

Обнаружение генетических маркеров резистентности к β -лактамам у грамотрицательных микроорганизмов с помощью ПЦР-диагностики

Е. С. ЛИСИЦЫНА¹, Т. В. ЧЕРНЕНЬКАЯ², Е. Н. ИЛЬИНА³, И. В. ЛАЗАРЕВА⁴, В. А. АГЕЕВЦ⁴, С. В. СИДОРЕНКО⁴

¹ НПФ «Литех», Москва, Россия

² НИИ скорой помощи им. Н. В. Склифосовского, Москва

³ НИИ физико-химической медицины ФМБА России, Москва

⁴ НИИ детских инфекций ФМБА России, Санкт-Петербург

Discovery of Genetic Markers of Resistance to β -Lactams in Gramnegative Microorganisms by PCR Diagnosis

E. S. LISITSINA, T. V. CHERNENKAYA, E. N. ILYINA, I. V. LAZAREVA, V. A. AGEEVETS, S. V. SIDORENKO

Litekh Co., Moscow

N.V.Sklifosovsky Research Institute of Emergency Service, Moscow

Research Institute of Physico-Chemical Medicine, Moscow

Research Institute of Children's Infections, Federal Medico-Biological Agency, St.Petersburg

В исследование включены образцы биологического материала (15 образцов гемокультуры и 89 образцов бронхоальвеолярного лаваж), из которого были выделены монокультуры грамотрицательных бактерий устойчивых к цефотаксиму, цефепиму, имипенему, меропенему. В отобранных образцах методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени (ПЦР-тест систем ООО НПФ «Литех») были обнаружены гены бета-лактамаз: *bla*_{CTX-M-like} (72/104, 69,2%), *bla*_{NDM} (6/104, 5,8%), *bla*_{VIM} (49/104, 47,1%) и *bla*_{OXA48-like} (59/104, 56,7%). Выявлена корреляция между фенотипом устойчивости *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli* к цефотаксиму и карбапенемным антибиотикам и выявлением генов *bla*_{CTX-M-like} и *bla*_{NDM}. В то же время до 70% *K.pneumoniae*, выделенных из биологических образцов, положительных на наличие генов карбапенемаз *bla*_{VIM} и *bla*_{OXA48-like} демонстрировали фенотипическую чувствительность к карбапенемам. Полученные результаты подтверждают прогностические возможности генетической диагностики для улучшения традиционного бактериологического исследования.

Ключевые слова: гемокультуры, бронхоальвеолярный лаваж, генетические маркеры резистентности, ПЦР-тестирование.

Fifteen specimens of the hemoculture and 89 specimens of the broncho-alveolar lavage were used in the study. Monocultures of gramnegative bacteria resistant to cefotaxime, cefepime, imipenem and meropenem were isolated from the specimens. The PCR method with detection of the results in the real time regimen (PCR test-system Litekh) provided detection of the beta-lactamase genes: *bla*_{CTX-M-like} (72/104, 69.2%), *bla*_{NDM} (6/104, 5.8%), *bla*_{VIM} (49/104, 47.1%) and *bla*_{OXA48-like} (59/104, 56.7%). There was identified correlation between the phenotype of resistance of *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* to cefotaxime and carbapenems and detection of the *bla*_{CTX-M-like} and *bla*_{NDM} genes. At the same time, up to 70% of the *K.pneumoniae* isolates from the biological specimens positive with respect to the presence of the carbapenase *bla*_{VIM} and *bla*_{OXA48-like} genes demonstrated their phenotypic susceptibility to carbapenems. The results of the study confirmed the prognostic value of the genetic diagnosis for improvement of the routine bacteriological investigations.

Key words: hemocultures, broncho-alveolar lavage, genetic markers of resistance, PCR method.

Введение

Одной из ведущих проблем современного здравоохранения, во многом обусловленной интенсивным применением антибактериальных препаратов, является формирование лекарственной устойчивости у возбудителей как внебольничных, так и особенно внутрибольничных ин-

фекций. Лечение таких инфекций требует больших затрат в связи с увеличением времени пребывания больного в стационаре и использованием дорогостоящих препаратов.

