

МОЛЕКУЛЯРНІ АСПЕКТИ ВИНИКНЕННЯ РЕЗИСТЕНТНОСТІ БАКТЕРІЙ ДО АНТИБІОТИКІВ

Поліщук¹ Н. М., Матильонок¹ Т. Ю.,
Кірик² Д. Л., Аліменко³ Ю. Л.

¹Запорізький державний медичний університет
м. Запоріжжя, Україна.

²Національний університет охорони здоров'я
України імені П.Л. Шупика, м. Київ.

³Відокремлений підрозділ "Запорізький міський
відділ ДУ "Запорізький обласний лабораторний
центр МОЗ України", мікробіологічна
лабораторія.

Актуальність. Протягом останніх десятиліть проблема резистентності мікроорганізмів до антибіотиків (АБ) знаходиться у центрі уваги всієї медичної спільноти через розвиток багаточисленних ускладнень при лікуванні хворих, що призводять до збільшення курсу антибіотикотерапії, витрат на лікування та високим показникам смертності. Однією з причин розвитку антибіотикорезистентності являється безконтрольне та надмірне використання антибіотиків в медицині, ветеринарії, сільському господарстві і тваринництві. Згідно звіту Експертної комісії по боротьбі з антибіотикорезистентністю (США) в світі щорічно використовується 73 млрд. разових доз що дорівнює 300 тис. тон АБ [1]. Доведено, що виникнення антибіотикостійкості є формою еволюції бактерій в умовах постійного інтенсивного пресингу АБ, який призводить до появи нових «агресивних» форм і розповсюдженню резистентності серед мікроорганізмів. За даними 2019 р. в країнах Європейського Союзу та в Європейській економічній зоні щорічно фіксують близька 2,5 млн. нових випадків інфекцій, пов'язаних з наданням медичної допомоги, з яких 17% викликані резистентними до АБ бактеріями, що у 8% випадків призводять до смерті хворого [2]. Стьйкість бактерій до антибіотиків призводить до багаточисленних соціально-економічних наслідків для всього світу, тому сьогоденним завданням є розроблення ефективних стратегій стримування резистентності. Так, Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) у 2015 р. затвердила «Глобальний план дій щодо стримування розповсюдження стійкості до антимікробних препаратів». В 2019 р. Кабінет Міністрів України затвердив «Національний План дій боротьби зі стійкістю до протимікробних препаратів» [3]. ВООЗ у 2020 р. назвала проблему антибіотикорезистентності однією з десяти глобальних загроз здоров'ю населення, що стоять перед людством [4]. У зв'язку з вище означеним, вважаємо, що аналіз механізмів резистентності бактерій до АБ має край важливе значення і дозволяє більш роздумливо підходити до проведення етіотропної терапії бактеріальних інфекцій та епідеміологічного моніторингу.

Мета дослідження. Пошук та узагальнення наукових даних щодо проблеми виникнення механізмів резистентності мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів. Для реалізації мети використовували систематичні огляди за допомогою електронно-пошукової системи PubMed, Clinical Trials.

Впровадження в клінічну практику антибіотиків розпочалось з 1928 р., з відкриття пеніциліну Олександром Флемінгом. Вже у 1940 р., ще до широкого використання пеніциліну в клінічній практиці, світ зіткнувся з першими випадками резистентності у штамів *Staphylococcus* spp. [5, 6]. У 1945 р. на врученні Нобелівської премії Олександр Флемінг сказав: «...В лабораторних умовах можна легко зробити мікроби стійкими до пеніциліну, використовуючи концентрації, які не здатні убити їх ... цього варто остерігатися в тілі людини...» [5]. Виникнення стійкості мікроорганізмів до АБ невинно поширюється, особливо серед умовно-патогенних бактерій, які здатні формувати багатошарові біоплівки з низькою проникністю матриксу завдяки чому терапевтичні концентрації АБ не досягають середини біоплівки, а бактерії витримують дію антибактеріального препарату у дозах, що перевищують мінімальну подавляючу концентрацію у 500-1000 разів [7,8]. Компоненти матриксу (полісахариди, білки, ліпіди, нуклеїнові кислоти) не тільки надають стабільність об'ємній структурі біоплівки, а й беруть участь у процесах адгезії та обміну поживних речовин. Відомо, що вірулентність бактерій в цих структурах регулюється системою Quorum sensing (QS), яка контролює процес формування біоплівки, синтез токсинів і ферментів. Доведено, що сигнальна система QS складається з автоіндуктору (низькомолекулярний регулятор) та рецепторного регуляторного білку, комплексна дія яких забезпечує внутрішньовидову, міжвидову комунікацію, а також, взаємодію з клітинами організму людини, що в свою чергу забезпечує виживання бактерій в умовах дії АБ. В свою чергу, низький рівень O₂, низька рН та високий рівень CO₂ в біоплівці обумовлюють стимулюючий вплив сигнальної системи загальної стресової відповіді QS (SOS-відповідь), що призводить до утворення клітин зі сповільненим метаболізмом, так званих, персистерів з генотипом, який відповідає батьківському. Постійна присутність персистерів у біоплівках забезпечує довготривале збереження клітинної популяції в біоплівці в умовах антибіотикотерапії [8]. Найрозповсюдженішими мікроорганізмами, здатними утворювати багатоповерхневі біоплівки, є бактерії, що приналежать до групи ESKPE, а саме, ванкоміцинрезистентні *Enterococcus faecalis et faecium* (VRE), метицилінрезистентний *Staphylococcus aureus* (MRSA), ентеробактерії, що продукують β-лактамази розширеного спектру (ESBL), а також, грамнегативні мікроорганізми, що не ферментують глюкозу – *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*. Саме вони, згідно даних

