

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 579.842.572.6+576.8

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-2-125-139>

Поступила в редакцию 24.02.2026

Received 24.02.2026

Ж. Ф. Циркунова¹, М. П. Потапнев¹, О. В. Красько², В. А. Филонюк³

¹Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

²Объединенный институт проблем информатики Национальной академии наук Беларуси,
Минск, Республика Беларусь

³Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, Минск, Республика Беларусь

IN VITRO АНАЛИЗ КОМБИНИРОВАННОЙ ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *ESCHERICHIA COLI* И *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* К АНТИБИОТИКАМ И ГУМОРАЛЬНЫМ ФАКТОРАМ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА

Аннотация. Одной из проблем современной медицины является формирование у бактерий комбинированной устойчивости к антимикробным средствам и гуморальным факторам врожденного иммунитета. Такой фенотип микроорганизмов не только сужает возможности антимикробной терапии, но и позволяет патогенам более эффективно преодолевать первую линию защиты организма человека, вызывая тяжелые диссеминированные процессы, трудно поддающиеся стандартным схемам лечения.

Цель данного исследования – изучение *in vitro* наличия комбинированной фенотипической устойчивости клинических изолятов энтеробактерий к антибиотикам и гуморальным факторам врожденного иммунитета, содержащимся в сыворотке и плазме крови.

В работе исследовано 59 клинических изолятов *Escherichia coli* ($n = 30$) и *Klebsiella pneumoniae* ($n = 29$), выделенных в различных стационарах г. Минска в 2021–2023 гг. Определение чувствительности бактерий к антибиотикам проводили на анализаторе Vitek 2 Compact (BioMerieux, Франция). Устойчивость к антимикробному действию нативной сыворотки, нативной плазмы и плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов (ПОРФТ/PRP), оценивали методом серийных разведений в жидкой питательной среде.

Установлена высокая частота комбинированной устойчивости грамотрицательных бактерий к экзогенным и эндогенным антимикробным веществам. Показано, что у клинических изолятов *E. coli* устойчивость к пенициллинам, цефалоспорином, фторхинолонам и сульфанамидам сочетается с устойчивостью к сыворотке крови в 60,0–66,7 % случаев. Изоляты *K. pneumoniae* продемонстрировали критически высокую резистентность к карбапенемам (72,4 %), защищенным пенициллинам (79,3 %), цефалоспорином (82,1 %) и фторхинолонам (82,8 %), при этом большинство таких штаммов также было устойчиво и к плазме крови (69,2–81,8 %). ПОРФТ/PRP продемонстрировала выраженный бактериостатический эффект в отношении 88,9 % изолятов *E. coli* и 100 % *K. pneumoniae*.

Ключевые слова: энтеробактерии, устойчивость, антибиотики, гуморальные факторы, плазма крови, сыворотка крови, плазма, обогащенная растворимыми факторами тромбоцитов

Для цитирования: *In vitro* анализ комбинированной фенотипической устойчивости клинических изолятов *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae* к антибиотикам и гуморальным факторам врожденного иммунитета / Ж. Ф. Циркунова, М. П. Потапнев, О. В. Красько, В. А. Филонюк // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук. – 2026. – Т. 23, № 2. – С. 125–139. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-2-125-139>

Zhanna F. Tsyrukunova¹, Michael P. Potapnev¹, Olga V. Krasko², Vasily A. Filanyuk³

¹Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

²United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

³Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Minsk, Republic of Belarus

IN VITRO ANALYSIS OF COMBINED PHENOTYPIC RESISTANCE OF CLINICAL ISOLATES OF *ESCHERICHIA COLI* AND *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* TO ANTIBIOTICS AND HUMORAL FACTORS OF INNATE IMMUNITY

Abstract. One of the serious challenges in modern medicine is the development of combined resistance in bacteria to antimicrobial agents and humoral factors of innate immunity. This phenotype not only limits the options for antimicrobial therapy but also enables pathogens to more effectively overcome the body's first line of defense, leading to severe disseminated processes that are difficult to manage with standard treatment regimens.

The aim of this study was to assess *in vitro* the presence of combined phenotypic resistance in clinical *Enterobacteriaceae* isolates to antibiotics and humoral factors of innate immunity present in blood serum and plasma.

A total of 59 clinical isolates of *Escherichia coli* ($n = 30$) and *Klebsiella pneumoniae* ($n = 29$), collected from various hospitals in Minsk between 2021 and 2023, were analyzed. The antibiotic susceptibility testing was performed using the VITEK 2

Compact system. The resistance to the antimicrobial action of native serum, native plasma, and platelet-rich plasma (PRP) was evaluated using the broth microdilution method.

A high prevalence of combined resistance to exogenous and endogenous antimicrobial agents was observed in Gram-negative bacteria. Among clinical isolates of *E. coli*, resistance to penicillins, cephalosporins, fluoroquinolones, and sulfonamides was associated with resistance to blood serum in 60.0–66.7 % of cases. In contrast, *K. pneumoniae* isolates exhibited critically high resistance to carbapenems (72.4 %), protected penicillins (79.3 %), cephalosporins (82.1 %), and fluoroquinolones (82.8 %), with the majority of these strains also resistant to blood plasma (69.2–81.8 %). The present study demonstrated a pronounced bacteriostatic effect of PRP against 88.9 % of multidrug-resistant *E. coli* isolates and 100 % of *K. pneumoniae* isolates.

Keywords: *Enterobacteriaceae*, resistance, antibiotics, humoral factors, blood plasma, blood serum, platelet-enriched plasma

For citation: Tsykunova Zh. F., Potapnev M. P., Krasko O. V., Filanyuk V. A. *In vitro* analysis of combined phenotypic resistance of clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* to antibiotics and humoral factors of innate immunity. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2026, vol. 23, no. 2, pp. 125–139 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2026-23-2-125-139>

Введение. Распространение антибиотикорезистентности у грамотрицательных бактерий, в частности у *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae*, является одной из наиболее острых и актуальных проблем современной клинической медицины и общественного здравоохранения [1–4]. Резистентность к антимикробным средствам у данных микроорганизмов зачастую носит множественный характер. Они успешно аккумулируют различные механизмы устойчивости к ключевым классам антибиотиков, включая бета-лактамы (за счет продукции бета-лактамаз расширенного спектра и карбапенемаз), фторхинолоны, аминогликозиды [1–4].

Параллельно с антибиотикотерапией ключевым барьером на пути бактериальных патогенов выступают гуморальные факторы врожденного иммунитета, такие как система комплемента, антимикробные пептиды и др. [5–9]. В последние десятилетия в научной литературе накоплен значительный объем данных, свидетельствующих о широкой распространенности устойчивости клинических изолятов бактерий к антимикробному действию сыворотки крови [10–17].

Следует отметить, что в современной научной литературе доминирует термин «сывороточная устойчивость», обозначающий способность микроорганизмов противостоять бактерицидному действию компонентов сыворотки крови, прежде всего белков системы комплемента [18, 19]. Этот показатель традиционно рассматривается как один из ключевых факторов вирулентности микроорганизмов и связывается с развитием системных инфекций [17–19]. При этом практически не учитывается устойчивость микроорганизмов к нативной плазме крови, несмотря на то что плазма более точно отражает реальные физиологические условия. Нативная плазма сохраняет полный спектр иммунных компонентов: антимикробные пептиды, лактоферрин, трансферрин, иммуноглобулины, цитокины и медиаторы воспаления, а также факторы свертывания, способные оказывать прямое или опосредованное влияние на жизнеспособность микроорганизмов. Недавние исследования показывают, что устойчивость к сыворотке крови не всегда напрямую коррелирует с клиническими исходами, такими как тяжесть заболевания или летальность, что ставит под сомнение универсальность данного показателя как маркера вирулентности микроорганизмов. Так, в работе [18] было показано, что некоторые штаммы *E. coli*, устойчивые к сыворотке, не демонстрировали повышенную инвазивность в клинических условиях. Все это указывает на необходимость пересмотра экспериментальных моделей и перехода к более физиологически релевантным системам, основанным на использовании нативной плазмы крови.

В свете неуклонного роста устойчивости микроорганизмов как к экзогенным, так и эндогенным антимикробным веществам все более актуальными и востребованными являются исследования, направленные на анализ и выявление перекрестной и комбинированной устойчивости. Сформированный бактериями двойной фенотип устойчивости представляет особую угрозу, так как штаммы микроорганизмов, сочетающие множественную лекарственную устойчивость со способностью уклоняться от действия иммунной системы, могут приводить к тяжелым, неконтролируемым системным инфекциям. Такая одновременная устойчивость микроорганизмов может возникнуть, когда один и тот же механизм (многокомпонентный эффлюксный насос; снижение проницаемости внешних структур микробной клетки; модификация мишени; инактивация

антимикробных веществ и др.) обеспечивает устойчивость бактерий к различным антимикробным веществам; когда два гена физически связаны на одном участке ДНК и наследуются вместе, а также при совместной регуляции, когда трансляционные или транскрипционные ответы на один агент приводят к скоординированному ответу на более чем один агент [20–22]. Можно предположить, что механизмы, которые развились для обеспечения защиты патогенных бактерий от эндогенных антимикробных веществ могут также ускорить эволюцию устойчивости к терапевтическим экзогенным средствам и наоборот [5, 23–25].

Следует отметить, что в ответ на глобальный кризис антибиотикорезистентности научные усилия смещаются от простого поиска новых антимикробных веществ к разработке новых стратегий [26]. Особый интерес в этом контексте представляет изучение аутологичной плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов (ПОРФТ/PRP), которая представляет собой концентрированную и активированную модель гуморального иммунитета, объединяющую действие факторов комплемента, антимикробных пептидов и широкого спектра биоактивных молекул, высвобождаемых тромбоцитами. За счет кооперативного действия этих компонентов ПОРФТ/PRP демонстрирует прямую антимикробную активность в отношении широкого спектра патогенов [27–32]. Критически важным аспектом является изучение чувствительности бактерий к такому многофакторному воздействию. Принципиально то, что резистентность к гуморальным факторам нативной сыворотки/плазмы может не коррелировать с устойчивостью к сложному комплексу биоактивных компонентов ПОРФТ/PRP, что позволяет рассматривать ее в качестве дополнительного инструмента в борьбе с множественно устойчивыми (МЛУ) бактериями. Антимикробные, иммуномодулирующие и репаративные свойства ПОРФТ/PRP обосновывают актуальность ее изучения в качестве потенциального агента для местной терапии сложных инфекций.

В качестве объектов исследования были выбраны клинические изоляты энтеробактерий, так как известно, что большинство тяжелых инфекций в мире, включая инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, вызываются грамотрицательными микроорганизмами, в том числе относящимися к семейству *Enterobacteriaceae* [33]. Энтеробактерии, в частности *K. pneumoniae*, относятся к группе ESCAPE-патогенов с высоким потенциалом формирования штаммов с множественной устойчивостью к большинству известных антибиотиков [34]. Хотя *E. coli* и не относится к группе ESCAPE-патогенов, однако и для нее характерно развитие множественной устойчивости к антимикробным средствам [35].

Цель работы – комплексная *in vitro* оценка устойчивости клинических изолятов *E. coli* и *K. pneumoniae* к панели стандартных антибиотиков и их одновременной устойчивости к антимикробному действию различных гуморальных сред: нативной плазмы, сыворотки крови и ПОРФТ/PRP.

Материалы и методы исследования. Объектами исследования явились 59 клинических изолятов микроорганизмов, хранящихся в рабочей коллекции лаборатории внутрибольничных инфекций Научно-исследовательского института экспериментальной и клинической медицины Белорусского государственного медицинского университета и принадлежащих видам *K. pneumoniae* ($n = 29$), *E. coli* ($n = 30$). Бактерии были изолированы в 2021–2023 гг. от пациентов, проходящих лечение в различных стационарах г. Минска, из образцов крови; мочи; мокроты или лаважной жидкости; мазков или соскобов из полости рта, зева, глотки, уха, ануса; отделяемого из дренажей и ран при количественном посеве на питательные среды. Номера клинических изолятов бактерий изменены и не несут никакой информации о пациентах. Видовую идентификацию бактериальных культур проводили с помощью автоматического анализатора Vitek 2 Compact (BioMérieux, Франция). В качестве типовых тест-культур использовали *E. coli* ATCC 8739, *K. pneumoniae* ATCC 700603.

Бактерии культивировали на питательных средах: триптиказо-соевый бульон (ТСБ) (HiMedia, Индия), триптиказо-соевый агар (ТСА) (HiMedia), бульон Мюллера – Хинтона (HiMedia) при температуре $+35 \pm 2$ °C в течение 18–24 ч.

Для приготовления инокулюма использовали метод прямого суспендирования колоний в стерильном изотоническом растворе до плотности 0,5 по стандарту мутности МакФарланда, что

соответствует нагрузке $1-2 \times 10^8$ КОЕ/мл. Далее суспензии микроорганизмов разводили 1 : 10 и 1 : 100 стерильным двукратным бульоном Мюллера – Хинтона ($1-2 \times 10^7$ и $1-2 \times 10^6$ КОЕ/мл).

Чувствительность бактериальных изолятов к антибиотикам определяли с помощью микробиологического анализатора Vitek 2 Compact с использованием различных карт для грамотрицательных бактерий.

Антибиотики, к которым была тестирована *E. coli*: аминогликозиды (гентамицин, амикацин), карбапенемы (эртапенем, меропенем, имипенем), комбинация пенициллинов с ингибиторами β -лактамаз (амоксциллин-клавулановая кислота, пиперациллин-тазобактам), пенициллины (ампициллин, пиперациллин), тетрациклины (тетрациклин, миноциклин), глицилциклины (тигекциклин), фторхинолоны (ципрофлоксацин, норфлоксацин, левофлоксацин, моксифлоксацин), цефалоспорины (цефотаксим, цефтазидим, цефепим, цефтриаксон), прочие (фосфомицин, триметоприм-сульфаметоксазол).

Антибиотики, к которым была тестирована *K. pneumoniae*: аминогликозиды (гентамицин, амикацин), карбапенемы (эртапенем, меропенем, имипенем), комбинация пенициллинов с ингибиторами β -лактамаз (амоксциллин-клавулановая кислота, пиперациллин-тазобактам, амоксициллин-сульбактам), монобактамы (азтреонам), пенициллины (ампициллин, пиперациллин), тетрациклины (тетрациклин, миноциклин), глицилциклины (тигекциклин), фторхинолоны (ципрофлоксацин, норфлоксацин, левофлоксацин, моксифлоксацин), цефалоспорины (цефазолин, цефуроксим, цефтазидим, цефепим, цефтриаксон, цефотаксим), полимиксины (колистин), амфениколы (хлорамфеникол), прочие (триметоприм-сульфаметоксазол, фосфомицин).

По результатам определения чувствительности к антибиотикам все клинические изоляты бактерий были разделены на две фенотипические группы. К первой группе были отнесены чувствительные (S) изоляты, не обладающие приобретенной резистентностью или демонстрирующие резистентность к единичным антибиотикам не более чем двух различных классов. Все остальные изоляты составили вторую группу – бактерии с множественной лекарственной устойчивостью. В данную группу вошли штаммы бактерий со всеми категориями множественной устойчивости: мульти- (MDR), экстремально- (XDR) и панрезистентные (PDR).

Для последующего анализа комбинированной устойчивости бактерий к антибиотикам и сыворотке/плазме крови и расчета доли клинических изолятов энтеробактерий, устойчивых к конкретному классу антимикробных препаратов, использовали дополнительные критерии. К категории «устойчивый к классу» (например, к карбапенемам, пенициллинам или цефалоспорином) относили только те штаммы, которые продемонстрировали фенотип резистентности ко всем протестированным антибиотикам, представляющим данный класс. В случае выявления чувствительности хотя бы к одному из препаратов класса (например, чувствительность к меропенему при резистентности к имипенему), изолят для целей данного исследования рассматривали как чувствительный к данному классу. В соответствии с этим критерием в дальнейшем вычисляли процент клинических изолятов бактерий, устойчивых к каждому из классов антибиотиков, от общего числа исследованных штаммов.

Чувствительность бактерий к сыворотке/плазме человеческой крови оценивали методом разведения в жидкой питательной среде с использованием 96 луночных микробиологических планшетов для суспензионных культур. В лунки вносили по 100 мкл бульона Мюллера – Хинтона, содержащего бактериальные клетки в концентрации 2×10^6 КОЕ/мл, и 100 мкл плазмы/сыворотки крови в разведении 1 : 5, 1 : 2,5 и без разведения (конечная концентрация плазмы/сыворотки – 10, 20 и 50 %). Для оценки антимикробной активности цельной плазмы/сыворотки крови в лунки, содержащие 180 мкл плазмы/сыворотки, инокулировали по 20 мкл бактериальной суспензии (1×10^7 КОЕ/мл) (конечная концентрация – 90 %). Планшеты инкубировали при температуре 35 ± 2 °С, через 18–24 ч добавляли по 20 мкл 0,4%-го раствора хлорида 2,3,5-трифенилтетразолия (ТТХ, ВЕКТОН, Россия), термостатировали 1 ч при температуре 35 ± 2 °С. Результаты оценивали визуально по наличию/отсутствию роста. Для последующего определения минимальной бактерицидной концентрации (МБК) плазмы/сыворотки крови проводили посеvy из лунок без видимого роста бактерий на агаризованную питательную среду.

В качестве отрицательного контроля № 1 использовали лунки, содержащие 100 мкл физраствора и 100 мкл питательной среды (контроль стерильности питательной среды); отрицательного контроля № 2 – лунки, содержащие плазму/сыворотку в конечной концентрации 10, 20, 50 и 90 % (контроль стерильности плазмы/сыворотки крови). В качестве положительного контроля № 1 использовали лунки с 200 мкл бульона Мюллера – Хинтона, содержащего бактериальные клетки в концентрации 2×10^6 КОЕ/мл (оценка жизнеспособности бактерий). Фенотипически устойчивыми (R) к сыворотке/плазме крови было принято считать бактерии, для которых были установлены минимальная ингибирующая концентрация (МИК) или МБК >90 % (рост бактерий не ингибируется, и не происходит гибель бактерий в 90 % сыворотке/плазме). Аналогично оценивали антимикробную активность ПОРФТ/PRP.

