

# Влияние шоковых концентраций ванкомицина на формирование гетерорезистентности у *Staphylococcus aureus*

\*В. В. ГОСТЕВ<sup>1,2</sup>, Ю. В. СОПОВА<sup>3,4</sup>, О. С. КАЛИНОГОРСКАЯ<sup>1</sup>, М. Е. ВЕЛИЖАНИНА<sup>4</sup>,  
И. В. ЛАЗАРЕВА<sup>1</sup>, П. С. СТАРКОВА<sup>1</sup>, С. В. СИДОРЕНКО<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н. И. Вавилова, Санкт-Петербург

<sup>4</sup> ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

## The Effects of Shock Vancomycin Concentrations on the Formation of Heteroresistance in *Staphylococcus aureus*

\*V. V. GOSTEV<sup>1,2</sup>, YU. V. SOPOVA<sup>3,4</sup>, O. S. KALINOGORSKAYA<sup>1</sup>, M. E. VELIZHANINA<sup>4</sup>,  
I. V. LAZAREVA<sup>1</sup>, P. S. STARKOVA<sup>1</sup>, S. V. SIDORENKO<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases of Federal Medical-Biological Agency, St. Petersburg

<sup>2</sup> North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg

<sup>3</sup> St. Petersburg branch of Vavilov Institute of General Genetics, St. Petersburg

<sup>4</sup> St. Petersburg University, St. Petersburg

Гликопептиды являются основой для лечения инфекций, вызываемых MRSA (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*). Ранее было продемонстрировано, что при селекции устойчивости под воздействием высоких концентраций антибиотиков формируется антибиотикотолерантные фенотипы. В настоящем исследовании была использована аналогичная модель селекции *in vitro* с ванкомицином. В опыт были включены клинические изоляты MRSA, принадлежащие к генетическим линиям ST8, ST239, и штамм MSSA (ATCC29213). В течение пяти часов тестируемые изоляты инкубировали в среде с высокой концентрацией ванкомицина (50 мкг/мл). После каждого воздействия тестируемые культуры выращивали на среде без антибиотика в течение 18 ч. Всего проведено десять циклов воздействия. Ванкомицин характеризовался бактериостатическим действием, доля выживших клеток после воздействия составляла 70–100%. После селекции наблюдался незначительный рост МПК к ванкомицину (МПК 2 мкг/мл), тейкопланину (МПК 1,5–3 мкг/мл) и даптомицину (МПК 0,25–2 мкг/мл). После селекции все штаммы демонстрировали увлечение площади роста в зависимости от концентрации ванкомицина, по результатам популяционного анализа (PAP), при этом гетерорезистентный фенотип (при PAP/AUC ≥ 0,9) был выявлен у трёх изолятов. У всех изолятов были выявлены мутации в *walK* (T188S, D235N, E261V, V380I и G223D). Воздействие кратковременными шоковыми концентрациями ванкомицина способствует формированию гетерорезистентности как у MRSA, так и MSSA. Возможно формирование VISA фенотипов на фоне терапии ванкомицином.

**Ключевые слова:** *Staphylococcus aureus*, ванкомицин, гетерорезистентность, селекция, *walK*.

Glycopeptides are the basis of the treatment of infections caused by MRSA (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*). Previously, it was demonstrated that antibiotic tolerant phenotypes are formed during selection of resistance under the influence of high concentrations of antibiotics. The present study uses a similar *in vitro* selection model with vancomycin. Clinical isolates of MRSA belonging to genetic lines ST8 and ST239, as well as the MSSA (ATCC29213) strain, were included in the experiment. Test isolates were incubated for five hours in a medium with a high concentration of vancomycin (50 µg/ml). Test cultures were grown on the medium without antibiotic for 18 hours after each exposure. A total of ten exposure cycles were performed. Vancomycin was characterized by bacteriostatic action; the proportion of surviving cells after exposure was 70–100%. After selection, there was a slight increase in the MIC to vancomycin (MIC 2 µg/ml), teicoplanin (MIC 1.5–3 µg/ml) and daptomycin (MIC 0.25–2 µg/ml). According to the results of PAP analysis, all strains showed an increase in the area under curve depending on the concentration of vancomycin after selection, while a heteroresistant phenotype (with PAP/AUC ≥ 0.9) was detected in three isolates. All isolates showed *walK* mutations (T188S, D235N, E261V, V380I, and G223D). Exposure to short-term shock concentrations of vancomycin promotes the formation of heteroresistance in both MRSA and MSSA. Formation of VISA phenotypes is possible during therapy with vancomycin.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*, vancomycin, heteroresistance, selection, *walK*.

## Введение

На сегодняшний день можно выделить несколько стратегий ухода бактерий от действия ан-

тибиотиков. Резистентность, как конечный этап формирования устойчивости, проявляющийся в полной нечувствительности к конкретному антибиотiku всех бактериальных клеток в конкретной клеточной популяции. Другие стратегии — это гетерорезистентность и персистентность. В обоих случаях только часть клеток проявляют, соответ-

© Коллектив авторов, 2020

\*Адрес для корреспонденции: ул. Профессора Попова, д. 9, Детский научно-клинический центр инфекционных болезней, Санкт-Петербург, 197022

ственно, устойчивость или толерантность (способность переживать) к воздействию конкретного антибиотика при фенотипической чувствительности исследуемой бактериальной культуры [1, 2]. Существует точка зрения, что формирование устойчивости проходит последовательно через этапы гетерорезистентности, толерантности к полной резистентности [3]. Гетерорезистентность и персистенция связаны с неудовлетворительной антибиотикотерапией [4].

Гликопептиды являются основой для лечения инфекций, вызываемых MRSA (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*). По результатам недавно опубликованного метаанализа [5], включающего анализ 155 публикаций со всех континентов и охватывающих более 75 000 изолятов за 20-летний период было показано, что частота выделения VISA (Vancomycin intermediate *S. aureus*) изолятов составляла более 6,3%, а VRSA (Vancomycin resistant *S. aureus*) — 1,5%. Авторы также подчёркивали увеличение количества частоты встречаемости VISA за последние десять лет. Механизм формирования VISA достаточно сложный и связан с накоплением мутаций в генах, ответственных за биосинтез клеточной стенки. Снижение чувствительности к гликопептидам также связано с феноменом гетерорезистентности [6].

В работах [7, 8] был впервые предложен новый подход к селекции устойчивости *in vitro*. Так, было показано, что при кратковременном циклическом воздействии высоких концентраций бактерицидных антибиотиков на *Escherichia coli* это способствовало появлению толерантности, за счёт значительного увеличения lag-фазы роста, и появлению персистенции как частного варианта гетерорезистентности. В настоящем исследовании, используя аналогичный подход, при воздействии высоких концентраций ванкомицина, была проведена оценка формирования резистентности и гетерорезистентности у *S. aureus*.

## Материал и методы

**Бактериальные изоляты.** В работу были включены клинические изоляты MRSA из музея культур ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России: SA0077, SA0422, SA0739 (генетические линии ST8) и SA0085 (ST239), выделенные в 2011–2013 гг. Также в работу был включен изолят MSSA — ATCC29213 (ST5).

**Воздействие шоковыми концентрациями ванкомицина.** За основу эксперимента был взят опыт [7]. Согласно предложенной схеме, изначально получали ночной инокулом исследуемых изолятов, далее делали разведения клеточной биомассы в соотношении 1:100 в жидкой питательной среде BHI (Brain heart infusion, Bio-Rad, France). При этом оценивали плотность клеточной биомассы с подсчётом КОЕ/мл. После в среду добавляли антибиотик ванкомицин (Molekula, UK) в концентрации 50 мкг/мл, с последующей инкубацией в течение пяти часов при 37°C и орбитальном шейкировании 250 rpm. После пяти часов воздействия антибиотиком снова проводили оценку плотности клеточной биомассы с подсчётом КОЕ на плотной питательной среде. Далее весь объём среды и клеток (в нашем опыте 100 мл) дважды отмывали от антибиотика

в PBS-буфере, получали клеточный осадок и ресуспендировали в свежей жидкой среде BHI для получения ночного инокула. Все вышеописанные манипуляции составляли один цикл селекции. Всего было проведено десять циклов селекции. В каждом цикле была подсчитана доля выживших клеток, исходя из разности значений КОЕ/мл до и после пятичасового воздействия ванкомицином, выраженная в процентах от числа КОЕ/мл до воздействия ванкомицином.

**Оценка чувствительности к антибиотикам.** Минимальные подавляющие концентрации (МПК) ванкомицина и даптомицина определяли методом серийных разведений в бульоне Мюллера–Хинтона (Bio-Rad, France) МПК тейкопланина определяли с помощью E-test (bioMérieux, Франция).

**Популяционный анализ.** Популяционный анализ (Population analysis profile, PAP) проводили в микроварианте по методике [9] на агаре BHI (Bio-Rad, France). Использовали ряд разведений ванкомицина от 0 до 16 мкг/мл (9 разведений). Использовали стартовую взвесь микроорганизмов с плотностью 2,5 по шкале мутности McFarland. Учёт результатов проводили в течение 24–72 ч. Оценивали следующие параметры — зависимость роста клеточной биомассы (КОЕ/мл) от концентрации ванкомицина и площадь под кривой (Area under curve, AUC). Параметр AUC рассчитывали методом трапеций. Для предсказания фенотипа VISA рассчитывали соотношение PAP/AUC относительно референсного штамма Mu50 по формуле: AUC (тестируемый штамм) / AUC (референсный штамм). Интерпретацию результатов осуществляли исходя из следующих критериев: при получении PAP/AUC < 0,9 — оценивали как VSSA (vancomycin susceptible *S. aureus*) фенотип, при PAP/AUC > 0,9 — оценивали как VISA.

**Секвенирование генов, ассоциированных с устойчивостью к ванкомицину.** ДНК бактерий выделяли с использованием набора ДНК-сорб Б (ИнтерЛабСервис, Россия) с предварительной инкубацией клеточной взвеси при 99°C в течение часа. Для секвенирования были выбраны следующие гены — *graS*, *graR*, *walK*, *walR*, *rpoB*, *vraS*, *vraR*. Для этого были сконструированы праймеры (синтезированы в ЗАО Евроген, Россия), перекрывающие всю длину интересующих генов. ПЦР проводили с использованием наборов ScreenMix-HS (ЗАО Евроген, Россия), сиквеновую реакцию проводили с помощью набора BrilliantDye Terminator v 3.1 (NimaGen, The Netherlands). Секвенирование проводили на приборе 3730 DNA Analyzer (Applied Biosystems, Japan). Сборку секвенированных генов проводили в программе Contig Express Vector NTI™ (Invitrogen, USA), выявление мутаций проводили путём выравнивания нуклеотидных последовательностей генов изолятов до и после воздействия ванкомицином в программе Unipro UGENE [10].