ВООЗ, внесені до списку пріоритетних збудників захворювань для наукових досліджень і розробок в області створення нових антибіотиків через їх здатність швидкого формування антибіотикостійкості, здатності швидко розповсюджувати гени резистентності та можливості викликати спалахи інфекції, обумовленої медичним втручанням [9].

Останніми роками розповсюдженість штамів ентерококів, стійких до ванкоміцину, набуває розмах епідемії. Описано шість фенотипів стійкості до ванкоміцину (VanA, VanB, VanC, VanD, VanE і VanG), з яких найбільше клінічне значення має VanA і VanB, що входять до складу транспозону Tn 1546 і характеризують високий рівень резистентності до ванкоміцину [10, 11].

Штами ентерококів, що демонструють фенотип А або В замість дипептиду D-Ala-D-Ala, що входить до складу дисахарид-пентапептиду – попередника пептидоклікану, виявляють дипептид D-Ala-D-Lac, афінність якого до глікопептидів різко знижена. В свою чергу, транспозон Tn 1546 може переміщуватись з хромосомної ДНК у плазмиди та передаватись чутливим мікроорганізмам, наприклад, метицилінрезистентним штамам *S. aureus* (MRSA), що мають у своєму геномі хромосомний ген *mecA*, кодуєчий синтез пеніцилін зв'язуючого протеїну (ПЗБ-2') із зниженою спорідненістю до β -лактамних антибіотиків (пеніцилінів, цефалоспоринів, карбапенемів) [12, 13, 14, 15]. Наявність такої комбінованої резистентності робить стафілококів більш агресивними, які являють собою епідеміологічну небезпеку для лікувальних закладів охорони здоров'я.

Поряд із резистентними стафілококами та ентерококами, вкрай негативний вплив на здоров'я людства мають ентеробактерії, які проявляють стійкість до β -лактамних антибактеріальних препаратів. На сьогодні, особлива увага акцентована на таких збудниках, як *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Proteus* spp., *K. pneumoniae*, *E. coli*, які здатні до продукування β -лактамаз і руйнування β -лактамного кільця антибіотика. Описано 4 класи β -лактамаз (А, В, С, D), які включають більш ніж 2000 видів ферментів, що відрізняються між собою за будовою свого активного центру, гомологією амінокислотної послідовності, генетичною локалізацією (хромосомна або/та плазмідна), чутливістю до дії інгібіторів, ферментативною стабільністю, а також, за субстратною специфічністю [16].

Класи β -лактамаз А, С та D поєднують ферменти з залишком серину в активному центрі і припускається, що вони еволюціонували в результаті селективного пресингу продукуєчих деякими бактеріями β -лактамних АБ в ґрунтових екосистемах із бактеріальних пеніцилінзв'язуючих білків [17].

Гени бактерій, які кодуєють найрозповсюдженіші ферменти молекулярного класу А – TEM, SHV, CTX-M що відносяться до β -лактамаз розширеного спектру дії (БЛРС, ESBL), відзначаються високою частотою мутацій, які значно розширюють спектр резистентності до

цефалоспоринів I–IV поколінь та обумовлюють стійкість до інгібіторів серинових β -лактамаз [18]. За даними авторів, після першого виявлення плазмідної лактамази TEM-1 в клітинах *E. coli* (1965р.), буквально впродовж декількох років був виявлений фермент TEM-2, який відрізнявся від попередника однією амінокислотою мутацією Gln39Lys, та TEM-3 з поєднаними мутаціями Gln39Lys і новою заміною Glu104Lys, що призвело до здатності гідролізувати грамнегативними бактеріями пеніциліни і цефалоспорини. На сьогодні описано 200 β -лактамаз TEM-типу, які широко розповсюджені серед грамнегативних мікроорганізмів [16]. Кількість похідних ферменту SHV-1, який поділяє 68 амінокислот з TEM-1 і має з ним аналогічну загальну структуру, за даними 2016 року, складає 189 алейних варіантів, які обумовлюють резистентність до карбапенемів та цефалоспоринів [19]. CTX-M тип, що включає 170 β -лактамаз, ідентифіковано у бактерій групи ESKAPE, включаючи *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* та *Enterobacter*. Всі β -лактамази CTX-M проявляють високу активність до цефотаксиму, цефтріаксону та, в наслідок амінокислотних мутацій P167T/S і D240G, можуть проявляти високу активність до цефтазидиму [18, 17].

Також, відомими сериновими ферментами класу А є β -лактамази GES, SME, KPC, IMI / NMC-A, SFC, які демонструють карбапенемазну активність. При цьому, відомо більше 30 варіантів ферменту GES, які відрізняються між собою однією-трьома амінокислотними замінами і виявляються у *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*, *Enterobacter* spp; п'ять варіантів SME, що ідентифікуються у *S. marcescens*; більше 40 різних варіантів KPC, які дуже часто виявляються в поєднанні з лактамазами В і D класів і визначаються у представників родини *Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* [20, 21, 22, 23, 24]. Група ферментів IMI / NMC-A (іміпенемаза / неметалокарбапенемаза-А) утворюють дві підгрупи – IMI та NMC-A відповідно. NMC-A є сериновою карбапенемазою здатною гідролізувати пеніциліни, цефалоспорини вузького спектру і карбапенемами [25]. 17 варіантів ферментів IMI відповідають за стійкість до іміпенему та ертапенему [26]. Найменш поширена лактамаза SFC (*Serratia fonticola* carbapenemase) міститься в хромосомі лише *S. fonticola* UTAD54 і здатна гідролізувати пеніциліни, цефалоспорини, азтреонам і карбапенемами [27].

За даними літератури, однією з причин появи антибіотикорезистентності широкого спектру являється поєднання генів β -лактамаз на мультікопійних плазмідах та мутацій в промоторних і атенуаторних ділянках генів, що призводить до збільшення продукції β -лактамаз. За допомогою плазмід гени β -лактамаз передаються між бактеріальними клітинами при внутрішньовидовій, міжвидовій та міжродовій передачі. Бактерії також поєднують механізм гідролітичної інактивації з

активним виведенням β -лактамних АБ із клітини [28, 29].

Також, необхідно зазначити, що такі функціональні групи серинових лактамаз А, як 2br (β -лактамази TEM-30, SHV-10) та 2ber (TEM-50) не інгібуються клавулановою кислотою або тазобактамом, на відміну від груп 2a (PC1), 2b (TEM-1, TEM-2, SHV-1), 2be (TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1); 2c (PSE-1, CARB-3); 2ce (RTG-4); 2e (CepA) [30].

До класу С відносяться хромосомні, не чутливі до традиційних інгібіторів, β -лактамази, які включають декілька важливих ферментів, таких як пеніциліназа та цефалоспориназа. Хромосомнокодуєчий AmpC зазвичай виділяється серед бактерій родини *Enterobacteriaceae* та у *P. aeruginosa* та гідролізує у більшій мірі цефалоспорини, а ніж пеніциліни. Також, в літературі описано п'ять карбапенемаз, приналежних до даного класу (ACT-1, DHA-1, CMY-2, CMY-10, ADC68), що володіють каталітичною активністю по відношенню до іміпенему [31]. Функціональні групи класу С, а саме, 1 (AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1) та 1e (GC1, CMY-37) не інгібуються клавулановою кислотою або тазобактамом [30].

Плазмідні β -лактамази класу D являються самими структурно різноманітними серед серинових β -лактамаз і представлені гідролізуючими оксацилін ферментами (OXA). Відомо понад 88 варіантів даного типу лактамаз, 60 % яких складають ферменти, що гідролізують карбапенеми [32]. Три функціональні групи цього класу мають варіабельне відношення до інгібування клавулановою кислотою або тазобактамом (2d – OXA-1, OXA-10, 2de – OXA-11, OXA-15, 2df – OXA-23, OXA-48) [30]. Даний клас ферментів характерний у більшості для грамнегативних бактерій, особливо для псевдомонад, ентеробактерій та аценетобактерій [33, 34].

Бактерії, які продукують ферменти класу В (метало- β -лактамази, MBL) проявляють резистентність до усіх β -лактамів, за винятком азтреонаму. Серед найбільш поширених MBL виділяють 80 різних варіантів іміпенемазних метало- β -лактамаз (IMP), виявлених у *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *E. cloacae*, 60 варіантів веронської інтегрон-кодуємої метало- β -лактамаз (VIM) штамів *P. aeruginosa*, *P. putida*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, та 20 варіантів метало- β -лактамаз NDM (метало- β -лактамаза Нью-Делі) ізолятів *K. pneumoniae* і *E. cloacae* [35, 26, 36]. Представники двох функціональних груп даного молекулярного класу β -лактамаз не чутливі до інгібування клавулановою кислотою або тазобактамом (3a – IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1, 3b – CphA, Sfh-1). [30].

Стійкість до карбапенемів обумовлена декількома механізмами, а саме: розщеплення антибіотика β -лактамазами; генетична модифікація мішені, обумовлена видозмінням мембранних протеїнів, з якими могли б взаємодіяти карбапенеми; модифікація поринів D, через які зазвичай карбапенеми потрапляють в цитоплазму бактерії

(характерно у більшості випадків для іміпенему і в меншому ступені для меропенему); активація ефлюксних систем, які можуть виводити антибіотики (передусім ертапенем, але й нерідко меропенем та іміпенем), а також, формування біоплівки [37].

Наразі, особлива увага медичної спільноти зосереджена на розвитку антибіотикорезистентності, пов'язаної з БЛРС, які є мутантними формами β -лактамаз. Складність рутинного виявлення резистентності, пов'язаної із продукцією БЛРС, напружена епідеміологічна ситуація через можливість обміну плазмідами резистентності між штамми, а також множинна лікарська стійкість БЛРС-позитивних ізолятів, вимагають впровадження в практичну мікробіологічну діяльність додаткових методик та сучасних методів досліджень. Найбільш доступними дослідженнями для виявлення продукції БЛРС є фенотипові методи, які засновані на ефекті пригнічення їх активності по відношенню до оксіміно- β -лактамів у присутності клавуланової кислоти [38]. Проте, на жаль, такі фенотипові методи не забезпечують детекції БЛРС у 100% штамів. На сьогодні, єдиним шляхом, який можна обрати для вирішення цієї проблеми, є використання молекулярно-генетичних методів, а саме: полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (ПЛР-РЧ), яка дозволяє визначити не тільки наявність генів β -лактамаз, а й виявити в генах мутації, що пов'язані із формуванням антибіотикорезистентності [39].

Вагому небезпеку для пацієнтів складає проблема, пов'язана із формуванням резистентності мікроорганізмів до аміноглікозидів, чи ацетилтрансферази хлорамфеніколу. На сьогодні відомо понад 50 ферментів, здатних до N-ацетилювання, O-фосфоловання чи O-нуклеотидилування різних аміноглікозидних антибіотиків [40]. Серед грампозитивних бактерій важливе клінічне значення належить біфункціональному ферменту AAC(6)-APH(2") що руйнує більшість аміноглікозидів (крім стрептоміцину та спектіноміцину) [41]. Інший механізм резистентності обумовлений появою мутацій в бактеріях, що призводять до зниження проникності клітинної стінки або активному виведенню препарату з мікробної клітини. Не меншу актуальність набуває проблема стійкості до макролідів, пов'язаної із набуттям бактеріями модифікацій мішені. На теперішній час описано 3 різновиди можливих модифікацій: метилювання 238 субодиниці рРНК (існує більше 20 кодуєчих фермент метилазу генів); мутація в 5 домені 238 субодиниці рРНК; мутації в генах рибосомних білків L4 та L22. Крім того, транспортна система бактерій, що кодується *mef*-геном, додатково забезпечує активне виведення макролідів і лінкозамідів [1].

У контексті вище сказаного, виникає питання, які перспективи та наслідки буде мати гуманна медицина у зв'язку з подальшим розвитком антибіотикорезистентності мікроорганізмів? За результатами досліджень ВООЗ прогнозується, що внаслідок швидкого росту та поширення множинної

стійкості бактерій до АБ, велика кількість антибактеріальних препаратів першої лінії до 2025 р. будуть не ефективними для лікування бактеріальних інфекцій, а до 2050 р. резистентність мікроорганізмів може стати причиною збільшення смертності пацієнтів на 10 мільйонів випадків щороку. Такі перспективи, в решті-решт, можуть призвести до виникнення ери повного краху боротьби зі збудниками бактеріальних інфекцій. Тому, особливу увагу необхідно приділити молекулярно-генетичним методам дослідження в мікробіологічній практиці, а саме, ПЛР-РЧ. Вивчення генетичних детермінант і мутацій в генах, пов'язаних з антибіотикорезистентністю мікроорганізмів, дає можливість призначати прицільну ефективну антибіотикотерапію. Крім того, ПЛР-результати вивчення генів антибіотикорезистентності можна використовувати з метою проведення протиепідемічних заходів в лікарняних закладах, що будуть спрямовані на своєчасне виявлення джерела інфекцій та переривання механізмів і шляхів передачі збудників. Таким чином, впровадження ряду національних, регіональних та глобальних планів дій спрямованих на боротьбу з антибіотикорезистентністю, а саме: формування стратегії лікування бактеріальних інфекцій, підвищення обізнаності медиків, проведення моніторингу поширення стійкості до АБ, сприяння науковим дослідженням по вивченню молекулярних механізмів стійкості бактерій – стають сьогодні пріоритетним напрямом медичної галузі. Адже формування стійкості бактерій до АБ – це серйозна загроза для світової системи охорони здоров'я, яка потребує прийняття ефективних заходів щодо запобігання розвитку та поширенню резистентності до антибактеріальних препаратів [42].

Висновок. Впродовж всього існування «ери антибіотиків» мікроорганізми формують нові і нові біохімічні механізми стійкості до АБ та з легкістю передають ці властивості іншим бактеріям, що в свою чергу значно ускладнює проведення лікування бактеріальних інфекцій. Для ефективної боротьби з антибіотикорезистентністю необхідно створити умови для вивчення і отримання нових фактичних даних про механізми формування стійкості до АБ. Оптимальна стратегія боротьби повинна базуватись не тільки на розробці глобальних програм по запобіганню поширенню резистентності, а й на розробці і впровадженні в роботу інноваційних форм мікробіологічних досліджень.

Molecular aspects of bacterial resistance to antibiotics

Polishchuck N. M., Matylonok T. Yu., Kyryk D. L., Alimenko Yu. L.

Antibiotic resistance is one of the most important medical problems today, which the World Health Organization considers a global threat to public health, because every year there is an increase in the frequency of isolation of antibiotic-resistant microorganisms, especially of opportunistic strains capable of forming biofilms with high resistance to drugs. The emergence

and spread of bacterial resistance to antibiotics has not only medical but also social significance: the resistance of bacteria to antibiotics (AB) entails a significant increase in treatment costs and a significant increase in mortality among patients in medical institutions. Therefore, knowledge of the molecular mechanisms of resistance is extremely important for the medical community. Search and integration of scientific data on the emergence of mechanisms of microorganisms resistance to antibacterial drugs. To achieve this goal we used systematic reviews accessed via the electronic search engine PubMed, Clinical Trials. According to the literature, a serious problem for medical institutions are bacteria of the ESKAPE group: *Enterococcus faecium* et *faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter* spp. These microorganisms are characterized by resistance to most modern AB and, for the most part, they are characterized by the formation of multifaceted biofilms with low matrix permeability, which, in turn, makes it impossible to carry out effective antibiotic treatment of patients. It is known that the process of biofilm formation is controlled by the Quorum sensing (QS) signaling system, which, in turn, controls the biofilm formation process, the synthesis of toxins and enzymes. The components of QS provide intraspecific, interspecific communication, as well as interaction with the cells of the human body, which ensures the survival of bacteria under the action of AB. Among vancomycin-resistant enterococci belonging to the ESKAPE group, the most clinically significant are the VanA and VanB phenotypes, whose genes are part of the Tn 1546 transposon, which can move from chromosomal DNA to plasmids and be transmitted to sensitive bacteria, even methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), which leads to the formation of more aggressive strains of MRSA. Resistance to β -lactam AB of members of the family *Enterobacteriales* is associated with the ability of these microorganisms to produce β -lactamases, among the diversity of which the most important are β -lactamases with extended spectrum of activity (ESBL), which belong to the enzymes of molecular class A. Thus, 200 TEM-type β -lactamases, 170 CTX-M type β -lactamases and 189 SHV-type β -lactamases have been described to date. High frequency of mutations in β -lactamase genes significantly expands the spectrum of resistance of enterobacteria to cephalosporins of I-IV generations and causes resistance to serine β -lactamase inhibitors. Carbapenemases of classes A (GES, SME, KPC, IMI / NMC-A, SFC), C (ACT-1, DHA-1, CMY-2, CMY-10, ADC68), D (OXA-11, OXA-15, OXA-23, OXA-48) have no less importance in the development of bacterial resistance, as well as enzymes that are not inhibited by clavulanic acid or tazobactam (AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1, GC1, CMY-37, OXA-1, OXA-10, OXA-11, OXA-15, OXA-23, OXA-48). Metal- β -lactamases of class B include enzymes that provide resistance to all β -lactams, except aztreonam, as well as to protected penicillins (IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1, CphA, Sfh-1). Today, there are more than a few thousand genetic variants of resistance to β -lactam AB,

which are easily transferred by plasmids in intraspecific, interspecific and intergeneric way. No less important is the formation of bacterial resistance to aminoglycosides due to the presence of aminoglycoside-modifying enzymes capable of acetylation, phosphorylation or nucleotidylation of antibiotics of this group, and due to macrolides, resistance to which is caused by bacterial target modifications acquisition. Current research data indicate the rapid development and spread of antibiotic resistance among different groups of microorganisms. Throughout the duration of the "antibiotics era", microorganisms form new and new biochemical mechanisms of AB resistance and easily transmit these properties to other bacteria, which in turn significantly complicates the treatment of bacterial infections. To effectively combat antibiotic resistance, it is necessary to lay the groundwork for studying and obtaining new factual data on the mechanisms of AB resistance formation. The optimal control strategy should be based not only on the development of global programs aimed to prevent the spread of AB resistance, but also on the development and implementation of innovative forms of microbiological research.

Keywords: Antibiotic resistance, biofilm, Quorum Sensing system, β -lactamase, carbapenemase, PCR-RF.

References

1. Romanyuk L.B., Kravets N.YA., Klimnyuk S.I., Kopcha V.S., & Dronova O.Y. (2019) Antibiotic resistance of intellectually pathogenic microorganisms: relevance, reason, podolannya paths. *Infectious diseases*, 4, 63-71. <https://doi.org/10.11603/1681-2727.2019.4.10965> [in Ukrainian].
2. Friedrich A.W. (2019). Control of hospital acquired infections and antimicrobial resistance in Europe: the way to go. *Wiener Medizinische Wochenschrift*. 169(1), 25-30. <https://doi.org/10.1007/s10354-018-0676-5>
3. Vrynchanu N.O., & Bukhtiarova T.A. (2021). The problem of resistance of microorganisms—challenge to humanity. *Farmatsevtichnyi zhurnal*. 1, 57-71. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.1.21.07>
4. Antimicrobial resistance. World Health Organization. 2020. Retrieved from: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>.
5. Pertseva T.A. (2017). Challenge on antimicrobial resistance in pulmonology as the basis for targeted and safe antibacterial therapy of LRTI]. Abstracts of additional topics of the International Scientific and Practical Conference "Security in Ukraine: Country and Nobility" (June 6-7, 2017). 20-22. Retrieved from: <http://repo.dma.dp.ua/2387/> [in Ukrainian].
6. Yefimenko T.A., Terekhova L.P., & Yefremenkova O.V. (2019). The current state of the problem of antibiotic resistance of pathogenic bacteria]. *Antibiotics and chemotherapy*, 64(5-6), 64-68. <https://doi.org/10.24411/0235-2990-2019-10033> [in Russian].
7. Matalygina O. A. (2020). Antibiotic resistance as a wide and multifaceted biological phenomenon. *Medicine: theory and practice*, 5(3), 39-44.
8. Vrynchanu N.O., Dudikova D.M., Hrynchuk N.I., & Nedashkivska V.V. (2019). Biofilms. Current state and

prospects of antimicrobial therapy. *Pharmacology and drug toxicology*, 13(5), 311-321.

9. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. World Health Organization. 2017. <https://www.who.int/ru/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>

10. Sadowy E. (2021). Mobile genetic elements beyond the VanB-resistance dissemination among hospital-associated enterococci and other Gram-positive bacteria. *Plasmid*, 114, 102558. <https://doi.org/10.1016/j.plasmid.2021.102558>

11. Wardal E., Kuch A., Gawryszewska I., Żabicka D., Hryniewicz W., & Sadowy E. (2017). Diversity of plasmids and Tn1546-type transposons among VanA Enterococcus faecium in Poland. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 36(2), 313-328. <https://doi.org/10.1007/s10096-016-2804-8>

12. Siever DM, Rudrik JT, Patel JB, McDonald LC, Wilkins MJ, & Hageman JC (2008). Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus in the United States, 2002-2006. *Clin Infect Dis*. 46(5), 668-674. <https://doi.org/10.1086/527392>

13. Gardete S., & Tomasz A. (2014). Mechanisms of vancomycin resistance in Staphylococcus aureus. *Clin Invest*, 124(7), 2836-2840. <https://doi.org/10.1172/JCI68834>

14. McGuinness W.A., Malachowa N., & DeLeo F.R. (2017). Focus: infectious diseases: vancomycin resistance in Staphylococcus aureus. *The Yale journal of biology and medicine*, 90(2), 269-281. Retrieved from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC548230/3/>

15. Keniksfest YU.V., Kokhan M.M., Stukova YE.I., & Yurovs'kyi L.Y. (2016). An analysis of historical data, the results of microbiological studies of patients with atopic dermatitis. *Consilium Medicum. Dermatology*, 1, 10-15.

16. Grigorenko V.G., Rubtsova M.Yu., Uporov I.V., Ishtubaev I.V., Andreeva I.P., Shcherbinin D.S., Veselovsky A.V., & Egorov A.M. (2017). Bacterial TEM-type serine beta-lactamases: structure and analysis of mutations. *Biomeditsinskaya Khimiya*, 63(6), 499-507. <https://doi.org/10.18097/pbmc20176306499> [in Russian].

17. Santajit S. & Indrawattana N. (2016). Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. *BioMed research international*, 2016, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2016/2475067>

18. Ulyashova M.M., Presnova G.V., Poblelova YU.I., Filippova A.A., Yegorov A.M., & Rubtsova M.YU. (2016). Screening of bacterial genes responsible for resistance to beta-lactam antibiotics using microchips with enzymatic detection]. *Bulletin of Moscow University*, 57(4), 245-252.

19. Liakopoulos A., Mevius D., & Ceccarelli D. (2016). A review of SHV extended-spectrum β -lactamases: Neglected yet ubiquitous. *Front Microbiol*, 7, 1374. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01374>

20. Piccirilli A., Mercuri P.S., Galleni M., Aschi M., Matagne A., Amicosante G., & Perilli M. (2018). P174E substitution in GES-1 and GES-5 β -lactamases improves

- catalytic efficiency toward carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother*, 62(5), 1-11. <https://doi.org/10.1128/AAC.01851-17>
21. Iovene M.R., Pota V., & Galdiero M., et al. (2019). First Italian outbreak of VIM-producing *Serratia marcescens* in an adult polyvalent intensive care unit, August-October 2018: A case report and literature review. *World J Clin Cases*, 7(21), 3535-3548. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v7.i21.3535>
22. Niu S., Chavda K.D., Wei J., Zou C., & Marshall S.H. et al. (2020). A ceftazidime-avibactam-resistant and carbapenem-susceptible *Klebsiella pneumoniae* strain harboring blaKPC-14 isolated in New York City. *mSphere*, 5(4), e00775-20. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00775-20>
23. Bonnin R.A., Jousset A.B., Urvoy N., Gauthier L., Thili L., & Creton E., et al. (2017). Detection of GES-5 carbapenemase in *Klebsiella pneumoniae*, a newcomer in France. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61(3), 1-4. <https://doi.org/10.1128/AAC.02263-16>
24. Brouwer MSM., Tehrani KHME., & Rapallini M., et al. (2019). Novel carbapenemases FLC-1 and IMI-2 encoded by an *Enterobacter cloacae* complex isolated from food products. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 63(6), 1-6. <https://doi.org/10.1128/AAC.02338-18>
25. Antonelli A., D'Andrea MM., & Di Pilato V., et al. (2015). Characterization of a novel putative Xer-dependent integrative mobile element carrying the bla(NMC-A) carbapenemase gene, inserted into the chromosome of members of the *Enterobacter cloacae* complex, 59(10), 6620-6624. <https://doi.org/10.1128/aac.01452-15>
26. Sawa T., Kooguchi K., & Moriyama K. (2020). Molecular diversity of extended-spectrum β -lactamases and carbapenemases, and antimicrobial resistance. *J intensive care*, 8(13). <https://doi.org/10.1186/s40560-020-0429-6>
27. Henriques I., Moura A., Alves A., Saavedra MJ, & Correia A. (2004). Molecular characterization of a carbapenem-hydrolyzing class A β -lactamase, SFC-1, from *Serratia fonticola* UTAD54. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(6), 2321-2324. <https://doi.org/10.1128/aac.48.6.2321-2324.2004>
28. Zemlyanko O.M., Rogoza T.M., & Zhuravleva G.A. (2018). Mechanisms of multiple resistance of bacteria to antibiotics. *Ecological genetics*, 16(3), 4-17. <https://doi.org/10.17816/ecogen1634-17> [in Russian].
29. Gabrielyan N.I., Sharapchenko S.O., Kisil O.V., Kormilitsina V.G., & Drabkina I.V. i dr. (2020). The problem of global development of antibiotic resistance of causative agents of nosocomial infections. *Therapeutic archive*, 92(11), 110-116. <https://doi.org/10.26442/00403660.2020.11.000783> [in Russian].
30. Bush K., & Jacoby G.A. (2010). Updated functional classification of betalactamases. *Antimicrob. Agents Chemother*, 54(3), 969-976. <https://doi.org/10.1128/AAC.01009-09>
31. Jeon J.H., Lee J.H., & Lee J.J., et al. (2015). Structural basis for carbapenem-hydrolyzing mechanisms of carbapenemases conferring antibiotic resistance. *Int. J. Mol. Sci.*, 16(5), 9654-9692. <https://doi.org/10.3390/ijms16059654>
32. Smith C.A., Stewart N.K., Toth M., & Vakulenko S.B. (2019). Structural insights into the mechanism of carbapenemase activity of the OXA-48 β -lactamase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 63(10), 1-14. <https://doi.org/10.1128/AAC.01202-19>
33. Doi Y. (2019). Treatment options for carbapenem-resistant gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis*, 69(7), 565-S575. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz830>
34. Joshi P.R., Acharya M., Kakshapati T., Leungtongkam U., Thummeepak R., & Sittisak S. (2017). Co-existence of blaOXA-23 and blaNDM-1 genes of *Acinetobacter baumannii* isolated from Nepal: Antimicrobial resistance and clinical significance. *Antimicrob Resist Infect Control*, 6(21), 1-7. <https://doi.org/10.1186/s13756-017-0180-5>
35. Lowe C.F., Matic N., Champagne S., Romney M.G., Leung V., & Ritchie G. (2020). The brief case: IMP, the uncommonly common carbapenemase. *J Clin Microbiol*, 58(4), 1-4. <https://doi.org/10.1128/JCM.01094-19>
36. Zmarlicka M., Nailor M., & Nicolau D. (2015). Impact of the New Delhi metallo- β -lactamase on β -lactam antibiotics. *Infect Drug Resist*, 8, 297-309. [10.1128/JCM.01094-1910.2147/IDR.S39186](https://doi.org/10.1128/JCM.01094-1910.2147/IDR.S39186)
37. Pilipenko M.M., Ovsienko T.V., & Bondar M.V. (2019). The emergence of resistance to carbapenems and colistin in severe gram-negative nosocomial infections: the first signs of the post-antibiotic era. *Medicine of emergency conditions*, 2(97), 54-62. <https://doi.org/10.22141/2224-0586.2.97.2019.161643> [in Ukrainian].
38. Guidelines for determining the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs (MUK 4.2 1890 – 2004). *Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy*, 2004, 6(4), 306-359. Retrieved from: <https://docs.cntd.ru/document/1200038583> [in Russian]
39. Shaginyan, I.A. (2000). The role and place of molecular genetic methods in the epidemiological analysis of nosocomial infections. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2(3), 82-95.
40. Belaya Ya.S., & Lemeshevskiy V.O. (2020). The problem of antibiotic resistance of microorganisms in the modern world. Abstracts of the XX International Scientific Conference "Sakharov Readings in 2020: Environmental Problems of the XXI Century", May, 24-26. <https://doi.org/10.46646/SAKH-2020-2-24-26> [in Belarus].
41. Polyakova Ye.M., Gurbanova A.B., Labutin D.V., Bozhkova S.A., & Gordina Ye.M. (2021). The prevalence of genes of aminoglycoside-modifying enzymes of *Staphylococcus aureus* isolated from patients with orthopedic infection]. *Modern problems of science and education*, 1.
42. Antibiotic resistance: integrating cultural contexts of health in addressing the global health challenge. World Health Organization, 2019. Retrieved from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/330028/>