Современные принципы лечения жизнеугрожающих инфекций предусматривают незамедлительное назначение антибактериальных препаратов после установления диагноза [1]. В подавляющем большинстве случаев выбор препаратов происходит в условиях практически полного отсутствия информации об этиологии

© Коллектив авторов, 2015

Адрес для корреспонденции: 119435, Москва, Пироговская М. ул., 1, стр. 3. НПФ Литех

инфекционного процесса и антибиотикочувствительности возбудителя. На протяжении многих лет основу эмпирической терапии тяжёлых бактериальных инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями, составляли и составляют бета-лактамы антибиотики. Однако эффективность указанных препаратов ограничивается формированием приобретённой микробной резистентности, ведущим механизмом которой у грамотрицательных бактерий является бета-лактамаза.

Бета-лактамазы представляют собой обширную и крайне разнообразную по своим свойствам группу ферментов [2], но основное клиническое значение имеет их относительно небольшое количество. Появление и распространение отдельных групп бета-лактамаз чётко связано с внедрением в медицинскую практику новых бета-лактамов антибиотиков. Так, вслед за внедрением аминопенициллинов и других полусинтетических пенициллинов у грамотрицательных бактерий появились и быстро распространились плазмидные бета-лактамазы класса А широкого спектра. Вслед за оксиминоцефалоспоридами появились бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС) [3]. Именно с распространением этих ферментов связано снижение эффективности цефалоспориновых антибиотиков I—IV поколений. Если до середины 90-х годов прошлого века среди БЛРС доминировали TEM- и SHV-типы, то в последующие годы они были постепенно вытеснены ферментами CTX-M-типа [4]. Ферменты CTX-M-типа доминируют среди БЛРС и на территории Российской Федерации [5].

Снижение эффективности цефалоспоринов привело к существенному увеличению потребления карбапенемных антибиотиков, что в свою очередь послужило толчком к формированию и распространению микробной резистентности к карбапенемам. Ведущую роль в распространении резистентности к карбапенемам играют четыре группы карбапенемаз: KPC-, VIM-, NDM- и OXA-48 типов [6]. По экспертным оценкам к маю 2015 г. в 13 из 38 стран Европы сформировались эндемичные очаги распространения продуцентов карбапенемаз, в большинстве остальных стран было отмечено региональное распространение этих бактерий, причём по сравнению с 2013 г. ситуация в большинстве стран существенно ухудшилась [7]. Основные глобально распространённые карбапенемазы выявлены и в Российской Федерации [8].

Широкое распространение БЛРС и появление карбапенемаз вызывает потребность в быстром выявлении указанных механизмов устойчивости, однако решение этой проблемы культуральными методами классической микробиологии невозможно. Одним из наиболее реаль-

ных подходов к решению указанной проблемы может быть детекция генов, кодирующих БЛРС и карбапенемазы, непосредственно в клиническом материале, минуя стадию выделения возбудителя в чистой культуре.

В настоящем исследовании продемонстрирована возможность прогнозирования лекарственной устойчивости путём обнаружения методом ПЦР наиболее распространённых генов резистентности, определяющих устойчивость микроорганизмов к цефалоспоридам I—IV поколения и карбапенемам, в различном клиническом материале.

Материал и методы

Биологический материал. В исследование вошли 15 образцов гемокультуры и 89 образцов бронхоальвеолярного лаважа, полученных в период с августа 2013 г. по февраль 2014 г. Включение клинических образцов в экспериментальную выборку проводили согласно следующим критериям: присутствие в клиническом материале грамотрицательных бактерий в виде монокультуры; фенотипическая устойчивость выделенных бактерий к цефотаксиму, цефепиму, имипенему и меропенему.

Микробиологические исследования. Видовую идентификацию возбудителей в образцах проводили стандартными бактериологическими методами. Чувствительность к антибиотикам выявленных патогенных микроорганизмов определяли диско-диффузионным методом и интерпретировали в соответствии со стандартами EUCAST [9]. С учётом рода выделенного штамма определение чувствительности проводили к следующим антимикробным препаратам: цефотаксим, цефепим, имипенем, меропенем.

ПЦР исследование. Образцы ДНК выделяли согласно соответствующим методикам для бронхоальвеолярного лаважа и гемокультуры с использованием реагента «ДНК-экспресс» без красителя для флуоресцентных методов детекции (ООО НПФ «Литех», № ФСР 2007/00362).

Выделенные образцы ДНК анализировали с использованием экспериментальных диагностических наборов производства ООО НПФ «Литех» для выявления:

- резистентности к карбапенемам — Enterobacteriaceae и *Pseudomonas* (выявление генов VIM);
- резистентности к карбапенемам — Enterobacteriaceae и *Pseudomonas* (выявление генов NDM);
- резистентности к карбапенемам — Enterobacteriaceae и *Pseudomonas* (выявление генов OXA-48);
- резистентности к карбапенемам — Enterobacteriaceae и *Pseudomonas* (выявление генов KPC);
- резистентности к цефалоспоридам — Enterobacteriaceae (выявление генов CTX-M).

Тестирование проводилось согласно рекомендациям производителя методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени.

Результаты и обсуждение

В ходе испытаний были проанализированы 104 клинических образца, полученных от пациентов различных отделений НИИ СП им. Н. В. Склифосовского. Отобранный клинический материал после микробиологического исследования и поступал в лабораторию ПЦР для выделения ДНК и тестирования на наличие генетических маркёров резистентности.

На основании бактериологических данных была проведена оценка видового разнообразия

Результаты бактериологического анализа чувствительности

Антибиотики	Фенотипы	<i>Acinetobacter</i> spp. (n=46)	<i>K.pneumoniae</i> (n=39)	<i>P.aeruginosa</i> (n=16)	<i>E.coli</i> (n=3)
Карбапенемы	чувствительные	4 (8,7%)	27 (69,2%)	3 (18,7%)	3 (100,0%)
	промежуточные	1 (2,2%)	5 (12,8%)	1 (6,3%)	0
	резистентные	41 (89,1%)	7 (18,0%)	12 (75,0%)	0
Цефотаксим	чувствительные	0	5 (12,8%)	0	1 (33,3%)
	резистентные	46 (100,0%)	34 (87,2%)	16 (100,0%)	2 (66,7%)
Цефепим	чувствительные	1 (2,2%)	13 (33,3%)	4 (25,0%)	1 (33,3%)
	резистентные	45 (97,8%)	26 (66,7%)	12 (75,0%)	2 (66,7%)

возбудителей, выявленных в клинических образцах. Микробный пейзаж представлен следующими видами: *Acinetobacter* spp. (46/104, 44%), *Klebsiella pneumoniae* (39/104, 38%), *Pseudomonas aeruginosa* (16/104, 15%) и *Escherichia coli* (3/104, 3%).

По результатам микробиологического анализа на чувствительность к цефалоспорином и карбапенемам бактериальные культуры были отнесены к трём фенотипическим группам:

- чувствительные к исследуемым антибиотикам;
- резистентные, обладающие устойчивостью к тестируемым препаратам, а также, в случае карбапенемов, показывающие промежуточную чувствительность к одному из карбапенемов на фоне устойчивости к другому;
- с промежуточной чувствительностью к препаратам, а также, в случае карбапенемов, чувствительные к одному из карбапенемов на фоне устойчивости к другому.

Результаты бактериологического определения чувствительности выявленных возбудителей к цефалоспорином и карбапенемам представлены в табл. 1. Согласно полученным данным, большинство штаммов *Acinetobacter* spp. и *P.aeruginosa* обладали резистентным к цефалоспорином и к карбапенемам фенотипом. В отношении штаммов *K.pneumoniae* и *E.coli* карбапенемы продемонстрировали высокую активность.

В предоставленной коллекции, состоящей из 104 клинических образцов, были обнаружены носители следующих генов резистентности: *bla*_{CTX-M-like} (72/104, 69,2%), *bla*_{NDM} (6/104, 5,8%), *bla*_{VIM} (49/104, 47,1%) и *bla*_{OXA48-like} (59/104, 56,7%). Гены *bla*_{KPC} в клинических образцах обнаружены не были.

Вследствие того, что генетические маркёры резистентности ассоциированы с различными фенотипами лекарственной устойчивости, сопоставление результатов бактериологического и ПЦР исследования проводили отдельно для каждого класса antimicrobных препаратов.

Цефалоспорины. Согласно бактериологическим данным, из образцов, положительных по ге-

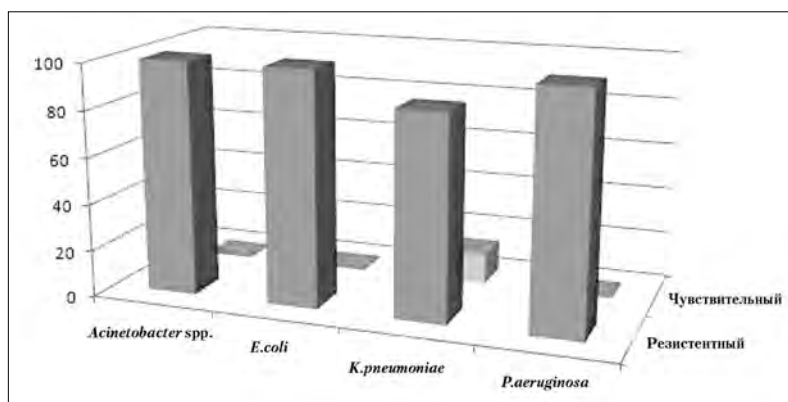


Рис. 1. Распределение штаммов бактерий, изолированных из положительного по гену *bla*_{CTX-M-like} клинического материала, по фенотипам чувствительности к цефотаксиму (в %).

ну *bla*_{CTX-M-like} (n=72), были выделены следующие возбудители: *Acinetobacter* spp. (27/72, 37,5%), *K.pneumoniae* (38/72, 52,8%), *P.aeruginosa* (5/72, 6,9%) и *E.coli* (2/72, 2,8%). Все штаммы *Acinetobacter* spp., *P.aeruginosa* и *E.coli*, изолированные из данных образцов, были фенотипически устойчивы к цефотаксиму. Среди штаммов *K.pneumoniae* преобладали резистентные к цефотаксиму (33/38, 86,8%) (рис. 1).

Обнаружение гена *bla*_{CTX-M-like} среди фенотипически чувствительных образцов можно объяснить гетерогенностью исходной бактериальной популяции, в которой доля чувствительных штаммов превышает резистентные. В этом случае при культивировании в неселективных условиях возможно вытеснение резистентных штаммов за счёт преимущественного роста «дикой» популяции.

Из клинического материала, отрицательного по гену *bla*_{CTX-M-like} (n=32), были изолированы 1 штамм *K.pneumoniae*, 19 штаммов *Acinetobacter* spp. и 11 штаммов *P.aeruginosa*, фенотипически устойчивые к цефалоспорином, а также 1 чувствительный к цефотаксиму штамм *E.coli*. В данных образцах ПЦР исследованием были выявлены гены карбапенемаз, выработка которых обуславливает устойчивость микроорганизма ко всем классам бета-лактамовых антибиотиков, в том числе к цефалоспорином. В частности, частота обнаружения генетических маркёров карбапенемаз для об-

разцов, ассоциированных с монокультурой *K.pneumoniae*, составила 100,0% (1/1), для образцов с монокультурой *Acinetobacter* spp. — 73,7% (14/19), для образцов с монокультурой *P.aeruginosa* — 72,7% (8/11). В образце, бактериологически охарактеризованном как монокультура *E.coli*, детерминант резистентности обнаружено не было.

