

БЕТА-ЛАКТАМАЗЫ: ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ

Б.Ю. Гумилевский¹, О.П. Гумилевская², Е.А. Комарова¹

¹Федеральное Государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова», г. Санкт-Петербург, Россия

²Частное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский медико-социальный институт», г. Санкт-Петербург, Россия

Резюме

На сегодняшний день в клинической практике наиболее активно используются β-лактамы антибиотики, что обусловлено их низкой токсичностью и широким спектром действия как в отношении грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов. Поэтому фактор устойчивости бактерий в виде продукции ферментов, способных расщеплять β-лактамы антибиотики, представляет особый интерес. Выявление β-лактамазной активности в клинических изолятах или в ходе эпидемиологического надзора за распространением антибиотикорезистентности является важной частью микробиологического исследования. В арсенале бактериологических лабораторий имеются классические методы выявления β-лактамаз. Использование описанных в обзоре литературы методов фенотипического обнаружения β-лактамаз при правильном выполнении позволяет отличить бактерии, продуцирующие эти ферменты, от бактерий с другими механизмами устойчивости к β-лактамам антибиотикам. Однако комбинация продукции бактериями ферментов разных классов, вместе с гиперэкспрессией некоторых из них, вызывает трудности в распознавании продукции ферментов расширенного спектра действия, что является критически важным для принятия клинического решения. Кроме того, эти методики весьма трудозатратны, сложны в исполнении и требуют высокой квалификации сотрудников бактериологических лабораторий.

В этом отношении методы на основе методов амплификации нуклеиновых кислот, в том числе ПЦР, могут иметь ряд преимуществ за счет возможности автоматизации и стандартизации, чувствительности и специфичности при выявлении генов β-лактамаз, сокращении времени исследования, способности идентифицировать маркеры некультивируемых или медленно растущих микроорганизмов. В тоже время, применение секвенирования для определения полной нуклеотидной последовательности генов бактерий является трудоемким и дорогостоящим методом. Знание правил проведения и получаемых информационных возможностей фенотипической идентификации и молекулярной диагностики резистентности бактерий в будущем позволит оптимизировать микробиологическую диагностику для рациональной антибиотикотерапии значимых инфекций.

Ключевые слова: β-лактамы антибиотики, β-лактамазы расширенного спектра, карбапенемазы, резистентность, фенотипирование устойчивости

DOI: 10.58953/15621790_2023_14_3-4_61

BETA-LACTAMASES: PHENOTYPIC IDENTIFICATION METHODS

B.Yu. Gumilevsky¹, O.P. Gumilevskaya², E.A. Komarova¹

¹Federal State Budgetary Military Educational Institution of Higher Education "Military Medical Academy named after. SM. Kirov", St. Petersburg, Russia

²Private educational institution of higher education "Medical and Social Institute" St. Petersburg, Russia

Summary

Today, β-lactam antibiotics are the most widely used. This is due to their low toxicity, wide spectrum of action and variety of drugs. Therefore, the bacterial resistance factor in the form of β-lactamase production is of particular interest. Bacteriological laboratories have classical methods for detecting β-lactamases. However, the combination of bacterial production of enzymes of different classes, together with the overexpression of some of them, causes difficulties in recognizing the production of extended-spectrum enzymes, which is critical for making clinical decisions. Currently known phenotypic detection methods for β-lactamases and extended-spectrum carbapenemases, when per-

formed correctly, allow precise elucidation of the mechanism of resistance. However, these methods are very labor-intensive, difficult to implement and require highly qualified staff of bacteriological laboratories. Perhaps methods based on molecular diagnostic approaches, due to automation and standardization, high accuracy and specificity in identifying β -lactamase genes, reducing research time, and the ability to identify uncultivable or slowly growing microorganisms, could simplify the determination of mechanisms of antibiotic resistance in the future.

