

КЛИНИЧЕСКИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022

Новикова И.Е.¹, Садеева З.З.¹, Шакирзянова Р.А.¹, Алябьева Н.М.¹, Лазарева А.В.¹, Карасева О.В.²,
Вершинина М.Г.¹, Фисенко А.П.¹

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ГЕНОВ РЕЗИСТЕНТНОСТИ У ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ В РУТИННОЙ ПРАКТИКЕ ПЕДИАТРИЧЕСКОГО СТАЦИОНАРА

¹ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава РФ, 119991, Москва, Россия;

²ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт неотложной детской хирургии и травматологии» Департамента здравоохранения г. Москвы, 119180, Москва, Россия

Цель – оценка ПЦР-РВ для детекции генов резистентности к карбапенемам грамотрицательных бактерий. Исследовано 499 изолятов грамотрицательных микроорганизмов, выделенных в двух педиатрических стационарах в 2019–2020 г. г. Видовую идентификацию проводили методом MALDI-ToF масс-спектрометрии (Bruker Daltonics, Германия). Минимальную подавляющую концентрацию (МПК) меропенема и имипенема определяли методом E-тестов (BioMerieux, Франция). Наличие генов приобретённых карбапенемаз групп IMP, NDM, VIM, KPC, OXA-48, OXA-23, OXA-40, OXA-58 определяли методом ПЦР-РВ. Среди отобранных штаммов выявлены Klebsiella pneumoniae (34%), Escherichia coli (4%), Serratia marcescens (6%) и другие представители порядка Enterobacteriales (6%), грамотрицательные неферментирующие глюкозу бактерии Acinetobacter baumannii (14%), Pseudomonas aeruginosa (36%). Продукция карбапенемаз обнаружена у 385 изолятов (77%). Основным механизмом, определяющим резистентность к карбапенемам P. aeruginosa стала продукция bla_{VIM} (100%). Среди штаммов A. baumannii выявлены карбапенемазы OXA-23 (55%) и OXA-40 (45%). Основной детерминантой резистентности среди штаммов K. pneumoniae стала карбапенемаза OXA-48, выявленная у 63% образцов, 13% обладали bla_{NDM-group}, сочетание генов карбапенемаз bla_{NDM-group} и bla_{OXA-48-like} обнаружено у 16% изолятов. Карбапенемаза группы KPC детектирована у 8% штаммов K. pneumoniae. Среди штаммов S. marcescens преобладала карбапенемаза группы OXA-48 (95%). Большинство изолятов E. coli обладали металло-бета-лактамазой группы NDM (89%). Другие представители порядка Enterobacteriales чаще всего обладали карбапенемазой OXA-48 (57%), у 39% изолятов обнаружено носительство bla_{NDM-group}. У одного штамма выявлена комбинация bla_{NDM-group} и bla_{OXA-48-like}. ПЦР-РВ является быстрым и надёжным методом выявления приобретённых карбапенемаз и может быть рекомендована для использования в рутинной практике бактериологических лабораторий.

Ключевые слова: Klebsiella pneumoniae; Acinetobacter baumannii; Pseudomonas aeruginosa; карбапенемазы; ПЦР в реальном времени.

Для цитирования: Новикова И.Е., Садеева З.З., Шакирзянова Р.А., Алябьева Н.М., Лазарева А.В., Карасева О.В., Вершинина М.Г., Фисенко А.П. Использование полимеразной цепной реакции для детекции генов резистентности у грамотрицательных бактерий в рутинной практике педиатрического стационара. Клиническая лабораторная диагностика. 2022; 67 (3): 180–185. DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-3-180-185>

Для корреспонденции: Новикова Ирина Евгеньевна, мл. науч. сотр. лаб. микробиологии; e-mail: novikovayudina@outlook.com

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 13.07.2021

Принята к печати 28.10.2021

Опубликовано 25.03.2022

Novikova I.E.¹, Sadeeva Z.Z.¹, Shakirzyanova R.A.¹, Alyabieva N.M.¹, Lazareva A.V.¹, Karaseva O.V.², Verшинina M.G.¹, Fisenko A.P.¹

THE USING OF THE POLYMERASE CHAIN REACTION FOR THE DETECTION OF RESISTANCE GENES IN GRAM-NEGATIVE BACTERIA IN ROUTINE PRACTICE IN A PEDIATRIC HOSPITAL

¹Federal State Autonomous Institution «National Medical Research Center of Children's Health» of the Ministry of Health, 119991, Moscow, Russia;

²Clinical and Research Institute of Emergency Pediatric Surgery and Trauma/CRIEPT (Publicity funded health facility of Moscow City Health Department), 119180, Moscow, Russia