Для оценки бактерицидных и бактериостатических свойств сыворотки и плазмы крови в отношении типовых культур и клинических изолятов микроорганизмов использовали человеческую сыворотку АВ (IV) и свежезамороженную плазму (СЗП) АВ (IV) из единицы (дозы) крови цельной, обедненной лейкоцитами, карантинизированную (прошедшую карантинное хранение) (РНПЦ трансфузиологии и медицинских технологий, Минск, Республика Беларусь). Закупленные реагенты размораживали и расфасовывали по 10 мл в стерильные пробирки, которые хранили в пределах сроков годности при температуре менее -20 °С не более 6 месяцев. Непосредственно перед постановкой опытов образцы плазмы и сыворотки размораживали и использовали без предварительного нагревания. Все исследования проведены с использованием одной партии сыворотки и плазмы.

За МИК принимали минимальную концентрацию препарата, обеспечивающую подавление видимого роста исследуемого штамма через 18–24 ч воздействия при температуре $+35 \pm 2$ °С. МБК – концентрация вещества, которая вызывала полную гибель клеток исследуемого штамма бактерий через 24–48 ч инкубирования при температуре $+35 \pm 2$ °С.

Ввод данных производили с помощью Microsoft Excel 10.0. Статистическую обработку и анализ данных – с помощью статистического пакета R, версия 4.5.

Результаты и их обсуждение. На первом этапе исследования была определена чувствительность клинических изолятов *E. coli* и *K. pneumoniae* к антимикробному действию нативной плазмы и сыворотки крови (рис. 1). Общий уровень резистентности бактерий в условиях опыта оказался чрезвычайно высоким: к плазме и/или сыворотке были устойчивы 73,3 % (22/30) изолятов *E. coli* и 82,7 % (24/29) изолятов *K. pneumoniae*. Ключевым и наиболее интересным результатом стало выявление выраженной селективной устойчивости, при которой изоляты бактерий проявляли резистентность только к плазме или только к сыворотке крови. Так, среди *E. coli* 13,3 % штаммов были устойчивы исключительно к сыворотке и 13,3 % – только к плазме. Среди клинических изолятов *K. pneumoniae* 6,9 % штаммов были устойчивы исключительно к сыворотке, в то время как доля изолятов с устойчивостью только к плазме была существенно выше – 31,0 %. Параллельно была установлена и комбинированная (двойная) устойчивость энтеробактерий: 44,8 % штаммов *E. coli* и 46,8 % штаммов *K. pneumoniae* обладали одновременной резистентностью как к сыворотке, так и к плазме.

Типовые культуры бактерий продемонстрировали чувствительность как к сыворотке, так и к плазме. МИК и МБК плазмы и сыворотки крови в отношении *E. coli* ATCC 8739 составили ≤ 10 %, в то время как для *K. pneumoniae* ATCC 700603 они находились в диапазоне 50–90 %.

Таким образом, можно заключить, что высокая распространенность адаптивной резистентности к сыворотке/плазме крови среди клинических изолятов *E. coli* и *K. pneumoniae* может указывать на то, что способность уклоняться от эффекторов гуморального врожденного иммунитета является широко распространенным и клинически значимым признаком клинических изолятов энтеробактерий. В ходе анализа полученных данных выявлены три различных профиля устойчивости: двойная (к плазме и сыворотке), избирательная к плазме и избирательная к сыворотке. Значительная часть изолятов энтеробактерий продемонстрировала резистентность исключительно к одному из компонентов, что свидетельствует о независимых механизмах защиты от антимикробных факторов сыворотки и плазмы. Резкий контраст в уровнях устойчивости к сыворотке/плазме крови между клиническими изолятами и типовыми культурами бактерий

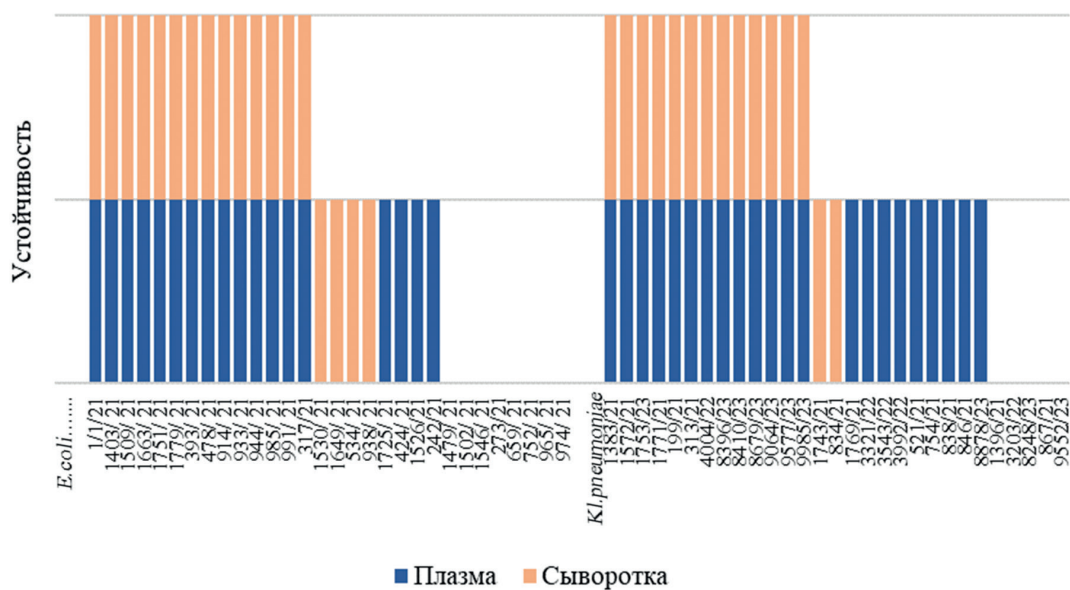


Рис. 1. Устойчивость клинических изолятов энтеробактерий к антимикробным веществам, содержащимся в сыворотке и плазме крови. Данные представлены в виде гистограммы с накоплением, столбиками показано наличие фенотипической устойчивости энтеробактерий

Fig. 1. Resistance of clinical *Enterobacteriaceae* isolates to antimicrobial substances in blood serum and plasma. The data are presented as a stacked bar chart, where the bars indicate the presence of phenotypic bacterial resistance

служит прямым свидетельством тому, что резистентность к бактерицидным факторам крови является селективным преимуществом, приобретаемым бактериями в процессе адаптации к условиям инфекционного процесса и отсутствующим у штаммов, не прошедших такой отбор.

На втором этапе исследования была изучена чувствительность изолятов бактерий к антибиотикам, относящимся к различным классам и воздействующим на разные мишени в бактериальной клетке.

На рис. 2 показаны результаты оценки комбинированной устойчивости энтеробактерий к различным классам антибиотиков. Так, 13,8; 34,5; 27,6 и 6,9 % клинических изолятов *K. pneumoniae* были устойчивы одновременно к 7, 6, 5 и 4 классам антибиотиков соответственно, в то время как только 14,8–22,2 % протестированных изолятов *E. coli* были одновременно устойчивы к 2–4 классам антибиотиков.

Из данных, представленных в табл. 1, видно, что для изученных изолятов *E. coli* спектр резистентности был относительно узким и сконцентрирован на отдельных классах антибиотиков. Максимальная доля устойчивых штаммов наблюдалась к пенициллинам – 77,8 % (21/27). Резистентность к цефалоспорином, сульфаниламидам и фторхинолонам регистрировалась с частотой 44,4 % (12/27), 42,3 % (11/26) и 18,5 % (5/27) соответственно. Важным положительным аспектом является полная сохраненная чувствительность всех изолятов *E. coli* к карбапенемам и аминогликозидам, а также крайне низкий уровень резистентности к защищенным пенициллинам – 3,7 % (1/27).

Клинические изоляты *K. pneumoniae* продемонстрировали экстремально широкий и угрожающий профиль множественной лекарственной устойчивости (табл. 2). Подавляющее большинство штаммов клебсиелл были резистентны к защищенным пенициллинам (79,3 %, 23/29), цефалоспорином (82,1 %, 23/28), фторхинолоном (82,8 %, 24/29) и карбапенемам (72,4 %, 21/29). Частота резистентности к аминогликозидам составила 47,8 % (11/23), а к сульфаниламидам – 50,0 % (13/26). Устойчивость к колистину, одному из последних резервных препаратов, была выявлена у 33,3 % (5/15) протестированных изолятов бактерий.

Следует отметить, что при анализе чувствительности *K. pneumoniae* к пенициллинам (ампициллин) ожидаемо было выявлено, что 88,5 % изолятов бактерий оказались устойчивы к данному классу антибиотиков. Такой уровень резистентности обусловлен природной (хромосомной)

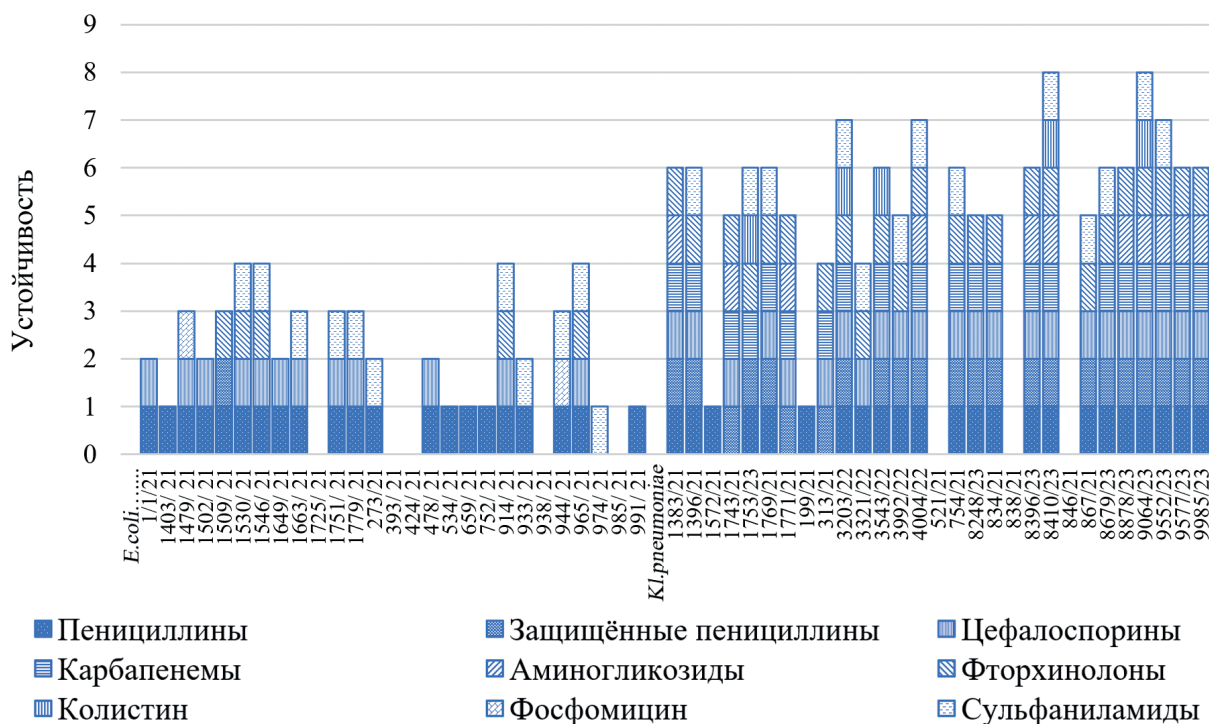


Рис. 2. Комбинированная устойчивость клинических изолятов энтеробактерий к антибиотикам. Данные представлены в виде гистограммы с накоплением, столбиками показано наличие фенотипической устойчивости энтеробактерий

Fig. 2. Combined antibiotic resistance of clinical *Enterobacteriaceae* isolates. The data are presented as a stacked bar chart; the bars indicate the presence of phenotypic resistance in the isolates

Таблица 1. Устойчивость клинических изолятов *E. coli* к антибиотикам и плазме/сыворотке крови
Table 1. Resistance of clinical isolates of *E. coli* to antibiotics and blood plasma/serum

Антибиотики (АБ)	Абсолютное число (удельный вес, %) устойчивых изолятов <i>E. coli</i>		
	АБ*	АБ и плазма	АБ и сыворотка
Пенициллины	21/27 (77,8)	11/21 (52,4)	14/21 (66,7)
Защищенные пенициллины	1/27 (3,7)	1/1 (100,0)	1/1 (100,0)
Цефалоспорины	12/27 (44,4)	6/12 (50,0)	8/12 (66,7)
Карбапенемы	0/27 (0)	–	–
Аминогликозиды	0/25 (0)	–	–
Фторхинолоны	5/27 (18,5)	2/5 (40,0)	3/5 (60,0)
Триметоприм-сульфаметоксазол	11/26 (42,3)	6/11 (54,5)	7/11 (63,6)

Примечание. * – здесь и в табл. 2 к категории устойчивых отнесены изоляты бактерий, продемонстрировавшие резистентность ко всем протестированным антибиотикам определенного класса.

Таблица 2. Устойчивость клинических изолятов *K. pneumoniae* к антибиотикам и плазме/сыворотке крови
Table 2. Resistance of clinical isolates of *K. pneumoniae* to antibiotics and blood plasma/serum

Антибиотики (АБ)	Абсолютное число (удельный вес, %) устойчивых изолятов <i>K. pneumoniae</i>		
	АБ*	АБ и плазма	АБ и сыворотка
Пенициллины	23/26 (88,5)	17/23 (73,9)	12/23 (52,2)
Защищенные пенициллины	23/29 (79,3)	16/23 (69,6)	13/23 (56,5)
Цефалоспорины	23/28 (82,1)	16/23 (69,6)	12/23 (52,2)
Карбапенемы	21/29 (72,4)	15/21 (71,4)	13/21 (61,9)
Аминогликозиды	11/23 (47,8)	9/11 (81,8)	9/11 (81,8)
Фторхинолоны	24/29 (82,8)	17/24 (70,8)	13/24 (54,2)
Колистин	5/15 (33,3)	4/5 (80,0)	3/5 (60,0)
Триметоприм-сульфаметоксазол	13/26 (50,0)	9/13 (69,2)	5/13 (38,5)

устойчивостью клебсиелл к аминопенициллинам и не является следствием приобретенных механизмов. Тем не менее мы намеренно включили данный класс в анализ для оценки комбинированной устойчивости изолятов клебсиелл к сыворотке/плазме крови в сочетании с антибиотиками, к которым бактерии обладают природной устойчивостью. Кроме того, полученные данные послужили дополнительным внутренним валидационным контролем качества проведения тестирования на чувствительность к антибиотикам.

Проведенный анализ выявил принципиальные различия в спектре и уровне комбинированной лекарственной устойчивости у изученных видов энтеробактерий. Клинические изоляты *K. pneumoniae* продемонстрировали экстремально широкий профиль множественной лекарственной устойчивости. Критически высокой была не только частота резистентности к отдельным классам, но и распространенность штаммов, одновременно устойчивых к 4–7 различным классам антибиотиков (суммарно 82,8 % изолятов). Такой высокий уровень комбинированной резистентности указывает на существование и взаимодействие множественных механизмов устойчивости в популяции клинических изолятов клебсиелл. В противоположность этому протестированные клинические изоляты *E. coli* характеризовались существенно более узким и умеренным спектром устойчивости. Подавляющее большинство штаммов были чувствительны к ключевым антибиотикам, а комбинированная устойчивость ограничивалась, как правило, 2–4 классами антибиотиков.

Таким образом, для последующего анализа комбинированной устойчивости энтеробактерий к гуморальным факторам врожденного иммунитета в качестве модельных объектов были выбраны *K. pneumoniae* – как вид с ярко выраженным, экстремальным фенотипом комбинированной устойчивости к различным классам антибиотиков, представляющий наибольшую клиническую угрозу, и *E. coli* – как вид, не обладающий столь выраженным фенотипом широкой комбинированной антибиотикорезистентности. Такой сравнительный подход позволит проверить гипотезу о возможной взаимосвязи или, напротив, независимости между сложными, сочетанными механизмами устойчивости к антимикробным химиотерапевтическим агентам и способностью бактерий противостоять многофакторному воздействию гуморального иммунитета.

На третьем этапе исследований был проведен сравнительный анализ устойчивости клинических изолятов бактерий к антибиотикам и антимикробным веществам, содержащимся в сыворотке и плазме крови человека (табл. 1, 2).

При оценке комбинированной устойчивости клинических изолятов *E. coli* (табл. 1) было показано, что среди штаммов бактерий, устойчивых к пенициллинам, одновременная устойчивость к плазме зарегистрирована у 52,4 % (11/21) изолятов, а к сыворотке – у 66,7 % (14/21). Устойчивость к цефалоспорином отмечена у 44,4 % *E. coli*, при этом комбинированный фенотип с плазмой наблюдался в 50,0 % (6/12) случаев, а с сывороткой – в 66,7 % (8/12). Среди изолятов бактерий, резистентных к триметоприм-сульфаметоксазолу, доля одновременно устойчивых к плазме составила 54,5 % (6/11), к сыворотке – 63,6 % (7/11). Устойчивость к фторхинолонам выявлена у 18,5 % штаммов *E. coli*, из них 40,0 % (2/5) обладали резистентностью к плазме и 60,0 % (3/5) – к сыворотке. Резистентность к защищенным пенициллинам зафиксирована лишь у одного изолята *E. coli*, который продемонстрировал устойчивость как к плазме, так и к сыворотке. Важно отметить, что все протестированные клинические изоляты *E. coli* сохранили чувствительность к карбапенемам (0/27) и аминогликозидам (0/25), в связи с чем оценка комбинированных фенотипов для данных классов антибиотиков не проводилась.

Анализ комбинированной устойчивости клинических изолятов *K. pneumoniae* (табл. 2) выявил постоянную и отчетливо выраженную закономерность: по большинству классов антибиотиков доля изолятов с одновременной устойчивостью к плазме значительно превышала долю изолятов с устойчивостью к сыворотке. Так, среди штаммов, резистентных к пенициллинам, комбинированная устойчивость с плазмой наблюдалась у 73,9 % (17/23), тогда как с сывороткой – только у 52,2 % (12/23). Для цефалоспоринов соответствующие показатели составили 69,6 % (16/23) и 52,2 % (12/23), для защищенных пенициллинов – 69,6 % (16/23) и 56,5 % (13/23), для фторхинолонов – 70,8 % (17/24) и 54,2 % (13/24), для карбапенемов – 71,4 % (15/21) и 61,9 % (13/21), для колистина – 80,0 % (4/5) и 60,0 % (3/5). Наиболее выраженные различия между устойчивостью к плазме и сыворотке зафиксированы для *K. pneumoniae*, устойчивых к триметоприм-

сульфаметоксазолу – 69,2 и 38,5 % соответственно. Единственным исключением из данной закономерности явились аминокликозиды: частота комбинированной устойчивости с плазмой и сывороткой оказалась одинаковой и составила 81,8 % (9/11).

Проведенный анализ выявил ряд закономерностей, характеризующих взаимосвязь между антибиотикорезистентностью и устойчивостью к гуморальным факторам врожденного иммунитета у клинических изолятов энтеробактерий. Прежде всего обращает на себя внимание гетерогенный и неполный характер данной ассоциации: несмотря на высокие абсолютные показатели комбинированной устойчивости, ни для одного из классов антибиотиков не зарегистрировано 100%-й корреляции с резистентностью к плазме или сыворотке крови. Значительная часть антибиотикорезистентных штаммов как *E. coli*, так и *K. pneumoniae* сохраняла чувствительность к одной либо обоим гуморальным средам, что свидетельствует о независимом формировании соответствующих фенотипов и отсутствии жесткой генетической сцепленности между изучаемыми признаками. Установлены видовые различия комбинированной устойчивости. Так, у клинических изолятов *E. coli* антибиотикорезистентность ассоциирована преимущественно с устойчивостью к бактерицидному действию сыворотки, тогда как у *K. pneumoniae*, напротив, доминирует ассоциация с устойчивостью к плазме. Данное наблюдение демонстрирует принципиальные различия в адаптивных стратегиях изученных видов энтеробактерий. Сыворотка и плазма, несмотря на близкий состав, различаются по спектру цитокинов и факторов свертывания, по доступности для бактериальных клеток тех или иных иммунных эффекторов, что требует дифференцированного подхода в дальнейших исследованиях.

На следующем этапе исследования была оценена чувствительность клинических изолятов *E. coli* и *K. pneumoniae* к антимикробному действию ПОРФТ/PRP. В исследовании использовалась специально сформированная выборка изолятов бактерий: по 9 изолятов каждого вида, отобранных на основе подтвержденной устойчивости к антимикробному действию плазмы и/или сыворотки, что позволило целенаправленно оценить эффективность ПОРФТ/PRP в отношении устойчивых клинических штаммов энтеробактерий.

Из данных, представленных в табл. 3, видно, что ПОРФТ/PRP в условиях опыта демонстрирует выраженный бактериостатический эффект в отношении 88,9 % (8/9) протестированных изолятов *E. coli*: у пяти штаммов (55,6 %) МИК плазмы, обогащенной тромбоцитами, составила 50 %, у трех (33,3 %) – 90 %. Лишь один изолят *E. coli* (933/21) не проявил чувствительности к ПОРФТ/PRP даже на уровне подавления роста (МИК >90 %). Бактерицидная активность ПОРФТ/PRP отсутствовала во всех случаях: значения МБК для 100 % изученных изолятов превышали 90 %.

Таблица 3. Чувствительность клинических изолятов *E. coli* с фенотипом комбинированной устойчивости к антибиотикам и плазме/сыворотке к антимикробному действию ПОРФТ/PRP

Table 3. Susceptibility of clinical *E. coli* isolates with combined resistance to antibiotics and humoral factors to the antimicrobial action of PRP

Штамм	Пенициллины	Защитные пенициллины	Цефалоспорины	Карбапенемы	Аминокликозиды	Фторхинолоны	Нитрофураны	Фосфомицин	Триметоприм-сульфаметоксазол	Плазма	Сыворотка	ПОРФТ/PRP	
												МИК, %	МБК, %
1/1/21	R*	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	90	>90
1509/21	R	R	S	S	S	R	S	S	нд	R	R	90	>90
1663/21	R	S	R	S	S	S	S	S	R	R	R	50	>90
1751/21	R	S	R	S	S	S	S	S	R	R	R	50	>90
1779/21	R	S	R	S	S	S	S	S	R	R	R	50	>90
478/21	R	S	R	S	нд	S	нд	нд	S	R	R	50	>90
933/21	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	>90	>90
944/21	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	50	>90
991/21	R	S	S	S	S	S	S	нд	S	R	R	50	>90

Примечание. Здесь и в табл. 4* отмечены устойчивые (R) изоляты бактерий, продемонстрировавшие резистентность ко всем протестированным антибиотикам определенного класса; нд – нет данных.

При изучении антимикробного потенциала ПОРФТ/PRP в отношении клинических изолятов *K. pneumoniae* с фенотипом множественной лекарственной устойчивости также были получены результаты, демонстрирующие выраженный бактериостатический эффект плазмы, обогащенной тромбоцитами (табл. 4). Значения МИК составили 90 % для восьми штаммов (88,9 %) и 50 % – для одного изолята (1509/21). Таким образом, ни у одного из протестированных штаммов МИК не превысила 90 %. В то время как значения МБК для 100 % изолятов *K. pneumoniae* превышали 90 %, что свидетельствует о невозможности достижения гибели бактериальной популяции.

Таблица 4. Чувствительность клинических изолятов *K. pneumoniae* с фенотипом комбинированной устойчивости к антибиотикам и плазме/сыворотке к антимикробному действию ПОРФТ/PRP

Table 4. Susceptibility of clinical *K. pneumoniae* isolates with combined resistance to antibiotics and humoral factors to the antimicrobial action of PRP

Штамм	Пенициллины	Защитные пенициллины	Цефалоспорины	Карбапенемы	Аминогликозиды	Фторхинолоны	Полимиксины	Триметоприм-сульфаметоксазол	Плазма	Сыворотка	ПОРФТ/PRP	
											МИК, %	МБК, %
1/1/21	R*	R	R	R	R	R	нд	S	R	R	90	>90
1509/21	R	S	S	S	S	S	нд	S	R	R	50	>90
1663/21	нд	R	R	R	нд	R	нд	S	R	R	90	>90
1751/21	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	90	>90
1779/21	S	S	S	S	нд	S	нд	нд	R	S	90	>90
478/21	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	90	>90
933/21	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	90	>90
944/21	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	90	>90
991/21	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	90	>90

Полученные нами результаты согласуются с результатами других исследований, в которых отмечается способность плазмы, обогащенной тромбоцитами, подавлять рост клинических изолятов бактерий, включая штаммы с фенотипом множественной лекарственной устойчивости [27–32]. Но если в нашем случае бактериостатическая активность определялась после 20–24 ч культивирования, то в большинстве случаев она достигала пика на 1–5-м часах инкубации и не наблюдалась на 24-м часу [27, 28]. Следует отметить, что в ряде статей сообщается об бактерицидном эффекте плазмы, обогащенной тромбоцитами [29, 36, 37]. Анализ научной литературы показывает, что антимикробная эффективность ПОРФТ/PRP не является универсальной и варьируется в зависимости от вида бактерий. Ключевым ограничением является отсутствие стандартизированных протоколов приготовления, ведущее к значительной вариабельности концентрации тромбоцитов, лейкоцитов и антимикробных факторов в конечном препарате, что напрямую влияет на воспроизводимость результатов.

Выводы

1. В результате проведенного исследования установлено, что клинические изоляты *E. coli* и *K. pneumoniae* характеризуются высоким уровнем устойчивости к антимикробному действию нативной плазмы и сыворотки крови (73,3 и 82,7 % соответственно). Принципиально важным результатом явилось выявление трех фенотипических профилей устойчивости: двойной (одновременная резистентность к плазме и сыворотке), селективной устойчивости к плазме и селективной устойчивости к сыворотке, что свидетельствует о независимых механизмах защиты бактерий от различных компонентов гуморального иммунитета. Выраженный контраст между клиническими и типовыми штаммами бактерий подтверждает, что устойчивость к сыворотке и плазме является адаптивным признаком, приобретаемым в ходе инфекционного процесса и представляющим клинически значимое селективное преимущество.