Keywords: β -lactam antibiotics, extended-spectrum β -lactamases, carbapenemases, resistance, resistance phenotyping

Революционное открытие пенициллина Александром Флемингом в 1928 году помогло не только лечить инфекционные заболевания, тем самым спасая миллионы жизней, но и проводить сложные хирургические вмешательства, существенно повысив выживаемость пациентов после них. Однако бурное развитие фармакологии и медицины в целом, активная разработка и внедрение новых химиотерапевтических препаратов обостряет проблему быстрого возникновения резистентности микроорганизмов к антимикробным препаратам [1,22,26]. Появление микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью требует не только быстрой идентификации возбудителей, но и немедленного определения чувствительности и устойчивости к противомикробным препаратам. Тестирование чувствительности к антибиотикам *in vitro* необходимо для выбора оптимально эффективного режима приема антибиотиков, а также для мониторинга и предотвращения распространения резистентных микроорганизмов или генов резистентности как в медицинском учреждении, так и за его пределами.

Свойства β -лактамаз

На сегодняшний день в клинической практике наиболее активно используются β -лактамные антибиотики, что обусловлено их низкой токсичностью и широким спектром действия как в отношении грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов. Известно, что патогенные микроорганизмы в ходе воздействия терапевтических средств вырабатывают факторы устойчивости к антибиотикам [1]. Бактериальные ферменты, способные расщеплять β -лактамные антибиотики, получили название β -лактамазы. Известны ферменты пенициллиназы, способствующие формированию устойчивости к пенициллинам, цефалоспорины — к цефалоспорином, карбапенемазы — к карбапенемам. К остальным подгруппам β -лактамов вырабатываются ферменты, называемые β -лактамазы расширенного спектра действия (БЛРС, ESBL) [1,2]. Согласно классификации Эмблера [6], основанной на первичной структуре β -лактамаз, выделены сериновые ферменты (класс А) и металлоферменты (класс В). Позднее описаны два дополнительных класса ферментов, содержащих серин в активном центре: класс С — цефалоспорины и класс D — оксациллиназы

грамотрицательных бактерий [9].

β -лактамазы класса А представляют разнообразную группу наиболее клинически значимых ферментов, свойственных как грамположительным, так и грамотрицательным микроорганизмам. Ниже представлены наименования ферментов и микроорганизмов, их содержащих:

- TEM и SHV (*Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae*),
- GES (*Pseudomonas spp.*, *Enterobacteriaceae*),
- KPC (*K.pneumoniae*),
- CTX-M (*Enterobacteriaceae*),
- BCL-1 (*Bacillus spp.*),
- BlaC/BlaS (*Mycobacterium spp.*)
- BlaL/BlaU (*Streptomyces spp.*),
- BPS/PenA (*B.pseudomallei*).

Гидролитическая активность этих ферментов варьирует от узкого спектра до ферментов, гидролизующих карбапенемы. Активность большинства ферментов этого класса можно подавить при помощи ингибиторозащищённых антибиотиков, таких как Тазоцин, Амоксиклав, Сультасин. В состав этих препаратов входят ингибиторы: тазобактам, клавулановая кислота и сульбактам соответственно [19]. Тем не менее, некоторые ферменты, например, карбапенемазы КРС избегают ингибирования и таким образом препятствуют действию β -лактамных антибиотиков [31].

β -лактамазы класса В — металло- β -лактамазы, представляют наименьший по числу и разнообразию класс β -лактамаз. Однако β -лактамазы класса В — высокоактивные ферменты широкого спектра действия, проявляют наибольшую устойчивость к антибиотикам, что затрудняет лечение пациентов с внутрибольничными хроническими инфекциями, вызванными как грамположительным, так и грамотрицательным микроорганизмами [19]. Устойчивость и особая активность этих ферментов обусловлена наличием иона Zn в активном центре.

Выделяют 3 основные, наиболее распространенные группы β -лактамаз класса В:

- В1 (NDM, VcII, VIM, IMP)
- В2 (CphA, SFH)
- В3 (AIM, GOB-18, L1)

Ферменты групп В1 и В3 содержат два иона Zn, ферменты В2 — один ион Zn.

Вследствие наличия иона Zn в активном центре ак-

тивность ферментов этого класса подавляется не классическими ингибиторами сериновых β -лактамаз (клавулановой кислотой, сульбактамом, тазобактамом), а различными агентами, хелатирующими ионы двухвалентных металлов, например, ЭДТА или 2-меркаптопропионовой кислотой [4]. В настоящее время не существует клинически доступных ингибиторов таких β -лактамаз, что вызывает серьезную обеспокоенность [31].

β -лактамазы класса С — цефалоспорины — представляют группу с наибольшим числом представителей. Трёхмерная структура этих соединений аналогична ферментам класса А, за исключением активного центра. Наиболее обсуждаемый фермент этого класса — AmpC (*Enterobacteriaceae*) [19].

Известны следующие представители этого класса:

- AmpC (*Enterobacteriaceae*).
- CMY (*Citrobacterfreundii*),
- ADC (*Acinetobacterbaumannii*),
- ACT-1 (*K.pneumoniae*),
- DHA-1 (*Salmonellaenteritidis*).

Активность ферментов этого класса не подвержена действию классических ингибиторов. Против ферментов этого класса эффективны производные бороновой кислоты авибактам или ваборбактам — ингибиторы нового поколения [31].

β -лактамазы класса D отличны по структуре от других сериновых β -лактамаз. Ферменты имеют большую вариабельность аминокислотных последовательностей, известны более 750 различных представителей семейства, разделенных на более чем 50 филогенетических подсемейств [19]. Наиболее распространенные представители этого класса — β -лактамазы семейства OXA, обнаруженные у многих грамотрицательных микроорганизмов. Проблемными представителями этой группы являются ферменты из группы OXA-48, ингибирующие карбапенемы (карбапенемаза), вырабатываются *K.pneumoniae*, а также OXA-198, действующий на карбапенемы, вырабатывается *P.aeruginosa*. Ферменты слабо подвержены ингибированию клавулановой кислотой и ЭДТА [31]. β -лактамазы класса D обнаружены и у грампозитивных бактерий, *Bacillus spp.* (BAT-1, BPU-1, BSU-1 и *Clostridium difficile* (CDD-1)) [19]. Ферменты этого класса характеризуются ассоциацией с плазмидами и в основном кодируются плазмидами, хотя могут также кодироваться хромосомно [13,25].

Большинство клинически важных ферментов β -лактамаз, способных расщеплять β -лактамы последнего поколения, обнаружены на мобильных генетических элементах, которые были приобретены патогенами посредством горизонтального переноса генов от резидентных хромосомных ферментов узкого спектра

действия с последующей мутацией в гидролазы более широкого спектра действия [19]. Примеры таких архетипических хромосомно-резидентных β -лактамаз включают ферменты семейства SHV у *K.pneumoniae*, которые могут гидролизовать пенициллин и ампициллин, или AmpC у *Pseudomonas aeruginosa*, расщепляющий цефалоспорины раннего поколения. Филогенетический анализ генов предполагает, что перенос β -лактамаз происходит не только внутри полифилетических групп грамотрицательных или грамположительных бактерий. Мобилизация генов β -лактамаз происходит через плазмиды, транспозоны, инсерционные последовательности, интегроны, которые распространяются в бактериальных популяциях посредством конъюгации, трансформации или трансдукции. При этом конъюгативные плазмиды играют решающую роль в распространении детерминант устойчивости к антибиотикам, и было обнаружено, что несколько β -лактамаз могут располагаться на одной плазмиде. Для генов β -лактамаз перенос особенно способствует среде, где организмы, продуцирующие β -лактамы, сосуществуют с непродуцирующими видами. Некоторые из этих горизонтально приобретенных ферментов, закодированных в плазмидах, в конечном итоге могут быть перенесены обратно в хромосому нового хозяина, что может обеспечить более жестко регулируемую экспрессию генов и снизить затраты на приспособленность, связанные с переносом и поддержанием плазмид [19].

