных насосов *qacA*, *qacB*, *smr* и 16S рРНК грамположительных бактерий были взяты из базы данных GenBank³. Их анализ проводили с помощью программы BLASTN⁴. Праймеры и зонды были разработаны на основе консервативных участков генов с использованием программ «GeneRunner v. 62.2.55 Beta»⁵ и «Multiple Primer Analyzer»⁶.

Проведение мультиплексной ПЦР-РВ

Мультиплексную ПЦР-РВ проводили в объёме 25 мкл в 96-луночных планшетах для ПЦР с использованием амплификатора «CFX96 Real-Time System» («Bio-Rad Laboratories, Inc.»). Реакционная смесь включала в себя 5× буфер и 2,5 ЕД Taq-полимеразы (ООО «НПФ Литех»), праймеры (по 0,5 мкМ каждого), зонды TaqMan (по 0,25 мкМ каждого; **таблица**) и образец ДНК (5 нг). Зонды TaqMan синтезированы ООО «ДНК-синтез», праймеры — ЗАО «Евроген». Профиль реакции: 95°C — 2 мин, 95°C — 15 с, 56°C — 20 с (36 циклов), 72°C — 30 с.

Определение аналитической чувствительности мультиплексной ПЦР-РВ

Для оценки аналитической чувствительности метода сконструированы плазмиды рTZ57-*qacA/B*,

³ URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>

⁴ URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

⁵ URL: <http://www.generunner.net>

⁶ URL: <https://www.thermofisher.com>

Нуклеотидные последовательности праймеров и зондов
Nucleotide sequences of the primers and probes

Гены Genes	Нуклеотидная последовательность (5'–3') Nucleotide sequence (5'–3')	Размер, п. н. Size, bp
<i>qacA/B</i>	<i>qacA/B</i> -D: 5'-CTGGCTTATACCTATTACCTA-3' <i>qacA/B</i> -R: 5'-TCCAACATAAATTAATGCTAAAG-3' <i>qacA/B</i> -Pb: 5'-HEX- CGATTTGGACCGAAAAATAGTGTAC-BHQ1	197
<i>smr</i>	<i>smr</i> -F: AGTAAACAATGCAACACCTAC-3' <i>smr</i> -R: ATACTATAGTTATTAGATTTATTTG-3' <i>smr</i> -Pb: 5'-FAM-TTAGTCTTAACAACCGTAGTCTCAAT-BHQ1	127
16S рPHK 16S rRNA	16S-D: 5'-CAGCAGCCGCGGTAATAC-3' Bakt_805R: 5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3' 16S-Pb: Cy5-5'-TGTAGCGGTGAAATGCG- BHQ2	287

pTZ57-*smr* и pTZ57-16S, содержащие фрагменты генов *qacA/B*, *smr* и 16S рPHK длиной 197, 127 и 287 п. н. соответственно. Клонирование проводили с использованием набора реактивов «InsTAclone PCR Cloning Kit» («ThermoFS») согласно рекомендациями производителя. Оценку концентраций плазмид проводили с помощью набора «Spectra Q BR» (ООО «Сесана») и флуориметра «Qubit» («ThermoFS»). Секвенирование полученных плазмид проводили по методу Сэнгера. Путём 10-кратных разведений получены образцы плазмид pTZ57-*qacA/B*, pTZ57-*smr* и pTZ57-16S с концентрацией 10¹–10⁶ копий в 1 мкл, которые использовались в качестве матрицы для ПЦР-РВ. Анализ результатов проводили при помощи программного обеспечения к прибору «CFX96 Real-Time System» («Bio-Rad Laboratories, Inc.»).

Апробация и валидация метода

Апробацию мультиплексной ПЦР-РВ проводили с использованием ДНК, выделенной из изолятов грамположительных бактерий ($n = 30$). Для оценки вариабельности значений порогового цикла ПЦР (C_q) каждый образец тестировали в 3-кратной повторности и рассчитывали средние значения C_q, стандартные отклонения (SD) и коэффициент вариабельности (C_v, %). Полученные ампликоны генов *qacA/B* и *smr* проанализированы с помощью электрофорезного разделения в 1,5% агарозном геле и секвенированы по методу Сэнгера. Для валидации мультиплексной ПЦР-РВ использовали описанные ранее методы ПЦР с электрофоретической детекцией фрагментов генов *qacA/B* [18] и *smr* [19].

Результаты

Для мультиплексной ПЦР-РВ разработаны праймеры и зонды типа TaqMan, комплементарные высококонсервативным участкам генов *qacA*, *qacB* и *smr* (таблица), которые были выявлены на основе множественного выравнивания всех полноразмерных нуклеотидных последовательностей этих генов, имеющихся в базах данных GenBank,

EMBL⁷ и DDBJ⁸. Проанализировано 302 нуклеотидных последовательности генов *qacA/B* и 220 последовательностей гена *smr*. Анализ генов *qacA* и *qacB* показал, что они различались 8 нуклеотидами, поэтому для них разработаны общие праймеры и зонд.

При проведении тестирования методом ПЦР важным является использование внутреннего контроля амплификации, который позволяет исключить ложноотрицательные результаты вследствие отсутствия или недостаточного для детекции количества ДНК в реакционной смеси. В качестве эндогенного внутреннего контроля амплификации в разработанной мультиплексной ПЦР-РВ использован ген 16S рPHK. Праймер 16S-D и зонд были разработаны на основе анализа 5000 последовательностей 16S рPHK (таблица). В качестве обратного праймера использовали универсальный праймер Bakt_805R, разработанный ранее [20].

С помощью разработанных нами праймеров проведён поиск изолятов грамположительных бактерий ($n = 30$), содержащих гены *qacA/B* и *smr*. Полученные ампликоны были проанализированы с помощью электрофорезного разделения в 1,5% агарозном геле. Длины ампликонов генов *qacA/B* и *smr* соответствовали ожидаемым (таблица; рис. 1). Специфичность праймеров была подтверждена секвенированием ампликонов по методу Сэнгера.

Для оценки аналитической чувствительности мультиплексной ПЦР-РВ сконструированы плазмиды pTZ57-*qacA/B*, pTZ57-*smr* и pTZ57-16S, содержащие полученные ампликоны генов *qacA/B*, *smr* и 16S рPHK. С помощью 10-кратных разведений получены их образцы с концентрацией от 10¹ до 10⁶ копий в 1 мкл, которые использовались в качестве матрицы для разработанной мультиплексной ПЦР-РВ. Чувствительность мультиплексной ПЦР-РВ составила 10³ копий для всех генов. Эффективность амплификации генов *qacA/B*, *smr* и

⁷ URL: <https://www.embl.org>

⁸ URL: <https://www.ddbj.nig.ac.jp>

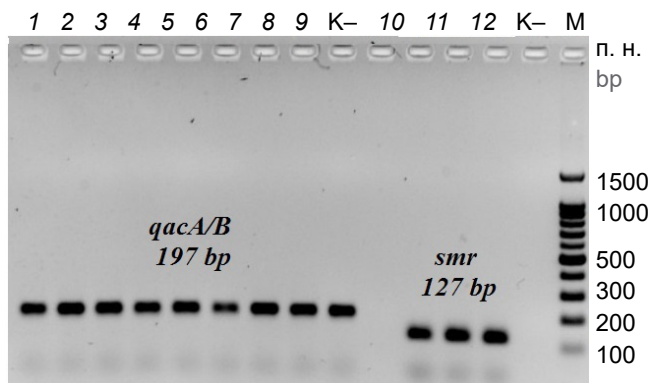


Рис. 1. Результаты амплификации фрагментов генов *qacA/B* и *smr*.

1–9 — *qacA/B*-положительные изоляты; 10–12 — *smr*-положительные изоляты. К — отрицательный контроль. М — маркер длин ДНК.

Fig. 1. Results of the amplification of *qacA/B* and *smr* genes.

1–9 — *qacA/B*-positive isolates; 10–12 — *smr*-positive isolates. К — negative control. М — DNA length marker.

16S рРНК при составила 95,1, 91,3 и 101,8% соответственно (рис. 2).

Апробацию разработанной мультиплексной ПЦР-РВ проводили с использованием 30 клинических изолятов грамположительных бактерий, полученных от медицинских учреждений Москвы. Тестирование проводили в 3 повторах. Выявлено, что 30% изолятов (6 изолятов *S. haemolyticus* и по 1 изоляту *E. faecium*, *E. faecalis* и *S. parasanguinis*) имели гены *qacA/B* и 10% изолятов (2 изолята *S. haemolyticus* и изолят *S. epidermidis*) содержали ген *smr*. У 2 изолятов *S. haemolyticus* были найдены и *qacA/B*, и *smr*. Воспроизводимость результатов тестирования для всех образцов составила 100%, коэффициент варируемости значений C_q — от 3,4 до 6,2%. Результаты мультиплексной ПЦР-РВ пол-

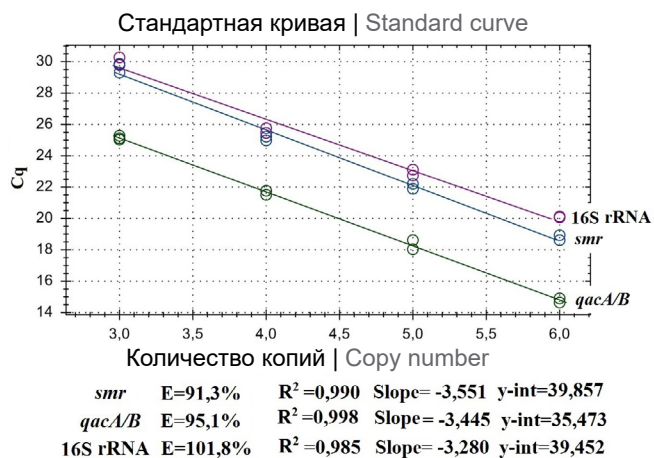


Рис. 2. Результаты определения чувствительности мультиплексной ПЦР-РВ для выявления генов *qacA/B* и *smr* у грамположительных бактерий.

Fig. 2. Results of multiplex PCR sensitivity evaluation for detection of *qacA/B* and *smr* genes in gram-positive bacteria.

ностью совпали как с данными моноплексных ПЦР с электрофорезной детекцией, так и с результатами секвенирования ампликонов по методу Сэнгера. В качестве альтернативного метода сравнения для разработанной нами мультиплексной ПЦР-РВ использованы методы ПЦР с электрофоретической детекцией генов *qacA/B* и *smr*, предложенные ранее К.Н. Лин и соавт. [18] и N. Noguchi и соавт. [19] соответственно. Результаты, полученные с помощью этих методов, также полностью совпали. Таким образом, специфичность разработанной нами мультиплексной ПЦР-РВ с флуоресцентно-мечеными зондами составила 100%.

Обсуждение

Выявление генов резистентности методами ПЦР является широко распространенным и доступным методом их мониторинга. Анализ источников литературы показал, что на сегодняшний день было предложено несколько методов детекции генов *qacA/B* и *smr* на основе ПЦР с электрофоретической детекцией результатов [9, 14, 21–23] и ПЦР-РВ с использованием интеркалирующих ДНК-красителей [18, 24], однако эти методы имеют ряд недостатков, связанных с длительностью тестирования и надёжностью результатов. Метод ПЦР с электрофоретической детекцией требует проведения гель-электрофореза, что увеличивает продолжительность анализа по сравнению с ПЦР-РВ и делает его трудоёмким и неудобным для проведения тестирования большого количества клинических изолятов. ПЦР с использованием интеркалирующих красителей позволяет проводить детекцию ампликонов в режиме реального времени, что сокращает продолжительность тестирования по сравнению с предыдущим методом, однако может давать ложноположительные результаты, поскольку интеркалирующие красители связываются со всеми двухцепочечными ДНК, включая димеры праймеров и возможные неспецифические продукты ПЦР, что требует тщательного подбора праймеров и соблюдения условий проведения ПЦР, включая используемые реактивы [25]. Нами была разработана мультиплексная ПЦР-РВ, которая лишена недостатков вышеупомянутых методов за счёт использования флуоресцентно-меченых зондов TaqMan, а также наличия внутреннего контроля амплификации.

Заключение

Разработана мультиплексная ПЦР-РВ с флуоресцентно-мечеными зондами для выявления генов *qacA/B* и *smr* грамположительных бактерий, которая отличается от существующих методов простотой и быстротой анализа, а также наличием внутреннего контроля амплификации, что позволяет исключить получение ложноотрицательных результатов тестирования. Разработанная мультиплексная

ПЦР-РВ может быть использована для проведения мониторинга распространённости генов *qacA/B* и *smr*-устойчивости к КПАВ для выявления потенциально устойчивых к ним изолятов грамположительных бактерий. Однако следует учитывать, что все молекулярно-генетические тест-системы являются прогностическим инструментом и не исключают необходимости подтверждения фенотипа устойчивости микробиологическими методами.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Chaplin C.E. Bacterial resistance to quaternary ammonium disinfectants. *J. Bacteriol.* 1952;63(4):453–8. DOI: <https://doi.org/10.1128/jb.63.4.453-458.1952>
2. Mc Carlie S., Boucher C.E., Bragg R.R. Molecular basis of bacterial disinfectant resistance. *Drug. Resist. Updat.* 2020;48:100672. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.drup.2019.100672>
3. Ковальчук С.Н., Федорова Л.С., Ильина Е.Н. Молекулярные механизмы микробной устойчивости к дезинфицирующим средствам. *Антибиотики и химиотерапия.* 2023;68(1-2): 45–56. Kovalchuk S.N., Fedorova L.S., Ilina E.N. Molecular mechanisms of microbial resistance to disinfectants. *Antibiotics and Chemotherapy.* 2023;68(1-2):45–56. DOI: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-45-56> EDN: <https://elibrary.ru/hycybo>
4. Merchel Piovesan Pereira B., Tagkopoulos I. Benzalkonium chlorides: uses, regulatory status, and microbial resistance. *Appl. Environ. Microbiol.* 2019;85(13):e00377–19. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.00377-19>
5. Fox L.J., Kelly P.P., Humphreys G.J., et al. Assessing the risk of resistance to cationic biocides incorporating realism-based and biophysical approaches. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 2022; 49(1):kuab074. DOI: <https://doi.org/10.1093/jimb/kuab074>
6. Благонравова А.С., Ковалишена О.В., Саперкин Н.В. Маркетинговое исследование госпитального сегмента регионального рынка средств дезинфекции в медицинских учреждениях. *Медицинский альманах.* 2011;(4):143–5. Blagonravova A.S., Kovalishena O.V., Saperkin N.V. Marketing examination of hospital segment of regional market of disinfectants in medical establishments. *Medical Almanac.* 2011;(4):143–5. EDN: <https://elibrary.ru/nujlqz>
7. Тарасова Е.Ю., Трemasова А.М., Хузин Д.А. и др. Анализ рынка дезинфицирующих средств, используемых в отдельных животноводческих хозяйствах Приволжского федерального округа. *Ветеринарный врач.* 2022;(3):58–66. Tarasova E.Yu., Tremasova A.M., Khuzin D.A., et al. Analysis of the disinfectants market used in some livestock farms of the Volga federal district. *Veterinarian.* 2022;(3):58–66. DOI: https://doi.org/10.33632/1998-698X.2021_58_66 EDN: <https://elibrary.ru/vfvanq>
8. Boyce J.M. Quaternary ammonium disinfectants and antiseptics: tolerance, resistance and potential impact on antibiotic resistance. *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* 2023;12(1):32. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13756-023-01241-z>
9. Hernando-Amado S., Blanco P., Alcalde-Rico M., et al. Multi-drug efflux pumps as main players in intrinsic and acquired resistance to antimicrobials. *Drug. Resist Updat.* 2016;28:13–27. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.drup.2016.06.007>
10. Hassan K.A., Liu Q., Elbourne L.D.H., et al. Pacing across the membrane: the novel PACE family of efflux pumps is widespread in Gram-negative pathogens. *Res. Microbiol.* 2018;169(7-8): 450–4. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2018.01.001>
11. LaBreck P.T., Bochi-Layec A.C., Stanbro J., et al. Systematic analysis of efflux pump-mediated antiseptic resistance in *Staphylococcus aureus* suggests a need for greater antiseptic stewardship. *mSphere.* 2020;5(1):e00959–19. DOI: <https://doi.org/10.1128/msphere.00959-19>
12. Chieffi D., Fanelli F., Fusco V. Antimicrobial and biocide resistance in *Staphylococcus aureus*: genomic features, decontamination strategies, and the role of *S. aureus* complex-related species, with a focus on ready-to-eat food and food-contact surfaces. *Front. Food. Sci. Technol.* 2023;3:1165871. DOI: <https://doi.org/10.3389/frfst.2023.1165871>
13. Ignak S., Nakipoglu Y., Gurler B. Frequency of antiseptic resistance genes in clinical staphylococci and enterococci isolates in Turkey. *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* 2017;6:88. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13756-017-0244-6>
14. El Sayed Zaki M., Bastawy S., Montasser K. Molecular study of resistance of *Staphylococcus aureus* to antiseptic quaternary ammonium compounds. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 2019;17:94–7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.11.022>
15. Ghasemzadeh-Moghaddam H., Azimian A., Bayani G., et al. High prevalence and expression of antiseptic resistance genes among infectious t037/ST239 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains in North Khorasan Province, Iran. *Iran J. Basic Med. Sci.* 2022;25(6):775–80. DOI: <https://doi.org/10.22038/ijbms.2022.63780.14055>
16. Sommer L.M., Krauss J.L., Hultén K.G., et al. The prevalence of antiseptic tolerance genes among staphylococci and enterococci in a pediatric population. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 2019;40(3):333–40. DOI: <https://doi.org/10.1017/ice.2019.3>
17. Юшкевич Е.А. Поиск генов QacA и QacB, опосредующих устойчивость к хлоргексидину, у штаммов рода *Staphylococcus*. В кн.: Алешковский И.А., Андриянов А.В., Антипов Е.А., ред. *Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2020»*. М.;2020. Yushkevich E.A. Search for QacA and QacB genes describing chlorhexidine resistance in a strain of the genus *Staphylococcus*. In: Aleshkovsky I.A., Andriyanov A.V., Antipov E.A., eds. *Materials of the International Youth Scientific Forum «Lomonosov-2020»*. Moscow;2020.
18. Lin K.H., Lin C.Y., Huang C.C., et al. Differentiation of *qacA* and *qacB* using high-resolution melt curve analysis, and both *qacA* and *qacB* but not *qacC* or *norA* types increase chlorhexidine minimal inhibitory concentrations in *Staphylococcus aureus* isolates. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 2020;53(6):900–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.09.006>
19. Noguchi N., Suwa J., Narui K., et al. Susceptibilities to antiseptic agents and distribution of antiseptic-resistance genes *qacA/B* and *smr* of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in Asia during 1998 and 1999. *J. Med. Microbiol.* 2005;54 (Pt. 6):557–65. DOI: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.45902-0>
20. Herlemann D.P., Labrenz M., Jürgens K., et al. Transitions in bacterial communities along the 2000 km salinity gradient of the Baltic Sea. *ISME J.* 2011;5(10):1571–9. DOI: <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.41>
21. Smith K., Gemmell C.G., Hunter I.S. The association between biocide tolerance and the presence or absence of *qac* genes among hospital-acquired and community-acquired MRSA isolates. *J. Antimicrob. Chemother.* 2008;61(1):78–84. DOI: <https://doi.org/10.1093/jac/dkm395>
22. Bjorland J., Steinum T., Kvitle B., et al. Widespread distribution of disinfectant resistance genes among staphylococci of bovine and caprine origin in Norway. *J. Clin. Microbiol.* 2005;43(9):4363–8. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.43.9.4363-4368.2005>
23. Alam M.M., Kobayashi N., Uehara N., Watanabe N. Analysis on distribution and genomic diversity of high-level antiseptic resistance genes *qacA* and *qacB* in human clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Microb. Drug Resist.* 2003;9(2):109–21. DOI: <https://doi.org/10.1089/107662903765826697>
24. Chan M.K.L., Koo S.H., Quek Q., et al. Development of a real-time assay to determine the frequency of *qac* genes in methi-

cillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Microbiol. Methods*. 2018;153:133–8.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.09.017>

Информация об авторах

Ковальчук Светлана Николаевна[✉] — к. б. н., с. н. с. лаб. преодоления микробной резистентности Института системной биологии и медицины, Москва, Россия, s.n.kovalchuk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5029-0750>

Архипова Анна Леонидовна — м. н. с. лаб. преодоления микробной резистентности Института системной биологии и медицины, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-8835-6671>

Ковылкова Светлана Юрьевна — специалист лаб. преодоления микробной резистентности Института системной биологии и медицины, Москва, Россия, <https://orcid.org/0009-0003-5668-7622>

Ильина Елена Николаевна — д. б. н., профессор РАН, член-корреспондент РАН, г.н.с., зав. лаб. математической биологии и биоинформатики Института системной биологии и медицины, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0130-5079>

Федорова Людмила Самуиловна — д. м. н., профессор, зав. лаб. преодоления микробной резистентности Института системной биологии и медицины, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-2663-0273>

Участие авторов: *Ковальчук С.Н.* — концепция и дизайн исследования, организация сбора и обработки материала, написание текста; *Архипова А.Л., Ковылкова С.Ю.* — сбор и обработка материала; *Федорова Л.С., Ильина Е.Н.* — редактирование. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям Международного комитета редакторов медицинских журналов, внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 14.08.2024;
принята к публикации 10.10.2024;
опубликована 29.10.2024

25. Law J.W., Ab Mutalib N.S., Chan K.G., Lee L.H. Rapid methods for the detection of foodborne bacterial pathogens: principles, applications, advantages and limitations. *Front. Microbiol.* 2015;5:770. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00770>

Information about the authors

Svetlana N. Kovalchuk[✉] — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory for overcoming microbial resistance, Research Institute for Systems Biology and Medicine, Moscow, Russia, s.n.kovalchuk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5029-0750>

Anna L. Arkhipova — junior researcher, Laboratory for overcoming microbial resistance, Research Institute for Systems Biology and Medicine, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8835-6671>

Svetlana Yu. Kovyilkova — specialist, Laboratory for overcoming microbial resistance, Research Institute for Systems Biology and Medicine, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0009-0003-5668-7622>

Elena N. Ilyina — D. Sci. (Biol.), Professor, RAS Corresponding Member, principal researcher, Head, Laboratory of Mathematical Biology and Bioinformatics, Research Institute for Systems Biology and Medicine, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0130-5079>

Lyudmila S. Fedorova — D. Sci. (Med.), Head, Laboratory for overcoming microbial resistance, Research Institute for Systems Biology and Medicine, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-2663-0273>

Author contribution: *Kovalchuk S.N.* — concept and design of the study, organization of collection and processing of material, writing of the text; *Arkhipova A.L., Kovyilkova S.Yu.* — collection and processing of material; *Fedorova L.S., Ilyina E.N.* — editing. All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors criteria for authorship, made a substantial contribution to the conception of the article, acquisition, analysis, interpretation of data for the article, drafting and revising the article, final approval of the version to be published.

The article was submitted 14.08.2024;
accepted for publication 10.10.2024;
published 29.10.2024