

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Гудуева Е. Н.¹, Чемисова О. С.¹, Лычман В. А.¹, Темякова С. Ю.¹, Полеева М. В.¹, Носков А. К.¹, Логвин Ф. В.²

УСТОЙЧИВОСТЬ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ ACINETOBACTER BAUMANNII

¹ФКУЗ Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, 344002, Ростов-на-Дону, Россия;

²ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 344002, Ростов-на-Дону, Россия

Актуальность. Изучение антибиотикоустойчивости микроорганизмов представляет большой интерес для науки и клинической практики. Приобретение устойчивости к антимикробным препаратам (АМП) микроорганизмов является одним из примеров эволюции. Необходимо изучение общих принципов, механизмов, связанных с появлением устойчивости к АМП *A. baumannii*.

Цель - оценить чувствительность к АМП и определить наличие генов резистентности к β-лактамам АМП *A. baumannii*, выделенных в г. Ростов-на-Дону с 2020 по 2022 год.

Материал и методы. Штаммы получены от пациентов с внебольничными и внутрибольничными пневмониями, из смывов с объектов окружающей среды, больниц г. Ростов-на-Дону, в период с 2020 по 2022 год. Культивирование микроорганизмов проводили бактериологическим методом. Видовая принадлежность подтверждена биохимическими методами и MALDI-ToF-масс-спектрометрией. Изучение устойчивости штаммов к АМП проводили диско-диффузионным методом. Поиск генов устойчивости к β-лактамам АМП определяли методом биоинформационного анализа полногеномных секвенсов программой *ResistanceAnalyzer*, и методом ПЦР.

Результаты. При исследовании проб, полученных от пациентов, выделены представители рода *Acinetobacter*, преобладал вид *A. baumannii* - 72%. Среди образцов смывов с объектов окружающей среды *A. baumannii* выявлен в 16,2% случаев. Большинство штаммов, выделенных из образцов мокроты, обладали устойчивостью к группе β-лактамов АМП. Методом ПЦР у 9 штаммов выявлены гены группы OXA-48. Анализ нуклеотидных последовательностей выделенных штаммов *A. baumannii*, показал наличие генов, кодирующих 7 типов β-лактамаз.

Обсуждение. Штаммы *A. baumannii* показали полную либо частичную резистентность к АМП, что указывает на наличие большого количества различных механизмов, которые лежат в основе устойчивости к антибиотикам. Выявлены гены резистентности к β-лактамам антибиотикам, благодаря использованию метода ПЦР и полногеномного секвенирования. Было обнаружено, что гены устойчивости к β-лактамам присутствуют в различных сочетаниях генов: *bla_{AdeC}*; *bla_{Oxa1}*; *bla_{AmpC}*; *bla_{Ctx-M}*; *bla_{CarB}*; *bla_{Tem}*; *bla_{Ndm}*. По сравнению с ПЦР полногеномное секвенирование помогает обнаружить более широкий диапазон детерминант антибиотикоустойчивости.

Заключение. *A. baumannii* проявляет высокую устойчивость к АМП. Наиболее часто присутствовали гены группы OXA β-lactamase.

Ключевые слова: *Acinetobacter baumannii*; пневмония; гены антибиотикоустойчивости; антимикробные препараты

Для цитирования: Гудуева Е.Н., Чемисова О.С., Лычман В.А., Темякова С.Ю., Полеева М.В., Носков А.К., Логвин Ф.В. Устойчивость к антимикробным препаратам *Acinetobacter baumannii*. Клиническая лабораторная диагностика. 2024; 69 (2): 97-103. DOI: https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-2-97-103

Для корреспонденции: Гудуева Елена Николаевна, мл. науч. сотр. лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов»; e-mail: gudueva_en@antiplague.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Благодарность. Авторы выражают благодарность медицинским организациям Ростова-на-Дону за предоставление материала для исследования и канд. мед. наук, ст. научному сотруднику А.С. Водопьянову за разработку программы «*ResistanceAnalyzer*».

Поступила 24.08.2023

Принята к печати 25.01.2024

Опубликовано 15.02.2024

Gudueva E.N.¹, Chemisova O.S.¹, Lychman V.A.¹, Temyakova S.Yu.¹, Poleeva M.V.¹, Noskov A.K.¹, Logvin F.V.²

ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF ACINETOBACTER BAUMANNII

¹Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, 344002, Rostov-on-Don, Russia;

²Rostov State Medical University, 344002, Rostov-on-Don, Russia

Introduction. The study of antibiotic resistance of microorganisms is of great interest for science and clinical practice. The acquisition of resistance to antibacterial drugs of microorganisms is one of the examples of evolution. It is necessary to study the general principles and mechanisms associated with the emergence of antibiotic resistance to *A. baumannii*.

Objective. To evaluate the sensitivity to antibacterial drugs and determine the presence of *A. baumannii* beta-lactam antibiotic resistance genes isolated in Rostov-on-Don from 2020 to 2022.

Material and methods. The strains were obtained from patients with community-acquired and nosocomial pneumonia, as well as from flushes from environmental facilities, hospitals in Rostov-on-Don, in the period from 2020 to 2022. The cultivation of microorganisms was carried out by the bacteriological method. The species identity was confirmed by biochemical methods and MALDI-ToF mass spectrometry. The study of the resistance of strains to antibacterial drugs was carried out by the disco diffusion method. The search for beta-lactam antibiotic resistance genes was determined by bioinformatic analysis of genome-wide sequences using the *ResistanceAnalyzer* program, as well as by PCR.

Results. In the study of samples obtained from patients, representatives of the genus *Acinetobacter* were isolated, mainly the species

A. baumannii was isolated – 72%. Among the samples of flushes from environmental objects, *A. baumannii* was detected in 16.2% of cases. Most of the strain isolated from sputum samples were resistant to the group of beta-lactam antibiotics. The PCR method in 9 strains revealed the genes of the OXA-48 group. The analysis of nucleotide sequences isolated from *A. baumannii* strains showed the presence of genes encoding 7 types of β -lactamases.

Discussion. *A. baumannii* strains have shown full or partial resistance to antimicrobial drugs, which indicates the presence of a large number of different mechanisms that underlie antibiotic resistance. Beta-lactam antibiotic resistance genes have been identified through the use of PCR and genome-wide sequencing. It was found that β -lactam resistance genes are present in various gene combinations: *bla*_{Ade}; *bla*_{Oxa}; *bla*_{AmpC}; *bla*_{Ctx-M}; *bla*_{Carb}; *bla*_{Tem}; *bla*_{Ndm}. Compared with PCR, genome-wide sequencing helps to detect a wider range of determinants of antibiotic resistance.

Conclusion. *A. baumannii* shows high resistance to antibiotics OXA beta-lactamase genes were most often present.

Key words: *Acinetobacter baumannii*; pneumonia; antibiotic resistance genes; antibacterial drugs

For citation: Gudueva E.N., Chemisova O.S., Lychman V.A., Temyakova S.Yu., Poleeva M.V., Noskov A.K., Logvin F.V. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter baumannii*. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (2): 97-103 (in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-2-97-103>

For correspondence: Gudueva Elena Nikolaevna, Junior Researcher at the laboratory "Collection of pathogenic microorganisms"; e-mail: gudueva_en@antiplague.ru

Information about authors:

Gudueva E.N., <https://orcid.org/0000-0002-6114-9891>;

Chemisova O.S., <https://orcid.org/0000-0002-4059-2878>;

Lychman V.A., <https://orcid.org/0009-0000-4119-5324>;

Timakova S.Yu., <https://orcid.org/0000-0003-4472-0264>;

Poleeva M.V., <https://orcid.org/0000-0001-8086-376X>;

Noskov A.K., <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>;

Logvin F.V., <https://orcid.org/0000-0002-4410-1677>.

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

Financing. The study had no sponsor support.

Acknowledgment. The authors express their gratitude to the medical organizations of Rostov-on-Don for providing the material for the study. The authors express their gratitude to Vodopyanov A.S., Ph.D. in Medicine, Senior researcher of the Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute for the development of the «ResistanceAnalyzer» program.

Received 24.08.2023

Accepted 25.01.2024

Published 00.02.2024

Введение. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) *Acinetobacter baumannii* включен в список двенадцати антибиотикоустойчивых микроорганизмов, представляющих наивысшую угрозу для здоровья человека [1]. *A. baumannii* входит в группу ESKAPE патогенов, включающую: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp. [2], занимающих ведущее место в возникновении и развитии нозокомиальных инфекций [1].

A. baumannii принадлежит к роду *Acinetobacter*, охватывающему более 50 видов, большинство из которых непатогенные. Наиболее распространёнными видами, вызывающими инфекционный процесс у человека, являются *A. baumannii*, *A. calcoaceticus* и *A. lwoffii*. *A. baumannii* наиболее патогенный представитель рода *Acinetobacter* [3].

В большинстве случаев *A. baumannii* является причиной заболеваний иммунокомпрометированных лиц. Он вызывает синусит, трахеобронхит, пневмонию, заболевания мочевыводящих путей, нервной системы (менингит, энцефалит, абсцесс мозга), сепсис, эндокардит естественных и искусственных клапанов сердца, инфекции кожи и мягких тканей [4].

Acinetobacter spp. является одной из причин развития внутрибольничных и внебольничных пневмоний среди пациентов с подтверждённым диагнозом COVID-19, и может привести к более тяжёлым последствиям [5,6]. *A. baumannii* вызывает ИВЛ-ассоциированные пневмо-

нии у пациентов с выявленным SARS-CoV-2. Патоген может быть обнаружен на медицинских приборах и сохраняться там долгое время [7,8]. Передача возбудителя осуществляется воздушно-капельным, контактно-бытовым и гематогенным путями [9].

Возбудители внутрибольничных пневмоний отличаются повышенной устойчивостью к антимикробным препаратам (АМП) [10]. *A. baumannii* представляет проблему для здравоохранения из-за способности к развитию множественной лекарственной устойчивости (МЛУ), поэтому лечение пациентов с такой инфекцией является сложной задачей [11]. В отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) до 30% клинических штаммов *A. baumannii* устойчивы, по крайней мере к трём классам АМП [12] – карбапенемы, фторхинолоны, цефалоспорины [1,13]. Штаммы *A. baumannii* обладают рядом механизмов устойчивости к АМП. Причины резистентности разнообразны и включают изменение проницаемости наружной мембраны клеточной стенки, эффлюкс, продукцию приобретённых карбапенемаз, гиперпродукцию видоспецифических β -лактамаз, аминогликозидаз, тетрациклиназ, хинолоназ. Наличие нескольких механизмов устойчивости сокращает количество классов АМП, доступных для лечения инфекций в клинической практике [14]. Развитие приобретённой устойчивости может происходить в результате двух процессов: мутации в хромосомных структурах и приобретения экзогенных генов путём их горизонтального переноса [11].

Карбапенемы являлись препаратами для эмпири-

ческого лечения инфекций, вызванных *A. baumannii*. Большинство штаммов *A. baumannii* с МЛУ к АМП (98,1%) устойчивы к имипенему, и около 50% устойчивы к меропенему, амикацину, гентамицину. При этом гены карбапенемаз, такие как *OXA-51*, *OXA-23*, обнаруживались почти во всех штаммах [15].

Данные о природной резистентности ацинетобактерий к АМП противоречивы. Перечень АМП, чувствительность к которым рекомендовано определять в клинической практике, по-разному определяется российскими, европейскими (рекомендации EUCAST) и американскими (рекомендации CLSI) экспертами [16].

Цель исследования: оценить чувствительность к АМП и определить наличие генов резистентности к β -лактамам АМП *A. baumannii*, выделенных в г. Ростов-на-Дону с 2020 по 2022 гг.

Материал и методы. Исследованы штаммы *A. baumannii*, изолированные от пациентов с внебольничными (восемь штаммов), внутрибольничными пневмониями (11 штаммов) и из смывов с объектов окружающей среды (ООС) (семь штаммов) в двух медицинских организациях г. Ростов-на-Дону в период с 2020 по 2022 год.

Культивирование микроорганизмов проводили в соответствии с МУК 4.2.2115-13 «Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний». Для идентификации штаммов использован метод времяпролётной масс-спектрометрии (MALDI-ToF) с программным обеспечением MALDI Biotyper v.3.0. (Bruker Daltonics, Германия) согласно инструкции производителя, и биохимические методы. Определение устойчивости штаммов к АМП проводили диско-диффузионным методом на среде Мюллера-Хинтон, результаты устойчивости к карбапенемам, фторхинолонам, аминогликозидам, сульфаниламидам учитывали в соответствии с рекомендациями «European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 12.0», устойчивость к цефалоспорином, пенициллинам, тетрациклинам определяли в соответствии с критериями «CLSI 2020».

Выявление генов карбапенемаз определяли методом ПЦР с помощью наборов «АмплиСенс MDR KPC/OXA-48-FL» и «АмплиСенс® MDR A.b.-OXA-FL». Для детального изучения генов антибиотикорезистентности проведено полногеномное секвенирование всех 26 штаммов *A. baumannii*. Полногеномное секвенирование штаммов проведено на платформе «Illumina MiSeq» с использованием набора «Nextera DNA Library Preparation Kit» согласно инструкции производителя. Наличие генов устойчивости определяли, анализируя данные полногеномных нуклеотидных последовательностей с помощью программы ResistanceAnalyzer, разработанной сотрудниками ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора (<http://antiplague.ru/resistanceanalyzer/>), в качестве базы бактерий данных использована комплексная база данных CARD (The Comprehensive Antibiotic Resistance Database, <https://card.mcmaster.ca/>). Подтверждение полученных результатов осуществлено с помощью программы BLAST Nucleotide collection (nr/nt) [17].

Результаты. В результате исследований клинических образцов установлено, что доля *Acinetobacter* spp. составила 21,8% от всех выявленных бактериальных патогенов. Преобладали *A. baumannii* (72%),

в единичных случаях изолированы *A. berijrinskii*, *A. lwoffii*, *A. junii*. У пациентов с внутрибольничными пневмониями выделяли только *A. baumannii*. Штаммы *A. baumannii* получены от пациентов, которые находились в стационаре более пяти дней.

При исследовании смывов с ООС, штаммы *A. baumannii* выделены в одном медицинском учреждении, положительные образцы получены с аппарата искусственной вентиляции лёгких (ИВЛ). Результаты оценки чувствительности/устойчивости к АМП штаммов *A. baumannii*, и наличие генов резистентности по результатам полногеномного секвенирования и метода ПЦР представлены в таблице.

Большинство клинических штаммов *A. baumannii* характеризовались высоким уровнем устойчивости *in vitro* к ампициллину-сульбактаму. Только четверть штаммов, среди изолированных от пациентов с внебольничными пневмониями, обладала резистентностью к цефотаксиму, цефтриаксону и более половины к цефоперазону. У менее половины штаммов выявлена резистентность к цефалоспорином (36,3%, 36,3% и 45,4%).

Резистентными к карбапенемам (имипенему и меропенему) были соответственно 12,5% и 37,5% штаммов, выделенных от пациентов с внебольничными пневмониями. Два штамма обладали промежуточной резистентностью к меропинему, и один к имипенему. 45,4% штаммов *A. baumannii*, изолированных от пациентов с внутрибольничными пневмониями, резистентны к карбапенемам, 54,5% отличались промежуточной устойчивостью.

Частота резистентности к аминогликозидам (амикацину, гентамицину, тобрамицину) составляла соответственно 37,5%, 100% и 25% у штаммов, выделенных от больных внебольничными пневмониями; 72,7%, 81,1%, 36,3% у штаммов, полученных от пациентов с внутрибольничными пневмониями.

Устойчивость к триметоприм-сульфаметоксазолу выявлена у 25% штаммов (от пациентов с внебольничной пневмонией) и 36,3% штаммов (от пациентов с внутрибольничной пневмонией).

Устойчивость к фторхинолонам (ципрофлоксацин, левофлоксацин) регистрировали у 25 и 50% штаммов, выделенных от пациентов с внебольничными пневмониями, 45,4% и 63,6% штаммов соответственно от пациентов с внутрибольничными пневмониями.

Большая часть клинических штаммов резистентна к доксициклину и тетрациклину (75% от больных с внебольничными и 63,6% от больных с внутрибольничными пневмониями).

Все штаммы, выделенные из ООС, устойчивы к ампициллину/сульбактаму, фторхинолонам, тетрациклином, имипенему, сульфаниламидам, аминогликозидам, кроме тобрамицина, резистентность к которому составляла 85,7%. Полученные данные соответствовали уровню R для клинических штаммов из образцов мокроты. Установлена 100% фенотипическая устойчивость к цефотаксиму и цефтриаксону и цефоперазону. Выявлена промежуточная устойчивость к меропинему – 28,5% и резистентность среди 71,4% штаммов, которая соответствует уровню R для клинических штаммов из образцов мокроты.

Резистентность *A. baumannii* к антибактериальным препаратам

№ штамма	Уровни чувствительности к АМП штаммов <i>A. baumannii</i> , диаметр зоны задержки роста (мм)/интерпретация														Гены резистентности к β-лактамам АМП по результатам NGS **	Гены резистентности по результатам ПЦР			
	Пенициллины		Цефалоспорины				Карбапенемы		Фторхинолоны		Аминогликозиды			Сульфаниламиды			Тетрациклины		
	Ампициллин-сульбактам	Цефотаксим	Цефтриаксон	Цефоперазон	Меропенем	Имипенем	Цифрофлоксацин	Левифлоксацин	Амикацин	Гентамицин	Тобрамицин	Триметоприм-сульфаметоксазол	Доксициклин	Тетрациклин					
Штаммы от пациентов с внебольничными пневмониями, n=8																			
20808	0/R	0/R	13/R	0/R	0/R	0/R	20/R	19/R	0/R	0/R	0/R	25/S	20/S	<i>bla</i> _{Oxa}	<i>bla</i> _{Oxa-23}				
20755	0/R	14/R	11/R	10/R	22/S	0/R	18/R	0/R	19/R	0/R	17/R	5/R	21/S	22/S	<i>bla</i> _{Oxa}	<i>bla</i> _{Oxa-23} , <i>bla</i> _{Oxa-40}			
20738	19/S	26/S	25/S	0/R	23/S	14/R	50/S	15/R	10/R	0/R	21/S	18/S	0/R	0/R	<i>bla</i> _{Oxa} , <i>bla</i> _{Ndm} , <i>bla</i> _{Tem}	<i>bla</i> _{Oxa-23} , <i>bla</i> _{Oxa-40}			
20741	10/R	27/S	23/S	22/S	19/I	22/I	50/S	17/R	24/S	0/R	20/S	19/S	0/R	0/R	<i>bla</i> _{Oxa}	<i>bla</i> _{Oxa-23}			
20740	11/R	25/S	23/S	11/R	22/S	24/S	50/S	26/S	21/S	5/R	22/S	15/S	7/R	10/R	<i>bla</i> _{Oxa}	<i>bla</i> _{Oxa-23}			
20742	0/R	27/S	23/S	24/S	24/S	22/I	51/S	25/S	22/S	0/R	19/S	20/S	0/R	0/R	<i>bla</i> _{Oxa}	<i>bla</i> _{Oxa-23} , <i>bla</i> _{Oxa-40}			
20744	0/R	25/S	24/S	13/R	23/S	24/S	50/S	24/S	22/S	0/R	22/S	17/S	9/R	11/R	<i>bla</i> _{Oxa} , <i>bla</i> _{Adc} , <i>bla</i> _{ampC}	<i>bla</i> _{Oxa-23}			
20743	17/S	26/S	25/S	22/S	25/S	25/S	51/S	27/S	23/S	5/R	20/S	21/S	0/R	0/R	<i>bla</i> _{Oxa}	<i>bla</i> _{Oxa-23}			
Штаммы от пациентов с внутрибольничными пневмониями, n=11																			
20757	9/R	13/R	10/R	14/R	20/I	9/R	17/R	20/R	19/R	17/R	16/R	10/R	8/R	10/R	<i>bla</i> _{Oxa}	<i>bla</i> _{Oxa-23} , <i>bla</i> _{Oxa-40}			
20758	10/R	0/R	0/R	0/R	0/R	9/R	8/R	0/R	0/R	0/R	0/R	9/R	25/S	20/S	<i>bla</i> _{Oxa}	<i>bla</i> _{Oxa-23} , <i>bla</i> _{Oxa-40} , <i>bla</i> _{Oxa-48}			
20761	9/R	11/R	9/R	13/R	19/I	11/R	19/R	19/R	19/R	17/R	16/R	10/R	9/R	8/R	<i>bla</i> _{Adc} , <i>bla</i> _{Oxa}	<i>bla</i> _{Oxa-23} , <i>bla</i> _{Oxa-40} , <i>bla</i> _{Oxa-48}			
20759	10/R	0/R	0/R	0/R	0/R	9/R	8/R	0/R	0/R	0/R	0/R	9/R	27/S	25/S	<i>bla</i> _{Oxa}	<i>bla</i> _{Oxa-23} , <i>bla</i> _{Oxa-40}			
20760	10/R	25/S	25/S	14/R	19/I	12/R	18/R	20/R	18/R	16/R	20/S	18/S	26/S	24/S	<i>bla</i> _{Oxa} , <i>bla</i> _{Adc} , <i>bla</i> _{Carb}	<i>bla</i> _{Oxa-23} , <i>bla</i> _{Oxa-40} , <i>bla</i> _{Oxa-48}			
20739	13/S	26/S	23/S	23/S	20/I	14/R	50/S	23/S	27/S	19/S	19/S	18/S	27/S	25/S	<i>bla</i> _{Oxa} , <i>bla</i> _{Adc} , <i>bla</i> _{Tem}	-----			
20745	14/S	23/S	23/S	24/S	10/R	14/R	50/S	23/S	18/R	15/R	20/S	15/S	9/R	10/R	<i>bla</i> _{Oxa} , <i>bla</i> _{Ndm}	<i>bla</i> _{Oxa-23}			
20746	13/S	23/S	24/S	23/S	20/I	9/R	51/S	25/S	19/R	17/R	20/S	18/S	9/R	10/R	<i>bla</i> _{Oxa}	<i>bla</i> _{Oxa-23}			
20747	9/R	26/S	24/S	24/S	15/R	13/R	52/S	20/R	25/S	16/R	21/S	16/S	8/R	9/R	<i>bla</i> _{Adc} , <i>bla</i> _{ampC} , <i>bla</i> _{Ctx-M} , <i>bla</i> _{Oxa} , <i>bla</i> _{Carb}	<i>bla</i> _{Oxa-23}			
20766	15/S	25/S	23/S	24/S	14/R	10/R	51/S	25/S	20/S	21/S	20/S	15/S	9/R	9/R	<i>bla</i> _{Adc} , <i>bla</i> _{ampC} , <i>bla</i> _{Oxa}	<i>bla</i> _{Oxa-23} , <i>bla</i> _{Oxa-40}			
20762	8/R	24/S	25/S	24/S	17/I	14/R	52/S	20/R	17/R	17/R	19/S	17/S	8/R	8/R	<i>bla</i> _{Oxa} , <i>bla</i> _{Carb}	<i>bla</i> _{Oxa-23} , <i>bla</i> _{Oxa-40} , <i>bla</i> _{Oxa-48}			
Штаммы из объектов окружающей среды *, n=7																			
20751	0/R	0/R	0/R	14/R	19/I	15/R	21/R	19/R	18/R	16/R	18/S	11/R	9/R	10/R	<i>bla</i> _{Adc} , <i>bla</i> _{AmpC} , <i>bla</i> _{Ctx-M} , <i>bla</i> _{Oxa} , <i>bla</i> _{Carb}	<i>bla</i> _{Oxa-48}			
20752	10/R	13/R	13/R	0/R	0/R	0/R	0/R	15/R	12/R	0/R	16/R	0/R	9/R	11/R	<i>bla</i> _{Adc} , <i>bla</i> _{AmpC} , <i>bla</i> _{Oxa}	<i>bla</i> _{Oxa-48}			
20753	0/R	14/R	0/R	0/R	21/I	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	<i>bla</i> _{Adc} , <i>bla</i> _{AmpC} , <i>bla</i> _{Oxa}	<i>bla</i> _{Oxa-23} , <i>bla</i> _{Oxa-48}			
20754	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	<i>bla</i> _{AmpC} , <i>bla</i> _{Ctx-M} , <i>bla</i> _{Oxa} , <i>bla</i> _{Carb}	<i>bla</i> _{Oxa-23} , <i>bla</i> _{Oxa-40} , <i>bla</i> _{Oxa-48}			
20749	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	8/R	7/R	<i>bla</i> _{Adc} , <i>bla</i> _{AmpC} , <i>bla</i> _{Ctx-M} , <i>bla</i> _{Oxa} , <i>bla</i> _{Carb}	<i>bla</i> _{Oxa-23} , <i>bla</i> _{Oxa-40} , <i>bla</i> _{Oxa-48}			
20748	11/R	0/R	0/R	10/R	15/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	<i>bla</i> _{Adc} , <i>bla</i> _{Oxa} , <i>bla</i> _{AmpC} , <i>bla</i> _{Ctx-M} , <i>bla</i> _{Carb}	<i>bla</i> _{Oxa-23} , <i>bla</i> _{Oxa-40}			
20750	0/R	11/R	13/R	0/R	0/R	14/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	0/R	<i>bla</i> _{Oxa}	<i>bla</i> _{Oxa-23} , <i>bla</i> _{Oxa-40}			

Примечание. * - Интерпретация в критериях клинических контрольных значений (breakpoint) для штаммов из окружающей среды является условной.
 ** - результаты поиска генов устойчивости к β-лактамам АМП: *bla*_{Adc}, *bla*_{Oxa}, *bla*_{AmpC}, *bla*_{Ctx-M}, *bla*_{Carb}, *bla*_{Tem}, *bla*_{Ndm}.

Следующим этапом исследования явилась детекция генов устойчивости к АМП группы β-лактамов. Высокая устойчивость к карбапенемам обусловлена наличием генов *OXA*, отвечающих за данный признак, поэтому проведено исследование наличия данных генов с помощью метода ПЦР, детекция генов *OXA-48*, *OXA-23*,

OXA-58, *OXA-40* подобных карбапенемаз и генов группы *KPC* (*Klebsiella pneumoniae carbapenemas*). Гены группы *OXA-48* обнаружены только у 9-ти из 26-ти исследованных штаммов: пять из них выделены из ООС и четыре госпитальных штамма. Гены группы *OXA-23* детектированы у 23 штаммов, 18 из которых клиниче-

ские и 5 - изоляты из объектов окружающей среды. У 14 штаммов выявлены гены группы *OXA-40*, большая часть которых - 10 штаммов, получена из клинического материала. Гены группы *KPC* и *OXA-58* не выявлены.

Анализ результатов полногеномного секвенирования показал наличие у штаммов генов, кодирующих различные типы β-лактамаз. У 11-ти штаммов обнаружена β-лактамаза ADC, из них пять штаммов *A. baumannii*, выделенных от пациентов с внутрибольничными пневмониями, один – от пациента с внебольничной пневмонией и пять – из объектов окружающей среды. Обнаружены *ampC-type beta-lactamase* - представители молекулярного класса C, придающие устойчивость к цефалоспорином, у 1 штамма, полученного от пациентов с внебольничной пневмонией и у 2-х штаммов с внутрибольничной пневмонией, шесть изолированных из ООС.

β-лактамаза класса A – *CARB beta-lactamase* (ферменты, гидролизующие карбенициллин), выявлена у семи штаммов – четыре штамма из ООС и три штамма от пациентов с внутрибольничными пневмониями. *CTX-M beta-lactamase* (β-лактамаза расширенного спектра действия класса A, проявляющая активность в отношении цефалоспоринов) выявлена у четырёх штаммов, выделенных из ООС и одного штамма *A. baumannii*, полученного от больного с внутрибольничной пневмонией.

У большинства штаммов *A. baumannii OXA beta-lactamase* (карбапенемаза молекулярного класса D) выявлены 19 клинических штаммов (восемь от пациентов с внебольничными пневмониями и 11 от пациентов с внутрибольничными пневмониями) и семь штаммов, выделенных из ООС.

В единичных случаях у клинических штаммов обнаружены *TEM beta-lactamase* класса A, отвечающие за резистентность к пенициллинам и *NDM beta-lactamase* (класс B).

При сравнении результатов двух методов детекции генов антибиотикоустойчивости установлено, что гены *OXA beta-lactamase* в последовательностях полных геномов обнаружены у всех исследованных штаммов, в то время как в ПЦР у одного штамма не обнаружены гены *OXA beta-lactamase* при наличии фенотипической устойчивости к имипенему. Фенотипическая устойчивость хотя бы к одному из АМП группы карбапенемов выявлена у 21 из изученных штаммов *A. baumannii*, у двух штаммов определено значение промежуточной резистентности.

Все штаммы *A. baumannii* обладали множественными механизмами устойчивости к АМП. Обнаружены гены, кодирующие белки из суперсемейства бактериальных, связывающих транспортирующих протеинов, являющихся самыми крупными из эффлюксных насосов – RND (resistance-nodulation-cell division antibiotic efflux pump), белки-транспортёры, входящие в суперсемейство бактериальных мембранных транспортёров – MFS (major facilitator superfamily antibiotic efflux pump), белки, относящиеся к суперсемейству малых транспортёров лекарственной устойчивости – SMR (small multidrug resistance antibiotic efflux pump); белки эффлюксных насосов MATE (multidrug and toxic compound extrusion transporter) и другие, что требует продолжения исследований нарастания устойчивости к АМП в популяции *A. baumannii* в Российской Федерации, и анализа

корреляции наличия обнаруженных генов с фенотипической устойчивостью.

Обсуждение. Изученные штаммы, полученные как из клинического материала, и из ООС, обладали полной или промежуточной устойчивостью к используемым АМП, при этом штаммы *A. baumannii*, выделенные от пациентов с внутрибольничными пневмониями, обладали МЛУ. В условиях селективного пресса АМП при лечении пациентов, процессы формирования устойчивости штаммов запускаются быстро и могут реализовываться через разные механизмы [18]. Сочетание экспрессии генов и других механизмов может приводить к формированию резистентности. Типовой вариант цефалоспориноаз ацинетобактерий, принадлежащих к молекулярному классу C, представлен β-лактамазой расширенного спектра ADC, разрушающей пенициллины и цефалоспорины, неактивной в отношении цефепима и карбапенемов, не ингибируемой блокаторами β-лактамов (клавулановой кислотой) [19]. Гиперпродукция *ADC beta-lactamase* без карбапенемазной активности в совокупности с другими механизмами, такими, как дефект поринового канала, ведёт к формированию устойчивости к карбапенемам [20].

Выделение *A. baumannii* из внешней среды указывает на недостаточность дезинфекционных мероприятий, проводимых в лечебно-профилактических учреждениях (ЛПУ) [21]. Большинство штаммов, полученных из ООС, устойчивы к пенициллинам, цефалоспорином, карбапенемам, фторхинолонам, аминогликозидам (кроме тобрамицина), сульфаниламидам, тетрациклинам, при этом у пяти штаммов определено в ПЦР наличие генов β-лактамаз группы *OXA-48*, зарегистрированные от пациентов с внутрибольничными пневмониями и отсутствовавшие у пациентов с внебольничными пневмониями. Наличие жизнеспособных штаммов, выделенных из ООС, указывает на способность выживать вне организма человека благодаря пластичности генома [22].

Анализ фенотипической устойчивости к АМП штаммов *A. baumannii* выявил отличия по спектру устойчивости, что свидетельствует о различных генетических механизмах, лежащих в основе антибиотикорезистентности, и предположительно о циркуляции разных генетических вариантов. Выявленная у отдельных штаммов сочетанная чувствительность к меропинему и устойчивость к имипенему может быть объяснена тем, что для возникновения резистентности к имипенему достаточно одной мутации, в то время как для возникновения резистентности к меропенему необходимо сочетание двух видов мутаций, таким образом, резистентность к меропенему встречается значительно реже [23].

Штаммы отличались резистентностью и к другим классам АМП. Некоторые, обладая чувствительностью к амикацину, устойчивы к гентамицину, что является известным фактом¹, и может быть обусловлено работой определённого типа фермента ANT(2''), способного инактивировать только гентамицин посредством химической модификации самого АМП, что предотвращает связывание АМП с его целевым сайтом [24].

Устойчивость некоторых штаммов к ципрофлоксацину является результатом мутаций гена *ncr*, продукт

¹Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания 4.2.1890-04. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России; 2004.

которого является репрессором системы репарации RecCBD [25]. В штаммах *A. baumannii* может происходить мутация пенициллинсвязывающего белка (pbr3), способствующая появлению устойчивости к сульбактаму несмотря на то, что он является ингибитором β-лактамаз [26]. Пенициллиназы подгруппы 2be гидролизуют оксиминоцефалоспорины (цефотаксим, цефтазидим, цефтриаксон, цефуроксим и цефепим), но не карбапенемы (имипенем, меропенем, дорипенем, эртапенем) [27].

Анализ полученных данных ПЦР и высокопроизводительного секвенирования полных геномов показал наличие в разных сочетаниях генов устойчивости к β-лактамам АМП: *bla*_{Adc}; *bla*_{Oxa}; *bla*_{AmpC}; *bla*_{Ctx-M}; *bla*_{Carb}; *bla*_{Tem}; *bla*_{Ndm}.
 Корреляции между степенью устойчивости *A. baumannii* к карбапенемам и типами генов β-лактамаз не выявлено. Особую настороженность вызывает регистрация фенотипической чувствительности штаммов к имипенему и меропенему при наличии генов β-лактамаз, что свидетельствует о необходимости определения в практических лабораториях устойчивости к АМП не только диско-диффузионным методом или методом серийных разведений, но и проведение молекулярно-генетического исследования методом ПЦР.

Для ряда штаммов *A. baumannii* отмечена фенотипическая чувствительность к β-лактамам АМП при наличии генов устойчивости, в частности металло-β-лактамазы NDM, проявляющей высокую гидролитическую активность в отношении указанной группы АМП [28]. Зарегистрировано 43 различных аллельных варианта NDM, демонстрирующих различную карбапенемазную активность [29]. Выявление подобных изолятов *A. baumannii* требует дальнейшего изучения механизмов развития устойчивости к действию металло-β-лактамаз.

По сравнению с ПЦР полногеномное секвенирование помогает выявлять широкий диапазон детерминант антибиотикоустойчивости, но данный метод более дорогостоящий. Метод ПЦР, позволивший выявить гены группы OXA у 96,2% штаммов, достаточен для практических лабораторий. Полногеномное секвенирование позволяет своевременно проводить мониторинг изменения в спектре генов антибиотикоустойчивости и в будущем сигнализировать о необходимости расширения тест-систем ПЦР.

Заключение. Результаты исследования свидетельствуют о чрезвычайно высокой резистентности клинических штаммов *Acinetobacter* spp. к большинству АМП, включая карбапенемы. Практически все клинические штаммы *A. baumannii* обладают несколькими механизмами устойчивости к АМП, из которых наиболее часто выявлялись гены, кодирующие β-лактамазы. Анализ нуклеотидных последовательностей позволил установить наличие генов, кодирующих семь типов β-лактамаз. Выбор АМП для эмпирической терапии является крайне затруднительным и требует проведения регулярного локального микробиологического мониторинга чувствительности к АМП в каждом стационаре.

ЛИТЕРАТУРА (п. п. 2, 3, 7, 8, 11-15, 17-20, 26, 28, 29 см. REFERENCES)

1. Курдюмова Н.В., Савин И.А., Ершова О.Н., Александрова И.А., Сазыкина С.Ю., Гаджиева О.А. и др. Нозокомиальные менингиты, вызванные *Acinetobacter baumannii*, у пациентов отделения нейрореанимации. *Анестезиология и реаниматология*. 2019; (4):43-9. DOI: 10.17116/anaesthesiology201904143.
4. Горбич Ю.Л., Карпов И.А., Кречикова О.И. Инфекции, вызванные *Acinetobacter baumannii*: Факторы риска, Диагностика, лечение, подходы к профилактике. *Медицинские новости*. 2011; 5:31-9.
5. Носков А.К., Попова А.Ю., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Чемицова О.С. и др. Молекулярно-генетический анализ возбудителей бактериальных пневмоний, ассоциированных с COVID-19, в стационарах г. Ростова-на-Дону. *Здоровье населения и среда обитания*. 2021;1(12):64-71. DOI: 10.35627/2219-5238/2021-29-12-64-71.
6. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Носков А.К., Ковалев Е.В., и др. Этиология внебольничных пневмоний в период эпидемического распространения Covid-19 и оценка риска возникновения пневмоний, связанных с оказанием медицинской помощи. *Здоровье населения и среда обитания*. 2021;(7):67-75. DOI: 10.35627/2219-5238/2021-29-7-67-75.
9. Катаева Л.В., Колотова О.Н., Степанова Т.Ф., Кисличкина А.А., Шишкина Л.А., Мухина Т.Н. Результаты полногеномного секвенирования бактерий *Acinetobacter baumannii*, изолированных от пациентов стационаров северных регионов Тюменской области. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2022; 99(3): 343-52. DOI: 10.36233/0372-9311-231.
10. Павлович Н.В., Цимбалистова М.В., Аронова Н.В., Анисимова А.С., Водопьянов С.О., Водопьянов А.С., и др. Внебольничные пневмонии бактериальной этиологии и спектр чувствительности возбудителей к антибиотикам у коронапозитивных и коронанегативных больных г. Ростова-на-Дону. *Антибиотики и Химотерапия*. 2021;66(1-2):26-32. DOI: 10.37489/0235-2990-2021-66-1-2-26-32.
16. Чеботарь И.В., Лазарева А.В., Масалов Я.К., Михайлович В.М., Маянский Н.А. *Acinetobacter*: микробиологические, патогенетические и резистентные свойства. *Вестник РАМН*. 2014; 9-10: 39-50.
21. Шмакова М.А. Бактерии рода *Acinetobacter* как внутрибольничные патогены: эпидемиологические особенности. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2019. 4 (1):66-72. DOI: 10.23946/2500-0764-2019-4-1-66-72.
22. Скурихина Ю.Е., Ибрагимова Т.Д., Скурихина Л.А., Туркутюков В.Б. Молекулярно-эпидемиологический анализ штаммов *Acinetobacter baumannii* выделенных у пациентов с ожоговой травмой. *Современные технологии в медицине*. 2016; 8(1): 134-9. DOI: 10.17691/stm2016.8.1.18.
23. Ушкалова Е. А., Хубиева М. Ю., Власов А. М., Глаголев С. В. Проблемы качества, эффективности и безопасности антимикробных средств. *Клиническая фармакология и терапия*. 2009; 18 (5):14-8.
24. Зубарева В.Д., Соколова О.В., Безбородова Н.А., Шкуратова И.А., Кривоногова А.С., Бытов М.В. Молекулярные механизмы и генетические детерминанты устойчивости к антибактериальным препаратам у микроорганизмов (обзор). *Сельскохозяйственная биология*. 2022; 57(2):237-56. DOI: 10.15389/agrobiology.2022.2.237rus.
25. Ваганова А. Н. Молекулярные основы устойчивости патогенных для человека микоплазм к фторхинолонам. *Инфекция и иммунитет*. 2017. 7(3):231-44. DOI: 10.15789/2220-7619-2017-3-231-244.
27. Бисекенова А.Л., Рамазанова Б.А., Адамбеков Д.А., Бекболатова К.А. Молекулярные механизмы резистентности грамотрицательных микроорганизмов – возбудителей инфекций к бета-лактамам антибиотикам. *Вестник Казахского Национального медицинского университета*. 2015. 3:223-7.

REFERENCES

1. Kurdyumova N.V., Savin I.A., Ershova O.N., Aleksandrova I.A., Sazykina S.Yu., Gadzhieva O.A. et al. Nosocomial meningitis caused by *Acinetobacter baumannii* in patients of the neurocritical care unit. *Anesteziologiya i reanimatologiya*. 2019; (4):43-9. DOI: 10.17116/anaesthesiology201904143. (in Russian)

2. Demmer J.K., Phillips B.P., Uhrig O.L., Filloux A., Allsopp L.P., Bublitz M., Meier T. Structure of ATP synthase from ESKAPE pathogen *Acinetobacter baumannii*. *Science Advances*. 2022;18; 8(7):eabl5966. DOI:10.1126/sciadv.abl5966.
3. Tiku V. *Acinetobacter baumannii*: Virulence strategies and host defense mechanisms. *DNA Cell Biology*. 2022; 41(1):43-8. DOI: 10.1089/dna.2021.0588.
4. Gorbich Yu.L., Karpov I.A., Krechikova O.I. Infections caused by *Acinetobacter baumannii*: risk factors, diagnosis, treatment, approaches to prevention. *Meditinskije novosti*. 2011; 5:31-9. (in Russian)
5. Noskov A.K., Popova A.Yu., Vodop'yanov A.S., Pisanov R.V., Chemisova O.S. et al. Molecular genetic analysis of pathogens of bacterial pneumonia associated with COVID-19 in hospitals in Rostov-on-Don. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya*. 2021; 1(12):64-71. DOI: 10.35627/2219-5238/2021-29-12-64-71. (in Russian)
6. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Noskov A.K., Kovalev E.V. et al. Etiology of community-acquired pneumonia during the epidemic spread of Covid-19 and assessment of the risk of pneumonia associated with the provision of medical care. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya*. 2021; (7):67-75. DOI:10.35627/2219-5238/2021-29-7-67-75. (in Russian)
7. Lima W.G., Brito J.C.M., da Cruz Nizer W.S. Ventilator-associated pneumonia (VAP) caused by carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in patients with COVID-19: Two problems, one solution? *Med Hypotheses*. 2020; 144:110139. DOI: 10.1016/j.mehy.2020.110139.
8. Giannouli M., Antunes L. CS., Marchetti V., Triassi M., Visca P., Zarrilli R. Virulence-related traits of epidemic *Acinetobacter baumannii* strains belonging to the international clonal lineages I-III and to the emerging genotypes ST₂₅ and ST₇₈. *BMC Infectious Diseases*. 2013; 13:282. DOI: 10.1186/1471-2334-13-282.
9. Kataeva L.V., Kolotova O.N., Stepanova T.F., Kislichkina A.A., Shishkina L.A., Mukhina T.N. Results of whole genome sequencing of *Acinetobacter baumannii* bacteria isolated from hospital patients in the northern regions of the Tyumen region. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2022; 99(3): 343-52. DOI: 10.36233/0372-9311-231. (in Russian)
10. Pavlovich N.V., Tsimbalistova M.V., Aronova N.V., Anisimova A.S., Vodop'yanov S.O., Vodop'yanov A.S. et al. Community-acquired pneumonia of bacterial etiology and antibiotic susceptibility spectrum in corona-positive and corona-negative patients in Rostov-on-Don. *Antibiotiki i Khimioterapiya*. 2021; 66(1-2):26-32. DOI: 10.37489/0235-2990-2021-66-1-2-26-32. (in Russian)
11. Lupo A., Haenni M., Madec J.Y. Antimicrobial Resistance in *Acinetobacter* spp. and *Pseudomonas* spp. *Microbiology Spectrum*. 2018; 6(3):6. DOI: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0007-2017. PMID: 30101740.
12. Adams MD., Goglin K., Molyneaux N., Hujer KM., Lavender H., Jamison J.J. et al. Comparative genome sequence analysis of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal Bacteriology*. 2008; 190(24):8053-64. DOI: 10.1128/JB.00834-08.
13. Lockhart S.R., Abramson M.A., Beekmann S.E., Gallagher G., Riedel S., Diekema D.J. et al. Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli causing infections in intensive care unit patients in the United States between 1993 and 2004. *Journal Clinical Microbiology*. 2007; 45(10): 3352-9. DOI:10.1128/JCM.01284-07.
14. Deekshit VK., Srikumar S. 'To be, or not to be'-The dilemma of 'silent' antimicrobial resistance genes in bacteria. *Journal Applied Microbiology*. 2022; 133(5):2902-14. DOI: 10.1111/jam.15738. 2022: 6. PMID: 35882476.
15. Tian Y., Xia H., Zhang L., Zhou JX. Detection of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* by metagenomic next-generation sequencing in central nervous system infection after neurosurgery: a case report. *Front Public Health*. 2022; 10:1028920. DOI: 10.3389/fpubh.2022.1028920.
16. Chebotar' I.V., Lazareva A.V., Masalov Ya.K., Mikhaylovich V.M., Mayanskiy N.A. *Acinetobacter*: microbiological, pathogenetic and resistant properties. *Vestnik RAMN*. 2014; 9-10: 39-50. (in Russian)
17. NucleotideBLAST: Search nucleotide databases using a nucleotide query: https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome.
18. Siguier P., Gournayre E., Chandler M. Bacterial insertion sequences: Their genomic impact and diversity. *FEMS Microbiology Reviews*. 2014; 38(5):865-91.
19. Tian G.B., Adams-Haduch J.M., Taracila M., Bonomo R.A., Wang H.N., Doi Y. Extended-spectrum AmpC cephalosporinase in *Acinetobacter baumannii*: ADC-56 confers resistance to cefepime. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 2011; 55(10): 4922-5.
20. Sawa T., Kooguchi K., Moriyama K. Molecular diversity of extended-spectrum β -lactamases and carbapenemases, and antimicrobial resistance. *Journal of Intensive Care*. 2020; 28:8-13. DOI: 10.1186/s40560-020-0429-6.
21. Shmakova M.A. Bacteria of the genus *Acinetobacter* as nosocomial pathogens: epidemiological features. *Fundamental'naya i klinicheskaya meditsina*. 2019. 4(1):66-72. DOI: 10.23946/2500-0764-2019-4-1-66-72. (in Russian)
22. Skurikhina Yu.E., Ibragimova T.D., Skurikhina L.A., Turkutyukov V.B. Molecular epidemiological analysis of *Acinetobacter baumannii* strains isolated in patients with burn injury. *Sovremennye tekhnologii v meditsine*. 2016; 8(1): 134-9. DOI: 10.17691/stm2016.8.1.18. (in Russian)
23. Ushkalova E.A., Hubieva M.Yu., Vlasov A.M., Glagolev S.V. Problems of quality, effectiveness and safety of antimicrobial agents. *Klinicheskaya farmakologiya i terapiya*. 2009. 18(5):14-8. (in Russian)
24. Zubareva V.D., Sokolova O.V., Bezborodova N.A., Shkuratova I.A., Krivonogova A.S., Bytov M.V. Molecular mechanisms and genetic determinants of antibiotic resistance in microorganisms (review). *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya*. 2022. 57(2):237-56. DOI: 10.15389/agrobiologiya.2022.2.237rus. (in Russian)
25. Vaganova A. N. Molecular basis of resistance of mycoplasmas pathogenic to humans to fluoroquinolones. *Infektsiya i immunitet*. 2017; 7(3):231-44. DOI: 10.15789/2220-7619-2017-3-231-244. (in Russian)
26. Penwell W.F., Shapiro A.B., Giacobbe R.A., Gu R.F., Gao N., Thresher J. et al. Molecular mechanisms of sulbactam antibacterial activity and resistance determinants in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 2015; 59(3):1680-9. DOI: 10.1128/AAC.04808-14.
27. Bisekenova A.L., Ramazanova B.A., Adambekov D.A., Bekbolatova K.A. Molecular mechanisms of resistance of gram-negative microorganisms - pathogens of infections to beta-lactam antibiotics. *Vestnik Kazakhskogo Natsional'nogo meditsinskogo universiteta*. 2015; 3:223-7. (in Russian)
28. Sun Z., Hu L., Sankaran B., Prasad B.V., Palzkill T. Differential active site requirements for NDM-1 β -lactamase hydrolysis of carbapenem versus penicillin and cephalosporin antibiotics. *Nature communications*. 2018. 9(1):4524. DOI: 10.1038/s41467-018-06839-1.
29. García-González N., Beamud B., Fuster B., Giner S., Domínguez M.V., Sánchez A. et al. Tracking the Emergence and Dissemination of a bla_{NDM-23} Gene in a Multidrug Resistance Plasmid of *Klebsiella pneumoniae*. *Microbiology Spectrum*. 2023; 11(2):e0258522. DOI: 10.1128/spectrum.02585-22.