Выявление активности β -лактамаз

Выявление β -лактамазной активности в клинических изолятах или в ходе эпидемиологического надзора за распространением антибиотикорезистентности является важной частью микробиологического исследования [1,2,16]. Для обнаружения у бактерий β -лактамазной активности в клинической практике наиболее распространены фенотипический и молекулярно-биологический способы диагностики [1,2,5,21].

В настоящее время в клинической практике чаще применяются методы фенотипического определения β -лактамаз [3,5,8,14]. В арсенале бактериологических лабораторий имеется два классических метода: диск-диффузионный и метод серийных разведений. Диск-диффузионный метод активно используется в лабораторной практике, однако результаты некоторых вариаций становятся всё более ненадёжными. Это связано с наличием комбинации разных классов β -лактамаз у грамотрицательных бактерий, трудностями в распознавании продукции БЛРС из-за чрезмерной экспрессии β -лактамаз AmpC и потенциального маскирования продукции БЛРС бактериями, продуци-

рующими ещё и β -лактамазы узкого спектра активности [23].

Следует отметить, что особую важность для практики имеет определение БЛРС, ферментов с расширенным спектром действия. Известно, что тип СТХ-М образует наиболее распространенный генетический вариант БЛРС. Это семейство β -лактамаз особым образом гидролизует цефотаксим по сравнению с цефтазидимом. Кроме того, уникальной особенностью этих β -лактамаз является чувствительность к ингибированию тазобактамом. СТХ-М разделены на пять групп: СТХ-М 1, 2, 8, 9 и 25 на основании их аминокислотных последовательностей [10]. β -лактамазы ТЕМ-типа образуют другое семейство наиболее распространенных БЛРС: β -лактамазы ТЕМ-1,2 гидролизующие пенициллины и цефалоспорины первого поколения и ТЕМ-3, гидролизующие большинство цефалоспоринов [5,12]. К часто выявляемым БЛРС относятся β -лактамазы типа SHV, гидролизующие ампициллин, тигециклин и пиперациллин [5,19].

Фенотипическое подтверждение продукции БЛРС достигается с использованием ряда методов [11,24]. Тестирование продукции БЛРС у бактерий представляет собой двухэтапный процесс, включающий скрининг и подтверждение, которое следует за тестированием чувствительности бактерий к ряду антибиотиков: (цефподоксим, цефтазидим и др.) с определением диаметров зон задержки роста, указывающих на потенциальное производство БЛРС [33]. Для повышения чувствительности обнаружения БЛРС рекомендуется тестирование с использованием более одного антибиотика [11].

Комбинированный дискодиффузионный метод используют для выявления продукции БЛРС у грамотрицательных бактерий [17,34]. Метод выполняют путем газонного посева в чашку Петри исследуемой чистой культуры бактерии на агар Мюллера-Хинтона и помещения на чашку с агаром стандартного диска с цефотаксимом (30мкг) и/или цефтриаксоном (30мкг) и/или азтреонам (30мкг) и диска с амоксициллин/клавулановой кислотой (20/10мкг) на расстоянии 30мм между центрами дисков. Сообщается, что более узкие расстояния (<30мм) между дисками повышают чувствительность теста [20]. Интерпретация результатов производится после инкубации при $35\pm 2^\circ\text{C}$ в течение 18–24 часов.

Известен модифицированный метод двойной дисковой диффузии с применением антибиотиков: амоксициллин/клавулановая кислота (20/10мкг) или пиперациллин/тазобактам (100/10мкг) наряду с тремя цефалоспорины третьего поколения: цефтазидим (30мкг), цефтриаксон (30мкг) и цефотаксим (30мкг),

а также цефалоспорином четвертого поколения — цефепим (30мкг). [11]. Этот тест выполняют путем помещения газонной культуры бактерии на агар Мюллера-Хинтона стандартным диффузионным методом и диска с амоксициллином и клавулановой кислотой, предпочтительно в центре чашки Петри. Затем диски, включающие цефалоспорины третьего и четвертого поколений, помещают на расстоянии 15мм и 20мм соответственно от центра к центру относительно диска с амоксициллином и клавулановой кислотой. Интерпретацию результатов проводят после инкубации при температуре $35\pm 2^\circ\text{C}$ в течение 18–24 часов [11]. Тест предложено также использовать для предположительной идентификации грамотрицательных бактерий, продуцирующих β -лактамазу AmpC, поскольку цефепим медленнее инактивируется β -лактамазами AmpC, чем БЛРС [14]. Цефепим улучшает обнаружение синергизма с амоксициллин-клавулановой кислотой в случаях, когда одновременно происходит стабильная гиперпродукция β -лактамаз AmpC. Бактериальные продуценты β -лактамаз AmpC чувствительны к цефалоспорином четвертого поколения (цефепиму и цефпирому) и слабо ингибируются клавулановой кислотой [28]. В результате они устойчивы к комбинациям β -лактамаз/ β -лактамаз-ингибитор и дают положительный и отрицательный результат тестов во время скрининга и подтверждения БЛРС соответственно [15]. Эти особенности составляют основу скрининга и подтверждения продукции AmpC β -лактамаз у грамотрицательных бактерий.

Описан другой метод обнаружения β -лактамаз AmpC, включающий использование цефокситина (30мкг) [18]. В этом тесте газонную культуру *E.coli* ATCC 25922, доведенную до стандарта Мак Фарланда 0,5, инокулируют на агар Мюллера-Хинтона для стандартного дискового диффузионного тестирования. После этого на поверхность чашки с инокулированным агаром помещают диск с цефокситином (30мкг). Затем стерильный простой бумажный диск диаметром 6 мм, первоначально инокулированный несколькими колониями тестируемого организма, помещают рядом с диском с цефокситином, почти соприкасаясь с ним. Результат оценивают после инкубации при $35\pm 2^\circ\text{C}$ в течение 18–24 часов.

Для выявления продукции карбапенемаз у грамотрицательных бактерий разработан модифицированный тест Ходжа [27,30]. Для его применения готовят 0,5-кратное разведение по Мак-Фарланду индикаторных штаммов *E.coli* ATCC 25922 и *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 в 5 мл стерильного физиологического раствора или питательного бульона. Затем образцы каждого индикаторного штамма в разведении 1:10

наносят в виде газона на чашку с агаром Мюллера-Хинтона с помощью стерильного тампона, после чего диск с меропенемом (10мкг), эртапенемом (10мкг) или имипенемом (10мкг) помещают в центр тестовой зоны на чашках с агаром Мюллера-Хинтона. Тестируемые штаммы микроорганизмов, положительный (*Klebsiella pneumoniae* ATССВАА-1705) и отрицательный (*Klebsiella pneumoniae* ATСС-1706) контроли наносят прямыми линиями от края диска до края чашки. Инкубация тестовых чашек проводится при температуре $35\pm 2^\circ\text{C}$ в течение 18–24 часов [7].

Обнаружение продукции металло- β -лактамаз у грамотрицательных бактерий предлагается проводить методом с применением имипенем-ЭДТА [35]. Тестирование проводят путем газонного посева исследуемого микроорганизма на агар Мюллера-Хинтона как для стандартного метода диффузии. Затем к чашкам с агаром добавляют два диска с имипенемом (10мкг), один из которых содержит 10 мкл 0,5М ЭДТА. Инкубация чашек с тест-агаром Мюллера-Хинтона проводится при температуре $35\pm 2^\circ\text{C}$ в течение 18–24 часов на окружающем воздухе. Существует модифицированный тест, в котором вместо ЭДТА используют меркаптопропионовую кислоту.

Обнаружение и дифференциация продукции карбапенемаз *Klebsiella pneumoniae* и продукции металло- β -лактамаз также проводят с использованием фенотипического алгоритма, который включает использование трех комбинированных дисковых тестов [29,32]. Тестирование проводят путем инокуляции агара Мюллера-Хинтона стандартным диффузионным методом и помещения на чашки с агаром диска с меропенемом без ингибиторов — бороновая кислота (БК) и ЭДТА и трех дисков меропенема, дополненных 400 мкг БК, 292 мкг ЭДТА или: 400 мкг БК и 292 мкг ЭДТА одновременно. Инкубацию чашек с агаром выполняют при температуре 37°C в течение 18–24 часов, после чего диаметры зоны ингибирования диска меропенема, дополненного ингибиторами, сравнивают с диаметром зоны ингибирования диска без добавок меропенема.

Тесты на основе бороновой кислоты используют для обнаружения продукции БЛРС в КРС¹ -положительных изолятах [24,27]. В таком тестировании используют комбинированные дисковые тесты, содержащие цефотаксим или цефотаксим+бороновая кислота, дополненные фенилбороновой кислотой, и цефтазидин или с цефтазидин+безбороновая кислота, дополненные фенилбороновой кислотой. Тестирование проводят путем инокуляции агара Мюллера-Хинтона стандартным диффузионным методом и помещения на чашки с ага-

ром диска цефтазидин или цефотаксим с или без бороновой кислоты, не дополненные фенилбороновой кислотой, и двух дисков цефтазидин или цефотаксим с или без бороновой кислоты, дополненных 400 мкг фенилбороновой кислоты. Эти тесты интерпретируют после измерения диаметров зоны подавления вокруг диска с цефтазидин или с цефотаксимом с или без бороновой кислоты, недополненного бороновой кислоты, и диска цефотаксим или цефтазидин с добавлением бороновой кислоты или без неё.

Продукция β -лактамаз у многих видов микроорганизмов может быть выявлена с помощью чувствительных хромогенных тестов, основанных на использовании специальных субстратов, изменяющих окраску в результате расщепления, или на наблюдении реакции, сопряженной с процессом гидролиза β -лактамов [5]. Субстратом обычно является нитроцефин — цефалоспорин, расщепляемый большинством β -лактамаз с образованием продукта, окрашенного в интенсивно-красный цвет. Наблюдение результата реакции гидролиза нитроцефина в растворе или на бумажных дисках, инокулированных исследуемой бактериальной культурой, является наиболее быстрым, чувствительным и специфичным тестом на наличие β -лактамаз.

Ещё одним видом детектирования β -лактамазной активности являются йодометрические и ацидометрические тесты [5]. Первый основан на способности продуктов гидролиза β -лактамов антибиотиков восстанавливать йод до йодида, вызывая обесцвечивание йодокрахмального комплекса. Изменение окраски кислотно-основных индикаторов, например, бромкрезолового пурпурного, вызванное появлением дополнительной карбоксильной группы при расщеплении β -лактамового кольца, является основой использования ацидометрических методов.

Заключение

Таким образом, использование описанных в обзоре методов фенотипического обнаружения β -лактамаз при правильном выполнении позволяет отличить бактерии, продуцирующие эти ферменты, от бактерий с другими механизмами устойчивости к β -лактамам антибиотикам. Однако эти методики весьма трудозатратны, сложны в исполнении, требуют высокой квалификации сотрудников бактериологических лабораторий и не позволяют получить быстрый результат.

В этом отношении методы на основе амплификации нуклеиновых кислот, в том числе ПЦР, могут иметь ряд преимуществ за счет возможности автоматизации и стандартизации, чувствительности и специфичности при выявлении генов β -лактамаз, сокращении времени исследования, способности идентифициро-

¹ КРС - *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase

вать маркёры некультивируемых или медленно растущих микроорганизмов. В тоже время, применение секвенирования для определения полной нуклеотидной последовательности генов бактерий является трудоемким и дорогостоящим методом. Знание правил проведения и получаемых информационных возможностей фенотипической идентификации и молекулярной диагностики резистентности бактерий в будущем позволит оптимизировать микробиологическую диагностику для рациональной антибиотикотерапии значимых инфекций.

В любом случае, выявление механизмов резистентности фенотипическими методами или путем генотирования не должно быть конечной точкой в исследовании антибиотикочувствительности. Клинически важным является определение минимальной подавляющей концентрации для потенциально применимого антибиотика, согласно контрольным точкам для различных антибиотиков и бактерий, которые ежегодно пересматриваются и обновляются [1, 2].

Список литературы

1. Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии. Рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам». Версия 2021-01//antibiotic.ru>files/321/clrec-dsma2021.pdf (дата обращения 28.12.2023)
2. Методические указания «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам». МУК 4.2.1890-04. Утверждены и введены в действие Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации - Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации Г.Г.Онищенко 4 марта 2004 г.
3. Попов Д.А. Сравнительная характеристика современных методов определения продукции карбапенемаз//Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. - 2019. - №2. - С.125-133.
4. Шевченко О.В., Эйдельштейн М.В., Степанова М.Н. Металло-β-лактамазы: значение и методы выявления у грамотрицательных неферментирующих бактерий// Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. - 2007. - № 3. - С.211-218.
5. Эйдельштейн М.В. β-лактамазы аэробных грамотрицательных бактерий: характеристика, основные принципы классификации, современные методы выявления и типирования// Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. - 2001. - N 3.- С.223-242.
6. Ambler R. The structure of β-lactamases// Philos Trans R Soc London B Biol Sci. - 1980. -

Vol. 289. - P.321-331.

7. Amjad A., Mirza A, Abbasi S. et al. Modified Hodge test: a simple and effective test for detection of carbapenemase production//Iran J Microbiol.- 2011. - Vol.3. - P. 189-193.
8. Aruhomukama D. Review of phenotypic assays for detection of extended-spectrum β-lactamases and carbapenemases: a microbiology laboratory bench guide// Afr Health Sci. - 2020. - Vol.20. - P. 1090-1108.
9. Bush K., Jacoby G., Medeiros A. A functional classifications scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure// Antimicrob Agents Chemother .- 1995. - Vol.39. - P.1211-1233.
10. Cantón R., González-Alba J. , Galán J. CTX-M Enzymes: Origin and Diffusion// Front Microbiol. 2012 Apr 2;3:110. doi: 10.3389/fmicb.2012.00110. eCollection 2012. (дата обращения 28.12.2023)
11. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards, 2018.28thed.2018. (28thed.)//CLSI M100 28th Edition Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing https://clsi.org/ clsi.org>standards/products/microbiology/ (дата обращения 28.12.2023)
12. Dagi H., Dulaimi D., Kus H. et al. Genotype distribution of extended spectrum-β lactamase producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae// Biomedical Research - India. -2015. - Vol. 26. - P.235-238.
13. Diene S., Rolain J-M. Carbapenemase genes and genetic platforms in Gram-negative bacilli: Enterobacteriaceae, Pseudomonas and Acinetobacter species//Clin Microbiol Infect. - 2014. - Vol.20. - P. 831-838.
14. Drieux L., Brossier F., Sougakoff W., Jarlier V. Phenotypic detection of extended-spectrum β-lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench guide//Clin Microbiol Infect. - 2008. - Vol.14. - P.90-103.
15. El-Hady S., Adell A. Occurrence and detection of AmpC β-lactamases among Enterobacteriaceae isolates from patients at Ain Shams University Hospital//Egypt J Med Hum Genet. - 2015. - Vol.16. - P.239-244.
16. Gajic I., Kabic J., Kekic D. et al. Antimicrobial susceptibility testing: a comprehensive review of currently used methods// Antibiotics (Basel).2022Mar23;11(4):427.doi:10.3390/antibiotics11040427. (дата обращения 28.12.2023)
17. Garrec H., Drieux-Rouzet L., Golmard J-L.

- et al. Comparison of nine phenotypic methods for detection of extended-spectrum beta-lactamase production by Enterobacteriaceae//*Clin Microbiol.* - 2011. - Vol. 49. - P.1048-1057.
18. Jacoby G. AmpC β -lactamases//*Clin Microbiol Rev.* - 2009. - Vol.22. - P.161-182.
19. Kaderabkova N., Bharathwaj K., Christopher R. et al. The biogenesis of β -lactamase enzymes//*Microbiology (Reading)*. 2022 Aug;168(8):001217. doi: 10.1099/mic.0.001217. (дата обращения 28.12.2023)
20. Kaur J., Chopra S., Sheevani G. Modified double disc synergy test to detect ESBL production in urinary isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*//*J Clin diagnostic Res.* - 2013. - Vol.7. - P.229-233.
21. Khan Z. Siddiqui M., Park S. Current and emerging methods of antibiotic susceptibility testing//*diagnostics (Basel)*. 2019 May 3;9(2):49. doi:10.3390/diagnostics9020049. (дата обращения 28.12.2023)
22. Murray C.J., Ikuta K., Sharara F. et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: A systematic analysis//*Lancet.* - 2022. - Vol.399. - P. 629-655.
23. Oberoi L., Singh N., Sharma P., Aggarwal A. ESBL, MBL and AmpC β lactamases producing superbugs - havoc in the intensive care units of Punjab India // *J Clin Diagn Res.* - 2013. - Vol.7. - P.70-73.
24. Pereckaite L., Tatarunas V., Giedraitiene A. Current antimicrobial susceptibility testing for beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in clinical settings//*J Microbiol Methods.* - 2018. - Vol.152. - P.154-164.
25. Queenan A., Bush K. Carbapenemases: the versatile β -lactamases//*Clin Microbiol Rev.* - 2007. - Vol.20. - P.440-458.
26. Rentschler S., Kaiser L., Deigner H. Emerging options for the diagnosis of bacterial infections and the characterization of antimicrobial resistance//*Int J Mol Sci*. 2021 Jan 5; 22(1):456. doi:10.3390/ijms22010456. (дата обращения 28.12.2023)
27. Shields R., Clancy C., Pasculle A. et al. Verification of ceftazidime-avibactam and ceftolozane-tazobactam susceptibility testing methods against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*//*J Clin Microbiol*. 2018 Jan 24; 56(2):e01093-17. doi:10.1128/JCM.01093-17. (дата обращения 28.12.2023)
28. Shoorashetty R., Nagarathnamma T., Prathibha J. Comparison of the boronic acid disk potentiation test and cefepime-clavulanic acid method for the detection of ESBL among AmpC-producing Enterobacteriaceae // *Indian J Med Microbiol.* - 2011. - Vol. 29. - P.297-301.
29. Song W., Bae I K., Lee Y-N. et al. Detection of extended-spectrum β -lactamases by using boronic acid as an AmpC β -lactamase inhibitor in clinical isolates of *Klebsiella spp.* and *Escherichia coli*//*J Clin Microbiol.* - 2007. - Vol.45. - P.1180-1184.
30. Tenover F., Emery S., Spiegel C. et al. Identification of plasmid-mediated Amp C β -lactamases in *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, and *Proteus* species can potentially improve reporting of cephalosporin susceptibility testing results//*J Clin Microbiol.* - 2009. - Vol.47. - P. 294-299.
31. Tooke C., Hincliffe P., Bragginton E. et al. β -Lactamases and β -Lactamase inhibitors in the 21st century//*J Mol Biol.* - 2019. - Vol.431. - P.3472-3500.
32. Tsakris A., Poulou A., Themeli-Digalaki K. et al. Use of boronic acid disk tests to detect extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of KPC carbapenemase-possessing Enterobacteriaceae//*J Clin Microbiol.* - 2009. - Vol.47. - P. 3420-3426.
33. Verschelden G., Noeparast M., Stoefs A. et al. Aztreonam-avibactam synergy, a validation and comparison of diagnostic tools// *Front Microbiol*. 2023 Nov 29;14:1322180. doi: 10.3389/fmicb.2023.1322180. (дата обращения 28.12.2023)
34. Willems E., Verhaegen J., Magerman K. et al. Towards a phenotypic screening strategy for emerging β -lactamases in Gram-negative bacilli// *Int J Antimicrob Agents.*-2013. - Vol.41. - P.99-109.
35. Yong D., Lee K., Yum J. et al. Imipenem-ЭДТА disk method for differentiation of metallo- β -lactamase-producing clinical isolates of *Pseudomonas spp.* and *Acinetobacter spp.*//*J Clin Microbiol.*-2002. - Vol.40.- P.3798-3801.