Objective – assessment of RT-PCR for the detection of carbapenem-resistance genes in gram-negative bacteria. A total, 499 strains of gram-negative microorganisms isolated in two pediatric hospitals in 2019–2020 were studied. Species identification was performed using MALDI-ToF mass-spectrometry (Bruker Daltonics, Germany). Meropenem and imipenem minimal inhibitory concentration (MIC) was determined by E-test method (BioMerieux, France). The presence of acquired carbapenemase genes of IMP, NDM, VIM, KPC, OXA-48, OXA-23, OXA-40, OXA-58-groups was determined by RT-PCR. Klebsiella pneumoniae (34%), Escherichia coli (4%), Serratia marcescens (6%) and other members of Enterobacteriales (6%), also gram-negative non-glucose-

fermenting bacteria *Acinetobacter baumannii* (14%), *Pseudomonas aeruginosa* (36%) were found among selected strains. Carbapenemase production was found in 385 isolates (77%). The main mechanism determining carbapenem resistance in *P. aeruginosa* was the production of bla_{TIM} (100%). *A. baumannii* strains harbored OXA-23 (55%) and OXA-40 (45%) carbapenemases. The major determinant of carbapenem resistance in *K. pneumoniae* isolates was OXA-48 carbapenemase, detected in 63% strains, 13% of the strains possessed $bla_{NDM-group}$. 16% isolates had a combination of $bla_{NDM-group}$ and $bla_{OXA-48-like}$. Carbapenemase of KPC-group was found in 8% *K. pneumoniae* strains. OXA-48 carbapenemase prevailed (95%) among *S. marcescens* strains. Most of *E. coli* isolates harbored metallo-beta-lactamase NDM (89%). Other members of Enterobacterales most often had OXA-48 carbapenemase (57%), 39% of the isolates carried $bla_{NDM-group}$. In one strain, a combination of $bla_{NDM-group}$ and $bla_{OXA-48-like}$ was discovered. RT-PCR is a fast and reliable method for the detection of acquired carbapenemases and can be recommended for routine use in bacteriological laboratories.

Key words: *Klebsiella pneumoniae*; *Acinetobacter baumannii*; *Pseudomonas aeruginosa*; carbapenemases; real-time PCR.

For citation: Novikova I.E., Sadeeva Z.Z., Shakirzyanova R.A., Alyabieva N.M., Lazareva A.V., Karaseva O.V., Vershinina M.G., Fisenko A.P. The using of the polymerase chain reaction for the detection of resistance genes in gram-negative bacteria in routine practice in a pediatric hospital. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2022; 67 (3): 180-185 (in Russ.). DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-3-180-185>

For correspondence: Novikova I.E., Junior Researcher of the Molecular Microbiology Laboratory; e-mail: novikovayudina@outlook.com

Information about authors:

Novikova I.E., <https://orcid.org/0000-0003-4234-0209>;
Sadeeva Z.Z., <https://orcid.org/0000-0002-4587-0902>;
Shakirzyanova R.A., <https://orcid.org/0000-0003-4538-0273>;
Alyabieva N.M., <https://orcid.org/0000-0001-9365-9143>;
Lazareva A.V., <https://orcid.org/0000-0003-3896-2590>;
Karaseva O.V., <https://orcid.org/0000-0001-9418-4418>;
Vershinina M.G., <https://orcid.org/0000-0001-6051-5231>;
Fisenko A.P., <https://orcid.org/0000-0001-8586-7946>.

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 13.07.2021
Accepted 28.10.2021
Published 25.03.2022

Введение. В этиологической структуре инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), ведущая роль принадлежит грамотрицательным условно-патогенным микроорганизмам (УПМ), таким как *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* [1-5]. Госпитальные штаммы этих УПМ часто обладают фенотипом множественной лекарственной устойчивости (МЛУ). По данным многоцентрового исследования МАРАФОН, проведённого в 2015-2016 г. г., фенотипом МЛУ обладали 14,4% госпитальных изолятов Enterobacterales, 76,2% – *A. baumannii*, 35,0% – *P. aeruginosa* [6-8].

Наблюдается рост устойчивости грамотрицательных УПМ к антимикробным препаратам (АМП), особенно из группы карбапенемов, которые в течение длительного времени считались АМП резерва [9-10]. Основным механизмом резистентности к б-лактамам, в целом, и к карбапенемам в частности является продукция ферментов, гидролизующих АМП, таких как карбапенемазы [11-12]. В распространении устойчивости к карбапенемам важную роль наряду с представителями порядка Enterobacterales играют *A. baumannii* и *P. aeruginosa*. Природная устойчивость данных УПМ ко многим классам АМП объясняет трудности лечения инфекций, ассоциированных с ними, и обуславливает необходимость использования карбапенемов и их комбинаций с другими АМП широкого спектра действия. Обладая пластичным геномом, *A. baumannii* и *P. aeruginosa* способны приобретать и интегрировать новые детерминанты резистентности, например, гены карбапенемаз, приобретая фенотип МЛУ и становясь векторами диссеминации устойчивости к карбапенемам не только на уровне вида, но и между видами [13].

Важными детерминантами антибиотикорезистентности многих энтеробактерий и грамотрицательных неферментирующих УПМ являются приобретённые карбапенемазы. Ферменты классов А, С, Д являются сериновыми б-лактамазами, ферменты класса В – металло-бета-лактамазами (МБЛ), они содержат атом цинка в активном центре. Мобильные генетические элементы, в состав которых входят гены, кодирующие карбапенемазы, способствуют их быстрому распространению в госпитальной среде [14-15].

В детских стационарах недостаточно изучен спектр микрофлоры в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), её чувствительность к АМП и механизмы резистентности [16-18]. В России, согласно данным многоцентрового исследования МАРАФОН в 2015-2016 гг., наиболее частыми возбудителями ИСМП являлись *K. pneumoniae* (47,2%), *Escherichia coli* (30,0%), *A. baumannii* (16,8%), *P. aeruginosa* (17,4%) [6-8]. Согласно исследованию, проведённому среди детей, находившихся на искусственной вентиляции лёгких в ОРИТ, в структуре микробиоты преобладали *K. pneumoniae* (45%), *P. aeruginosa* (33%), *A. baumannii* (27-37%) [19].

Развитие и совершенствование молекулярно-генетических технологий внесло существенный вклад в формирование знаний, касающихся механизмов устойчивости к АМП, их эволюции и распространения. ПЦР-РВ является точным и быстрым способом детекции продукции карбапенемаз в диагностических лабораториях. Высокие воспроизводимость, чувствительность и специфичность делают ПЦР-РВ надёжным методом для скрининга на наличие генов карбапенемаз, что позволяет осуществлять мониторинг их эпидемиологического распространения [20-21]. В основе эффективности

антибактериальной терапии лежат актуальные данные о частоте и механизмах резистентности конкретного вида возбудителя инфекционного процесса. Изучение приоритетных патогенов с использованием микробиологических и молекулярно-генетических методов, нацеленное на определение механизмов устойчивости к АМП, будет способствовать рациональному выбору АМП и разработке мер по преодолению устойчивости.

Цель исследования – оценка ПЦР-РВ для детекции генов резистентности к карбапенемам грамотрицательных бактерий.

Материал и методы. Объект исследования – штаммы *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Serratia marcescens* и другие представители Enterobacterales, полученные из биоматериала детей из отделений ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России и НИИ неотложной детской хирургии и травматологии Департамента здравоохранения г. Москвы. Критериями включения в исследование штаммов послужили рекомендации Европейского комитета по тестированию чувствительности к антибиотикам (EUCAST), который для выявления продукции карбапенемаз у энтеробактерий рекомендует исследовать изоляты, минимальная подавляющая концентрация (МПК) меропенема которых >0,125 мг/л или диаметр зоны подавления роста <28 мм [22]. Включенные в исследование штаммы *A. baumannii* и *P. aeruginosa* относились к категории резистентных к карбапенемам в соответствии с критериями EUCAST [22]. Посевы биологического материала производили на питательные среды: кровяной агар и Uri-select agar (BioRad, США), инкубировали в термостате при температуре 37° С в течение 24-48 часов.

Видовую идентификацию проводили на масс-спектрометре MALDI-ToF MS (Bruker Daltonics, Германия). Образцы крови инкубировали в анализаторе гемокультур ВАСТЕС 9050 (Becton Dickinson, США) до момента регистрации роста микроорганизмов, затем проводили высеив на плотные питательные среды для выделения чистой культуры возбудителя.

Для определения чувствительности к меропенему и имипенему использован метод Е-тестов (BioMerieux, Франция) на среде Мюллера-Хинтона (Biorad, США). Результаты интерпретировали, руководствуясь оценочными критериями EUCAST [22].

Изоляты энтеробактерий протестированы на наличие генов карбапенемаз групп IMP, NDM, VIM, KPC,

OXA-48; *P. aeruginosa* на наличие МБЛ групп IMP, NDM, VIM; *A. baumannii* на наличие карбапенемаз групп OXA-23, OXA-40, OXA-58. Для выделения ДНК использована суточная культура, полученная при посеве на плотные питательные среды, указанные выше. Бактериальную ДНК выделяли с помощью коммерческих наборов «ГК-экспресс» (ЦНИИЭ Роспотребнадзора) согласно инструкции производителя. Выявление генов приобретенных карбапенемаз проводили с использованием наборов с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® MDR MBL-FL» (IMP, NDM, VIM), «АмплиСенс® MDR KPC/OXA-48-FL» (KPC, OXA-48), «АмплиСенс® MDR Ab-OXA-FL» (OXA-23, OXA-40, OXA-58), производства ЦНИИЭ Роспотребнадзора. В качестве положительного и отрицательного контроля использованы соответствующие образцы, входящие в состав набора. Реакцию амплификации проводили в соответствии с инструкцией производителя.

Результаты и обсуждение. В период 2019-2020 гг. исследовано 418 образцов биоматериала, из которых выделено 499 штаммов микроорганизмов. Материал доставлен от детей ОПИТ, отделений хирургии, пульмонологии, ревматологии, урологии, новорожденных детей. Локусы исследования представлены в табл. 1.

Среди исследуемых штаммов обнаружены представители порядка Enterobacterales: *K. pneumoniae* (n=169, 34%), *E. coli* (n=22, 4%), *S. marcescens* (n=29, 6%) и другие (n=29, 6%); грамотрицательные неферментирующие глюкозу бактерии: *A. baumannii* (n=71, 14%), *P. aeruginosa* (n=179, 36%) (см. рисунок).

Все представители порядка Enterobacterales имели МПК меропенема >0,125 мг/л. Штаммы *A. baumannii* и *P. aeruginosa* определены как нечувствительные к карбапенемам (МПК имипенема >4 мг/л, МПК меропенема >8 мг/л).

Продукция карбапенемаз обнаружена у 385 изолятов (77%). Среди них встречались штаммы *P. aeruginosa* (31%, n=118), *A. baumannii* (17%, n=64), *K. pneumoniae* (37%, n=141), *S. marcescens* (5%, n=20), *E. coli* (5%, n=19) и другие представители порядка Enterobacterales (6%, n=23) (табл. 2).

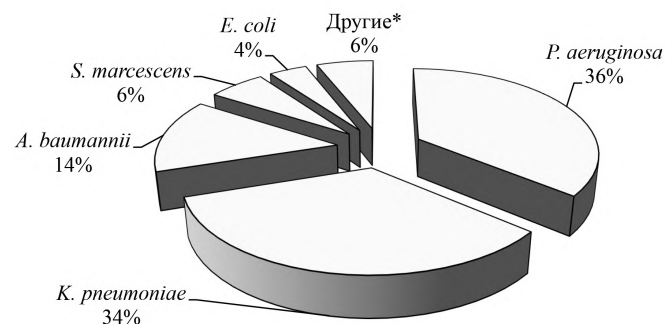
Изоляты *P. aeruginosa* обладали МБЛ группы VIM (n=118, 100%), других карбапенемаз не найдено. Среди штаммов *A. baumannii* преобладала карбапенемаза OXA-23 (n=35, 55%), у остальных изолятов обнаруже-

Таблица 1

Локусы исследования

| Локусы | n | % |
|-------------------------|-----|-----|
| Анус | 137 | 33 |
| Зев | 112 | 27 |
| Моча | 30 | 7 |
| Нижние дыхательные пути | 91 | 22 |
| Стома | 21 | 5 |
| Рана | 17 | 4 |
| Кровь | 5 | 1 |
| Брюшная полость | 5 | 1 |
| Всего | 418 | 100 |

Примечание. Здесь и в табл. 2: n – количество исследуемых образцов.



Видовой состав выделенных штаммов.

* – Другие: *Klebsiella oxytoca* (n=2), *Klebsiella variicola* (n=5), *Enterobacter aerogenes* (n=2), *Enterobacter asburiae* (n=1), *Enterobacter cloacae* (n=6), *Serratia ureilytica* (n=1), *Citrobacter freundii* (n=7), *Citrobacter farmeri* (n=3), *Morganella morganii* (n=2).

Гены резистентности и их комбинации у штаммов, продуцирующих карбапенемазы

| Вид | n | ОХА-48 | KPC | NDM | ОХА-48 + NDM | VIM | IMP | ОХА-23 | ОХА-40 | ОХА-58 |
|-----------------------------------|-----|----------|---------|----------|--------------|------------|-----|----------|----------|--------|
| <i>K. pneumoniae</i> | 141 | 89 (63%) | 11 (8%) | 19 (13%) | 22 (16%) | 0 | 0 | н/о | н/о | н/о |
| <i>S. marcescens</i> | 20 | 19 (95%) | 0 | 1 (5%) | 0 | 0 | 0 | н/о | н/о | н/о |
| <i>E. coli</i> | 19 | 2 (11%) | 0 | 17 (89%) | 0 | 0 | 0 | н/о | н/о | н/о |
| Другие <i>Enterobacterales</i> | 23 | 13 (57%) | 0 | 9 (39%) | 1 (4%) | 0 | 0 | н/о | н/о | н/о |
| <i>P. aeruginosa</i> | 118 | н/о | н/о | 0 | н/о | 118 (100%) | 0 | н/о | н/о | н/о |
| <i>A. baumannii</i> | 64 | н/о | н/о | н/о | н/о | н/о | н/о | 35 (55%) | 29 (45%) | 0 |

Примечание. н/о – не определялись.

на карбапенемаза ОХА-40 ($n=29$, 45%). Карбапенемазы ОХА-58 и комбинаций генов у исследованных штаммов *A. baumannii* не найдено. Карбапенемаза ОХА-48 выявлена у большинства образцов *K. pneumoniae* ($n=89$, 63%), в 19 образцах (13%) детектирован ген $bla_{\text{NDM-group}}$, сочетание генов карбапенемаз $bla_{\text{NDM-group}}$ и $bla_{\text{ОХА-48-like}}$ обнаружено у 22 изолятов (16%). Одиннадцать изолятов (8%) продуцировали $bla_{\text{KPC-group}}$. Главной детерминантой резистентности среди штаммов *S. marcescens* была карбапенемаза группы ОХА-48 ($n=19$, 95%). Один изолят показал наличие $bla_{\text{NDM-group}}$. Среди изолятов *E. coli* преобладала МБЛ группы NDM ($n=17$, 89%), у остальных штаммах выявлен ген $bla_{\text{ОХА-48-like}}$ ($n=2$, 11%). Другие представители порядка Enterobacterales в большинстве случаев обладали карбапенемазой ОХА-48 ($n=13$, 57%), у девяти изолятов обнаружено носительство $bla_{\text{NDM-group}}$ (39%). У одного штамма выявлена комбинация $bla_{\text{NDM-group}}$ и $bla_{\text{ОХА-48-like}}$.

У большей части протестированных образцов выявлена продукция карбапенемаз различных групп. По данным исследования МАРАФОН 2015-2016 гг. резистентность к карбапенемам *P. aeruginosa*, главным образом, ассоциировалась с карбапенемазами группы VIM [7]. В исследовании, проведенном нашими коллегами ранее, сообщалось, что носителями карбапенемазы группы VIM являлись 60% карбапенемрезистентных изолятов *P. aeruginosa* [19]. Результаты настоящего исследования подтверждают эти данные.

У штаммов *A. baumannii* обнаружены широко распространённые в мире ОХА-23 и ОХА-40-подобные карбапенемазы [23]. Ген $bla_{\text{ОХА-23}}$ впервые детектирован у нечувствительного к имипенему штамма *A. baumannii*, изолированного от пациента в Шотландии [24], впоследствии обнаружен во многих регионах мира: Бразилии, Кореи, Австралии и других странах [25-29]. ОХА-24-подобный фермент, идентичный ОХА-40, впервые обнаружен у штамма *A. baumannii* в Испании [30]. В настоящее время карбапенемрезистентные штаммы *A. baumannii*, продуцирующие ОХА24/40-подобные карбапенемазы являются причиной вспышек ИСМП в различных регионах [31-33]. Среди карбапенемрезистентных изолятов *A. baumannii* наиболее распространены карбапенемазы группы ОХА-40, в меньшей степени группы ОХА-23 [8, 34]. При исследовании штаммов *A. baumannii*, выделенных в гемокультуре, обнаружено носительство ОХА-23-подобной карбапенемазы в 45,9% случаев [35]. ОХА-58-подобные карбапенемазы на территории Российской Федерации встречаются редко [8].

Наиболее частый механизм резистентности у *K. pneumoniae* – наличие карбапенемазы KPC [36]. По нашим данным геном bla_{KPC} обладали только 8% штаммов

K. pneumoniae, основной детерминантой резистентности среди изолятов *K. pneumoniae* и *S. marcescens* стало наличие карбапенемазы ОХА-48, которая представлена у 63% и 95% штаммов соответственно. У энтеробактерий ОХА-48-подобные карбапенемазы широко распространены в мире и на территории Российской Федерации [6, 37]. Среди исследованных нами штаммов *E. coli* преобладало носительство $bla_{\text{NDM-group}}$. Впервые МБЛ группы NDM обнаружили в Индии в 2008 г. [38], и с тех пор распространилась по всему миру [39], штаммы *K. pneumoniae* и *E. coli* являются основными носителями МБЛ группы NDM [40]. В нашей коллекции обнаружены изоляты, сочетающие карбапенемазы групп ОХА-48 и NDM. Продукторов генов МБЛ групп VIM и IMP среди исследованных нами штаммов энтеробактерий не обнаружено.

Показана перспективность применения ПЦР-РВ для детекции генов карбапенемаз грамотрицательных бактерий в рутинной практике бактериологической лаборатории. Применение ПЦР-РВ может быть оправдано в качестве метода быстрой детекции генов карбапенемаз, что позволяет ускорить назначение АМП с учётом механизмов резистентности возбудителя. Правильный выбор терапии является жизненно важным: промедление применения адекватной терапии при инфекционных состояниях снижает выживаемость пациента примерно на 8% [41]. Необходимо использовать любую возможность ускорить идентификацию не только возбудителя инфекции, но и механизмов резистентности к АМП.

Заключение. Результаты, полученные при помощи метода ПЦР-РВ для идентификации генов карбапенемаз грамотрицательных микроорганизмов, имеют важное значение для выбора эффективной антибиотикотерапии. ПЦР-РВ может быть рекомендован для использования в повседневной работе бактериологических лабораторий.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 5, 10, 11, 13, 16-18, 20, 22-33, 36, 38-41 см. REFERENCES)

1. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Шек Е.А., Дехнич А.В. и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Acinetobacter spp.* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2013-2014. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2017; 19(1): 42-8.
2. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Микотина А.В., Дехнич А.В. и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Enterobacteriaceae* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2013-2014. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2017; 19(1): 49-56.

3. Эйдельштейн М.В., Сухорукова М.В., Скленова Е.Ю., Иванчик Н.В., Микотина А.В., Шек Е.А. и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2013-2014. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2017; 19(1): 37-41.
4. Медведева Е.Д., Кецо Ю.Л., Исмагуллин Д.Д., Лямин А.В., Кондратенко О.В., Жестков А.В. Структура микроорганизмов, выделенных из бронхоальвеолярного лаважа от пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65(7): 454-7. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-7-454-457.
6. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Иванчик Н.В., Скленова Е.Ю., Шайдуллина Э.Р., Шек Е.А. и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Enterobacteriales в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН 2015-2016. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2019; 21(2): 147-59. DOI:10.36488/cmasc.2019.2.147-159.
7. Эйдельштейн М.В., Шек Е.А., Сухорукова М.В., Скленова Е.Ю., Иванчик Н.В., Шайдуллина Э.Р. и др. Антибиотикорезистентность, продукция карбапенемаз и генотипы нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН 2015–2016». *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2019; 21(2): 160-70. DOI:10.36488/cmasc.2019.2.160-170.
8. Шек Е.А., Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Скленова Е.Ю., Иванчик Н.В., Шайдуллина Э.Р. и др. Антибиотикорезистентность, продукция карбапенемаз и генотипы нозокомиальных штаммов *Acinetobacter spp.* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН 2015–2016». *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2019; 21(2): 171-80. DOI:10.36488/cmasc.2019.2.171-180.
9. Прячук С.Д., Фурсова Н.К., Абаев И.В., Ковалев Ю.Н., Шишкова Н.А., Печерских Э.И. и др. Генетические детерминанты устойчивости к антибактериальным средствам в нозокомиальных штаммах *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* и *Enterobacter spp.*, выделенных в России в 2003-2007 гг. *Антибиотики и химиотерапия*. 2010; 55(9-10): 3-10.
12. Зверев В.В., Бойченко М.Н. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2016.
14. Тапальский Д.В., Осипов В.А., Жаворонок С.В. Карбапенемазы грамотрицательных бактерий: распространение и методы детекции. *Медицинский журнал*. 2012; (2): 10-5.
15. Алексеева А.Е., Бруснигина Н.Ф., Солнцев Л.А., Гординская Н.А. Молекулярное типирование клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae*, продуцирующих бета-лактамазы расширенного спектра действия. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017; 62(11): 699-704. DOI:10.18821/0869-2084-2017-62-11-699-704.
19. Лазарева А.В., Катосова Л.К., Крыжановская О.А., Пономаренко О.А., Карасева О.В., Горелик А.Л. и др. Мониторинг и профиль антибиотикорезистентности микробиоты трахеального аспирата у детей с тяжелой черепно-мозговой травмой в отделении реанимации и интенсивной терапии. *Антибиотики и химиотерапия*. 2014; 59(7-8): 8-15.
21. Лопухов Л.В., Эйдельштейн М.В. Полимеразная цепная реакция в клинической микробиологической диагностике. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2000; 2 (3): 96-106.
34. Лазарева А.В., Чеботарь И.В., Бочарова Ю.А., Маянский Н.А. Спектр антибиотикорезистентности и распространенность ОХА-карбапенемаз среди штаммов *Acinetobacter baumannii*, выделенных у пациентов хирургических и реанимационных отделений в Москве. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2016; (1): 40-5. DOI:10.36233/0372-9311-2016-1-40-45.
35. Хрульнова С.А., Федорова А.В., Фролова И.Н., Клясова Г.А. Молекулярно-генетическое типирование *Acinetobacter baumannii*, выделенных из гемокультуры больных опухолями системы крови, методом ПЦР случайных полиморфных фрагментов ДНК. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2020; 19(4): 38-47. DOI:10.31631/2073-3046-2020-19-4-38-47.
37. Шамина О.В., Самойлова Е.А., Новикова И.Е., Лазарева А.В. *Klebsiella pneumoniae*: микробиологическая характеристика, антибиотикорезистентность и вирулентность. *Российский педиатрический журнал*. 2020; 23(3): 191-7. DOI:10.18821/1560-9561-2020-23-3-191-197.

REFERENCES

1. Sukhorukova M.V., Edelstein M.V., Skleenova E.Yu., Ivanchik N.V., Shek E.A., Dekhnic A.V. et al. Antimicrobial resistance of nosocomial *Acinetobacter spp.* isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study «MARATHON» 2013-2014. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2017; 19(1): 42-8. (in Russian)
2. Sukhorukova M.V., Edelstein M.V., Skleenova E.Yu., Ivanchik N.V., Mikotina A.V., Dekhnic A.V. et al. Antimicrobial resistance of nosocomial *Enterobacteriaceae* isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study «MARATHON» 2013-2014. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2017; 19(1): 49-56. (in Russian)
3. Edelstein M.V., Sukhorukova M.V., Skleenova E.Yu., Ivanchik N.V., Mikotina A.V., Shek E.A. et al. Antimicrobial resistance of nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study «MARATHON» 2013-2014. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2017; 19(1): 37-41. (in Russian)
4. Medvedeva E.D., Kezko J.L., Ismatullin D.D., Lyamin A.V., Kondratenko O.V., Zhestkov A.V. Structure of microorganisms isolated from bronchoalveolar lavage from patients in the department of reanimation and intensive therapy. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2020; 65(7): 454-7. DOI:10.18821/0869-2084-2020-65-7-454-457. (in Russian)
5. Ageevets V.A., Partina I.V., Lisitsyna E.S., Ilina E.N., Lobzin Y.V., Shlyapnikov S.A., Sidorenko S.V. Emergence of carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in Saint Petersburg, Russia. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2014; 44(2): 152-5. DOI:10.1016/j.ijantimicag.2014.05.004.
6. Sukhorukova M.V., Edelstein M.V., Ivanchik N.V., Skleenova E.Yu., Shajdullina E.R., Shek E.A. et al. Antimicrobial resistance of nosocomial Enterobacteriales isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study «MARATHON 2015–2016». *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2019; 21(2): 147-59. DOI:10.36488/cmasc.2019.2.147-159. (in Russian)
7. Shek E.A., Sukhorukova M.V., Edelstein M.V., Skleenova E.Yu., Ivanchik N.V., Shajdullina E.R. et al. Antimicrobial resistance, carbapenemase production, and genotypes of nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study «MARATHON 2015-2016». *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2019; 21(2): 160-70. DOI:10.36488/cmasc.2019.2.160-170. (in Russian)
8. Shek E.A., Sukhorukova M.V., Edelstein M.V., Skleenova E.Yu., Ivanchik N.V., Shajdullina E.R. et al. Antimicrobial resistance, carbapenemase production, and genotypes of nosocomial *Acinetobacter spp.* isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study «MARATHON 2015-2016». *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2019; 21(2): 171-80. DOI:10.36488/cmasc.2019.2.171-180. (in Russian)
9. Pryamchuk S.D., Fursova N.K., ABAEV I.V., Kovalev Yu.N., Shishkova N.A., Pecherskikh E.I. et al. Genetic determinants of antibacterial resistance among nosocomial *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, and *Enterobacter spp.* isolates collected in Russia within 2003-2007. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 2010; 55(9-10): 3-10. (in Russian)
10. Edelstein M., Pimkin I., Palagin I., Edelstein I., Stratchounski L. Prevalence and molecular epidemiology of CTX-M extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Russian hospitals. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003; 47(12): 3724-32. DOI:10.1128/aac.47.12.3724-3732.2003.
11. Pfeifer Y., Cullik A., Witte W. Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens.

- Int. J. Med. Microbiol.* 2010; 300(6): 371-9. DOI:10.1016/j.ijmm.2010.04.005.
12. Zverev V.V., Boychenko M.N. Medical microbiology, virology and immunology. [Meditinskaya mikrobiologiya, virusologiya i immunologiya]. Moscow: GEOTAR-Media; 2016. (in Russian)
 13. Potron A., Poirel L., Nordmann P. Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2015; 45(6): 568-85. DOI:10.1016/j.ijantimicag.2015.03.001.
 14. Tapal'skiy D.V., Osipov V.A., Zhavoronok S.V. Carbapenemases of gram-negative bacteria: spread and detection methods. *Meditinskiy zhurnal.* 2012. (2): 10-5. (in Russian)
 15. Alekseeva A.E., Brusnigina N.F., Solntsev L.A., Gordinskaya N.A. The molecular typing of clinical isolates *Klebsiella pneumoniae* producing beta-lactamases of extended specter of action. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 2017; 62(11): 699-704. DOI:10.18821/0869-2084-2017-62-11-699-704. (in Russian)
 16. Hsu A.J., Tamma P.D. Treatment of multidrug-resistant Gram-negative infections in children. *Clinical Infectious Diseases.* 2014; 58(10): 1439-48. DOI:10.1093/cid/ciu069.
 17. Kehl S.C., Dowzicky M.J. Global assessment of antimicrobial susceptibility among Gram-negative organisms collected from pediatric patients between 2004 and 2012: results from the tigeocycline evaluation and surveillance trial. *The Journal of Clinical Microbiology.* 2015; 53(4): 1286-93. DOI:10.1128/jcm.03184-14.
 18. Lukac P.J., Bonomo R.A., Logan L.K. Extended-spectrum-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in children: old foe, emerging threat. *Clinical Infectious Diseases.* 2015; 60 (9): 1389-97. DOI:10.1093/cid/civ020.
 19. Lazareva A.V., Katosova L.K., Kryzhanovskaya O.A., Ponomarenko O.A., Karaseva O.V., Gorelik A.L. et al. Monitoring and antibiotic resistance profile of tracheal aspirate microbiota in ICU children with severe craniocerebral trauma. *Antibiotiki i khimioterapiya.* 2014; 59(7-8): 8-15. (in Russian)
 20. Hrabák J., Chudáčková E., Papagiannitsis C.C. Detection of carbapenemases in *Enterobacteriaceae*: a challenge for diagnostic microbiological laboratories. *Clin. Microbiol. Infect.* 2014; 20(9): 839-53. DOI:10.1111/1469-0691.12678.
 21. Lopukhov L.V., Edelstein M.V. Polymerase chain reaction in diagnostic clinical microbiology. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya.* 2000; 2 (3): 96-106. (in Russian)
 22. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Ver. 9.0., 2019. Available at: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/. Accessed August 01, 2019.
 23. Higgins P.G., Dammhayn C., Hackel M., Seifert H. Global spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2010; 65(2): 233-8. DOI:10.1093/jac/dkp428.
 24. Donald H.M., Scaife W., Amyes S.G.B., Young H-K. Sequence analysis of ARI-1, a novel OXA β -lactamase, responsible for imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* 6B92. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2000; 44(1): 196-9. DOI:10.1128/aac.44.1.196-199.2000.
 25. Dalla-Costa L.M., Coelho J.M., Souza H.A.P.H.M., Castro M.E.S., Stier C.J.N., Bragagnolo K.L. et al. Outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 enzyme in Curitiba, Brazil. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41(7): 3403-6. DOI:10.1128/jcm.41.7.3403-3406.2003.
 26. Turton J. F., Kaufmann M. E., Glover J., Coelho J. M., Warner M., Pike R. et al. Detection and typing of integrons in epidemic strains of *Acinetobacter baumannii* found in the United Kingdom. *J. Clin. Microbiol.* 2005; 43(7): 3074-82. DOI:10.1128/jcm.43.7.3074-3082.2005.
 27. Jeon B.-C., Jeong S.H., Bae I.K., Kwon S.B., Lee K., Young D. et al. Investigation of a nosocomial outbreak of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing the OXA-23 β -lactamase in Korea. *J. Clin. Microbiol.* 2005; 43(5): 2241-5. DOI:10.1128/jcm.43.5.2241-2245.2005.
 28. Valenzuela J.K., Thomas L., Partridge S.R., van der Reijden T., Dijkshoorn L., Iredell J. Horizontal gene transfer in a polyclonal outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J. Clin. Microbiol.* 2007; 45(2): 453-60. DOI:10.1128/jcm.01971-06.
 29. Boo T.W., Walsh F., Crowley B. First report of OXA-23 carbapenemase in clinical isolates of *Acinetobacter* species in the Irish Republic. *J. Antimicrob. Chemother.* 2006; 58(5): 1101-2. DOI:10.1093/jac/dkl345.
 30. Bou G., Santillana E., Sheri A., Beceiro A., Sampson J. M., Kalp M. et al. Design, synthesis, and crystal structures of 6-alkylidene-2'-substituted penicillanic acid sulfones as potent inhibitors of *Acinetobacter baumannii* OXA-24 carbapenemase. *J. Am. Chem. Soc.* 2010; 132(38): 13320-31. DOI:10.1021/ja104092z.
 31. Kuo S.-C., Huang W.-C., Huang T.-W., Wang H.-Y., Lai J.-F., Lauderdale T.-L., Chen T.-L. Molecular epidemiology of emerging *bla*_{OXA-23-Like} - and *bla*_{OXA-24-Like} -carrying *Acinetobacter baumannii* in Taiwan. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2018; 62(3): e01215-17. DOI:10.1128/aac.01215-17.
 32. Quinteira S., Grosso F., Ramos H., Peixe L. Molecular epidemiology of imipenem-resistant *Acinetobacter haemolyticus* and *Acinetobacter baumannii* isolates carrying plasmid-mediated OXA-40 from a Portuguese Hospital. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007; 51(9): 3465-6. DOI:10.1128/aac.00267-07.
 33. Lolans K., Rice T.W., Munoz-Price L.S., Quinn J.P. Multicity outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates producing the carbapenemase OXA-40. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006; 50(9): 2941-5. DOI:10.1128/aac.00116-06.
 34. Kryzhanovskaya O.A., Lazareva A.V., Chebotar I.V., Bocharova Yu.A., Mayanskiy N.A. Spectrum of antibiotic resistance and prevalence of OXA-carbapenemases among *Acinetobacter baumannii* strains, isolated from patients of surgical and reanimation departments in Moscow. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2016; (1): 40-5. DOI:10.36233/0372-9311-2016-1-40-45. (in Russian)
 35. Khnul'nova S.A., Fedorova A.V., Frolova I.N., Klyasova G.A. Genotyping by random amplified polymorphic DNA assay of *Acinetobacter baumannii* isolated from blood culture of patients with hematological malignancies. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika.* 2020; 19(4): 38-47. DOI: 10.31631/2073-3046-2020-19-4-38-47. (in Russian)
 36. Falagas M.E., Lourida P., Poulidakos P., Rafailidis P.I., Tansarli G.S. Antibiotic treatment of infections due to carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: systematic evaluation of the available evidence. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014; 58(2): 654-63. DOI:10.1128/aac.01222-13.
 37. Shamina O.V., Samoylova E.A., Novikova I.E., Lazareva A.V. *Klebsiella pneumoniae*: microbiological characterization, antimicrobial resistance, and virulence. *Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal.* 2020; 23(3): 191-7. DOI:10.18821/1560-9561-2020-23-3-191-197. (in Russian)
 38. Yong D., Toleman M.A., Giske C.G., Cho H.S., Sundman K., Lee K. et al. Characterization of a new metallo- β -lactamase gene, *bla*_{NDM-1*} and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009; 53(12): 5046-54. DOI:10.1128/AAC.00774-09.
 39. Khan A.U., Maryam L., Zarrilli R. Structure, genetics and worldwide spread of New Delhi metallo- β -lactamase (NDM): a threat to public health. *BMC Microbiol.* 2017; 17(1). DOI:10.1186/s12866-017-1012-8.
 40. Wu W., Feng Y., Tang G., Qiao F., McNally A., Zong Z. NDM metallo- β -lactamases and their bacterial producers in health care settings. *Clin. Microbiol. Rev.* 2019; 32(2): e00115-18. DOI:10.1128/CMR.00115-18.
 41. La Scola B. Intact cell MALDI-TOF mass spectrometry-based approaches for the diagnosis of bloodstream infections. *Expert. Rev. Mol. Diagn.* 2011; 11(3): 287-98. DOI:10.1586/erm.11.12.