Результат сопоставления данных бактериологического и ПЦР исследований свидетельствует о хорошей корреляции между фенотипом устойчивости *Acinetobacter* spp., *P.aeruginosa*, *K.pneumoniae* и *E.coli* к цефотаксиму и обнаружением в клиническом материале генетических детерминант цефалоспоринов и карбапенемаз, обуславливающих устойчивость к цефалоспоринов I–IV поколений.

Карбапенемы. Генетические маркеры резистентности к карбапенемам суммарно были выявлены в 76 образцах (76/104, 73%), из которых были изолированы монокультуры *K.pneumoniae* (32/76, 42,1%), *Acinetobacter* spp. (32/76, 42,1%) и *P.aeruginosa* (12/76, 15,8%). Гены *bla_{NDM}* были обнаружены в 6 образцах, в которых микробиологическими методами были выявлены *K.pneumoniae* (2/6), *Acinetobacter* spp. (3/6) и *P.aeruginosa* (1/6), устойчивые ко всем тестируемым карбапенемам (рис. 2).

Гены *bla_{VIM}* были обнаружены в 49 образцах, из которых в 22 образцах бактериологически определялся *Acinetobacter* spp., в 19 — *K.pneumoniae* и в 8 — *P.aeruginosa*. Среди изолированных из клинического материала, положительного по гену *bla_{VIM}*, штаммов *Acinetobacter* spp. и *P.aeruginosa*, преобладали возбудители с резистентным к карбапенемам фенотипом (86,4 и 75,0% штаммов соответственно), однако, среди выделенных *K.pneumoniae* только 15,8% были резистентны к имипенему и к меропенему (рис. 3).

Гены *bla_{OXA48-like}* были обнаружены в 59 образцах, из которых микробиологическими методами были изолированы *Acinetobacter* spp. (27/59), *K.pneumoniae* (27/59) и *P.aeruginosa* (5/59). Фенотипически устойчивыми к карбапенемам оказалась большая часть штаммов *Acinetobacter* spp. и *P.aeruginosa* (88,9 и 60,0% штаммов, соответственно), в то время как среди штаммов *K.pneumoniae* преобладали чувствительные к тестируемым карбапенемам (70,4% штаммов) (рис. 4).

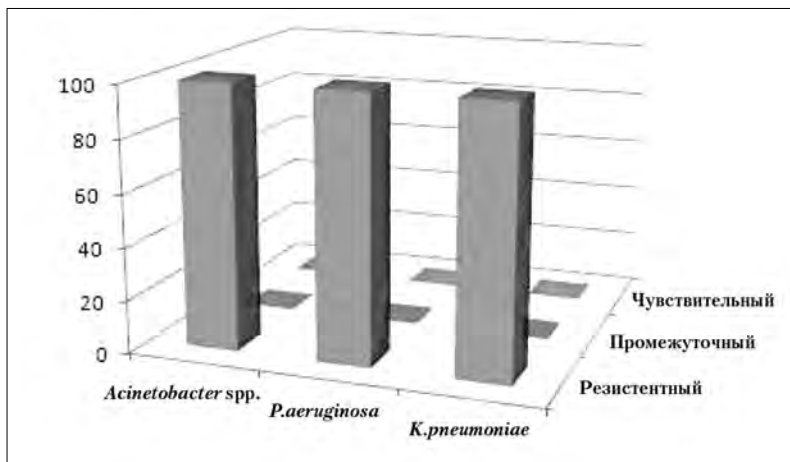


Рис. 2. Распределение штаммов бактерий, изолированных из положительного по гену *bla_{NDM}* клинического материала, по фенотипам чувствительности к карбапенемам (в %).