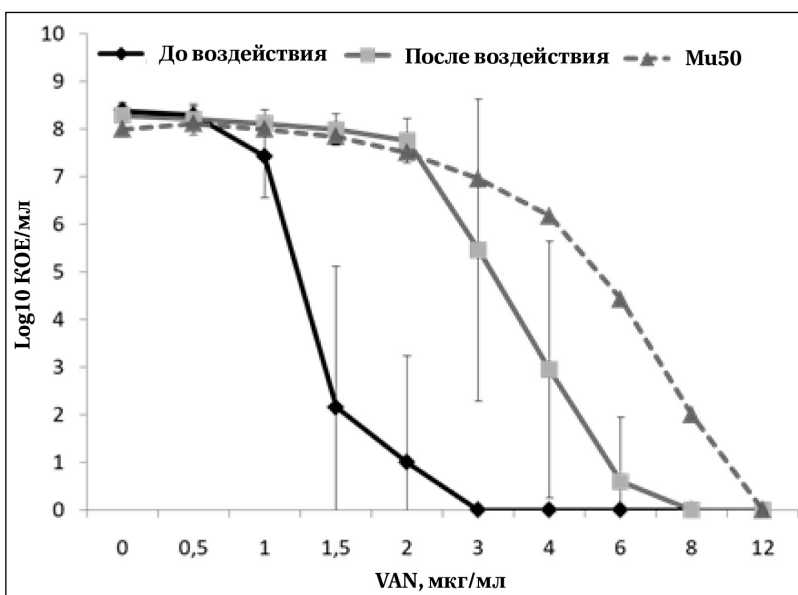
## Результаты

После десяти циклов воздействия шоковыми концентрациями ванкомицина для всех изолятов отмечалось незначительное увеличение МПК к гликопептидам, а также появление гетерорезистентности (таблица). Так, диапазон МПК ванкомицина и тейкопланина у изолятов до воздействия составлял 0,5–2 мкг/мл и 0,75–2 мкг/мл, соответственно. После селекции эти значения МПК были для ванкомицина 2 мкг/мл и тейкопланина 1,5–3 мкг/мл. Уровень МПК даптомицина менялся с 0,25–1 мкг/мл до 0,25–2 мкг/мл после воздействия. По результатам PAP — анализа было отмечено изменение характера кривых роста в зависимости от увеличивающихся концентраций ванкомицина (рис. 1). Для изолятов до воздействия ванкомицином максимальная ингибирующая концентрация составляла 3 мкг/мл.

## Фенотипические изменения у изолятов после воздействия шоковыми концентрациями ванкомицина

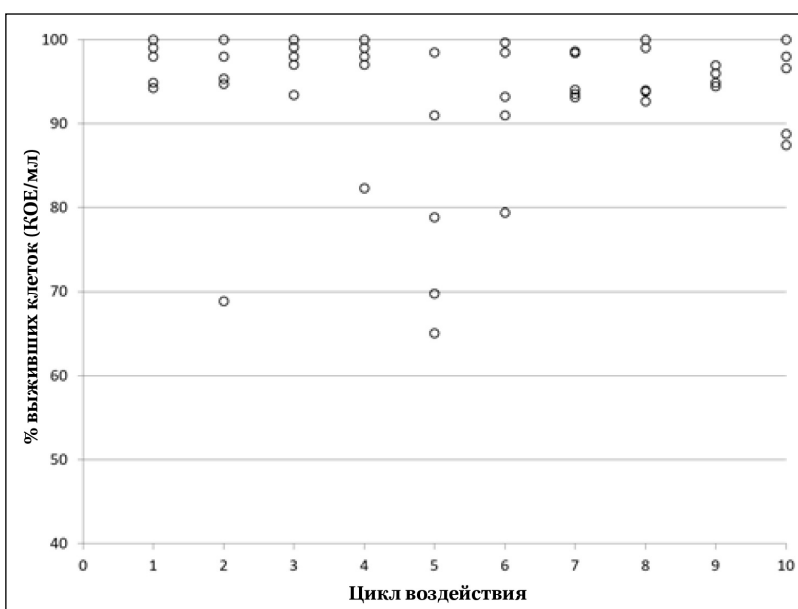
Изоляты	До воздействия				После воздействия				
	МПК, мкг/мл			РАР/AUC	МПК, мкг/мл			РАР/AUC	Мутации* WalK
	VAN	TEC	DAP		VAN	TEC	DAP		
ATCC29213	0,5	0,75	0,25	0,36 (V)	2	1,5	0,25	0,62 (V)	<b>T188S</b>
SA0077	2	2	0,5	0,56 (V)	2	3	1	0,93 (H)	<b>D235N</b>
SA0085	1	1	0,25	0,45 (V)	2	2	0,25	0,92 (H)	<b>E261V</b>
SA0422	2	2	1	0,38 (V)	2	3	2	0,88 (H)	V380I
SA0736	1	1,5	0,5	0,33 (V)	2	2	1	0,75 (V)	G223D

**Примечание.** VAN — ванкомицин; TEC — тейкопланин; DAP — даптомицин; РАР/AUC — в скобках представлены интерпретации РАР-анализа, V-VSSA; H — гетерорезистентность, фенотип VISA. \* — жирным шрифтом выделены ранее не описываемые аминокислотные замены.



**Рис. 1.** РАР-анализ с ванкомицином (VAN).

Представлены средние значения популяционного анализа по пяти изолятам до и после воздействия ванкомицином (50 мкг/мл).



**Рис. 2.** Доля выживших клеток после каждого цикла воздействия ванкомицином.

После селекции отмечался рост на концентрациях 4–8 мкг/мл.

Для всех изолятов было характерно увеличение параметра РАР/AUC после селекции. Так, среднее значение РАР/AUC до селекции составляло  $0,42 \pm 0,1$ , после селекции это значение возросло до  $0,82 \pm 0,13$  ( $p < 0,05$ ). При этом для изолятов SA0077, SA0085 и SA0422 был определен гетерорезистентный фенотип по параметру РАР/AUC при сравнении с контрольным штаммом Mu50.

Была проведена оценка доли выживших клеток после каждого воздействия шоковых концентраций ванкомицина. Результаты измерений представлены на графике рис. 2. Для ванкомицина был характерен бактериостатический эффект после пяти часов воздействия высокими концентрациями антибиотика. В среднем на протяжении всех 10 циклов количество выживших клеток либо не изменялось (100%), либо сокращалось в пределах 70–90%.

Было выявлено, что у всех изолятов после воздействия ванкомицином, появились значимые мутации в гене *walK*, затрагивающие разные аминокислотные остатки, и локализованные в разных доменах (см. таблицу). Мутации в остальных анализируемых генах *graS*, *graR*, *walR*, *rpoB*, *vraS* и *vraR* обнаружены не были.

## Обсуждение

Известно, что длительное воздействие субингибирующих концентраций антибиотиков влияет на формирование устойчивости, в том числе и к гликопептидам [11]. На этом основаны многие схемы селекции устойчивости *in vitro* бактерий к

антибиотикам. В настоящем исследовании была проведена селекция под воздействием высокой концентрации антибиотика. Такая стратегия имеет ряд отличий перед традиционными схемами селекции. К их числу можно отнести: вовлечение в процесс селекции всей клеточной массы и наличие этапа свободного роста популяции, что отражается в ускоренном накоплении возможных мутаций (за счёт роста в среде без антибиотика). Высокие концентрации антибиотика способствуют гибели подавляющей части популяции и являются мощным стимулом для положительного эволюционного отбора [7]. В настоящем исследовании была использована концентрация ванкомицина 50 мкг/мл, что в 25–100 раз выше начального уровня МПК у исследуемых изолятов. Также это значение близко к пиковой сывороточной концентрации ванкомицина 20–40 мкг/мл при стандартных схемах антибиотикотерапии [12]. После проведения селекции у трёх из четырёх клинических изолятов MRSA удалось получить гетерорезистентный фенотип при минимальных сдвигах в уровне МПК ванкомицина и тейкопланина. Наше исследование подтверждает также, что ванкомицин больше характеризуется как бактериостатический антибиотик с медленным эффектом киллинга [13]. Так, при воздействии ванкомицина доля выживших клеток в каждом цикле селекции составляла 70–100%. Эти и другие фармакокинетические/фармакодинамические характеристики ванкомицина отражаются на возможном формировании VISA фенотипов в процессе лечения, что может опосредовать неудовлетворительный исход терапии.

После селекции у всех изолятов были обнаружены миссенс-мутации в ключевом гене *walK*. Ген *walk* (*vicK*) входит в важнейшую гистидин-киназную двухкомпонентную систему *walKR*, принимающую участие в регуляции метаболизма и биосинтеза клеточной стенки у *S. aureus* [14]. Мутации в генах системы *walKR* ассоциированы со снижением чувствительности к гликопептидам и даптомицину [15]. В настоящей работе были обнаружены как хорошо охарактеризованные, так и новые мутации в этом гене. В частности, мутация в позиции V380I впервые была описана у клинического изолята VISA, выделенного в США в 2000-х годах и относящегося к эпидемической линии ST5 [16]. Мутация в позиции G223D достаточно хорошо изучена и ассоциирована со снижением чувстви-

тельности к гликопептидам и даптомицину, описана среди многих клинических изолятов, а также мутантов производных штаммов, полученных при селекции устойчивости *in vitro* [17, 18]. Аминокислотные замены в положениях D235N, E261V и T188S могут рассматриваться как потенциально новые мутации и ассоциированы с формированием устойчивости к ванкомицину. Все эти новые аминокислотные замены, за исключением позиции 261, локализованы в функциональных доменах белка WalK и мутации в этих доменах, как правило, ассоциированы с VISA фенотипом [17]. После селекции у тестируемых изолятов незначительно повысилась МПК к даптомицину, однако для изолята SA0422 уровень МПК составлял 2 мкг/мл (устойчивый фенотип). Данное наблюдение подчёркивает возможность появления ассоциированной устойчивости к даптомицину на фоне селекции на ванкомицине [19, 20].

Проведённое исследование имеет ряд ограничений, во-первых, в исследовании не была проведена оценка ростовых свойств изолятов с выявлением возможного увеличения lag-фазы роста. Во-вторых, по полученным результатам нельзя чётко дифференцировать гетерорезистентность и толерантность к ванкомицину. И в третьих, был проведён поиск мутаций только в нескольких ключевых генах, существует возможность того, что помимо мутаций в *walK*, будут обнаружены другие генетические события в других локусах генома.

Таким образом, воздействие кратковременными шокowymi концентрациями ванкомицина способствует формированию гетерорезистентности без значительных изменений в фенотипической чувствительности как у MRSA, так и MSSA. Снижение чувствительности к гликопептидам было опосредовано мутациями в одном из ключевых генов, ассоциированным с устойчивостью к гликопептидам — *walK*. Данные наблюдения могут свидетельствовать о возможном формировании фенотипов со сниженной чувствительностью к ванкомицину на фоне терапии этим препаратом.

**Работа была выполнена в рамках гранта Российского научного фонда, проект № 18-75-10114 «Новые механизмы устойчивости *Staphylococcus aureus* к бета-лактамам и гликопептидным антибиотикам, связанные с внутриклеточными мессенджерами c-di-AMP и гетерорезистентностью».**

## ЛИТЕРАТУРА

1. Brauner A., Fridman O., Gefen O., Balaban N.Q. Distinguishing between resistance, tolerance and persistence to antibiotic treatment. *Nat Rev Microb* 2016; 14 (5): 320–330. doi: 10.1038/nrmicro.2016.34
2. Andersson D.I., Nicoloff H., Hjort K. Mechanisms and clinical relevance of bacterial heteroresistance. *Nat Rev Microb* 2019; 17 (8): 479–496. doi: 10.1038/s41579-019-0218-1
3. Levin-Reisman I., Ronin I., Gefen O., Braniss I., Shores N., Balaban N.Q. Antibiotic tolerance facilitates the evolution of resistance. *Science* 2017; 355 (6327): 826–830. doi: 10.1126/science.aaj2191
4. Band V.I., Weiss D.S. Heteroresistance: A cause of unexplained antibiotic treatment failure? *PLoS Pathog* 2019; 15 (6): e1007726.
5. Shariati A., Dadashi M., Moghadam M.T., van Belkum A., Yaslianifard S., Darban-Sarokhalil D. Global prevalence and distribution of vancomycin resistant, vancomycin intermediate and heterogeneously vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* clinical isolates: a systematic review and meta-analysis. *Scie Rep* 2020; 10 (1): 12689.
6. Hiramatsu K., Kayayama Y., Matsuo M., Aiba Y., Saito M., Hishinuma T., Iwamoto A. Vancomycin-intermediate resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Glob Antimicrob Resist* 2014; 2 (4): 213–224. doi: 10.1016/j.jgar.2014.04.006



7. Fridman O., Goldberg A., Ronin I., Shores N., Balaban N.Q. Optimization of lag time underlies antibiotic tolerance in evolved bacterial populations. *Nature* 2014; 513 (7518): 418–421. doi: 10.1038/nature13469
8. Van den Bergh B., Michiels J.E., Wenseleers T., Windels E.M., Boer P.V., Kestemont D., De Meester L., Verstrepen K.J., Verstraeten N., Fauvart M. et al. Frequency of antibiotic application drives rapid evolutionary adaptation of *Escherichia coli* persistence. *Nat Microbiol* 2016; 1: 16020. doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.20
9. Pfeltz R.F., Schmidt J.L., Wilkinson B.J. A microdilution plating method for population analysis of antibiotic-resistant staphylococci. *Microbial Drug Resist* 2001; 7 (3): 289–295. doi: 10.1089/10766290152652846
10. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M., Team U. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics* 2012; 28 (8): 1166–1167. doi: 10.1093/bioinformatics/bts091
11. Laureti L., Matic I., Gutierrez A. Bacterial Responses and Genome Instability Induced by Subinhibitory Concentrations of Antibiotics. *Antibiotics* 2013; 2 (1): 100–114. doi: 10.3390/antibiotics2010100
12. Giuliano C., Haase K.K., Hall R. Use of vancomycin pharmacokinetic-pharmacodynamic properties in the treatment of MRSA infections. *Expert Rev Anti-Infect Ther* 2010; 8 (1): 95–106. doi: 10.1586/eri.09.123
13. Stevens D.L. The role of vancomycin in the treatment paradigm. *Clin Infect Dis: an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2006; 42 Suppl 1: S51–S57. doi: 10.1086/491714
14. Ji Q., Chen P.J., Qin G., Deng X., Hao Z., Wawrzak Z., Yeo W.S., Quang J.W., Cho H., Luo G.Z. et al. Structure and mechanism of the essential two-component signal-transduction system WalKR in *Staphylococcus aureus*. *Nat Commun* 2016; 7: 11000. doi: 10.1038/ncomms11000
15. Yin Y., Chen H., Li S., Gao H., Sun S., Li H., Wang R., Jin L., Liu Y., Wang H. Daptomycin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* is conferred by IS256 insertion in the promoter of *mprF* along with mutations in *mprF* and *walK*. *Int J Antimicrob Agents* 2019; 54 (6): 673–680. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2019.08.021
16. Watanabe Y., Cui L., Katayama Y., Kozue K., Hiramatsu K. Impact of *rpoB* mutations on reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2011; 49 (7): 2680–2684/ doi: 10.1128/JCM.02144-10
17. Howden B.P., McEvoy C.R., Allen D.L., Chua K., Gao W., Harrison P.F., Bell J., Coombs G., Bennett-Wood V., Porter J.L. et al. Evolution of multidrug resistance during *Staphylococcus aureus* infection involves mutation of the essential two component regulator WalKR. *PLoS Pathog* 2011; 7 (11): e1002359. doi: 10.1371/journal.ppat.1002359
18. Howden B.P., Smith D.J., Mansell A., Johnson P.D., Ward P.B., Stinear T.P., Davies J.K. Different bacterial gene expression patterns and attenuated host immune responses are associated with the evolution of low-level vancomycin resistance during persistent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *BMC Microbiol* 2008; 8: 39. doi: 10.1186/1471-2180-8-39
19. Cui L., Tominaga E., Neoh H.M., Hiramatsu K. Correlation between Reduced Daptomycin Susceptibility and Vancomycin Resistance in Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50 (3): 1079–1082. doi: 10.1128/AAC.50.3.1079-1082.2006
20. Camargo I.L., Neoh H.M., Cui L., Hiramatsu K. Serial daptomycin selection generates daptomycin-nonsusceptible *Staphylococcus aureus* strains with a heterogeneous vancomycin-intermediate phenotype. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52 (12): 4289–4299. doi: 10.1128/AAC.00417-08

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Гостев Владимир Валерьевич — к. б. н., Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Сопова Юлия Викторовна — к. б. н., Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н. И. Вавилова, Санкт-Петербург; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

Калиногорская Ольга Серафимовна — к. м. н., Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

Велижанина Мария Евгеньевна — Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

Лазарева Ирина Владимировна — к. м. н., Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

Старкова Полина Сергеевна — Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

Сидоренко Сергей Владимирович — д. м. н., профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург