

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ

«БакРезиста GLA»

«БакРезиста GLA Van/Мес»

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ

«БАКРЕЗИСТА GLA»

«БАКРЕЗИСТА GLA VAN/MEC»

Набор реагентов для выявления генов резистентности к гликопептидным и бета-лактамам антибиотикам у бактерий методом ПЦР в режиме реального времени в двух вариантах исполнения: «БакРезиста GLA» и «БакРезиста GLA Van/Mec»

№ РЗН 2020/11171

В последние десятилетия в России, как и во всем мире, отмечается стремительное распространение устойчивости возбудителей инфекционных заболеваний к антибактериальным препаратам (АБП). Развитие лекарственной резистентности приводит к появлению способности микроорганизмов сохранять свою жизнедеятельность, несмотря на применение этиотропной терапии.

Устойчивость к АБП препятствует эффективному лечению пациентов, способствует формированию хронических, рецидивирующих инфекций. В наибольшей степени проблема резистентности к АБП актуальна для стационаров, так как способствует развитию нозокомиальных инфекций, но в последнее время она становится все более значимой и в амбулаторных условиях.

По выводам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ):

- Устойчивость к антибиотикам является сегодня одной из наиболее серьезных угроз для здоровья человечества, продовольственной безопасности и развития.
- Устойчивость к антибиотикам может затронуть любого человека в любом возрасте и в любой стране.
- Устойчивость к антибиотикам — естественное явление, однако неправильное использование антибиотиков людьми и их неправильное введение животным ускоряет этот процесс.
- Все больше инфекционных заболеваний становится труднее лечить из-за снижения эффективности антибиотиков.
- Следствием устойчивости к антибиотикам являются более продолжительные госпитализации, рост медицинских расходов и смертности.
- Наблюдается повсеместное распространение штаммов, устойчивых к основным классам антибиотиков.

Распространение штаммов, устойчивых к основным классам антибиотиков, наблюдается повсеместно. Результаты исследований последних лет свидетельствуют о появлении устойчивости некоторых штаммов бактерий больше чем к трем классам антибактериальных препаратов (мультирезистентность или полирезистентность); ко всем, кроме одного-двух классов (экстремальная резистентность); ко всем АБП (пан-резистентность) [5].

К основным причинам, способствующим развитию антибиотикорезистентности микроорганизмов, относят следующие:

- нерациональное использование антибактериальных препаратов: необоснованное назначение для лечения вирусных и легких бактериальных инфекций; применение АБП широкого спектра в ситуациях, когда могут эффективно использоваться АБП с узким спектром действия; назначение антибактериальных препаратов без учета спектра возбудителей и их чувствительности;
- неадекватный режим дозирования (недостаточные дозы, нарушение кратности введения и длительности приема);

- низкий уровень инфекционного контроля (нарушения в его организации и проведении);
- широкое использование АБП в пищевой и парфюмерной промышленности, в сельском хозяйстве и ветеринарии;
- свободная безрецептурная продажа АБП в аптечной сети.

Несмотря на внушительное количество и разнообразие АБП, практически для всех из них существуют ограничения по применению, связанные с природной или приобретенной резистентностью микроорганизмов к действующему веществу.



В соответствии с Федеральными клиническими рекомендациями «Принципы организации мониторинга устойчивости ведущих возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, к антимикробным препаратам в лечебно-профилактических медицинских организациях здравоохранения» Национальной ассоциации специалистов по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (НП «НАСКИ») (2014), и СанПиН 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность» (с изменениями на 10 июня 2016 г.), **мониторинг чувствительности/устойчивости штаммов в популяции бактерий, определенной одним из регламентированных методов, является важнейшим элементом медицинской практики.** В связи с этим совершенствование лабораторной диагностики и мониторинга возбудителей ИСМП должно включать: создание референс-лабораторий, обеспечивающих методическую и консультативную помощь лабораториям организаций здравоохранения; контроль качества исследований, проводимых в учреждениях здравоохранения; проведение дорогостоящих и технически сложных исследований, включая *молекулярно-генетическое типирование* [1].



Результаты мониторинга антибиотикорезистентности в России отражаются в базе данных AMRmap (<https://amrmap.ru/>). Это онлайн-платформа, которая содержит набор инструментов для визуализации данных о чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам и распространенности основных генетических детерминант устойчивости к антибиотикам. Категории чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам определяются в соответствии с действующими рекомендациями EUCAST и российскими клиническими рекомендациями. Кроме того, распоряжением Правительства РФ от 30 марта 2019 г. № 604-р утвержден План мероприятий на 2019–2024 годы по реализации Стратегии, который предусматривает формирование нормативно-правовой базы для регулирования вопросов предупреждения и преодоления распространения антимикробной резистентности и перечень отдельных мероприятий по предупреждению распространения антимикробной резистентности на период до 2030 г. Один из актов Плана посвящен укреплению материально-технической базы лабораторий, осуществляющих этиологическую диагностику инфекционных заболеваний, разработке и внедрению единых стандартов лабораторной диагностики актуальных микроорганизмов, включая возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, и штаммов с множественной лекарственной устойчивостью, расширению применения методов молекулярной диагностики, включая полимеразную цепную реакцию и мультилокусное секвенирование



ского назначения.

Надзор за распространением антибиотикорезистентности является стратегической задачей и в ветеринарии: мониторинг антибиорезистентности среди сельскохозяйственных животных и по отношению к животноводческой продукции потребительского назначения.



Совместная деятельность ВОЗ и Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (ФАО) (англ. *Food and Agriculture Organization*, FAO) в области безопасности пищевых продуктов привела к формированию свода пищевых международных стандартов и правил по пищевым продуктам «Кодекс Алиментариус» [11, 12], включая мониторинг антибиотикорезистентности бактерий в продовольственном сырье и пищевых продуктах [12].

Природа антибиотикорезистентности бактерий

Резистентность микроорганизмов к антибиотикам — это изменение генома бактерий в результате мутации и последующая селекция наиболее удачных вариантов. Резистентность может быть врожденной, если она служит видовым признаком бактерии, и приобретенной, если часть штаммов бактерий сохраняют жизнеспособность при концентрациях антибиотиков, которые подавляют основную часть микробной популяции того же вида.

По скорости формирования приобретенной резистентности выделяют два варианта: хромосомный (медленный тип) и плазмидный или транспозонный (быстрый тип).

Медленный, хромосомный тип резистентности включает мутации, появляющиеся с обычной частотой. Такой тип резистентности составляет около 10 %. Развитие резистентности бактерий по медленному типу может занять примерно 5–10 лет при условии постоянного использования одного и того же препарата (группы препаратов) [3, 8, 25]. В стрессовых условиях (голодание, повреждение ДНК или, например, действие антибиотика) некоторые микроорганизмы способны к ускоренному мутагенезу, который в случае удачных мутаций обеспечивает бактериальную клетку возможностью к быстрой адаптации к изменившимся внешним условиям, например лекарственной устойчивостью [31].

Быстрый, плазмидный или транспозонный тип резистентности

Основа резистентности быстрого типа — внехромосомные факторы устойчивости — мобильные генетические элементы (плазмиды, транспозоны и интегроны), которые различаются по их способности перемещаться вне или внутри бактериальной клетки. Резистентность быстрого типа может развиваться в течение 1 года — 2 лет [3].

Механизмы реализации антибиотикорезистентности

Эффлюкс — активное выведение АБП из микробной клетки — механизм, действующий в первую очередь в отношении тетрациклиновых антибиотиков [17].

Модификация мишени АБП — изменение химической структуры компонентов бактериальной клетки может сделать ее устойчивой к действию АБП (метилирование, точечные мутации) [6, 21].

Нарушение проницаемости микробной клетки — модификация структуры оболочки бактерий, которая приводит к снижению ее проницаемости [21, 25].

Метаболический шунт — «обходной путь» для сохранения жизнеспособности бактерий под действием АБП [6, 25].

Инактивирующие АБП ферменты бактериальной клетки способны специфично реагировать с антибиотиком, нарушая его способность связываться с мишенью либо полностью инактивируя или разрушая молекулу антибиотика — самый распространенный механизм развития резистентности к АБП. К таким ферментам относятся бета-лактамазы, катализирующие расщепление бета-лактамного кольца у пенициллинов, цефалоспоринов, монобактамов, карбапенемов и т. д. [21, 25].

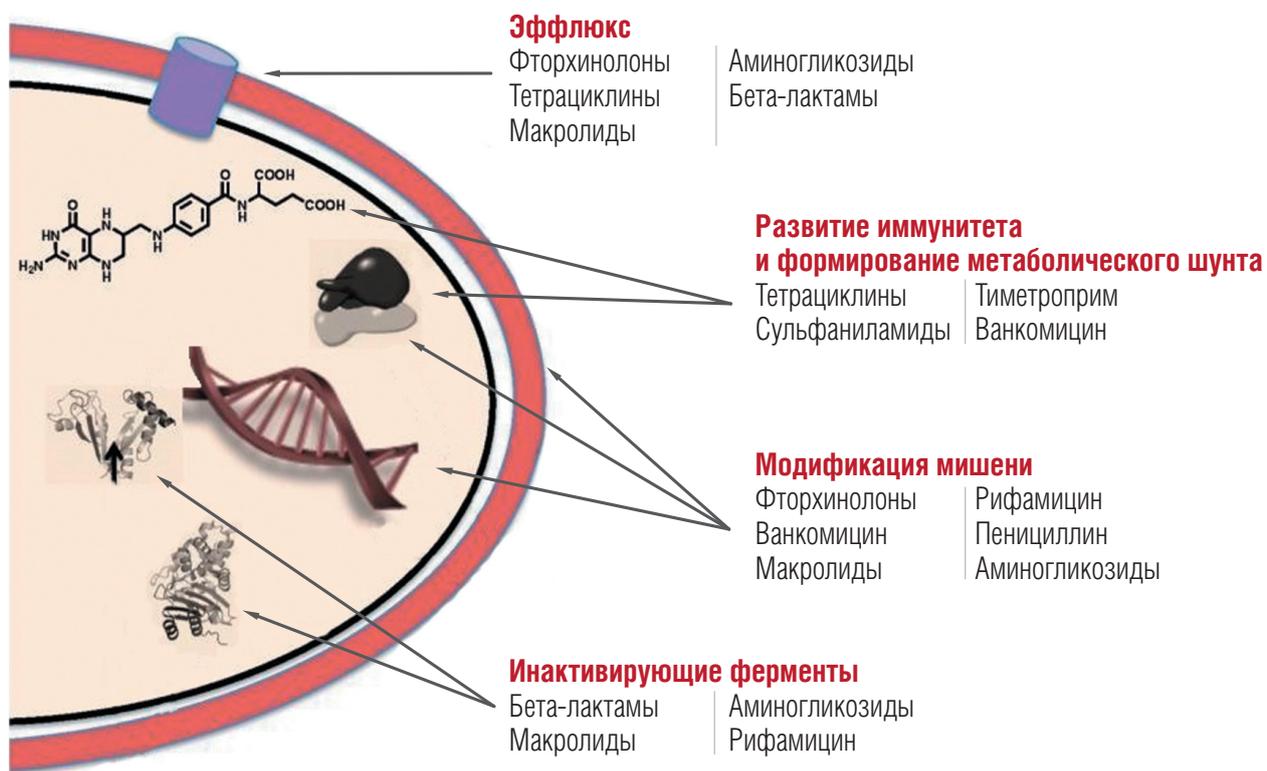


Рис. 1 Основные механизмы реализации резистентности к антибиотикам [34].

Резистентность к бета-лактамным антибиотикам

Устойчивость к бета-лактамам формируется в результате действия ферментов, бета-лактамаз.

Бета-лактамазы (*beta-lactamase*) производятся некоторыми бактериями и обуславливают их устойчивость к бета-лактамным антибиотикам, которые имеют общий элемент в молекулярной структуре: четырех-атомное кольцо, известное как бета-лактамы. Бета-лактамаза разрывает это кольцо, дезактивируя антибактериальные свойства молекулы. Бета-лактамные антибиотики обычно используются для лечения широкого спектра грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Существует две классификации бета-лактамаз: структурная по молекулярным типам и функциональная по антибактериальной активности. Все известные в настоящее время бета-лактамазы делят на четыре молекулярных класса (рис. 2). Бета-лактамазы классов А, С и D относятся к ферментам серинового типа (по аминокислоте, находящейся в активном центре фермента). Ферменты класса В относятся к металлоферментам, поскольку в качестве кофермента в них присутствует атом цинка [2, 4].

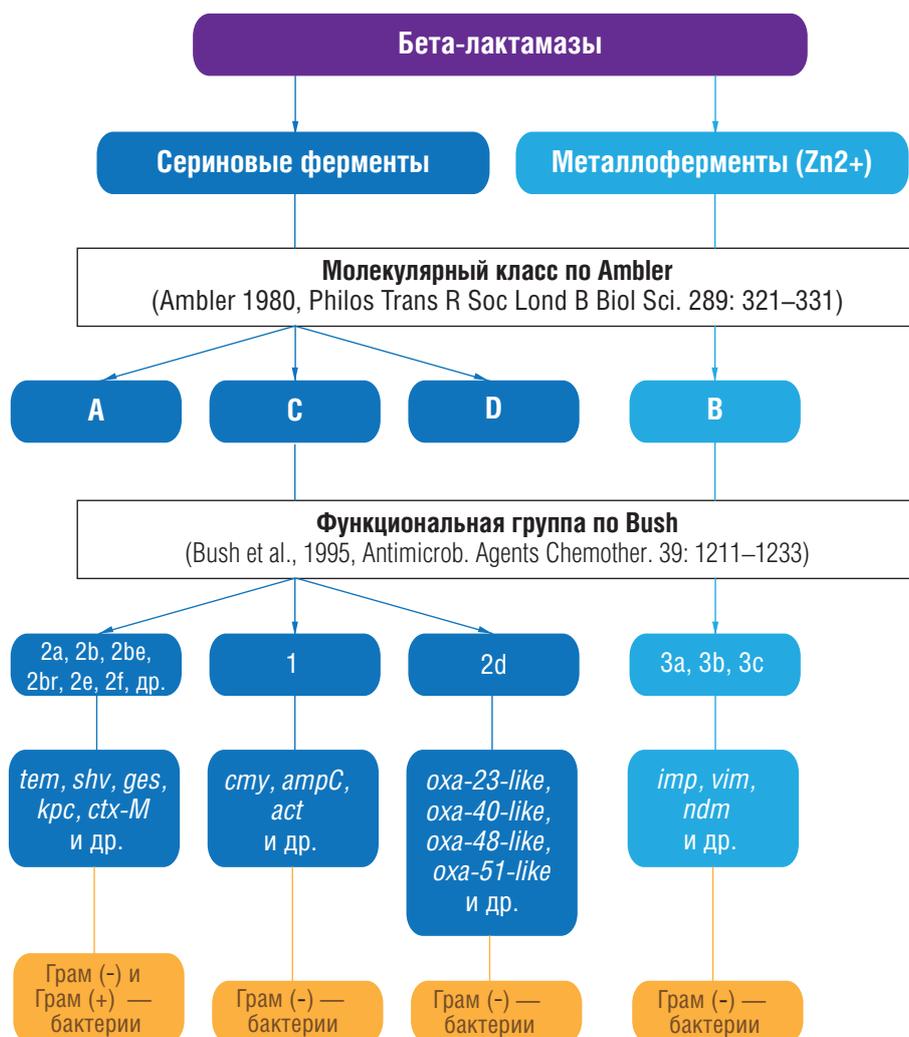


Рис. 2. Соотношение между структурной и функциональной классификациями бета-лактамаз

Основные функциональные характеристики бета-лактамаз:

- субстратный профиль или способность к преимущественному гидролизу тех или иных бета-лактамов;
- плазмидная или хромосомная локализация кодирующих генов;
- чувствительность к ингибиторам бета-лактамаз: клавулановой кислоте, сульбактаму и тазобактаму. Развитие резистентности к бета-лактамам происходит под селективным давлением применяемых антибиотиков. Использование с 1940 гг. пенициллина привело к появлению пенициллиназ, с 1960 гг. — цефалоспоринов I–II поколения — бета-лактамаз широкого спектра действия, с 1980–90 гг. — цефалоспоринов III–IV поколения — бета-лактамаз расширенного спектра действия (БЛРС), с 1990 гг. — карбапенемов — карбапенемаз.

Таблица 1. Некоторые группы бета-лактамаз грамотрицательных бактерий и их характеристики

Название группы	Описание	Ссылки
TEM	TEM — это наиболее часто встречающиеся бета-лактамазы у грамотрицательных бактерий. Обеспечивают до 90 % устойчивости <i>E. coli</i> к ампициллину. Открыто около 20 вариантов, устойчивых к ингибиторам TEM бета-лактамаз. Микроорганизмы обычно остаются чувствительны к ингибированию тазобактамом и, следовательно, комбинации пиперациллин/тазобактам.	10, 30
SHV	SHV-1 имеет 68%-ную аминокислотную гомологичность с TEM-1, а также аналогичную общую структуру. Бета-лактамаза SHV-1 чаще всего встречается у <i>K. pneumoniae</i> и отвечает за развитие до 20 % опосредованной плазмидой устойчивости к ампициллину у этого вида. Известно более 60 разновидностей SHV.	10
GES	GES (Guiana extended-spectrum) бета-лактамазы относятся к плазмидным бета-лактамазам класса А. Ферменты широко распространены среди грамотрицательных бактерий, в первую очередь: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> и <i>Escherichia coli</i> . Субстратом преимущественно являются карбапенемы, но не монобактамы.	23
KPC	KPC (<i>Klebsiella pneumoniae carbapenem</i>) бета-лактамазы впервые были выделены из <i>Klebsiella pneumoniae</i> в 2001 году в США. Ферменты характеризуются своей способностью к эффективному гидролизу карбапенемов, в отличие от других бета-лактамаз класса А (по классификации Ambler). В настоящее время в мире зарегистрировано 9 вариантов фермента.	22, 29
CTX-M	Ферменты характеризуются большей активностью в отношении цефотаксима, чем в отношении других субстратов, таких как, например, цефтазидим, цефтриаксон или цефепим. Гены CTX-M бета-лактамаз получены на плаزمиде от комменсальных микроорганизмов <i>Kluyvera</i> . Ферменты обнаруживают примерно 40 % идентичности с бета-лактамазами TEM или SHV. Известны более 150 вариантов.	9
OXA	Бета-лактамазы класса D включают около 500 субтипов карбапанемаз OXA (oxacillinase), которые объединяются в кластеры. При наличии незначительных отличий в строении ферменты внутри кластеров формируются в группы «подобных», например OXA-23-like или OXA-48-like. Отличительной особенностью бета-лактамаз класса D является устойчивость к clavulanовой кислоте, сульбактаму, тазобактаму, а также к действию ЭДТА и других металлохелаторов. OXA-23-like — группа карбапанемаз, ассоциированная с устойчивостью к действию карбапенемов, пенициллинов, цефалоспоринов узкого спектра действия, но не к лактамам расширенного спектра действия. OXA-40-like проявляют самую высокую активность против карбапенемов, но также ассоциированы и с устойчивостью к пенициллинам и цефалоспорином. Активность ферментов OXA-23 и OXA-40 не ингибируется clavulanовой кислотой. OXA-48-like — группа карбапанемаз, характерной особенностью которых является отсутствие в настоящее время доступных ингибиторов. Согласно Руководству EUCAST в качестве фенотипического признака предположительной продукции OXA-48-подобных карбапанемаз рекомендуется использовать устойчивость высокого уровня к темоциллину (МПК >128 мг/л, диаметр зоны — более 11 мм). Однако это свойство не является специфичным только для карбапанемаз группы OXA-48, поэтому результаты теста должны быть подтверждены иными методами. OXA-51-like — наиболее многочисленная группа β-лактамаз OXA-типа, идентифицированная на сегодняшний день. Обладает пенициллиназной активностью в отношении бензилпенициллина, ампициллина, тикарциллина, пиперациллина, может приобретать некоторые карбапанемазные свойства.	16, 33
VIM	VIM (<i>Verone integron-encoded metallo</i>) — бета-лактамазы были открыты в Италии в 1999 году. На сегодняшний день их насчитывается 23 варианта Ферменты VIM в основном встречаются у <i>P. aeruginosa</i> , <i>P. putida</i> и очень редко у <i>Enterobacteriaceae</i> . Гидролизуют все бета-лактамы, кроме монобактамов. На них не действуют все известные ингибиторы бета-лактамаз.	14, 18, 27
IMP	Плазмидно-опосредованные карбапанемазы IMP-типа. Распространены среди грамотрицательных бактерий, в первую очередь <i>Pseudomonas</i> и <i>Acinetobacter</i> . Гидролизуют все бета-лактамы, кроме монобактамов, на них не действуют все известные ингибиторы бета-лактамаз.	27, 28
NDM	NDM (<i>New Delhi metallo-beta-lactamases</i>) включают около 20 вариантов, которые входят в функциональную группу 3-го класса в подгруппу, объединяющую также ферменты VIM и IMP. Проявляют активность относительно всех бета-лактамов, за исключением азтреонама.	23, 26

Таблица 2.* Типичные виды грамотрицательных бактерий и встречающиеся у них бета-лактамазы, наличие которых обуславливает развитие резистентности к группам АБП (по данным [7, 20, 32] <https://card.mcmaster.ca/>)

Названия групп	Класс антибиотиков	Бактерии, у которых были обнаружены гены резистентности
TEM	пенициллины цефалоспорины, монобактамы	<i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Citrobacter amalonaticus</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Citrobacter koseri</i> , <i>Citrobacter youngae</i> , <i>Enterobacter asburiae</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Enterobacter hormaechei</i> , <i>Enterobacter kobei</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Haemophilus parainfluenzae</i> , <i>Klebsiella aerogenes</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Providencia rettgeri</i> , <i>Providencia stuartii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Raoultella planticola</i> , <i>Salmonella enterica</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>Shigella flexneri</i> , <i>Shigella sonnei</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .
SHV	пенициллины цефалоспорины, монобактамы	<i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella aerogenes</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Salmonella enterica</i> .
GES	пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы	<i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterobacter hormaechei</i> .
KPC	пенициллины, цефалоспорины монобактамы, карбапенемы	<i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Citrobacter koseri</i> , <i>Enterobacter asburiae</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Enterobacter hormaechei</i> , <i>Enterobacter kobei</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella aerogenes</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Raoultella planticola</i> , <i>Salmonella enterica</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Shigella sonne</i> .
CTX-M-1	пенициллины цефалоспорины, монобактамы	<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella aerogenes</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Salmonella enterica</i> , <i>Shigella flexneri</i> , <i>Shigella sonnei</i> .
OXA-23-like	пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы	<i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Acinetobacter nosocomialis</i> , <i>Proteus mirabilis</i> .
OXA-40-like	пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы	<i>Acinetobacter baumannii</i> .
OXA-48-like	пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Citrobacter koser</i> , <i>Citrobacter youngae</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Enterobacter hormaechei</i> , <i>Enterobacter kobei</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella aerogenes</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Serratia marcescens</i> .
OXA-51-like	пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы	<i>Acinetobacter baumannii</i> .
VIM	пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Enterobacter hormaechei</i> , <i>Enterobacter kobei</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella aerogenes</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Providencia rettgeri</i> , <i>Providencia stuartii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Pseudomonas stutzeri</i> , <i>Raoultella planticola</i> , <i>Salmonella enterica</i> , <i>Serratia marcescens</i> .

Названия групп	Класс антибиотиков	Бактерии, у которых были обнаружены гены резистентности
IMP	пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы	<i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Acinetobacter junii</i> , <i>Acinetobacter nosocomialis</i> , <i>Enterobacter asburiae</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Enterobacter hormaechei</i> , <i>Enterobacter kobei</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella aerogenes</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Providencia rettgeri</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas stutzeri</i> .
NDM	пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы	<i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Acinetobacter haemolyticus</i> , <i>Acinetobacter junii</i> , <i>Acinetobacter Iwoffii</i> , <i>Acinetobacter nosocomialis</i> , <i>Citrobacter amalonaticus</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterobacter asburiae</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Enterobacter hormaechei</i> , <i>Enterobacter kobei</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella aerogenes</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Providencia rettgeri</i> , <i>Providencia stuartii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Salmonella enterica</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Shigella sonnei</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .

* на основании гомологии и SNP-моделей, полученных по данным о последовательностях белков, генов и метагеномов

Резистентность к пенициллинам и гликопептидам у грамположительных бактерий

Грамположительные микроорганизмы, устойчивые к АБП, также остаются этиологически значимыми, например, представители рода *Staphylococcus*. Наиболее патогенным среди них является вид *S. aureus*. Наличие метициллин-резистентности характеризует штаммы MRS (Methicillin Resistant *Staphylococcus*) и MRSA (Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*). Заболевания, вызванные ими, могут начинаться на фоне терапии аминогликозидами и цефалоспоридами.

Устойчивость к метициллину, оксациллину обусловлена появлением у микроорганизмов пенициллин-связывающего белка (ПСБ2а), который кодируется геном *mecA*. В 1975 году была определена локализация гена *mecA* на хромосоме.

Передача гена *mecA* происходит в составе мобильного элемента *SCC* — стафилококковая хромосомная кассета (staphylococcal chromosomal cassette).

Устойчивость к гликопептидам формируется в результате модификации мишени, активного эффлюкса лекарственного препарата. Известны несколько типов ванкомицин-резистентности (**VanA/VanB** и **VanC**). VanA характеризуется высоким уровнем устойчивости к ванкомицину и тейкопланину, VanB — вариативной резистентностью к ванкомицину и чувствительностью к тейкопланину. Считается, что стафилококки получили эту способность от энтерококков, часто штаммы, резистентные к ванкомицину, VRS (Vancomycin Resistant *Staphylococcus*) и VRSA (Vancomycin Resistant *Staphylococcus aureus*), характеризуются и устойчивостью к метициллину [13].

Таблица 3. Типичные виды грамположительных бактерий и встречающиеся у них гены, наличие которых обуславливает развитие резистентности к группам АБП

Названия генов	Описание	Механизм резистентности	Бактерии, в которых были обнаружены гены резистентности	Ссылки
Ген метициллин-резистентности, кодирующий пенициллин-связывающий белок				
<i>mecA</i>	Ген <i>mecA</i> кодирует PBP2A пенициллин-связывающий белок, транспептидазу, которая помогает формировать стенку бактериальной клетки и способна выполнять синтез пептидогликана в присутствии бета-лактамов. Обуславливает резистентность к метициллину.	Подмена мишени антибиотика	штаммы <i>Staphylococcus</i> MRS и MRSA.	15, 19, 7, 20, 32

Названия генов	Описание	Механизм резистентности	Бактерии, в которых были обнаружены гены резистентности	Ссылки
Гены резистентности к гликопептидам				
vanA	VanA был выделен из ванкомицин-резистентных <i>Enterococcus</i> (VRE). VanA представляет собой гомолог фермента D-Ala-D-Ala лигазы, который синтезирует D-Ala-D-Lac, альтернативный субстрат для синтеза пептидогликана, что в результате снижает сродство связывания ванкомицина. VanA связан как с устойчивостью к ванкомицину, так и к тейкопланину.	Изменение мишени антибиотика	<i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus VRS</i> <i>VISA</i> .	24, 7, 20, 32
vanB	VanB был выделен из ванкомицин-резистентных <i>Enterococcus</i> (VRE). VanB представляет собой гомолог D-Ala-D-Ala лигазы, подобный VanA, и может синтезировать D-Ala-D-Lac, альтернативный субстрат для синтеза пептидогликана, который снижает аффинность связывания ванкомицина. Связан с устойчивостью к ванкомицину, но не к тейкопланину.	Изменение мишени антибиотика	<i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Enterococcus faecium</i> .	24, 7, 20, 32

ДИАГНОСТИКА АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

Для выявления антибиотикорезистентности существуют фенотипические (традиционные) и молекулярно-генетические методы. Фенотипические методы включают: диффузионный метод (диско-диффузионный), метод серийных разведений (в агаре, в бульоне) и комбинированный E-тест. Несмотря на широкое применение и введение в практику современных автоматических анализаторов, фенотипические методы сопряжены со значительными методическими трудностями. В соответствии с МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» при использовании фенотипических методов следует строго соблюдать следующие требования: использовать субстанции антибиотиков с известным уровнем активности, соблюдать режимы хранения, тщательно выполнять контроль качества питательных сред.

В связи с этим молекулярно-генетические методы исследования антибиотикорезистентности могут быть использованы в качестве метода выбора, особенно в следующих ситуациях:

- исследования вспышек острых и хронических инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи;
- верификация результатов фенотипических методов внутривидового типирования (антибиотикорезистентности), направленного на выявление госпитальных штаммов;
- при слежении за циркуляцией международных эпидемических клонов в пределах территориальных единиц, субъектов РФ и на национальном уровне.

Молекулярно-генетические методы направлены на выявление генов, ассоциированных с резистентностью, и характеризуются:

- высокой чувствительностью;
- скоростью получения результатов;
- стандартизованностью и технологичностью исследования.

ВАЖНО, что они не требуют манипуляций с живыми бактериальными культурами, что способствует предотвращению распространения и циркуляции микроорганизмов внутри лечебно-диагностических и лабораторных учреждений.

Быстрая диагностика инфекции является важным фактором, влияющим на исход заболевания: каждый час задержки эффективной антибактериальной терапии при септическом шоке повышает риск летальности на 7,6 %. Учитывая высокий уровень антибиотикорезистентности и широкое распространение штаммов, продуцирующих карбапенемазы, актуальным становится вопрос быстрого получения результатов. В настоящее время для сокращения времени идентификации возбудителей все большее распространение получают некультуральные методы, основанные на принципе мультиплексной ПЦР, флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) и т. д.

На сегодняшний день в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации № 804н от 7 ноября 2017 г. «Об утверждении номенклатуры медицинских услуг» (вступил в силу с 1 января 2018 г.) молекулярно-генетические методы введены в качестве базового диагностического метода в следующих случаях (табл. 4).

Таблица 4. Наименование медицинских услуг по выявлению генов антибиотикорезистентности с или без типирования ДНК микроорганизмов при помощи метода ПЦР в соответствии с Приказом МЗ РФ № 804н

Объект исследования	Код услуги	Наименование медицинской услуги
Staphylococcus	A26.01.029	Молекулярно-биологическое исследование отделяемого пораженных участков кожи на метициллин-чувствительные и метициллин-резистентные <i>Staphylococcus aureus</i> , метициллин-резистентные <i>Staphylococcus spp.</i>
	A26.01.029.001/ A26.01.029.002	Определение ДНК метициллин-чувствительных и метициллин-резистентных <i>Staphylococcus aureus</i> , метициллин-резистентных коагулазонегативных <i>Staphylococcus spp.</i> в отделяемом пораженных участков кожи методом ПЦР, качественное исследование / количественное исследование.
	A26.05.043	Молекулярно-биологическое исследование крови на метициллин-чувствительные и метициллин-резистентные <i>Staphylococcus aureus</i> , метициллин-резистентные коагулазонегативные <i>Staphylococcus spp.</i>
	A26.05.043.001/ A26.05.043.002	Определение ДНК метициллин-чувствительных и метициллин-резистентных <i>Staphylococcus aureus</i> , метициллин-резистентных коагулазонегативных <i>Staphylococcus spp.</i> в крови методом ПЦР, качественное исследование / количественное исследование.
	A26.08.068	Молекулярно-биологическое исследование мазков со слизистой оболочки ротоглотки на метициллин-чувствительные и метициллин-резистентные <i>Staphylococcus aureus</i> , метициллин-резистентные коагулазонегативные <i>Staphylococcus spp.</i>
	A26.08.068.001/ A26.08.068.002	Определение ДНК метициллин-чувствительных и метициллин-резистентных <i>Staphylococcus aureus</i> , метициллин-резистентных коагулазонегативных <i>Staphylococcus spp.</i> в мазках со слизистой оболочки ротоглотки методом ПЦР, качественное исследование / количественное исследование.
	A26.09.075	Молекулярно-биологическое исследование бронхоальвеолярной лаважной жидкости, мокроты, эндотрахеального аспирата на метициллин-чувствительные и метициллин-резистентные <i>Staphylococcus aureus</i> , метициллин-резистентные коагулазонегативные <i>Staphylococcus spp.</i>
	A26.09.075.001/ A26.09.075.002	Определение ДНК метициллин-чувствительных и метициллин-резистентных <i>Staphylococcus aureus</i> , метициллин-резистентных коагулазонегативных <i>Staphylococcus spp.</i> в бронхоальвеолярной лаважной жидкости, мокроте, эндотрахеальном аспириате методом ПЦР, качественное / количественное исследование.
	A26.28.013	Молекулярно-биологическое исследование мочи на метициллин-чувствительные и метициллин-резистентные <i>Staphylococcus aureus</i> , метициллин-резистентные коагулазонегативные <i>Staphylococcus spp.</i>
	A26.28.013.001/ A26.28.013.002	Определение ДНК метициллин-чувствительных и метициллин-резистентных <i>Staphylococcus aureus</i> , метициллин-резистентных коагулазонегативных <i>Staphylococcus spp.</i> в моче методом ПЦР, качественное / количественное исследование.
A26.30.032.004	Определение генов метициллин-резистентных <i>Staphylococcus aureus</i> и метициллин-резистентных коагулазонегативных <i>Staphylococcus spp.</i> в культуре, полученной путем бактериологического посева образцов различного биологического материала методом ПЦР.	
Карбапенемазы	A26.08.069	Молекулярно-биологическое исследование мазков со слизистой оболочки ротоглотки для выявления генов приобретенных карбапенемаз бактерий.
	A26.08.069.001	Выявление генов приобретенных карбапенемаз класса металло-бета-лактамаз (МБЛ) групп VIM, IMP и NDM в мазках со слизистой оболочки ротоглотки методом ПЦР.
	A26.08.069.002	Выявление генов приобретенных карбапенемаз групп KPC и OXA-48-подобных в мазках со слизистой оболочки ротоглотки методом ПЦР.
	A26.19.035	Молекулярно-биологическое исследование для выявления генов приобретенных карбапенемаз бактерий в мазке со слизистой оболочки прямой кишки методом ПЦР.
	A26.19.035.001	Определение генов приобретенных карбапенемаз бактерий класса металло-бета-лактамаз (МБЛ) групп VIM, IMP и NDM в мазке со слизистой оболочки прямой кишки методом ПЦР.
	A26.19.035.002	Определение генов приобретенных карбапенемаз бактерий групп KPC и OXA-48-подобных в мазке со слизистой оболочки прямой кишки методом ПЦР.

Объект исследования	Код услуги	Наименование медицинской услуги
Бета-лактамазы	A26.28.020	Молекулярно-биологическое исследование мочи для выявления генов приобретенных карбапенемаз бактерий.
	A26.28.020.001	Выявление генов приобретенных карбапенемаз класса металло-бета-лактамаз (МБЛ) групп VIM, IMP и NDM в моче методом ПЦР.
	A26.28.020.002	Выявление генов приобретенных карбапенемаз групп KPC и OXA-48-подобных в моче методом ПЦР.
	A26.30.032.001	Определение генов приобретенных карбапенемаз класса металло-бета-лактамаз групп VIM, IMP и NDM в культуре, полученной путем бактериологического посева образцов различного биологического материала, методом ПЦР.
	A26.30.032.002	Определение генов приобретенных карбапенемаз групп KPC и OXA-48-подобных в культуре, полученной путем бактериологического посева образцов различного биологического материала, методом ПЦР.
	A26.30.004.021	Определение генов карбапенемаз методом амплификации нуклеиновых кислот.
	A26.30.004.022	Определение генов карбапенемаз методом определения нуклеотидной последовательности ДНК.
	A26.30.004.011	Определение генов бета-лактамаз расширенного спектра методом амплификации нуклеиновых кислот.
	A26.30.004.013	Определение генов бета-лактамаз расширенного спектра методом определения нуклеотидной последовательности ДНК.
	A26.30.004.036	Определение <i>mecA/mecC</i> -опосредованной резистентности к бета-лактамам методом амплификации нуклеиновых кислот.
	A26.30.004.037	Определение <i>mecA/mecC</i> -опосредованной резистентности к бета-лактамам методом определения нуклеотидной последовательности ДНК.
	A26.30.032.003	Определение генов бета-лактамаз расширенного спектра в культуре, полученной путем бактериологического посева образцов различного биологического материала, методом ПЦР.
	Гены резистентности к гликопептидам	A26.30.004.038
A26.30.004.039		Определение <i>vanA/vanB</i> -опосредованной резистентности к гликопептидам методом амплификации нуклеиновых кислот.
A26.30.004.040		Выявление <i>vanA/vanB</i> -опосредованной резистентности к гликопептидам методом определения нуклеотидной последовательности ДНК.

Компания «ДНК-Технология» предлагает набор реагентов для выявления генов резистентности к гликопептидным и бета-лактамам антибиотикам у бактерий методом ПЦР в режиме реального времени в двух вариантах исполнения: «БакРезиста GLA Van/Mec» и «БакРезиста GLA»

Таблица 5. Назначение набора реагентов

«БакРезиста GLA Van/Mec»	«БакРезиста GLA»
Выявление генов резистентности к гликопептидным (G) и бета-лактамам (L) антибиотикам (A): <i>vanA/B, mecA</i> в биологическом материале и бактериальных культурах.	Выявление генов резистентности к гликопептидным (G) и бета-лактамам (L) антибиотикам (A): <i>vanA/B; mecA; tem, ctx-M-1, shv; oxa-40-like, oxa-48-like, oxa-23-like, oxa-51-like, imp, kpc, ges, ndm, vim</i> в биологическом материале и бактериальных культурах.

ПОКАЗАНИЯ К ПРОВЕДЕНИЮ ИССЛЕДОВАНИЯ

- необходимость исследования возможной антибиотикорезистентности у бактерий, вызвавших развитие инфекционных процессов.

Таблица 6. Количество исследований в наборе реагентов, РУ

Наименование набора реагентов	Количество исследований в наборе реагентов	РУ
«БакРезиста GLA Van/Мес»	48	№ ПЗН 2020/11171
«БакРезиста GLA»	24	№ ПЗН 2020/11171

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Σ Формат набора (набор распапан в пробирки):**
- для «БакРезиста GLA» — 24 стрипа по 8 пробирок на 0,2 мл;
 - для «БакРезиста GLA Van/Мес» — 6 стрипов по 8 пробирок на 0,2 мл или 48 пробирок на 0,2 мл.

🌡 Температура хранения:
+2... +8 °С.

🕒 Срок годности:
12 месяцев.

- 📦 Наборы реагентов для выделения ДНК производства ООО «НПО ДНК-Технология»:**
- «ПРОБА-НК»/«ПРОБА-НК-ПЛЮС»;
 - «ПРОБА-ГС»/«ПРОБА-ГС-ПЛЮС»;
 - «ПРОБА-МЧ».

- 👤 Материал для ПЦР-исследования:**
- мокрота;
 - моча;
 - мазки/соскобы из дыхательных путей, желудочно-кишечного и урогенитального тракта;
 - фекалии;
 - аспираты;
 - экссудаты;
 - бактериальные культуры.

- 📦 Формат детекции:**
мультиплексный анализ — в одной пробирке одновременно определяются несколько ДНК-мишеней (табл. 6).

**Таблица 7. Каналы детекции продуктов амплификации
А. «БакРезиста GLA»**

№ пробирки	Fam	HEX	ROX	Cy 5
1	imp	BK	—	—
2	ОБМ	BK	—	оха-51-like
3	ctx-M-1	—	—	tem
4	van A/B	BK	—	mecA
5	оха-48-like	BK	—	оха-40-like
6	vim	BK	—	kpc
7	оха-23-like	BK	—	ndm
8	shv	BK	Маркер	ges

Б. «БакРезиста GLA Van/Мес»

№ пробирки	Fam	HEX	ROX	Cy 5
1	van A/B	BK	—	mec A

Предел обнаружения: 10 копий ДНК на амплификационную пробирку (2×10^3 копий/мл препарата ДНК)

Таблица 8. Аналитическая чувствительность «БакРезиста GLA» и «БакРезиста GLA Van/Мес»

Аналитическая чувствительность копий/образца биологического материала в 500 мкл транспортной среды			
«ПРОБА-НК»	«ПРОБА-ГС»	«ПРОБА-МЧ-РАПИД»	«ПРОБА-ГС-ПЛЮС» или «ПРОБА-НК-ПЛЮС»
100	200	600	600

Оборудование, необходимое для проведения анализа: приборы серии «ДТ» («ДТлайт», «ДТпрайм», «ДТ-96») производства ООО «НПО ДНК-Технология».



«ДТпрайм»

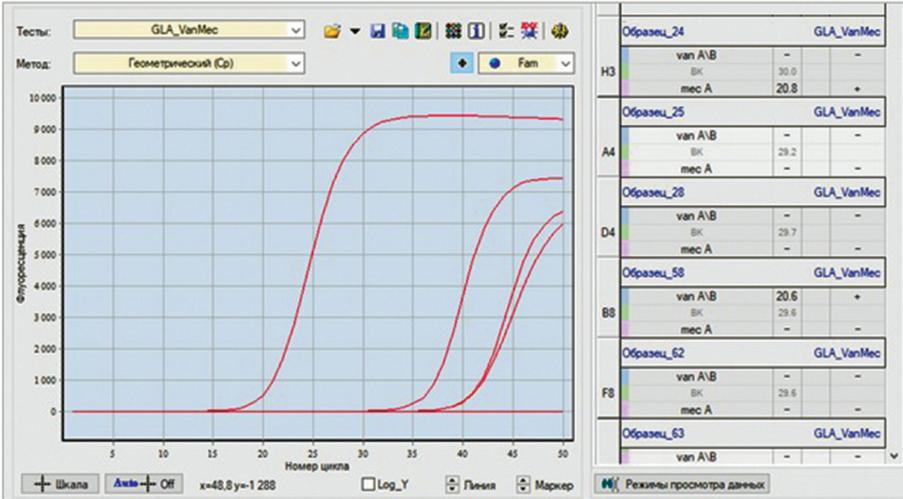


«ДТлайт»

Для проведения анализа с использованием стрипованных пробирок необходимо дополнительное оборудование: штатив и насадка на микроцентрифугу (вортекс) для стрипованного пластика.

Программное обеспечение: учет и интерпретация результатов реакции осуществляются автоматически для приборов серии «ДТ» производства ООО «НПО ДНК-Технология» (рис. 3).

A



Результат исследования методом полимеразной цепной реакции

Дата
 Номер пробирки
 Ф. И. О. пациента
 Пол
 Возраст
 Организация
 Врач
 Примечание



Информация о лаборатории

Идентификатор образца: Образец_58

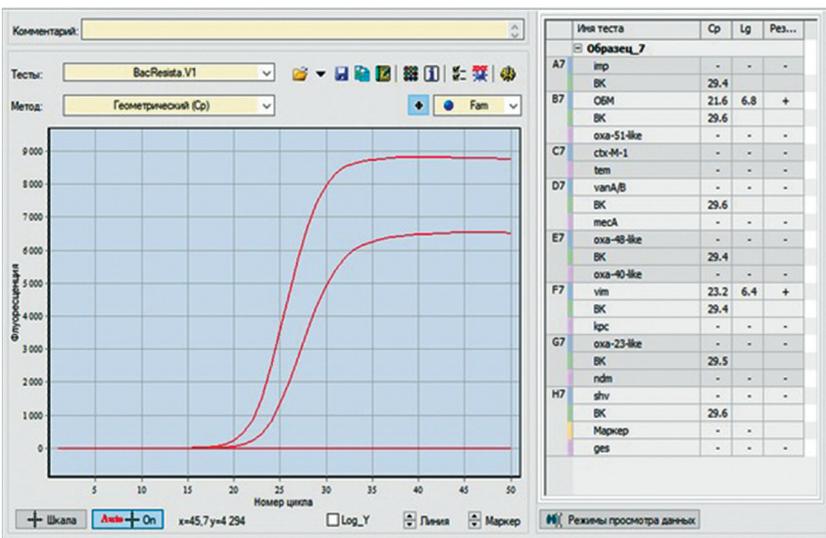
№	Название исследования	Результаты
1	vanA/B	ОБНАРУЖЕНО
2	mecA	НЕ ВЫЯВЛЕНО

Исследование выполнил:

Дата:

Подпись:

Б



Выявление генов резистентности к гликопептидным и бета-лактамным антибиотикам у бактерий методом ПЦР в режиме реального времени (БакРезиста GLA)

Дата
 Номер пробирки
 Ф. И. О. пациента
 Пол
 Возраст
 Врач
 Примечание



Информация о лаборатории

Идентификатор образца: Образец_7

№	Название исследования	Результаты
1	imp	не выявлено
2	ОБМ	ОБНАРУЖЕНО (6,8 Lg)
3	oxa-51-like	не выявлено
4	ctx-M-1	не выявлено
5	tem	не выявлено
6	vanA/B	не выявлено
7	mecA	не выявлено
8	oxa-48-like	не выявлено
9	oxa-40-like	не выявлено
10	vim	ОБНАРУЖЕНО (6,4 Lg)
11	kpc	не выявлено
12	oxa-23-like	не выявлено
13	ndm	не выявлено
14	shv	не выявлено
15	ges	не выявлено

Заключение:

Обнаружен(-ы) ген(-ы) резистентности к бета-лактамным антибиотикам. Возможны проявления устойчивости к пенициллинам, цефалоспорином I–IV поколения, карбапенемам у грамотрицательных бактерий.

Исследование выполнил:

Дата:

Подпись:

Рис. 3. Результаты ПЦР-анализа с использованием приборов серии «ДТ» и программного обеспечения (версия 7.9) производства ООО «НПО ДНК-Технология»:

А — анализ оптических измерений (канал Fam) и отчет по результатам исследования при использовании «БакРезиста GLA Van/Mec»;

Б — анализ оптических измерений (канал Fam) и отчет по результатам исследования при использовании «БакРезиста GLA»

Конкурентные преимущества набора реагентов «БакРезиста GLA» и «БакРезиста GLA Van/Мес» для клиники

- Спектр **одновременно выявляемых показателей** генетических детерминант резистентности не имеет аналогов среди российских и зарубежных производителей наборов реагентов для ПЦР-диагностики.
- Высокая скорость** получения результата анализа — менее 1,5 часа с момента поступления биоматериала и выделения нуклеиновых кислот.
- Возможность использования **широкого спектра биоматериала**.
- Набор реагентов характеризуется **высокой** аналитической **чувствительностью и специфичностью**.

Технологические преимущества

- Качественный и полуколичественный мультиплексный анализ.
- Сниженный риск контаминации из-за использования раскапанных под парафин готовых реакционных смесей.
- Наличие внутреннего контроля (ВК) — индикатора качества прохождения реакции и отсутствия ингибирования в отдельных пробирках.
- Цветовая маркировка первой пробирки стрипа «БакРезиста GLA» — окрашенный в голубой цвет буфер в первой пробирке позволяет контролировать расстановку стрипов в плашке детектирующего амплификатора.
- Наличие маркера определения положения стрипованных пробирок: после прохождения амплификации программа сравнивает заданное оператором расположение пробирок с реальным положением маркера — исключение ошибок оператора и риска получения некорректных результатов анализа.
- Интеллектуальное программное обеспечение — автоматическое формирование бланка результатов исследования с заключением.

Сравнивая значения логарифмов, возможно провести полуколичественную оценку:

- доли резистентных микроорганизмов от общего количества бактериальной массы;
- соотношения генов резистентности друг с другом.

О КОМПАНИИ

Группа компаний «ДНК-Технология» является единственным российским производителем полного технологического цикла — от научных разработок (более 25 патентов) до оснащения и сопровождения медицинских лабораторий оборудованием и наборами реагентов для выполнения методом ПЦР в реальном времени. Продукция компании зарегистрирована в качестве медицинских изделий в России и за рубежом, имеет регистрационные удостоверения и сертификаты CE IVD, регулярно проходит внешнюю оценку качества.



СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Принципы организации мониторинга устойчивости ведущих возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, к антимикробным препаратам в лечебно-профилактических медицинских организациях здравоохранения: Федеральные клинические рекомендации. — М., 2014. — 37 с.
2. Рубцова М. Ю., Уляшова М. М., Бахман Т. Т., Шмид Р. Д., Егоров А. М. Мультипараметрическое определение генов и точечных мутаций в них для идентификации бета-лактамаз // Успехи биологической химии. — 2010. — Т. 50. — С. 303–348.
3. Фармакология с рецептурой: учебник для медицинских и фармацевтических учреждений среднего профессионального образования / Под ред. В. М. Виноградова. — 6-е изд., испр. и доп. Санкт-Петербург: СпецЛит, 2016. — 647 с.: ил.
4. Эйдельштейн М. В. Бета-лактамазы аэробных грамотрицательных бактерий: характеристика, основные принципы классификации, современные методы выявления и типирования // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2001. — Т. 3. — № 3. — С. 223–242.
5. Эйдельштейн М. В. Экстремально- и панрезистентные клоны бактериальных возбудителей в клинике // Материалы ежегодной Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Контроль и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП-2015)». — 2015.
6. Abebe E., Tegegne B. and Tibebe S. A Review on molecular mechanisms of bacterial resistance to antibiotics // European Journal of Applied Sciences. — 2016. — Vol. 8. — No. 5. — P. 301–310.
7. Alcock et al. 2020. CARD 2020: Antibiotic Resistance Surveillance with the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Nucleic Acids Research*, 48, D517–D525.
8. Baquero F. et al. Antibiotic resistance shaping multi-level population biology of bacteria // *Front. Microbiol.* — 2013. — Vol. 4. — Art. number 15. — P. 1–15.
9. Bauernfeind A, et al. 1996. *Antimicrob Agents Chemother* 40(2): 509–513. Sequences of beta-lactamase genes encoding CTX-M-1 (MEN-1) and CTX-M-2 and relationship of their amino acid sequences with those of other beta-lactamases.
10. Bradford PA. 2001. *Clin Microbiol Rev* 14(4): 933–951. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat.
11. Bruno A. V., Mackay C. Antimicrobial resistance and the activities of the Codex Alimentarius Commission // *Rev Sci Tech.* — 2012. — Vol. 31. — No. 1. — P. 317–323.
12. Codex Alimentarius Commission (CAC) (2011): guidelines for risk analysis of foodborne antimicrobial resistance (CAC/ GL 77-2011). — CAC, Rome. — 29 p. URL: www.codexalimentarius.net/download/standards/11776/CX_G_077e.
13. D'Costa V. M. et al. Antibiotic resistance is ancient // *Nature.* — 2011. — Vol. 477 (7365). — P. 457–461.
14. Docquier JD, et al. 2003. *J Antimicrob Chemother* 51 (2): 257–266. On functional and structural heterogeneity of VIM-type metallo-beta-lactamases.
15. Deurenberg R. H. and Stobberingh E. E. 2008. *Infect Genet Evol* 8 (6): 747–763. The evolution of *Staphylococcus aureus*.
16. Evans B. A., Amyes S. G. OXA-beta-lactamases // *Clin Microbiol Rev.* — 2014. — Vol. 27. — P. 2. — P. 241–263.
17. Fernández L., Hancock R. E. W. Adaptive and mutational resistance: role of porins and efflux pumps in drug resistance // *Clin Microbiol Rev.* — 2012. — Vol. 25. — No. 4. — P. 661–681.
18. Garcia-Saez I, et al. 2007. *J Mol Biol* 375 (3): 604–611. The three-dimensional structure of VIM-2, a Zn-beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* in its reduced and oxidised form.
19. Hartman BJ and Tomasz A. 1984. *J Bacteriol* 158 (2): 513–516. Low-affinity penicillin-binding protein associated with beta-lactam resistance in *Staphylococcus aureus*.
20. Guiton et al. 2019. Capturing the Resistome: A robust and reliable targeted capture method for detecting antibiotic resistance determinants. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64, e01324–19.
21. Kapoor G., Saigal S., Elongavan A. Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians // *J Anaesthesiol Clin Pharmacol.* — 2017. — Vol. 33. — Issue 3. — P. 300–305.

22. Ke W, et al. 2007. *Biochemistry* 46 (19): 5732–5740. Crystal structure of KPC-2: insights into carbapenemase activity in class A beta-lactamases.
23. Kumarasamy KK, et al. 2010. *Lancet Infect Dis* 10 (9): 597–602. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study.
24. Marshall CG, et al. 1997. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94 (12): 6480–6483. D-Ala-D-Ala ligases from glycopeptide antibiotic-producing organisms are highly homologous to the enterococcal vancomycin-resistance ligases VanA and VanB.
25. Munita J. M., Cesar A. Mechanisms of antibiotic resistance // *Microbiol Spectr.* — 2016. — Vol. 4. — No. 2. — P. 10–48.
26. Nordmann P, et al. 2011. *Trends Microbiol* 19 (12): 588–595. The emerging NDM carbapenemases.
27. Oelschlaeger P, et al. 2010. *J Med Chem* 53(8): 3013–3027. Evolving carbapenemases: can medicinal chemists advance one step ahead of the coming storm?
28. Osano E, et al. 1994. *Antimicrob Agents Chemother* 38 (1): 71–78. Molecular characterization of an enterobacterial metallo beta-lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance.
29. Stachyra T, et al. 2009. *J Antimicrob Chemother* 64 (2): 326–329. In vitro activity of the beta-lactamase inhibitor NXL104 against KPC-2 carbapenemase and Enterobacteriaceae expressing KPC carbapenemases.
30. Thomson CJ, et al. 1993. *Epidemiol. Infect.* 110 (1):117–25 Molecular epidemiology of the plasmid-encoded TEM-1 beta-lactamase in Scotland.
31. Torres-Barceló C. et al. The SOS response increases bacterial fitness, but not evolvability, under a sublethal dose of antibiotic // *Proc Biol Sci.* — 2015. — Vol. 282. — Art. number 1816.
32. Tsang et al. 2019. Pathogen taxonomy updates at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database: Implications for molecular epidemiology. Preprints, 2019070222.
33. Turton JF, et al. 2006. *J Clin Microbiol* 44 (8): 2974–2976. Identification of *Acinetobacter baumannii* by detection of the blaOXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species.
34. Wright G. D. Q&A: Antibiotic resistance: where does it come from and what can we do about it? // *BMC Biol-ogy.* — 2010. — No. 8. — P. 123–129.



114-2 2020.10.14

Контакты офиса:

ООО «ДНК-Технология». Адрес: г. Москва, Варшавское шоссе, д. 125ж, корп. 6, эт. 5, комн. 14.
Тел./факс: +7 495 640-17-71; www.dna-technology.ru; mail@dna-technology.ru.

Служба клиентской поддержки:

8 800 200-75-15 (звонок по России бесплатный), hotline@dna-technology.ru.