2. Сравнительный анализ комбинированной устойчивости энтеробактерий к антибиотикам и гуморальным факторам врожденного иммунитета, содержащимся в сыворотке и плазме крови, выявил видоспецифичные паттерны ассоциаций. У клинических изолятов *E. coli* устойчивость к антибиотикам значимо чаще сочеталась с резистентностью к сыворотке, чем к плазме. Напротив, у *K. pneumoniae* антибиотикорезистентность была преимущественно ассоциирована с устойчивостью к плазме. При этом ни для одного класса антибиотиков не наблюдалось полной (100%-й) прямой корреляции, что свидетельствует о независимом формировании механизмов резистентности к антибиотикам и гуморальным факторам.

3. ПОРФТ/PRP продемонстрировала выраженный бактериостатический эффект в отношении 100 % клинических изолятов *K. pneumoniae* и 88,9 % изолятов *E. coli*, однако бактерицидная активность отсутствовала во всех случаях. Принципиально важно, что ПОРФТ/PRP проявила бактериостатическое действие в отношении штаммов бактерий, исходно устойчивых к нативной плазме и сыворотке, что свидетельствует о способности тромбоцитарных факторов преодолеть отдельные механизмы резистентности к гуморальному иммунитету.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Исследования финансировались Министерством здравоохранения Республики Беларусь в рамках задания «Изучение *in vitro* взаимодействия антимикробных средств и гуморальных факторов врожденного иммунитета» Государственной программы научных исследований 4 «Трансляционная медицина» подпрограммы 4.2 «Фундаментальные аспекты медицинской науки» (2021–2025 гг.) (рег. № 20240462).

Acknowledgements. The research was funded by the Ministry of Health of the Republic of Belarus within the framework of the project “*In vitro* study of the interaction of antimicrobial agents and humoral factors of innate immunity”, State Research Program 4 “Translational Medicine”, subprogram 4.2 “Fundamental Aspects of Medical Science” (2021–2025) (reg. No. 20240462).

Список использованных источников

1. Nasrollahian, S. A review of the mechanisms that confer antibiotic resistance in pathotypes of *E. coli* / S. Nasrollahian, J. P. Graham, M. Halaji // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2024. – Vol. 14. – Art. 1387497. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1387497>
2. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* capsular types, antibiotic resistance and virulence factors in China: a longitudinal, multi-centre study / F. Hu, Y. Pan, H. Li [et al.] // *Nature Microbiology*. – 2024. – Vol. 9, N 3. – P. 814–829. <https://doi.org/10.1038/s41564-024-01612-1>
3. Antibiotic resistance rates in hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* strains: A systematic review and meta-analysis / M. Beig, S. Aghamohammad, N. Majidzadeh [et al.] // *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. – 2024. – Vol. 38. – P. 376–388. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2024.06.018>
4. Биологические свойства и антибиотикорезистентность *Klebsiella pneumoniae* и её роль в этиологической структуре возбудителей внебольничных пневмоний / А. С. Анисимова, Н. В. Павлович, Н. В. Аронова [и др.] // *Антибиотики и химиотерапия*. – 2023. – Т. 68, № 5–6. – С. 11–18.
5. The evolution of colistin resistance increases bacterial resistance to host antimicrobial peptides and virulence / P. K. Jangir, L. Ogunlana, P. Szili [et al.] // *eLife*. – 2023. – Vol. 12. – Art. e84395. <https://doi.org/10.7554/eLife.84395>
6. Antimicrobial peptides (AMPs): Ancient compounds that represent novel weapons in the fight against bacteria / J. M. Ageitos, A. Sánchez-Pérez, P. Calo-Mata T. G. Villa // *Biochemical Pharmacology*. – 2017. – Vol. 133. – P. 117–138. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.09.018>
7. The neutralizing effect of heparin on blood-derived antimicrobial compounds: impact on antibacterial activity and inflammatory response / D. Cont, S. Harm, C. Schildböck [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2024. – Vol. 15. – Art. 1373255. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1373255>
8. Антимикробная активность сыворотки крови и её взаимосвязь с показателями общего клинического анализа крови / А. М. Иксанова, И. М. Ожован, В. Г. Арзуманян [и др.] // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2023. – Т. 68, № 7. – С. 395–400.
9. Antimicrobial Peptides – Mechanisms of Action, Antimicrobial Effects and Clinical Applications / J. Talapko, T. Meštrović, M. Juzbašić [et al.] // *Antibiotics*. – 2022. – Vol. 11, N 10. – Art. 1417. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101417>
10. Antimicrobial Effect of Platelet Rich Plasma and Platelet Gel against *Staphylococcus aureus* Isolated from Surgical Site Infections: An *In Vitro* Study / A. A. Hasan, A. Heiba, L. Metwally [et al.] // *Egyptian Journal of Medical Microbiology*. – 2019. – Vol. 28, N 2. – P. 113–120. <https://doi.org/10.21608/ejmm.2019.282704>
11. Virulence Factors of *Pseudomonas Aeruginosa* and Antivirulence Strategies to Combat Its Drug Resistance / Ch. Liao, X. Huang, Q. Wang [et al.] // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2022. – Vol. 12. – Art. 926758. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.926758>

12. Miajlovic, H. Bacterial self-defence: how *Escherichia coli* evades serum killing / H. Miajlovic, S. G. Smith // FEMS Microbiology Letters. – 2014. – Vol. 354, N 1. – P. 1–9. <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12419>
13. Fleitas, O. Induced Bacterial Cross-Resistance toward Host Antimicrobial Peptides: A Worrying Phenomenon / O. Fleitas, O. L. Franco // Frontiers in Microbiology. – 2016. – Vol. 7. – Art. 381. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00381>
14. Andersson, D. I. Mechanisms and consequences of bacterial resistance to antimicrobial peptides / D. I. Andersson, D. Hughes, J. Z. Kubicek-Sutherland // Drug Resistance Updates. – 2016. – Vol. 26. – P. 43–57. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2016.04.002>
15. Microbial evasion of the complement system: a continuous and evolving story / M. T. Heggi, H. T. N. El-Din, D. I. Morisy [et al.] // Frontiers in Immunology. – 2024. – Vol. 14. – Art. 1281096. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1281096>
16. Adherence ability and serum resistance of different hospital clusters of *Acinetobacter baumannii* / A. P. Uber, G. F. Viana, F. G. Lodi [et al.] // Letters in Applied Microbiology. – 2021. – Vol. 73, N 2. – P. 132–138. <https://doi.org/10.1111/lam.13484>
17. Transcriptomic Basis of Serum Resistance and Virulence Related Traits in XDR *P. aeruginosa* Evolved Under Antibiotic Pressure in a Morbidostat Device / M. Javed, S. Sajjad ur Rahman, S. Tabassum [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2021. – Vol. 11. – Art. 619542. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.619542>
18. Serum susceptibility of *Escherichia coli* and its association with patient clinical outcomes / O. Poteete, P. Cox, F. Ruffin [et al.] // PLoS ONE. – 2024. – Vol. 19, N 7. – Art. e0307968. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0307968>
19. Biedzka-Sarek, M. Role of YadA, Ail, and Lipopolysaccharide in Serum Resistance of *Yersinia enterocolitica* Serotype O:3 / M. Biedzka-Sarek, R. Venho, M. Skurnik // Infection and Immunity. – 2005. – Vol. 73, N 4. – P. 2232–2244. <https://doi.org/10.1128/IAI.73.4.2232-2244.2005>
20. Patterns of cross-resistance and collateral sensitivity between clinical antibiotics and natural antimicrobials / A. Colclough, J. Corander, S. K. Sheppard [et al.] // Evolutionary Applications. – 2019. – Vol. 12, N 5. – P. 878–887. <https://doi.org/10.1111/eva.12762>
21. Metal Resistance and Its Association With Antibiotic Resistance / C. Pal, K. Asiani, S. Arya [et al.] // Advances in Microbial Physiology. – 2017. – Vol. 70. – P. 261–313. <https://doi.org/10.1016/bs.ampbs.2017.02.001>
22. Reygaert, W. C. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria / W. C. Reygaert // AIMS Microbiology. – 2018. – Vol. 4, N 3. – P. 482–501. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.3.482>
23. *In Vitro* Cross-Resistance to Daptomycin and Host Defense Cationic Antimicrobial Peptides in Clinical Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates / N. N. Mishra, J. McKinnell, M. R. Yeaman [et al.] // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2011. – Vol. 55, N 9. – P. 4012–4018. <https://doi.org/10.1128/AAC.00223-11>
24. Mechanisms Protecting *Acinetobacter baumannii* against Multiple Stresses Triggered by the Host Immune Response, Antibiotics and Outside-Host Environment / S. Monem, B. Furmanek-Blaszczak, A. Łupkowska [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Vol. 21, N 15. – Art. 5498. <https://doi.org/10.3390/ijms21155498>
25. Antibiotics and Innate Immunity: A Cooperative Effort Toward the Successful Treatment of Infections / A. D. Berti, E. Theisen, J.-D. Sauer [et al.] // Open Forum Infectious Diseases. – 2020. – Vol. 7, N 8. – Art. ofaa302. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofaa302>
26. Improved in vitro evaluation of novel antimicrobials: potential synergy between human plasma and antibacterial peptidomimetics, AMPs and antibiotics against human pathogenic bacteria / L. Citterio, H. Franzyk, Y. Palarasah [et al.] // Research in Microbiology. – 2016. – Vol. 167, N 2. – P. 72–82. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2015.10.002>
27. Platelet-rich plasma as a potential antimicrobial agent against multidrug resistant bacteria in diabetic foot infections / E. Aboelsaad, S. Moustafa, A. Amine [et al.] // Scientific Reports. – 2025. – Vol. 15, N 1. – Art. 15145. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-97418-0>
28. Antibacterial and antibiofilm activity of platelet-rich plasma under different activation conditions against multidrug-resistant MRSA isolated from human skin abscesses / A. S. Abdelgelil, W. F. Sayed, W. M. Salem, F. S. Hassan // BMC Biotechnology. – 2025. – Vol. 25, N 1. – Art. 137. <https://doi.org/10.1186/s12896-025-01078-x>
29. Antimicrobial Effects of Platelet-Rich Plasma and Platelet-Rich Fibrin: A Scoping Review / C. L. Karan, M. Jeyaraman, N. Jeyaraman [et al.] // Cureus. – 2023. – Vol. 15, N 12. – Art. e51360. <https://doi.org/10.7759/cureus.51360>
30. Antibacterial Activity of Leukocyte- and Platelet-Rich Plasma: An *In Vitro* Study / A. Cieślak Bielecka, T. Bold, G. Ziółkowski [et al.] // BioMed Research International. – 2018. – Vol. 2018. – Art. 9471723. <https://doi.org/10.1155/2018/9471723>
31. Platelet-rich plasma plays an antibacterial, anti-inflammatory and cell proliferation promoting role in an in vitro model for diabetic infected wounds / T. Li, Y. Ma, M. Wang [et al.] // Infection and Drug Resistance. – 2019. – Vol. 12. – P. 297–309. <https://doi.org/10.2147/idr.s186651>
32. An evaluation of the bacteriostatic effect of platelet-rich plasma / O. J. Smith, A. Wicaksana, D. Davidson [et al.] // International Wound Journal. – 2021. – Vol. 18, N 4. – P. 448–456. <https://doi.org/10.1111/iwj.13545>
33. Нозокомиальные инфекции, вызванные бактериями семейства *Enterobacteriaceae*, в онкологической клинике / Н. В. Дмитриева, В. В. Агинова, И. Н. Петухова [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2019. – Т. 18, № 1. – С. 36–42.
34. Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*: challenges for treatment, prevention and infection control / M. Bassetti, E. Righi, A. Carnelutti [et al.] // Expert Review of Anti-infective Therapy. – 2018. – Vol. 16, N 10. – P. 749–761. <https://doi.org/10.1080/14787210.2018.1522249>
35. High prevalence of multiple antibiotic resistance in clinical *E. coli* isolates from Bangladesh and prediction of molecular resistance determinants using WGS of an XDR isolate / P. Jain, A. K. Bepari, P. K. Sen [et al.] // Scientific Reports. – 2021. – Vol. 11, N 1. – Art. 22859. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02251-w>

36. Platelet-Rich Plasma for the Treatment of Tissue Infection: Preparation and Clinical Evaluation / W. Zhang, Y. Guo, M. Kuss [et al.] // *Tissue Engineering Part B: Reviews*. – 2019. – Vol. 25, N 3. – P. 225–236. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2018.0309>

37. Platelet-rich plasma lysate displays antibiofilm properties and restores antimicrobial activity against synovial fluid biofilms *in vitro* / J. M. Gilbertie, T. P. Schaer, A. G. Schubert [et al.] // *Journal of Orthopaedic Research*. – 2020. – Vol. 38, N 6. – P. 1365–1374. <https://doi.org/10.1002/jor.24584>

References

- Nasrollahian S., Graham J. P., Halaji M. A review of the mechanisms that confer antibiotic resistance in pathotypes of *E. coli*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2024, vol. 14, art. 1387497. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1387497>
- Hu F., Pan Y., Li H., Han R., Liu X., Ma R. [et al.]. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* capsular types, antibiotic resistance and virulence factors in China: a longitudinal, multi-centre study. *Nature Microbiology*, 2024, vol. 9, no. 3, pp. 814–829. <https://doi.org/10.1038/s41564-024-01612-1>
- Beig M., Aghamohammad S., Majidzadeh N., Majidzadeh N., Asforooshani M. K., Rezaie N., Abed S., Hajagha E., Khiavi G., Sholeh M. Antibiotic resistance rates in hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* strains: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 2024, vol. 38, pp. 376–388. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2024.06.018>
- Anisimova A. S., Pavlovich N. V., Aronova N. V., Tsimbalistova M. V., Gudueva E. N., Pasyukova N. I., Teplyakova E. D., Noskov A. K. Biological properties and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* and its role in the etiological structure of community-acquired pneumonia pathogens. *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*, 2023, vol. 68, no. 5–6, pp. 11–18 (in Russian).
- Jangir P. K., Ogunlana L., Szili P., Czikkely M., Shaw L. P., Stevens E. J., Yu Y., Yang Q., Wang Y., Pál C., Walsh T. R., MacLean C. R. The evolution of colistin resistance increases bacterial resistance to host antimicrobial peptides and virulence. *eLife*, 2023, vol. 12, art. e84395. <https://doi.org/10.7554/eLife.84395>
- Ageitos J. M., Sánchez-Pérez A., Calo-Mata P., Villa T. G. Antimicrobial peptides (AMPs): Ancient compounds that represent novel weapons in the fight against bacteria. *Biochemical Pharmacology*, 2017, vol. 133, pp. 117–138. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.09.018>
- Cont D., Harm S., Schildböck C., Kolm C., Kirschner A. K. T., Farnleitner A. H., Pilecky M., Zottl J., Hartmann J., Weber V. The neutralizing effect of heparin on blood-derived antimicrobial compounds: impact on antibacterial activity and inflammatory response. *Frontiers in Immunology*, 2024, vol. 15, art. 1373255. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1373255>
- Iksanova A. M., Ozhovan I. M., Arzumanyan V. G., Kolyganova T. I., Samoilkov P. V., Konanykhina S. Yu., Mironov A. Yu. Serum antimicrobial activity and its relationship with parameters of clinical blood analysis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2023, vol. 68, no. 7, pp. 395–400 (in Russian).
- Talapko J., Meštrović T., Juzbašić M., Tomas M., Erić S., Aleksijević L. H., Bekić S., Schwarz D., Matić S., Neuberg M., Škrlec I. Antimicrobial Peptides-Mechanisms of Action, Antimicrobial Effects and Clinical Applications. *Antibiotics (Basel)*, 2022, vol. 11, no. 10, art. 1417. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101417>
- Hasan A. A., Heiba A. A., Metwally L., Kishk R. M., Kamel N. Antimicrobial Effect of Platelet Rich Plasma and Platelet Gel against *Staphylococcus aureus* Isolated from Surgical Site Infections: An *In Vitro* Study. *Egyptian Journal of Medical Microbiology*, 2019, vol. 28, no. 2, pp. 113–120. <https://doi.org/10.21608/ejmm.2019.282704>
- Liao Ch., Huang X., Wang Q., Yao D., Lu W. Virulence Factors of *Pseudomonas Aeruginosa* and Antivirulence Strategies to Combat Its Drug Resistance. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2022, vol. 12, art. 926758. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.926758>
- Miajlovic H., Smith S. G. Bacterial self-defence: how *Escherichia coli* evades serum killing. *FEMS Microbiology Letters*, 2014, vol. 354, no. 1, pp. 1–9. <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12419>
- Fleitas O., Franco O. L. Induced Bacterial Cross-Resistance toward Host Antimicrobial Peptides: A Worrying Phenomenon. *Frontiers in Microbiology*, 2016, vol. 7, art. 381. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00381>
- Andersson D. I., Hughes D., Kubicek-Sutherland J. Z. Mechanisms and consequences of bacterial resistance to antimicrobial peptides. *Drug Resistance Updates*, 2016, vol. 26, pp. 43–57. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2016.04.002>
- Heggi M. T., El-Din H. T. N., Morsy D. I., Abdelaziz N. I., Attia A. S. Microbial evasion of the complement system: a continuous and evolving story. *Frontiers in Immunology*, 2024, vol. 14, art. 1281096. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1281096>
- Uber A. P., Viana G. F., Lodi F. G., Szczerepa M. M. A., Carrara-Marroni F. E., Gimenes F., Nishiyama S. A. B., Tognim M. C. B. Adherence ability and serum resistance of different hospital clusters of *Acinetobacter baumannii*. *Letters in Applied Microbiology*, 2021, vol. 73, no. 2, pp. 132–138. <https://doi.org/10.1111/lam.13484>
- Javed M., Sajjad ur Rahman S., Tabassum S., Delaune A., Morrison D., Habib Z., Ishaq M., Bester R., Lindsey W. C., LeBouf R. F. [et al.]. Transcriptomic Basis of Serum Resistance and Virulence Related Traits in XDR *P. aeruginosa* Evolved Under Antibiotic Pressure in a Morbidostat Device. *Frontiers in Microbiology*, 2021, vol. 11, art. 619542. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.619542>
- Poteete O., Cox P., Ruffin F., Sutton G., Brinkac L., Clarke T. H., Fouts D. E., Fowler V. G., Thaden J. T. Serum susceptibility of *Escherichia coli* and its association with patient clinical outcomes. *PLoS ONE*, 2024, vol. 19, no. 7, art. e0307968. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0307968>

