

Молекулярные механизмы снижения чувствительности к цефтаролину метициллинорезистентных *Staphylococcus aureus*

В. В. ГОСТЕВ¹, О. С. КАЛИНОГОРСКАЯ¹, О. А. ДМИТРЕНКО², И. А. ЦВЕТКОВА¹, С. В. СИДОРЕНКО^{1,3}

¹ ФГБУ «НИИ детских инфекций ФМБА России», Санкт-Петербург

² Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи, Москва

³ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург

Molecular Mechanisms of Ceftaroline Susceptibility Reduction in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*

V. V. GOSTEV¹, O. S. KALINOGORSKAYA¹, O. A. DMITRENKO², I. A. TSVETKOVA¹, S. V. SIDORENKO^{1,3}

¹ Scientific Research Institute of Children's Infections, Saint-Petersburg

² Research Centre of Epidemiology and Microbiology named After Honoured Academician N. F. Gamalei, Moscow

³ North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint-Petersburg

Цефтаролин — уникальный цефалоспорин с активностью в отношении метициллинорезистентных *Staphylococcus aureus* (MRSA) одобрен для клинического использования в США, Европе и России в 2010 году для терапии инфекций кожи и мягких тканей, а также внебольничных пневмоний. В настоящем исследовании было проведено молекулярное типирование 24 изолятов MRSA со сниженной чувствительностью к цефтаролину. Для 8 изолятов разных генетических линий (ST8, ST239, ST228) и разным уровнем МПК были определены уровни концентраций антибиотика, предотвращающих образование устойчивых мутантов (mutant prevention concentration, MPC) и диапазоны окна селекции (mutant selection window, MSW). Установлено, что подавляющее большинство изолятов со сниженной чувствительностью к цефтаролину (МПК = 2 мкг/мл) относилось к клональной линии ST228. Полногеномное секвенирование двух изолятов ST228 показало, что они относятся к эпидемической «Южно-Германской» генетической линии, характеризуются наличием мутаций в PBP2a (N146K) и PBP2 (C197Y), обуславливающих снижение чувствительности. Наиболее высокие показатели MPC = 32 мкг/мл и MSW (2–16 мкг/мл) были выявлены среди клинических изолятов, относящихся к генетической линии ST8. Для изолятов ST239 и ST228 окно селекции было в диапазоне 2–4 мкг/мл. Не было обнаружено зависимости уровней МПК и MPC / MSW.

Ключевые слова: цефтаролин, MRSA, устойчивость, ST228, минимальная концентрация антибиотика, предотвращающая образование устойчивых мутантов, окно селекции мутантов.

Ceftaroline is a unique cephalosporin with activity against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). It was approved for clinical use in the USA, Europe and Russian Federation since 2010 for the treatment of the skin and soft tissue infection and community-acquired pneumoniae. In the present study there was used molecular typing of 24 isolates of MRSA with reduced susceptibility to ceftaroline. For 8 isolates belonging to different genetic lines (ST8, ST239 and ST228) and requiring MICs there were determined antibiotic concentrations preventing formation of resistant mutants (mutant prevention concentration) and the ranges of the mutant selection window (MSW). The last majority of the isolates with reduced susceptibility to ceftaroline (MIC of 2 mcg/ml) belonged to the clonal line ST228. The whole genome sequencing of two isolates of ST228 showed that they belonged to the epidemic South Germany genetic line and were characterized by the presence of mutations in PBP2a (N146K) and PBP2 (C197Y) responsible for reduced susceptibility. The highest rates of MPC (32 mcg/ml) and MSW (2–16 mcg/ml) were observed in the clinical isolates belonging to the genetic line ST8. The isolates of ST239 and ST228 had the selection window within 2–4 mcg/ml. No dependence of the MIC and MPC/MSW levels was detected.

Keywords: ceftaroline, MRSA, resistance, ST228, mutant prevention concentration, mutant selection window.

Введение

Цефтаролин — антибиотик широкого спектра действия, один из первых цефалоспоринов с уникальной активностью в отношении метициллинорезистентных *Staphylococcus aureus* (MRSA). Препарат был одобрен для клинического использования

в США, Европе и России в 2010 г. для терапии инфекций кожи и мягких тканей, а также внебольничных пневмоний [1]. Цефтаролин способен связываться с белком PBP2a, таким образом проявляя свою активность в отношении MRSA. Несмотря на уникальные свойства, практически сразу же после внедрения антибиотика в клиническую практику появились сообщения о выделении устойчивых к нему изолятов MRSA. В недавнем исследовании нами было установлено, что среди циркулирующих

© Коллектив авторов, 2016

Адрес для корреспонденции: 197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 9. НИИ детских инфекций

в России MRSA, 5% имеют сниженную чувствительность к цефтаролину с МПК > 1 мкг/мл [2].

У MRSA выделяют несколько механизмов устойчивости к этому антибиотику. Так, мутации в аллостерическом домене белка PBP2a (*mecA*) опосредуют снижение чувствительности до МПК 2 мкг/мл. Высокий уровень устойчивости связан с формированием мутаций в транспептидазном домене PBP2a. Помимо этого, описано еще три потенциальных механизма устойчивости: мутации в пенициллинсвязывающем белке PBP4 [3], накопление в клетке вторичных мессенджеров цикло-ди-аденозинмонофосфатов (c-di-AMP), и гиперэкспрессия неспецифического эффлюксного насоса (*acrB*) [4, 5].

Важной особенностью резистентности к цефтаролину является её преимущественное распространение среди изолятов, относящихся к эпидемическому «Южно-Германскому» или «Итальянскому» клону (генотип: ST228-t041-SCC*mecA*). К этому клону относились большинство устойчивых изолятов, собранных в Европе и Азии в рамках международной программы AWARE (Assessing Worldwide Antimicrobial Resistance Evaluation) [6]. Устойчивость к антибиотику, связанная с мутацией (N146K) в аллостерическом домене PBP2a (*mecA*) была обнаружена у изолятов «Южно-Германского» клона, выделенных ещё до внедрения цефтаролина в практику [7]. Для «Южно-Германского» клона характерны как способность вызывать вспышки госпитальных инфекций [8], так и бессимптомное носительство [9].

Формирование устойчивости к цефтаролину происходит через этап гетерорезистентности, с образованием в чувствительной популяции, минорной субпопуляции, проявляющей устойчивость [10]. Определение минимальной концентрации антибиотика, предотвращающей образование резистентных мутантов (mutant prevention concentration, MPC) является одним из способов определения потенциальной гетерорезистентности. Для определения MPC используют существенно более высокую концентрацию бактерий (более 10¹⁰ КОЕ/мл), чем при стандартном определении МПК, что позволяет выявить единичные устойчивые клетки. Зная уровни МПК и MPC можно выделить зону концентраций антибиотика, при которых будет происходить селекция устойчивости в популяции — это окно селекции мутантов (mutant selection window, MSW). Сопоставление MSW с фармакокинетическими параметрами конкретного препарата позволяет прогнозировать риски формирования устойчивости на фоне лечения и, как следствие, исход антибактериальной терапии.

Целью данной работы было выявление связей MRSA со сниженной чувствительностью к цефтаролину, циркулирующих на территории Рос-

сийской Федерации, с генетическими линиями из других географических регионов, расшифровка генетических механизмов снижения чувствительности, а также определение значений MPC цефтаролина как показателя гетерорезистентности к указанному антибиотику.

Материал и методы

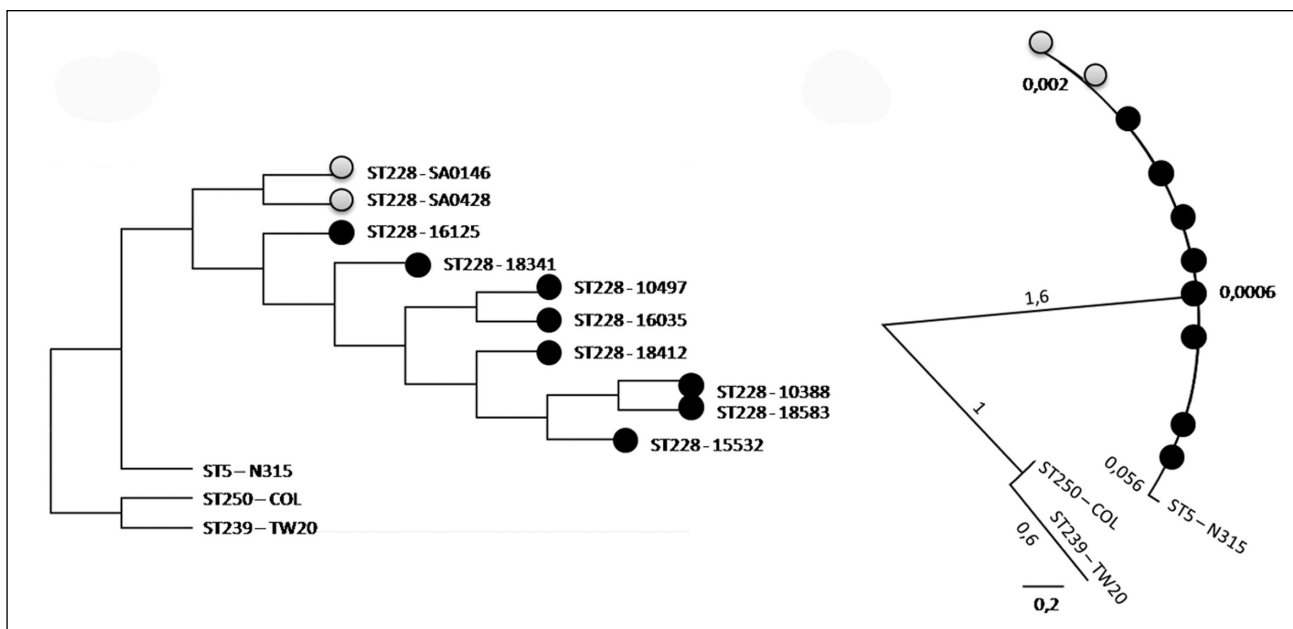
Бактериальные изоляты и определение антибиотикочувствительности. Бактериальные изоляты MRSA, включённые в исследование, были восстановлены из коллекции бактериальных культур НИИДИ (хранение при –80°C в среде с 30% глицерина) и реидентифицированы на MALDI-TOF масс-спектрометре Microflex LT (Bruker Daltonics, Germany).

Антибиотикочувствительность оценивали методом серийных микроразведений в бульоне Мюллера–Хинтон (Bio-Rad, France) с определением МПК в соответствии с ISO 20776-1 [11]. Постановку опыта проводил в 96 луночных планшетах (НПО «Медполимер», Санкт-Петербург). В качестве контрольного штамма был использован *S.aureus* ATCC 29213 (RemelCultiLoops®, США).

Определение MPC. Определение MPC проводили по модифицированной методике, описанной в [12, 13]. Культуры *S.aureus* выращивали на кровяном агаре для получения суточного сливного роста на двух чашках Петри. Далее всю биомассу с двух чашек переносили в 100 мл бульона Мюллера–Хинтон (Bio-Rad, France) и дополнительно инкубировали в орбитальном шейкер-инкубаторе (bioSan, Латвия) 2,5 ч при 37°C и 250 об/мин. Клеточную биомассу концентрировали центрифугированием в течение 5 мин при 3000 об/мин при комнатной температуре, таким образом, чтобы концентрация клеток составляла более 10¹⁰ КОЕ/мл в объёме 2 мл стерильного физиологического раствора. КОЕ определяли с помощью серийных 10-кратных разведений с последующими высевами на триптиказо-соевый агар TSA (Merck, Germany) и визуальным подсчётом выросших колоний. После валидации клеточных концентраций готовили *ex tempore* серийные разведения цефтаролина (AstraZeneca, UK) в чашках с сердечно-мозговым агаром (Merck, Germany) в диапазоне конечных концентраций антибиотика от 0,25 до 64 мкг/мл. Инокулюм в объёме 0,1 мл переносили на среды с антибиотиком и осуществляли посев газоном. Посевы инкубировали в течение 72 ч при 37°C. Опыт проводили в трёх повторностях. За MPC принимали минимальную концентрацию антибиотика, при которой полностью отсутствовал рост исследуемой культуры, за MSW принимали диапазон значений концентраций между МПК и MPC.

Молекулярное типирование. Определение типа SCC*mecA* осуществляли в соответствие с рекомендациями [14] с помощью ПЦР. Мультилокусное сиквенс-типирование (MLST) и секвенирование фрагмента гена *spa* (*spa*-типирование) проводили по стандартным протоколам, представленных, соответственно на <http://pubmlst.org/saureus/> и <http://www.spaserver.ridom.de>. Секвенирование проводили по Сэнгеру на приборе 3730 DNA Analyzer (Applied Biosystems, Japan) с прямыми и обратными прочтениями. Для анализа сиквенсов фрагмента *spa*-гена использовали программы DNAGear [15] и *spa*-typer 1.0 [16].

Полногеномное секвенирование. Два изолята были отобраны для геномного секвенирования. Перед выделением геномной ДНК, культуры рассевали на кровяной агар для получения единичных колоний, после этого, одну колонию переносили в 20 мл сердечно-мозгового бульона (bioMérieux, Франция) для получения ночного инокулюма. Ночной инокулюм в объёме 1 мл осаждали центрифугированием 5 мин при 5000 об/мин. Клеточный осадок лизировали в присутствии 5 мг/мл лизостафина (Sigma Aldrich, USA) и 100 мг/мл лизоцима (Amresco, USA) в трис — ЭДТА буфере в течение 60 мин при 37°C. Для выделения геномной ДНК из полученного лизата использовали набор GeneJET Genomic DNA Purification Kit (ThermoFisher



Результаты филогенетического анализа, полученных при выравнивании геномов (а — кладограмма; б — филограмма).

В анализ были включены: 8 геномов изолятов ST228, выделенных в 2008–2012 гг. в Лозанне при вспышке внутрибольничной инфекции (круги с чёрной заливкой)[8]; геномы двух изолятов ST228, выделенных в России (круги с серой заливкой); два контрольных генома разных генетических линий (ST250 – COL, ST239 – TW20) и референс-геном ST5 – N315. Значения, указанные на филограмме соответствуют эволюционной дистанции. Для редакции филогенетических деревьев была использована программа FigTree 1.4.2.

Scientific, Lithuania) по протоколу производителя. Полногеномное секвенирование проводили на платформе Miseq (Illumina, USA). Использовали пул библиотек ДНК, приготовленных с помощью набора Nextera XT с последующим получением парноконцевых ридов размером 2×250 п.н. (ver.2 Illumina kit). Все этапы секвенирования проводили в соответствии с протоколами производителя. Среднее покрытие геномов составило для двух изолятов ×30 и ×70.

Программы для анализа данных полногеномного секвенирования. Сборку геномов осуществляли с помощью SPAdes 3.5.0 [17] после предварительного анализа и редакции ридов в программах FastQC и Trimmomatic [18]. Для характеристики геномов использовали онлайн-сервис Center for Genomic Epidemiology [19–21]. Риды полногеномного запуска зарегистрированы в NCBI BioProject под номером PRJNA325350.

Результаты и обсуждение

Молекулярная характеристика изолятов со сниженной чувствительностью к цефтаролину. Для молекулярного типирования были отобраны, выявленные в предыдущем исследовании изоляты MRSA ($n=24$) со сниженной чувствительностью к цефтаролину [2]. Большинство изолятов (13/24) относились к клональному комплексу (CC) CC5, сиквенс-типу (ST) ST228, spa-типу t041 и имели стафилококковую mec-кассету SCCmec IA (ST228-t041-SCCmec IA), совокупность представленных свойств позволила отнести указанные изоляты к «Южно-Германскому» клону. Остальные изоляты соответственно относились к CC8: ST239-t632-SCCmec III.1 (5/24), ST239-t030/t037-SCCmec III.1 (4/24) и ST8-t008-SCCmec IVce (2/24).

Два изолята, относящихся к «Южно-Германскому» клону были отобраны для геномного секвенирования с целью детальной характеристики представителей этой генетической линии. Изолят SA0146 был получен из стационара Санкт-Петербурга от больного с остеомиелитом в 2011 г., изолят SA0428 выделен в Мурманске от больного с хронической обструктивной болезнью лёгких в 2013. Было установлено, что геномы изолятов различались между собой только на 90 нуклеотидных полиморфизмов, несмотря на различия в месте и времени их выделения. При сравнении с доступными нуклеотидными последовательностями полных геномов ST228, была установлена высокая степень нуклеотидной и геномно-структурной гомологии, при этом максимальное количество нуклеотидных замен в сравнении с Российскими изолятами составляло не более 700 на геном. Проведённое выравнивание геномов показало, что все изоляты ST228 входят в одну кладу (рисунок, а) и при этом эволюционная дистанция между ними была не более 0,002 (расчёты сделаны в программе CSIPhylogeny 1.4), филогенетический анализ представлен на рисунке, б. Полученные данные подтверждают вероятность импорта эпидемического «Южно-Германского» клона на территорию Российской Федерации.

Резистомы изолятов были представлены следующими детерминантами: устойчивость к

Результаты определения МРС для изолятов с разными значениями МПК цефтаролина

Изолят	Год выделения	Генотип	МПК	МРС ₉₀	MSW (МРС/МІС)
ATCC29213	—	ST5-t002	0,5	0,5	—
SA0520	1998	ST8-t008-SCCmec IVce	0,25	0,25	—
SA0422	2011	ST8-t008-SCCmec IVce	2	32	4—16
SA0077	2011	ST8-t008-SCCmec IVce	1	32	2—16
SA0085	2011	ST239-t632-SCCmec III.1	1	8	2—4
SA0420	2011	ST239-t632-SCCmec III.1	2	8	4
SA0146	2011	ST228-t041-SCCmec IA	2	4	2
SA0428	2013	ST228-t041-SCCmec IA	2	8	4

аминогликозидам детерминирована четырьмя аминогликозид-модифицирующими ферментами (гены *spc*, *aphA3*, *aac(6')-aph(2'')*, *aadD*), устойчивость к макролидам и линкозамидам — геном метилазы *ermA*. Устойчивость к фторхинолонам обусловлена мутациями в *gyrA* (S84L, P326L, A457T), *gyrB* (C196A, T336C, C1239T) и генах *parCE*. У изолятов выявлена плазмида (размер около 30 тыс п.н.) группы *rep20/rep21*, в состав которой входили комплекс генов бета-лактамазы *blaZ*, *blaR*, а также гены устойчивости к антисептикам — эффлюксная система *qacAR*, гены устойчивости к солям меди (*copA*) и ртути (*mer*).

При анализе генов, участвующих в биосинтезе пептидогликана в пенициллинсвязывающих белках РВР2а (*tesA*) и РВР2 были обнаружены миссенс-мутации (N146K и C197Y). Аминокислотные замены G233D и V363I были также идентифицированы в регуляторном гене биогенеза клеточной стенки *walkK*, и синтазе *murF*, участвующей в цитоплазматическом биосинтезе пептидных мостиков. Стоит отметить, что нуклеотидные последовательности геномов ST228, доступных в NCBI GenBank, характеризуются наличием вышеперечисленных мутаций, за исключением замены в *murF* (V363I), которая была уникальна для Российских изолятов.

Ранее роль мутаций в *tesA* была изучена по данным рентгенокристаллографического анализа. Так, было показано, что молекула цефтаролина взаимодействует сразу с двумя доменами белка РВР2а, аллостерическим и транспептидазным [22]. Поэтому при возникновении мутаций только в аллостерическом домене, цефтаролин связывается с транспептидазным доменом, что приводит к снижению МПК только до 2 мкг/мл, но как только происходят изменения в активном центре белка (например, замены в позициях Y446N и E447K), происходит повышение МПК до высоких значений. Несмотря на существующие критерии оценки чувствительности, недавние исследования, проведенные по изучению фармакокинетики и фармакодинамики, показывают, что стандартные дозировки препарата преодолевают уровень МПК в 2 мкг/мл [23, 24].

Виром был представлен генами гемолизина (*hlgABC*, *hlgA*, *hlgB*), лейкоцидинов (*lukDE*), энтеротоксинов (*seo*, *seg*, *sen*, *sei*, *seu*) и комплексом *immune evasion cluster* типа D (*sea*, *sak*, *scn*).

Определение МРС и MSW цефтаролина. Для эксперимента были отобраны 8 изолятов с МПК цефтаролина от 0,25 до 2 мкг/мл, относящихся к нескольким генетическим линиям, а также референсный штамм ATCC29213. Результаты определения МРС представлены в таблице. Максимальным значением МРС=32 мкг/мл характеризовались два изолята, принадлежащих к широко распространённому в России генотипу, ST8-t008-SCCmec IVce. При этом окно селекции (MSW) для этих изолятов было в широком диапазоне и составляло 2—16 мкг/мл. Такие данные свидетельствуют о высокой потенциальной возможности формирования устойчивости к цефтаролину у данного генотипа.

Наряду с этим, один изолят относящийся к этому же клону, но выделенный в 1998 г. характеризовался очень низким значением МРС (0,25 мкг/мл), и при этом МПК также составила 0,25 мкг/мл. Это свидетельствует об отсутствии гетерорезистентности и, соответственно, низкой вероятности формирования мутантов. Для генотипов ST228-t041-SCCmec IA и ST239-t632-SCCmec III.1 уровень МРС составлял 4—8 мкг/мл с окном селекции 2—8 мкг/мл. Не было обнаружено зависимости уровня МПК от значения МРС.

Заключение

Таким образом, большинство изолятов MRSA со сниженной чувствительностью к цефтаролину, относятся к генетической линии ST228 — t041 — SCCmec IA, ранее не описываемой в России. Данная генетическая линия имеет Европейское происхождение, что было подтверждено сравнительным анализом геномов. Повышение МПК до 2 мкг/мл связано с наличием мутаций в *tesA* (N146K) и *pbp2* (C197Y), рассматриваемых как первичный этап формирования устойчивости.

Определение параметров МРС является важным исследованием для микроорганизмов, механизмы резистентности которых связаны с формированием мутаций. Полученные данные

свидетельствуют о высокой вероятности появления устойчивости к цефтаролину среди изолятов доминирующей Российской генетической линии ST8-t008-SCCmec IVce.

ЛИТЕРАТУРА

- Laudano J.B. Ceftaroline fosamil: a new broad-spectrum cephalosporin. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66: Suppl 3: iii11–18.
- Gostev V.V., Kalinogorskaya O.S., Popenko L.N., Chernenkaya T.V., Naumenko Z.S., Voroshilova T.M., Zakharova Y.A., Khokhlova O.E., Kruglov A.N., Ershova M.G. et al. Antibiotic Resistance of MRSA in the Russian Federation. *Antibiot Khimioter* 2015, 60: 3–9.
- Lahiri S.D., Alm R.A. Identification of non-PBP2a resistance mechanisms in *Staphylococcus aureus* after serial passage with ceftaroline: involvement of other PBPs. *J Antimicrob Chemother* 2016.
- Greninger A.L., Chatterjee S.S., Chan L.C., Hamilton S.M., Chambers H.F., Chiu C.Y. Whole-genome sequencing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* resistant to fifth-generation cephalosporins reveals potential non-mecA mechanisms of resistance. *PLoS One* 2016, 11: e0149541.
- Banerjee R., Gretes M., Harlem C., Basuino L., Chambers H.F. A mecA-negative strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with high-level beta-lactam resistance contains mutations in three genes. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54: 4900–4902.
- Mendes R.E., Tsakris A., Sader H.S., Jones R.N., Biek D., McGhee P., Appelbaum P.C., Kosowska-Shick K. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* displaying increased MICs of ceftaroline. *J Antimicrob Chemother* 2012.
- Kelley W.L., Jouselin A., Barras C., Lelong E., Renzoni A. Missense mutations in PBP2A affecting ceftaroline susceptibility detected in epidemic hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clonotypes ST228 and ST247 in Western Switzerland archived since 1998. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59: 1922–1930.
- Vogel V., Falquet L., Calderon-Copete S.P., Basset P., Blanc D.S. Short term evolution of a highly transmissible methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone (ST228) in a tertiary care hospital. *PLoS One* 2012; 7: e38969.
- Senn L., Clerc O., Zanetti G., Basset P., Prod'homme G., Gordon N.C., Sheppard A.E., Crook D.W., James R., Thorpe H.A. et al. The stealthy superbug: the role of asymptomatic enteric carriage in maintaining a long-term hospital outbreak of ST228 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *MBio* 2016; 7: e02039–02015.
- Saravolatz S.N., Martin H., Pawlak J., Johnson L.B., Saravolatz L.D. Ceftaroline-heteroresistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58: 3133–3136.
- INTERNATIONAL STANDARD ISO 20776-1. Clinical laboratory testing and *in vitro* diagnostic test systems — Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices — Part 1: Reference method for testing the *in vitro* activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases.
- Dong Y., Zhao X., Domagala J., Drlica K. Effect of fluoroquinolone concentration on selection of resistant mutants of *Mycobacterium bovis* BCG and *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 1756–1758.
- Blondeau J.M. New concepts in antimicrobial susceptibility testing: the mutant prevention concentration and mutant selection window approach. *Vet Dermatol* 2009; 20: 383–396.
- Classification of staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec): guidelines for reporting novel SCCmec elements. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 4961–4967.
- Brunel A.S., Bouzinbi N., Corne P., Banuls A.L., Shahbazkia H.R. DNAGear — a free software for spa type identification in *Staphylococcus aureus*. *BMC Res Notes* 2012; 5: 642.
- Bartels M.D., Petersen A., Worning P., Nielsen J.B., Larner-Svensson H., Johansen H.K., Andersen L.P., Jarlov J.O., Boye K., Larsen A.R., Westh H. Comparing whole-genome sequencing with Sanger sequencing for spa typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2014; 52: 4305–4308.
- Nurk S., Bankevich A., Antipov D., Gurevich A.A., Korobeynikov A., Lapidus A., Prjibelski A.D., Pyshkin A., Sirotkin A., Sirotkin Y. et al. Assembling single-cell genomes and mini-metagenomes from chimeric MDA products. *J Comput Biol* 2013; 20: 714–737.
- Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* 2014; 30: 2114–2120.
- Zankari E., Hasman H., Cosentino S., Vestergaard M., Rasmussen S., Lund O., Aarestrup F.M., Larsen M.V. Identification of acquired antimicrobial resistance genes. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67: 2640–2644.
- Joensen K.G., Scheutz F., Lund O., Hasman H., Kaas R.S., Nielsen E.M., Aarestrup F.M. Real-time whole-genome sequencing for routine typing, surveillance, and outbreak detection of verotoxigenic *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 2014; 52: 1501–1510.
- Kaas R.S., Leekitcharoenphon P., Aarestrup F.M., Lund O. Solving the problem of comparing whole bacterial genomes across different sequencing platforms. *PLoS One* 2014; 9: e104984.
- Otero L.H., Rojas-Altuve A., Llarull L.I., Carrasco-Lopez C., Kumarasiri M., Lastochkin E., Fishovitz J., Dawley M., Heseck D., Lee M. et al. How allosteric control of *Staphylococcus aureus* penicillin binding protein 2a enables methicillin resistance and physiological function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: 16808–16813.
- Van Wart S.A., Ambrose P.G., Rubino C.M., Khariton T., Riccobene T.A., Friedland H.D., Critchley I.A., Bhavnani S.M. Pharmacokinetic-pharmacodynamic target attainment analyses to evaluate *in vitro* susceptibility test interpretive criteria for ceftaroline against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58: 885–891.
- MacGowan A.P., Noel A.R., Tomaselli S., Bowker K.E. Pharmacodynamics of ceftaroline against *Staphylococcus aureus* studied in an *in vitro* pharmacokinetic model of infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57: 2451–2456.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Гостев Владимир Валерьевич — к.б.н., научный сотрудник отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

Калиногорская Ольга Серафимовна — к.м.н., научный сотрудник отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург

Дмитренко Ольга Александровна — д.м.н., ведущий научный сотрудник, лаборатории молекулярных основ патогенности (с группой стафилококковых инфекций) отдела бактериальных инфекций Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи», Москва

Уведомление: Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда (проект №15-15-00185)

Цветкова Ирина Анатольевна — младший научный сотрудник отдела 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, ведущий научный сотрудник отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства»; профессор кафедры медицинской микробиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-Западного государственного медицинского университета имени И. И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург