

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-158-163

УДК 616.98:579.841.11

П.Р. Чирсков<sup>1</sup>, Т.Л.А. Вуй<sup>2</sup>, Д.В. Устинов<sup>1</sup>, А.Д. Викторов<sup>1</sup>, И.Б. Захарова<sup>1</sup>

## Сравнительный анализ потенциальных детерминант резистентности к аминогликозидам у штаммов *Burkholderia pseudomallei* с различным уровнем чувствительности к гентамицину

<sup>1</sup>ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт», Волгоград, Российская Федерация;<sup>2</sup>Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр, Ханой, Социалистическая Республика Вьетнам

**Цель** – поиск и сравнительный анализ потенциальных детерминант резистентности к аминогликозидам у чувствительных к гентамицину штаммов *Burkholderia pseudomallei*. **Материалы и методы.** Проведен биоинформатический анализ шотган полногеномных сиквенсов трех чувствительных к гентамицину штаммов возбудителя мелиоидоза. **Результаты и обсуждение.** Возбудитель мелиоидоза естественно резистентен к аминогликозидам, и этот признак является диагностическим, однако встречаются штаммы, полностью или частично утратившие его. Такие штаммы при классической схеме выделения и идентификации, как правило, не учитываются. При этом значимых отличий в клинических проявлениях мелиоидоза при инфицировании резистентными и чувствительными к гентамицину штаммами не обнаружено. У исследованных штаммов, принадлежащих к трем разным сиквенс-типам (ST70, ST948 и ST1566), обнаружены точечные миссенс-мутации в генах трех эффлюкс-насосов семейства RND: AmrAB-OprA, BpeAB-OprB и BpeEF-OprC – и одного с неизвестными функциями, а также в гене аминогликозид-6'-N-ацетилтрансферазы AAC(6')-III. У всех трех штаммов обнаружены аминокислотные замены в периплазматическом адаптере AmrA: ARG160SER, Arg116Gln и Gly237Arg, Thr317Lys. У умеренно чувствительных штаммов (ST948 и ST1566) обнаружена идентичная замена Val222Met в репрессоре оперона AmrAB-OprA – AmrR. Возможно, что у исследованных штаммов промежуточный уровень чувствительности к гентамицину опосредован конститутивной экспрессией оперона AmrAB-OprA, что частично компенсирует выявленные структурные дефекты. Также не исключена вероятность участия в утрате резистентности к гентамицину динуклеотидной делеции в гене аминогликозид-6'-N-ацетилтрансферазы AAC(6')-III, а также обнаруженных мутаций у гомологов периплазматического адаптера (BPSL2234) неохарактеризованного эффлюкс-оперона семейства RND.

**Ключевые слова:** *Burkholderia pseudomallei*, чувствительность к гентамицину, эффлюкс-насосы семейства RND.

Корреспондирующий автор: Захарова Ирина Борисовна, e-mail: zib279@gmail.com.

Для цитирования: Чирсков П.Р., Вуй Т.Л.А., Устинов Д.В., Викторов А.Д., Захарова И.Б. Сравнительный анализ потенциальных детерминант резистентности к аминогликозидам у штаммов *Burkholderia pseudomallei* с различным уровнем чувствительности к гентамицину. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 3:158–163. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-158-163

Поступила 15.04.2022. Отправлена на доработку 17.05.2022. Принята к публ. 26.05.2022.

P.R. Chirskov<sup>1</sup>, T.L.A. Bui<sup>2</sup>, D.V. Ustinov<sup>1</sup>, A.D. Viktorov<sup>1</sup>, I.B. Zakharova<sup>1</sup>

## Comparative Analysis of Potential Determinants of Resistance to Aminoglycosides in *Burkholderia pseudomallei* Strains with Different Level of Sensitivity to Gentamicin

<sup>1</sup>Volgograd Plague Control Research Institute, Volgograd, Russian Federation;<sup>2</sup>Joint Vietnam-Russia Tropical Science and Technology Research Center, Hanoi, Vietnam

**Abstract.** The aim of the study was to identify and compare potential determinants of aminoglycoside resistance in gentamicin susceptible *Burkholderia pseudomallei* strains. **Materials and methods.** A bioinformatics analysis of whole genome shotgun sequences of three *B. pseudomallei* strains having different levels of sensitivity to gentamicin was carried out. **Results and discussion.** *B. pseudomallei* is intrinsically resistant to aminoglycosides. Such strains, as a rule, are not taken into account in the classical scheme of isolation and identification. At the same time, there were no significant differences in the clinical manifestations of melioidosis during infection with gentamicin-resistant and sensitive strains. In *B. pseudomallei* strains of different sequence types (ST70, ST948, and ST1566), point missense mutations were found in the genes of three efflux pumps of the RND family: AmrAB-OprA, BpeAB-OprB, BpeEF-OprC, and one with unknown functions, as well as in the gene aminoglycoside-6'-N-acetyltransferase AAC(6')-III. All three strains had amino acid substitutions in the AmrA periplasmic linker: ARG160SER, Arg116Gln and Gly237Arg, Thr317Lys, respectively. In moderately sensitive strains (ST948 and ST1566), an identical Val222Met substitution was found in the repressor of the AmrAB-OprA operon, AmrR. It is likely that the intermediate level of sensitivity to gentamicin in the studied strains is mediated by the constitutive expression of the AmrAB-OprA operon, which partially compensates for the structural defects. It is also possible that a dinucleotide deletion in the AAC(6')-III aminoglycoside-6'-N-acetyltransferase gene, as well as detected mutations in the homologues of the periplasmic linker (BPSL2234) of an uncharacterized efflux operon of the RND family, are involved in the loss of resistance to gentamicin.

**Key words:** *Burkholderia pseudomallei*, susceptibility to gentamicin, RND efflux pumps.

**Conflict of interest:** The authors declare no conflict of interest.

Corresponding author: Irina B. Zakharova, e-mail: zib279@gmail.com.

Citation: Chirskov P.R., Bui T.L.A., Ustinov D.V., Viktorov A.D., Zakharova I.B. Comparative Analysis of Potential Determinants of Resistance to Aminoglycosides in *Burkholderia pseudomallei* Strains with Different Level of Sensitivity to Gentamicin. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; 3:158–163. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-158-163  
Received 15.04.2022. Revised 17.05.2022. Accepted 26.05.2022.

Chirskov P.R., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2847-5177>  
Bui T.L.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9266-2156>  
Ustinov D.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4516-731X>

Viktorov A.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5193-6402>  
Zakharova I.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7808-7658>

*Burkholderia pseudomallei* является возбудителем мелиоидоза и представляет собой грамотрицательную палочковидную подвижную бактерию, которая распространена в почве тропических и субтропических регионов всех континентов. Подавляющее большинство штаммов *B. pseudomallei* обладает высоким уровнем устойчивости к аминогликозидам, что используется для выделения возбудителя из почвы и клинического материала с использованием агара Эшдауна, основным селективным ингредиентом которого является гентамицин. Чувствительные к гентамицину ( $Gm^S$ ) изоляты при таком способе выделения культуры практически не учитываются и встречаются в соотношении к резистентным ( $Gm^R$ ) приблизительно 1 на 1000 [1]. Однако фактическое число штаммов, чувствительных к аминогликозидам, может быть значительно выше. Так, при использовании альтернативных методов выделения было обнаружено, что в отдельных случаях  $Gm^S$ -штаммы являются в популяции доминирующими [2]. Недавно показано, что клинические проявления случаев мелиоидоза, обусловленные  $Gm^S$ -штаммами *B. pseudomallei*, не имеют значимых отличий от инфекций, вызванных  $Gm^R$ -штаммами. Кроме того, опубликованы данные, свидетельствующие о более высокой инфекционности и вирулентности  $Gm^S$ -штаммов. В частности, среди взрослых, инфицированных  $Gm^S$ -штаммами, доля пациентов без выявленных факторов риска была статистически достоверно выше, чем среди зараженных резистентными, а доля пациентов с диабетом – ниже [3]. При педиатрическом мелиоидозе, вызванном преимущественно  $Gm^S$ -штаммами *B. pseudomallei*, бактериемия с септическим шоком присутствовала у 57 % пациентов, из которых 43 % окончились летально, несмотря на отсутствие каких-либо очевидных predisposing факторов [4].

Ключевую роль в естественной или приобретенной лекарственной устойчивости многих грамотрицательных патогенов играют системы эффлюкса семейства RND (resistance, nodulation, cell division), среди которых участие в обеспечении устойчивости к аминогликозидам и макролидам у *B. pseudomallei* доказано только для эффлюкс-насоса AmrAB-OrpA [5, 6]. У обнаруженных ранее гентамицин-чувствительных штаммов *B. pseudomallei* идентифицированы точечные миссенс-мутации и динуклеотидные (GC) делеции в гене транспортера AmrB [2, 7], а также отсутствие экспрессии оперона AmrAB-OrpA из-за его делеции или регуляторных мутаций [1]. Участие других систем эффлюкса семейства RND в обеспечении резистентности к гентамицину остается неясным, так же как неясен вклад аминогликозидотрансфераз. В связи с этим **цель** настоящей

работы – проведение поиска и сравнительного анализа потенциальных детерминант резистентности к аминогликозидам у высоко и умеренно чувствительных к гентамицину штаммов *B. pseudomallei*, выделенных в центральном Вьетнаме.

## Материалы и методы

Проведен биоинформатический анализ шотган полногеномных сиквенсов штаммов возбудителя мелиоидоза, полностью (*B. pseudomallei* V1512) или частично (*B. pseudomallei* V1607 и V1608) утративших резистентность к гентамицину: диаметры зон подавления роста на агаре Мюллера – Хинтона – 30, 13 и 14 мм соответственно, при полном отсутствии подавления роста у резистентных штаммов. Выделение ДНК проводили с использованием набора реагентов GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific, Литва) в соответствии с инструкцией производителя. Секвенирование проводили на платформе Illumina MiSeq (Illumina Inc., США), используя рекомендованные производителем наборы реагентов. Геномы собирали *de novo* на ассемблерах Newbler v. 3.0 [8] и SPAdes v. 3.13.0 [9]. Аннотацию осуществляли при помощи сервиса NCBI PGAP v. 5.3 [10]. Аллели локусов по схеме MLST определяли при помощи инструментария базы данных *Burkholderia pseudomallei* MLST Data bases (<https://pubmlst.org/bpseudomallei>). Данные анализировали с помощью программного пакета Snippy (<https://github.com/tseemann/snippy>), в качестве референтных использовали последовательности хромосом 1 и 2 *B. pseudomallei* K96243 (GenBank NC006350 и NC006351). Моделирование белковых структур проводили с использованием алгоритмов SWISS-MODEL (Swiss Institute of Bioinformatics) [11].

Шотган-полногеномные сиквенсы штаммов *B. pseudomallei* V1512 и *B. pseudomallei* V1607 доступны в GenBank NCBI под номерами NZ\_PHRB000000000.1 и NZ\_WTLF000000000.1.

## Результаты и обсуждение

В геномных последовательностях штаммов *B. pseudomallei* V1512 (ST70), V1607 (ST948) и V1608 (ST1566), полностью или частично утративших резистентность к гентамицину, проведен поиск и анализ детерминант, доказанно или потенциально обеспечивающих этот признак. В сравнении с референтными последовательностями большой и малой хромосом штамма *B. pseudomallei* K96243 (NCBI: NC 006350.1 и NC 006351.1) у исследованных штаммов обнаружены точечные миссенс-мутации в генах трех частично охарактеризованных эффлюкс-насосов се-

мейства RND: AmrAB-OprA, VpeAB-OprB и VpeEF-OprC – и одним с неизвестными функциями, а также в гене аминокликозид-6'-N-ацетилтрансферазы (AAC (6')-III).

Инактивация основного для *B. pseudomallei* RND эффлюкса AmrAB-OprA, который является гомологом MexXY-OprM *Pseudomonas aeruginosa* [12], у возбудителя мелиоидоза приводит к значительному снижению МПК для широкого спектра антибиотиков, включая аминокликозиды. Сходным образом инактивация VpeAB-OprB, гомолога *P. aeruginosa* MexAB-OprM, увеличивает чувствительность ко многим антибиотикам, хотя спектр заметно уже, чем для AmrAB-OprA [13]. Интактный VpeEF-OprC обладает узкой субстратной специфичностью и опосредует устойчивость *B. pseudomallei* к триметоприму, широко распространенную среди клинических и почвенных изолятов. У мутантов со сверхэкспрессией этого насоса его субстратный спектр подобен его гомологу MexEF-OprN у *P. aeruginosa* и включа-

ет хлорамфеникол, фторхинолоны, тетрациклины, сульфаметоксазол и триметоприм [14].

В описанных ранее случаях чувствительность штаммов к гентамицину авторы связывали с мутациями в гене транспортера AmrB эффлюкса AmrAB-OprA [2, 7], тогда как у всех исследованных в настоящей работе штаммов отсутствовали изменения в данном гене. У всех трех штаммов присутствовали аминокислотные замены в периплазматическом адаптере AmrA – Arg160Ser у чувствительного штамма V1512; Arg116Gln и Gly237Arg, Thr317Lys – у умеренно чувствительных штаммов V1607 и V1608 (табл. 1). Аминокислотные замены в периплазматическом адаптере AmrA штаммов V1512 и V1607 локализованы на антипараллельных спиральных доменах  $\alpha$ -шпильки. Для MexA эффлюкса MexAB-OprM *P. aeruginosa* показано, что инактивирующие помпу мутации сгруппированы между остатками P68 и V129, что соответствует домену  $\alpha$ -шпильки в N-концевой части этого белка [15],

Таблица 1 / Table 1

Аминокислотные замены белков частично охарактеризованных эффлюкс-насосов семейства RND у штаммов *B. pseudomallei*, утративших резистентность к гентамицину

Amino acid substitutions in proteins of partially characterized RND efflux pumps in *B. pseudomallei* strains bereft of resistance to gentamicin

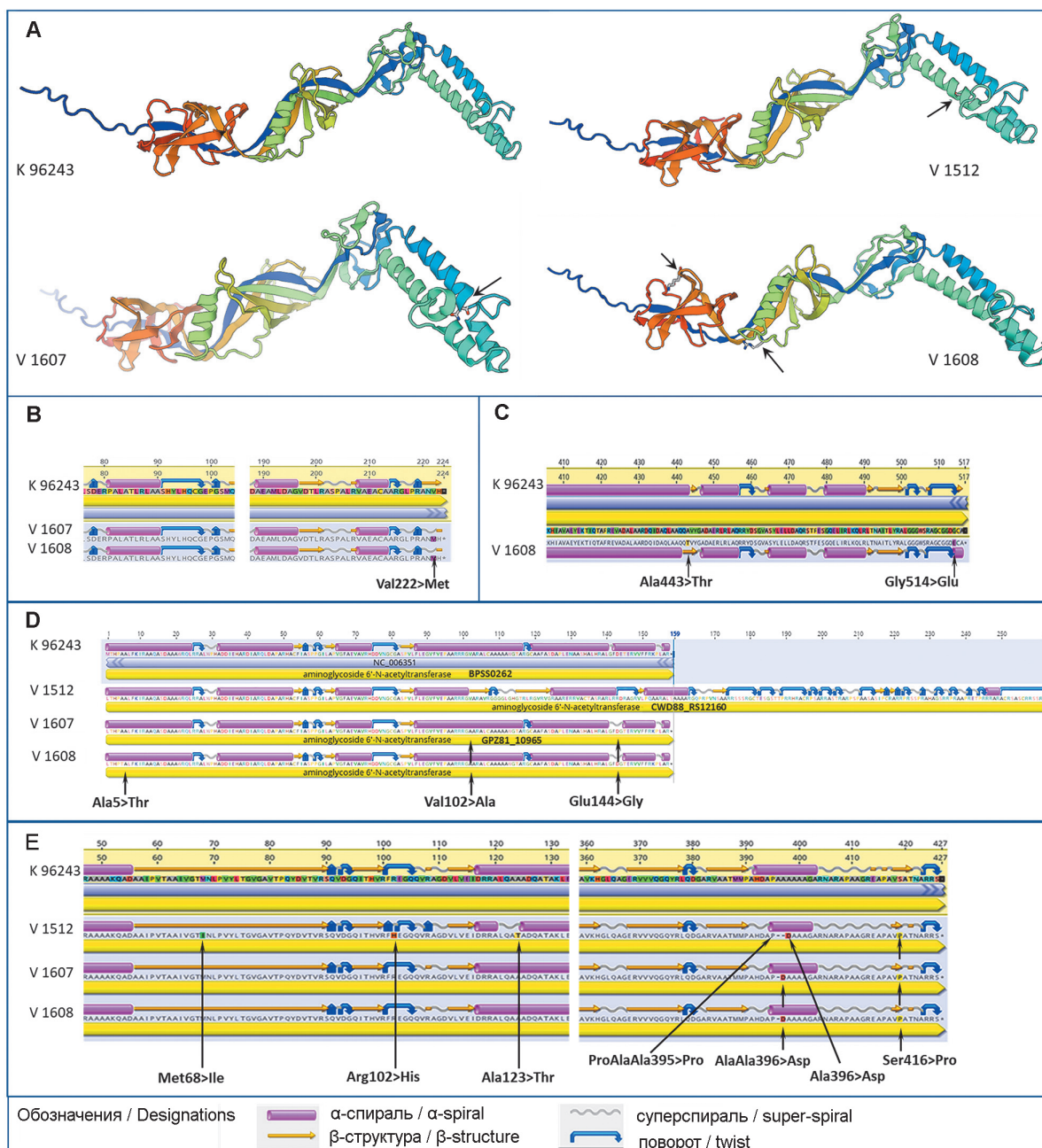
Белок Protein	Локус <i>B. pseudomallei</i> K96243 Locus <i>B. pseudomallei</i> K96243 (GenBank NCBI NC_006350, NC_006351)	Аминокислотные замены (референс>проба) Amino acid substitutions (reference>sample)	Штаммы <i>B. pseudomallei</i> Strains of <i>B. pseudomallei</i>	Чувствительность к гентамицину Susceptibility to gentamicin
<b>AmrAB-OprA</b>				
Белок канала внешней мембраны OprA Outer membrane channel protein OprA	BPSL1802	Ala443>Thr Gly514>Glu	V1608	I
Транспортер AmrB Transporter AmrB	BPSL1803	нет/absent		
Периплазматический адаптер AmrA Membrane fusion protein AmrA	BPSL1804	Arg160>SER	V1512	S
		Arg116>Gln	V1607	I
		Gly237>Arg Thr317>Lys	V1608	I
Регуляторный белок AmrR семейства TetR TetR family regulatory protein AmrR	BPSL1805	Val222>Met	V1607 V1608	I I
<b>VpeAB-OprB</b>				
Регуляторный белок VpeR семейства TetR TetR family regulatory protein VpeR	BPSL0812	нет/absent		
Периплазматический адаптер VpeA Membrane fusion protein VpeA	BPSL0814	Pro46>Ser	V1607	I
Транспортер VpeB Transporter VpeB	BPSL0815	Asn956>Lys	V1512	S
Белок канала внешней мембраны OprB Outer membrane channel protein OprB	BPSL0816	Cys72>Arg	V1512 V1607	S I
		Ala50>Ser	V1512	S
<b>VpeEF-OprC</b>				
Транскрипционный регулятор семейства LysR VpeT Putative LysR-family transcriptional regulator VpeT	BPSS0290	нет/absent		
Транспортер VpeE Transporter VpeE	BPSS0292	нет/absent		
Периплазматический адаптер VpeF Membrane fusion protein VpeF	BPSS0293	нет/absent		
Белок канала внешней мембраны OprC Outer membrane channel protein OprC	BPSS0294	Val294>Ala	V1512	S
			V1607	I
			V1608	I

Примечание: S – чувствительный, I – умеренно устойчивый.

Note: S – sensitive, I – intermediate level of resistance.

причем одна из замен, нарушающих олигомеризацию MexA (V129M), в сравнении с AmrA локализована в пределах двух соседних аминокислотных остатков. У штамма V1608 мутации затронули проксимальный мембранный домен (Thr317Lys) и β-бочонок (Gly237Arg) (рисунок, А). Необходимо отметить, что у обоих умеренно чувствительных штаммов V1607 и V1608 в репрессоре оперона

AmrR семейства TetR присутствовали идентичные замены Val222Met, вследствие чего нарушается фрагмент β-структуры С-концевого участка белка, входящего в состав лиганд-связывающего домена (рисунок, В). Кроме того, у штамма V1608 обнаружены замены Ala443Thr и Gly514Glu в белке канала внешней мембраны OprA, что привело к изменению его вторичной структуры (рисунок, С).



Спектр мутаций и вторичная структура белков исследованных штаммов в сравнении с гомологами референтного штамма *B. pseudomallei* K96243:

A – 3D-модели периплазматического адаптера AmrA эффлюкса AmrAB-OprA; схемы вторичной структуры B – репрессора AmrR эффлюкса AmrAB-OprA; C – белка канала внешней мембраны OprA эффлюкса AmrAB-OprA; D – аминогликозид-6'-N-ацетилтрансферазы; E – гипотетического транспортера семейства AcrB/AcrD/AcrF неохарактеризованного эффлюкса семейства RND. Аминокислотные замены указаны стрелками, неизмененные части не показаны

The spectrum of mutations and the secondary structure of the investigated strains' proteins in comparison with homologues of the reference strain *B. pseudomallei* K96243:

A – 3D-models of the membrane fusion protein AmrA of the AmrAB-OprA efflux; schemes of the secondary structure: B – TetR family regulatory protein AmrR of the AmrAB-OprA efflux; C – outer membrane channel protein OprA of the AmrAB-OprA efflux; D – putative aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase; E – putative AcrB/AcrD/AcrF family membrane protein of the putative RND multi-drug efflux pump. Amino acid substitutions are indicated by arrows, unchanged parts are not shown

Эффлюкс ВреАВ-ОргВ имеет доказанную субстратную специфичность для хлорамфеникола, фторхинолонов, тетрациклинов и макролидов. Роль этого эффлюкса в устойчивости к аминогликозидам остается неопределенной. Так, по одним данным, делеция *bpeAB* у сингапурского штамма *B. pseudomallei* КНВ приводила к повышению чувствительности к гентамицину [13], тогда как по другим – эффлюкс ВреАВ-ОргВ не опосредует отток аминогликозидов. При этом сравнительный анализ показал значительные отличия в аминокислотных последовательностях ВреА и ОргВ сингапурского штамма от гомологов других штаммов, что не исключало возможности изменения субстратной специфичности эффлюкса ВреАВ-ОргВ у *B. pseudomallei* КНВ [16]. У одного из исследованных штаммов с промежуточной чувствительностью к гентамицину – *B. pseudomallei* V1608 – каких-либо изменений в последовательностях белков эффлюкса ВреАВ-ОргВ не обнаружено, у другого – *B. pseudomallei* V1607 – присутствовали аминокис-

лотные замены в ВреА (Pro46Ser) и ОргВ (Cys72Arg). У полностью утратившего резистентность к гентамицину штамма *B. pseudomallei* V1512 в ОргВ в положении 72 обнаружена идентичная замена цистеина на аргинин и дополнительная – Ala50Ser, а также замена Asn956Lys в транспортере ВреВ (табл. 1).

Среди компонентов эффлюкса ВреЕФ-ОргС обнаружена единственная аминокислотная замена в белке канала внешней мембраны ОргС (Val294Ala), идентичная для всех трех исследованных штаммов (табл. 1).

Сопоставление спектра мутаций с фенотипами штаммов позволяет предположить, что утрата резистентности к гентамицину не связана с изменениями первичной структуры продуктов эффлюкс-оперонов ВреАВ-ОргВ и ВреЕФ-ОргС. Кроме того, известно, что эти два насоса экспрессируются у *B. pseudomallei* только в мутантах по регуляторным белкам ВреР и ВреТ [7], тогда как у исследованных штаммов мутации в генах этих белков отсутствовали.

Таблица 2 / Table 2

Аминокислотные замены белков неохарактеризованного эффлюкс-насоса семейства RND и аминогликозид-6'-N-ацетилтрансферазы у штаммов *B. pseudomallei*, утративших резистентность к гентамицину

Amino acid substitutions in proteins of putative RND multi-drug efflux pump and aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase in *B. pseudomallei* strains that lost resistance to gentamicin

Белок Protein	Локус <i>B. pseudomallei</i> K96243 Locus <i>B. pseudomallei</i> K96243 (GenBank NCBI NC_006350, NC_006351)	Аминокислотные замены (референс>проба) Amino acid substitutions (reference>sample)	Штаммы <i>B. pseudomallei</i> Strains <i>B. pseudomallei</i>	Чувствительность к гентамицину Susceptibility to gentamicin
<b>Неохарактеризованный эффлюкс-насос семейства RND</b> <b>Putative RND multi-drug efflux pump</b>				
Предполагаемый периплазматический адаптер Putative membrane fusion protein	BPSL2234	Met68>Ile	V1512	S
		Arg102>His	V1512	S
		Ala123>Thr	V1512	S
		ProAlaAla395>Pro	V1512	S
		Ala396>Asp	V1512 V1607 V1608	S I I
		Ser416>Pro	V1512	S
Гипотетический транспортер семейства AcrB/AcrD/AcrF Putative AcrB/AcrD/AcrF family membrane protein	BPSL2235	Ser419>Pro	V1607 V1608	I I
		Arg208>His	V1512	S
Гипотетический мембранный белок Putative membrane protein	BPSL2236	Leu303>Arg	V1607 V1608	I I
		Thr93>Met	V1607	I
<b>Аминогликозид-6'-N-ацетилтрансфераза</b> <b>Putative aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase</b>				
Аминогликозид-6'-N-ацетилтрансфераза Putative aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase	BPSS0262	Сдвиг рамки считывания за счет ΔGC: замена Leu106Val и смещение стоп-кодона в область соседней открытой рамки считывания Shift of the reading frame due to ΔGC: substitution of Leu106Val and drifting of the stop-codon towards the neighboring open reading frame	V1512	S
		Ala5>Thr	V1608	I
		Val102>Ala Glu144>Gly	V1607 V1608	I I

Примечание: S – чувствительный, I – умеренно устойчивый.

Note: S – sensitive, I – intermediately resistant.

У полностью чувствительного к гентамицину штамма *B. pseudomallei* V1512 в гене AAC (6')-III обнаружена делеция GC, повлекшая замену Leu106Val и сдвиг рамки считывания с образованием аномально длинного продукта за счет смещения стоп-кодона в область соседней CDS. У штаммов V1607 и V1608 с промежуточной чувствительностью к гентамицину в этом гене присутствуют две (Val102Ala и Glu144Gly) и три миссенс-мутации (Ala5Thr, Val102Ala и Glu144Gly) соответственно (табл. 2, рисунок, D).

В периплазматическом адаптере неохарактеризованного эффлюкс-оперона семейства RND – гомологе BPSL2234 – у всех исследованных штаммов обнаружены две идентичные замены Ala396Asp и Ser416Pro, у штамма *B. pseudomallei* V1512 дополнительно присутствовали три миссенс-мутации Met68Ile, Arg102His, Ala123Thr и делеция двух остатков аланина (ProAlaAla395Pro). В гипотетическом транспортере семейства AcrB/AcrD/AcrF (гомолог BPSL2235), имеющем сходство с транспортером эффлюкса аминогликозидов AcrD *Escherichia coli* [17], у *B. pseudomallei* V1512 присутствовала замена Arg208His, а у двух штаммов с промежуточной чувствительностью – Leu303Arg (табл. 2, рисунок, E).

Проведенное исследование спектра мутаций в потенциальных детерминантах резистентности к аминогликозидам, выявленных у штаммов *B. pseudomallei* с различным уровнем резистентности к гентамицину, расширило представление об известном механизме естественной резистентности возбудителя мелиоидоза к аминогликозидам, опосредованном эффлюксом AmrAB-OprA. В частности, показано, что чувствительность к гентамицину возникает не только при полной делеции оперона или при наличии аминокислотных замен и коротких делеций в транспортере AmrB, но и в случаях мутаций в периплазматическом адаптере AmrA. Также обнаружено, что при дефектном AmrA уровень устойчивости к гентамицину может быть частично компенсирован за счет мутаций в репрессоре AmrR, вероятно, вследствие конститутивной экспрессии оперона. Кроме того, впервые показано возможное участие в формировании резистентности к гентамицину неохарактеризованного эффлюкс-оперона семейства RND (BPSL2234\_BPSL2235\_BPSL2236) и аминогликозид-6'-N-ацетилтрансферазы AAC (6')-III.

**Конфликт интересов.** Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

#### References / Список литературы

1. Trunck L.A., Propst K.L., Wuthiekanun V., Tuanyok A., Beckstrom-Sternberg S.M., Beckstrom-Sternberg J.S., Peacock S.J., Keim P., Dow S.W., Schweizer H.P. Molecular basis of rare aminoglycoside susceptibility and pathogenesis of *Burkholderia pseudomallei* clinical isolates from Thailand. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2009; 3(9):e519. DOI: 10.1371/journal.pntd.0000519.
2. Podin Y., Sarovich D.S., Price E.P., Kaestli M., Mayo M., Hii K., Ngian H., Wong S., Wong I., Wong J., Mohan A., Ooi M., Fam T., Wong J., Tuanyok A., Keim P., Giffard P.M., Currie B.J. *Burkholderia pseudomallei* isolates from Sarawak, Malaysian Borneo, are predominantly susceptible to aminoglycosides and macrolides. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014; 58(1):162–6. DOI: 10.1128/AAC.01842-13.

3. Sia T.L.L., Mohan A., Ooi M.H., Chien S.L., Tan L.S., Goh C., Pang D.C.L., Currie B.J., Wong J.S., Podin Y. Corrigendum to: Epidemiological and clinical characteristics of melioidosis caused by gentamicin-susceptible *Burkholderia pseudomallei* in Sarawak, Malaysia. *Open Forum Infect. Dis.* 2022; 9(2):ofab653. DOI: 10.1093/ofid/ofab653.

4. Mohan A., Podin Y., Tai N., Chieng C.H., Rigas V., Machunter B., Mayo M., Wong D., Chien S.L., Tan L.S., Goh C., Bantin R., Mijen A., Chua W.Y., Hii K.C., Wong S.C., Ngian H.U., Wong J.S., Hashim J., Currie B.J., Ooi M.H. Pediatric melioidosis in Sarawak, Malaysia: Epidemiological, clinical and microbiological characteristics. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2017; 11(6):e0005650. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005650.

5. Moore R.A., DeShazer D., Reckseidler S., Weissman A., Woods D.E. Efflux-mediated aminoglycoside and macrolide resistance in *Burkholderia pseudomallei*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1999; 43(3):465–70. DOI: 10.1128/AAC.43.3.465.

6. Viktorov D.V., Zakharova I.B., Podshivalova M.V., Kalinkina E.V., Merinova O.A., Ageeva N.P., Antonov V.A., Merinova L.K., Alekseev V.V. High-level resistance to fluoroquinolones and cephalosporins in *Burkholderia pseudomallei* and closely related species. *Trans R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2008; 102 Suppl 1:S103–10. DOI: 10.1016/S0035-9203(08)70025-7.

7. Bugrysheva J.V., Sue D., Gee J.E., Elrod M.G., Hoffmaster A.R., Randall L.B., Chirakul S., Tuanyok A., Schweizer H.P., Weigel L.M. Antibiotic resistance markers in *Burkholderia pseudomallei* strain Bp1651 identified by genome sequence analysis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2017; 61(6):e00010–17. DOI: 10.1128/AAC.00010-17.

8. Chaisson M.J., Pevzner P.A. Short read fragment assembly of bacterial genomes. *Genome Res.* 2008; 18(2):324–30. DOI: 10.1101/gr.7088808.

9. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., Lesin V.M., Nikolenko S.I., Pham S., Pribelski A.D., Pyshkin A.V., Sirotkin A.V., Vyahhi N., Tesler G., Alekseyev M.A., Pevzner P.A. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012; 19(5):455–77. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021.

10. Tatusova T., DiCuccio M., Badretdin A., Chetvernin V., Nawrocki E.P., Zaslavsky L., Lomsadze A., Pruitt K.D., Borodovsky M., Ostell J. NCBI prokaryotic genome annotation pipeline. *Nucleic Acids Res.* 2016; 44(14):6614–24. DOI: 10.1093/nar/gkw569.

11. Waterhouse A., Bertoni M., Bienert S., Studer G., Tauriello G., Gumienny R., Heer F.T., de Beer T.A.P., Rempey C., Bordoli L., Lepore R., Schwede T. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Res.* 2018; 46(W1):W296–W303. DOI: 10.1093/nar/gky427.

12. Podnecky N.L., Rhodes K.A., Schweizer H.P. Efflux pump-mediated drug resistance in *Burkholderia*. *Front. Microbiol.* 2015; 6:305. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00305.

13. Chan Y.Y., Tan T.M., Ong Y.M., Chua K.L. BpeAB-OprB, a multidrug efflux pump in *Burkholderia pseudomallei*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004; 48(4):1128–35. DOI: 10.1128/AAC.48.4.1128-1135.2004.

14. Podnecky N.L., Wuthiekanun V., Peacock S.J., Schweizer H.P. The BpeEF-OprC efflux pump is responsible for widespread trimethoprim resistance in clinical and environmental *Burkholderia pseudomallei* isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013; 57(9):4381–6. DOI: 10.1128/AAC.00660-13.

15. Nehme D., Li X.Z., Elliot R., Poole K. Assembly of the MexAB-OprM multidrug efflux system of *Pseudomonas aeruginosa*: identification and characterization of mutations in mexA compromising MexA multimerization and interaction with MexB. *J. Bacteriol.* 2004; 186(10):2973–83. DOI: 10.1128/JB.186.10.2973-2983.2004.

16. Mima T., Schweizer H.P. The BpeAB-OprB efflux pump of *Burkholderia pseudomallei* 1026b does not play a role in quorum sensing, virulence factor production, or extrusion of aminoglycosides but is a broad-spectrum drug efflux system. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010; 54(8):3113–20. DOI: 10.1128/AAC.01803-09.

17. Rosenberg E.Y., Ma D., Nikaido H. AcrD of *Escherichia coli* is an aminoglycoside efflux pump. *J. Bacteriol.* 2000; 182(6):1754–6. DOI: 10.1128/JB.182.6.1754-1756.2000.

#### Authors:

Chirskov P.R., Ustinov D.V., Viktorov A.D., Zakharova I.B. Volgograd Plague Control Research Institute, 7, Golubinskaya St., Volgograd, 400131, Russian Federation. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Bui T.L.A. Joint Vietnam-Russia Tropical Science and Technology Research Center. Hanoi, Vietnam.

#### Об авторах:

Чирсков П.Р., Устинов Д.В., Викторов А.Д., Захарова И.Б. Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 400131, Волгоград, ул. Голубинская, 7. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Вуй Т.Л.А. Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр. Социалистическая Республика Вьетнам, Ханой.