19. Biedzka-Sarek M., Venho R., Skurnik M. Role of YadA, Ail, and Lipopolysaccharide in Serum Resistance of *Yersinia enterocolitica* Serotype O:3. *Infection and Immunity*, 2005, vol. 73, no. 4, pp. 2232–2244. <https://doi.org/10.1128/IAI.73.4.2232-2244.2005>
20. Colclough A., Corander J., Sheppard S. K., Bayliss S. C., Vos M. Patterns of cross-resistance and collateral sensitivity between clinical antibiotics and natural antimicrobials. *Evolutionary Applications*, 2019, vol. 12, no. 5, pp. 878–887. <https://doi.org/10.1111/eva.12762>
21. Pal C., Asiani K., Arya S., Rensing C., Stekel D. J., Larsson D. G. J., Hobman J. L. Metal Resistance and Its Association With Antibiotic Resistance. *Advances in Microbial Physiology*, 2017, vol. 70, pp. 261–313. <https://doi.org/10.1016/bs.ampbs.2017.02.001>
22. Reygaert W. C. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiology*, 2018, vol. 4, no. 3, pp. 482–501. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.3.482>
23. Mishra N. N., McKinnell J., Yeaman M. R., Rubio A., Nast C. C., Chen L., Kreiswirth B. N., Bayer A. S. *In Vitro* Cross-Resistance to Daptomycin and Host Defense Cationic Antimicrobial Peptides in Clinical Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2011, vol. 55, no. 9, pp. 4012–4018. <https://doi.org/10.1128/AAC.00223-11>
24. Monem S., Furmanek-Blaszczak B., Łupkowska A., Kuczyńska-Wiśnik D., Stojowska-Swędryńska K., Laskowska E. Mechanisms Protecting *Acinetobacter baumannii* against Multiple Stresses Triggered by the Host Immune Response, Antibiotics and Outside-Host Environment. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, vol. 21, no. 15, art. 5498. <https://doi.org/10.3390/ijms21155498>
25. Berti A. D., Theisen E., Sauer J.-D., Nonejuie P., Olson J., Pogliano J. [et al.]. Antibiotics and Innate Immunity: A Cooperative Effort Toward the Successful Treatment of Infections. *Open Forum Infectious Diseases*, 2020, vol. 7, no. 8, art. ofaa302. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofaa302>
26. Citterio L., Franzzyk H., Palarasah Y., Andersen T. E., Mateiu R. V., Gram L. Improved in vitro evaluation of novel antimicrobials: potential synergy between human plasma and antibacterial peptidomimetics, AMPs and antibiotics against human pathogenic bacteria. *Research in Microbiology*, 2016, vol. 167, no. 2, pp. 72–82. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2015.10.002>
27. Aboelsaad E., Moustafa S., Amine A., Deghady A., El-Attar L. Platelet-rich plasma as a potential antimicrobial agent against multidrug resistant bacteria in diabetic foot infections. *Scientific Reports*, 2025, vol. 15, no. 1, art. 15145. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-97418-0>
28. Abdelgelil A. S., Sayed W. F., Salem W. M., Hassan F. S. Antibacterial and antibiofilm activity of platelet-rich plasma under different activation conditions against multidrug-resistant MRSA isolated from human skin abscesses. *BMC Biotechnology*, 2025, vol. 25, no. 1, art. 137. <https://doi.org/10.1186/s12896-025-01078-x>
29. Karan C. L., Jeyaraman M., Jeyaraman N., Ramasubramanian S., Khanna M., Yadav S. Antimicrobial Effects of Platelet Rich Plasma and Platelet Rich Fibrin: A Scoping Review. *Cureus*, 2023, vol. 15, no. 12, art. e51360. <https://doi.org/10.7759/cureus.51360>
30. Cieślak Bielecka A., Bold T., Ziółkowski G., Pierchała M., Królikowska A., Reichert P. Antibacterial Activity of Leukocyte- and Platelet-Rich Plasma: An *In Vitro* Study. *BioMed Research International*, 2018, vol. 2018, art. 9471723. <https://doi.org/10.1155/2018/9471723>
31. Li T., Ma Y., Wang M., Wang T., Wei J., Ren R., He M., Wang G., Boey J., Armstrong D. G., Deng W., Chen B. Platelet-rich plasma plays an antibacterial, anti-inflammatory and cell proliferation promoting role in an in vitro model for diabetic infected wounds. *Infection and Drug Resistance*, 2019, vol. 12, pp. 297–309. <https://doi.org/10.2147/IDR.S186651>
32. Smith O. J., Wicaksana A., Davidson D., Spratt D., Mosahebi A. An evaluation of the bacteriostatic effect of platelet-rich plasma. *International Wound Journal*, 2021, vol. 18, no. 4, pp. 448–456. <https://doi.org/10.1111/iwj.13545>
33. Dmitrieva N. V., Aginova V. V., Petukhova I. N., Grigor'evskaya Z. V., Dmitrieva A. I., Bagirova N. S., Tereshchenko I. V., Khmaladze E. N. Nosocomial infections caused by bacteria of *Enterobacteriaceae* family in cancer clinic. *Sibirskii onkologicheskii zhurnal* [Siberian Journal of Oncology], 2019, vol. 18, no. 1, pp. 36–42 (in Russian).
34. Bassetti M., Righi E., Carnelutti A., Graziano E., Russo A. Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*: challenges for treatment, prevention and infection control. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 2018, vol. 16, no. 10, pp. 749–761. <https://doi.org/10.1080/14787210.2018.1522249>
35. Jain P., Bepari A. K., Sen P. K., Rafe T., Imtiaz R., Hossain M., Reza H. M. High prevalence of multiple antibiotic resistance in clinical *E. coli* isolates from Bangladesh and prediction of molecular resistance determinants using WGS of an XDR isolate. *Scientific Reports*, 2021, vol. 11, no. 1, art. 22859. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02251-w>
36. Zhang W., Guo Y., Kuss M., Shi W., Aldrich A. L., Untrauer J., Kielian T., Duan B. Platelet-Rich Plasma for the Treatment of Tissue Infection: Preparation and Clinical Evaluation. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 2019, vol. 25, no. 3, pp. 225–236. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2018.0309>
37. Gilbertie J. M., Schaer T. P., Schubert A. G., Jacob M. E., Menegatti S., Lavoie R. A., Schnabel L. V. Platelet-rich plasma lysate displays antibiofilm properties and restores antimicrobial activity against synovial fluid biofilms *in vitro*. *Journal of Orthopaedic Research*, 2020, vol. 38, no. 6, pp. 1365–1374. <https://doi.org/10.1002/jor.24584>

Информация об авторах

Циркунова Жанна Федоровна – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220083, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: tsyrukunova@list.ru. <https://orcid.org/0000-0003-2095-2378>

Потапнев Михаил Петрович – д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220083, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: mpotapnev@yandex.by. <https://orcid.org/0000-0002-6805-1782>

Красько Ольга Владимировна – канд. техн. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Объединенный институт проблем информатики НАН Беларуси (ул. Сурганова, 6, 220012, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: krasko@newman.bas-net.by. <https://orcid.org/0000-0002-4150-282X>

Филонюк Василий Алексеевич – д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья (ул. Казинца, 50, 220108, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: filonuk.vasily@gmail.com. <https://orcid.org/0009-0002-5617-6593>

Information about the authors

Zhanna F. Tsyrukunova – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Head of the Laboratory. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinsky Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tsyrukunova@list.ru. <https://orcid.org/0000-0003-2095-2378>

Michael P. Potapnev – D. Sc. (Med.), Professor, Chief Researcher. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinsky Ave., 220083, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mpotapnev@yandex.by. <https://orcid.org/0000-0002-6805-1782>

Olga V. Krasko – Ph. D. (Eng.), Associate Professor, Leading Researcher. United Institute of Informatics Problems of the National Academy of Sciences of Belarus (6, Surganov Str., 220012, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: krasko@newman.bas-net.by. <https://orcid.org/0000-0002-4150-282X>

Vasily A. Filanyuk – D. Sc. (Med.), Professor, Chief Researcher. Republican Center for Hygiene, Epidemiology, and Public Health (50, Kazintsa Str., 220108, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: filonuk.vasily@gmail.com. <https://orcid.org/0009-0002-5617-6593>