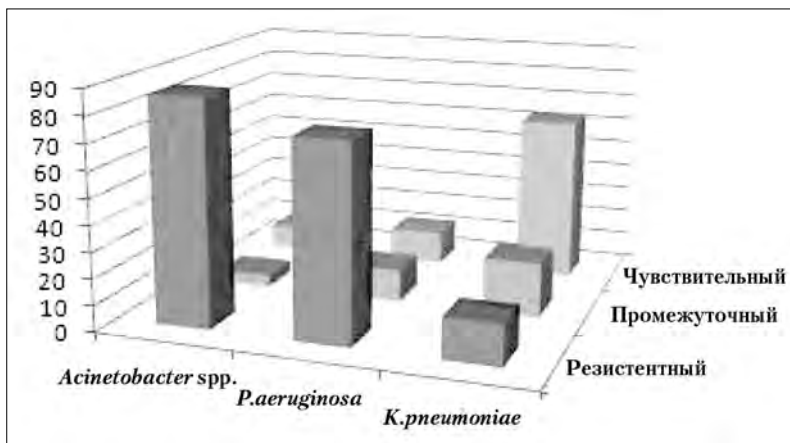


Рис. 3. Распределение штаммов бактерий, изолированных из положительного по гену *bla_{VIM}* клинического материала, по фенотипам чувствительности к карбапенемам (в %).

Таким образом, в случае *Acinetobacter* spp. и *P.aeruginosa* наблюдалась хорошая корреляция между фенотипом выделенных бактериальных культур и обнаружением генетических маркеров резистентности в исходном клиническом материале. Однако, фенотип изолированных штаммов *K.pneumoniae* плохо коррелировал с обнаружением генов *bla_{VIM}* и *bla_{OXA48-like}*.

Возможны две основные причины несоответствия между фенотипической чувствительностью к карбапенемам патогенов, выделенных из биологических образцов, и наличия в образцах генов карбапенемаз. Одной из них может быть низкий уровень экспрессии генов, который не обеспечивал фенотипически выявляемую устойчивость. Низкие значения МПК карбапенемов часто выявляются у бактерий, продуцирующих карбапенемазы группы OXA-48 [10]. Возможно также наличие в биологических образцах, положительных

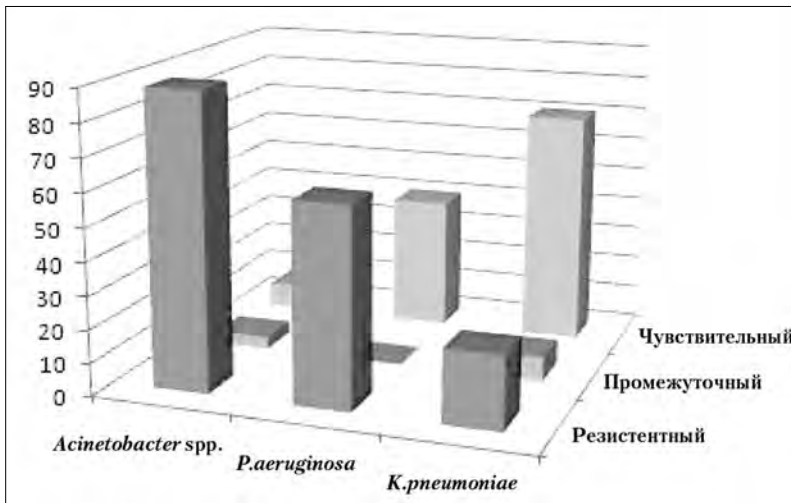


Рис. 4. Распределение штаммов бактерий, изолированных из положительного по гену $bla_{OXA48-like}$ клинического материала, по фенотипам чувствительности к карбапенемам (в %).

на гены карбапенемаз, бактерий, которые не удалось выделить при традиционном культивировании. Для подтверждения данной гипотезы исходные bla_{VIM} - и $bla_{OXA48-like}$ -положительные образцы, из которых были получены чувствительные к карбапенемам штаммы *K.pneumoniae* в виде монокультуры ($n=22$), дополнительно были протестированы набором «Септоскрин» (ООО НПФ «Литех», № ФСР 2012/13945), позволяющем обнаружить наиболее часто встречаемых возбудителей инфекций в стационарах методом ПЦР. Согласно полученным результатам в 95,5% (21/22), случаях в тестируемых образцах детектировалась ДНК *P.aeruginosa*. На основании этих данных мы можем предположить, что носителем регистрируемых в клиническом материале генов bla_{VIM} и $bla_{OXA48-like}$ является *P.aeruginosa*. Распространение *P.aeruginosa*, продуцирующих VIM-2 карбапенемазы характерно для Российской Федерации и ряда соседних стран [11].

Клинические критерии антибиотикочувствительности, разработанные на основании данных о фармакокинетики и фармакодинамике антибактериальных препаратов ведущими международными профессиональными организациями (EUCAST [9] и CLSI [12]), позволяют достаточно надёжно прогнозировать результат терапии на основании значений МПК или зон задержки роста. Несмотря на то что значимость детекции генов антибиотикорезистентности для прогнозирования исходов терапии гораздо менее очевидна, направление по детекции генов резистентности в различных биологических образцах интенсивно развивается.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dellinger R.P., Levy M.M., Rhodes A., Annane D., Gerlach H., Opal S.M., Sevransky J.E., Sprung C.L., Douglas I.S., Jaeschke R. et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. Crit Care Med 2013; 41: 2: 580–637.

В настоящее время производителями предлагаются различные подходы для повышения информативности традиционных микробиологических методов, при этом наибольший интерес представляют генетические методы благодаря возможности предсказывать клиническую эффективность антибиотиков, анализируя непосредственно клинический материал [13]. В последние годы появились целые серии коммерческих продуктов, основанных на различных модификациях ПЦР или микрочиповых технологиях, предназначенных для детекции в крови и других стерильных жидкостях наиболее актуальных генетических маркеров резистентности [14–16]. Результаты испытаний таких систем в европейских лабораториях свидетельствуют о высокой чувствительности данных методик и возможности быстрого и точного предсказания фенотипа резистентности микроорганизмов [17–19].

Результаты испытаний ПЦР-тест-систем ООО НПФ «Литех» подтверждают прогностические возможности генетической диагностики для улучшения традиционного бактериологического исследования. Патогенные микроорганизмы, выделенные из образцов гемокультуры и бронхоальвеолярного лаважа, положительных на наличие генетических маркеров резистентности, показывали ожидаемый фенотип устойчивости, в частности в случае устойчивых к цефалоспорином штаммов *K.pneumoniae* и устойчивых к карбапенемам штаммов *P.aeruginosa* и *Acinetobacter* spp. Выявление в образцах биологического материала, положительных на продукцию bla_{VIM} и $bla_{OXA48-like}$, фенотипически чувствительных изолятов *K.pneumoniae* требует дальнейшего изучения.

В настоящем исследовании продемонстрирован потенциал применения ПЦР-детекции генетических маркеров резистентности как дополнительного инструмента тестирования при бактериологических исследованиях, способствующего повышению информативности исследования и позволяющего прогнозировать устойчивость возбудителей к антибиотикам.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 14-04-00563).

2. Bush K., Jacoby G.A. Updated functional classification of $\{\beta\}$ -lactamases. Antimicrob Agents Chemother 2010; 54: 3: 969–976.
3. Lynch J.P., 3rd, Clark N.M., Zhanel G.G. Evolution of antimicrobial resistance among Enterobacteriaceae (focus on extended spectrum beta-lactamases and carbapenemases). Expert Opin Pharmacother 2013; 14: 2: 199–210.

4. Livermore D.M., Canton R., Gniadkowski M., Nordmann P., Rossolini G.M., Arlet G., Ayala J., Coque T.M., Kern-Zdanowicz I., Luzzaro F. et al. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59: 2: 165–174.
5. Edelstein M., Pimkin M., Palagin I., Edelstein I., Strachounski 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: 3724–3732.
6. Canton R., Akova M., Carmeli Y., Giske C.G., Glupczynski Y., Gniadkowski M., Livermore D.M., Miriagou V., Naas T., Rossolini G.M. et al. Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18: 5: 413–431.
7. Albiger B., Glasner C., Struelens M., Grundmann H., Monnet D., group tESoC-PEEW. May 2015. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: assessment by national experts from 38 countries. *Euro Surveill* 2015; 20 (45): pii=30062 DOI: <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917ES2015204530062> 2015.
8. 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: 152–155.
9. Hakenbeck R., Martin C., Dowson C., Grebe T. Penicillin-binding protein 2b of *Streptococcus pneumoniae* in piperacillin-resistant laboratory mutants. *J Bacteriol* 1994, 176: 17: 5574–5577.
10. Oueslati S., Nordmann P., Poirel L. Heterogeneous hydrolytic features for OXA-48-like beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother* 2015; 70: 4: 1059–1063.
11. Edelstein M.V., Skleenova E.N., Shevchenko O.V., D'Souza J. W., Tapalski D.V., Azizov I.S., Sukhorukova M.V., Pavlukov R.A., Kozlov R.S., Toleman M.A. et al. Spread of extensively resistant VIM-2-positive ST235 *Pseudomonas aeruginosa* in Belarus, Kazakhstan, and Russia: a longitudinal epidemiological and clinical study. *Lancet Infect Dis* 2013; 13: 10: 867–876.
12. CLSI.: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-Fourth Informational Supplement. CLSI document M100-S24. In. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
13. Lupo A., Papp-Wallace K.M., Sendi P., Bonomo R.A., Endimiani A. Non-phenotypic tests to detect and characterize antibiotic resistance mechanisms in Enterobacteriaceae. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013; 77: 3: 179–194.
14. Cuzon G., Naas T., Bogaerts P., Glupczynski Y., Nordmann P. Evaluation of a DNA microarray for the rapid detection of extended-spectrum beta-lactamases (TEM, SHV and CTX-M), plasmid-mediated cephalosporinases (CMY-2-like, DHA, FOX, ACC-1, ACT/MIR and CMY-1-like/MOX) and carbapenemases (KPC, OXA-48, VIM, IMP and NDM). *J Antimicrob Chemother* 2012; 67: 8: 1865–1869.
15. Avlami A., Bekris S., Ganteris G., Kraniotaki E., Malamou-Lada E., Orfanidou M., Paniara O., Pantazatou A., Papagiannitis C.C., Platsouka E. et al. Detection of metallo-beta-lactamase genes in clinical specimens by a commercial multiplex PCR system. *J Microbiol Methods* 2010; 83: 2: 185–187.
16. Cuzon G., Naas T., Bogaerts P., Glupczynski Y., Nordmann P. Probe ligation and real-time detection of KPC, OXA-48, VIM, IMP, and NDM carbapenemase genes. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013; 76: 4: 502–505.
17. Spanu T., Fiori B., D'Inzeo T., Canu G., Campoli S., Giani T, Palucci I., Tumbarello M., Sanguinetti M., Rossolini G.M. Evaluation of the New NucliSENS EasyQ KPC test for rapid detection of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase genes (blaKPC). *J Clin Microbiol* 2012; 50: 8: 2783–2785.
18. Willemsen I., Hille L., Vrolijk A., Bergmans A., Kluytmans J. Evaluation of a commercial real-time PCR for the detection of extended spectrum beta-lactamase genes. *J Med Microbiol* 2014, 63: Pt 4: 540–543.
19. Uno N., Suzuki H., Yamakawa H., Yamada M., Yaguchi Y., Notake S., Tamai K., Yanagisawa H., Misawa S., Yanagihara K. Multicenter evaluation of the Verigene Gram-negative blood culture nucleic acid test for rapid detection of bacteria and resistance determinants in positive blood cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2015; 83: 4: 344–348.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Лисицына Евгения Сергеевна — научный сотрудник ООО «Научно-производственная фирма ЛИТЕХ», Москва

Черненко Татьяна Витальевна — к.м.н., руководитель отдела клинической микробиологии Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы», Москва

Ильина Елена Николаевна — д.м.н., профессор, заместитель директора по научной работе Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства», Москва

Лазарева Ирина Владимировна — научный сотрудник, отдел медицинской микробиологии и молекулярной эпиде-

миологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

Агеевец Владимир Андреевич — младший научный сотрудник, отдел медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

Сидоренко Сергей Владимирович — д.м.н., профессор, заведующий отделом медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург