

УДК 579.61

DOI: 10.14427/jipai.2016.1.78

Гены вирулентности у штаммов *Enterococcus* spp, выделенных из гемокультуры у больных опухолями системы крови в России

С.А. Хрульнова, А.В. Фёдорова, Г.А. Клясова

ФГБУ «Гематологический научный центр» Министерства здравоохранения РФ, Российская Федерация

Virulence genes in *Enterococcus* spp. strains, isolated from blood cultures of patients hematological malignancies in Russia

S.A. Khrulnova, A.V. Fedorova, G.A. Klyasova

National Research Center for Hematology, Moscow, Russian Federation

Аннотация

Энтерококки входят в число ведущих возбудителей сепсиса у больных гемобластозами. Эти микроорганизмы, наряду с разными параметрами чувствительности, имеют разные гены вирулентности, которые могут иметь значение в инфекционном процессе.

Цель исследования. Изучить наличие генов вирулентности *esp*, *asa1*, *cylA*, *hyl* и *gelE* у *Enterococcus* spp., выделенных из гемокультуры у больных гемобластозами.

Результаты. Всего было исследовано 363 госпитальных штамма *Enterococcus* spp., выделенных из гемокультур пациентов, находящихся на лечении в 12 стационарах России. Среди выделенных штаммов *Enterococcus* spp. было 281 (77.4%) *E. faecium*, 74 (20.4%) *E. faecalis*, 8 (2.2%) других (5 *E. gallinarum*, 2 *E. durans* и 1 *E. hirae*). Устойчивыми к ванкомицину были 37 (13.2%) *E. faecium* (VREfm) и один (1.4%) штамм *E. faecalis*. Среди VREfm 29 (78.4%) штаммов имели ген *vanA* и 8 (21,6%) ген *vanB*. Гены вирулентности были обнаружены у 334 (92%) штаммов. Исследуемые гены отсутствовали у 29 (8%) штаммов, из них 23 (8.2%) *E. faecium*, 3 (4.1%) *E. faecalis*, 3 (37.5%) других (1 *E. gallinarum*, 1 *E. durans*, 1 *E. hirae*). Среди генов вирулентности, обнаруженных у *E. faecium*, преобладали *esp* (75.8%) и *hyl* (65.5%), у штаммов *E. faecalis* преобладающими были *asa1* (62.2%) и *gelE* (68.9%).

Заключение. Полученные данные показывают, что *E. faecium* были доминирующим видом среди *Enterococcus* spp., выделенных из гемокультуры. У большинства штаммов *Enterococcus* spp. были обнаружены исследуемые гены вирулентности. Было показано, что разные гены вирулентности были преобладающими у *E. faecium* и у *E. faecalis*.

Ключевые слова

Энтерококки, гены вирулентности, гемокультура, больные гемобластозами.

Summary

Enterococci are among the leading causative agents of sepsis in patients with hematological malignancies. These microorganisms, along with different parameters of susceptibility, have different virulence genes that may be important in the infectious process.

The aim of the study. To study the presence of virulence genes *esp*, *asa1*, *cylA*, *hyl* and *gelE* among *Enterococcus* spp. isolated from blood cultures in patients with hematological malignancies.

Results. Enterococcus spp. were isolated from blood in 12 hospitals in Russia. A total of 363 Enterococcus spp. isolates (281 (77.4%) *E. faecium*, 74 (20.4%) *E. faecalis*, 8 (2.2%) others (5 *E. gallinarum*, 2 *E. durans* and 1 *E. hirae*)) were examined. Resistance to vancomycin was detected in 37 (13.2%) *E. faecium* (VREfm) and one (1.4%) *E. faecalis* (VREfs). VREfm carried genes of *vanA* (78.4%, 29) and *vanB* (21.6%, 8). Virulence genes were detected in 334 (92%) strains of *Enterococcus* spp. Tested genes were not found in 29 (8%) strains: 23 (8.2%) *E. faecium*, 3 (4.1%) *E. faecalis*, 3 (37.5%) others (1 *E. gallinarum*, 1 *E. durans*, and 1 *E. hirae*). Genes *esp* and *hyl* prevailed among *E. faecium* (75.8% and 65.5%, respectively), genes *asa1* and *gelE* - *E. faecalis* (62.2% and 68.9%, respectively).

Conclusion. *E. faecium* strains were dominated among *Enterococcus* spp. isolated from blood cultures. The most strains had virulence genes. It has been shown that different virulence genes were predominant in *E. faecium* and *E. faecalis*.

Keywords

Enterococci, virulence genes, blood culture, patients with hematological malignancies.

Введение

В настоящее время энтерококки занимают одну из лидирующих позиций среди возбудителей госпитальных инфекций [1, 2]. *E. faecalis* и *E. faecium* являются преобладающими штаммами среди энтерококков, выделенных при бактеремии, инфекционных эндокардитах и инфекций мочевыводящих путей. Другие виды энтерококков (*E. durans*, *E. avium*, *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*) значительно реже вызывают инфекции. Распространению энтерококков в условиях стационара способствует резистентность ко многим антимикробным препаратам и наличие разных факторов вирулентности.

Наиболее значимыми факторами вирулентности у энтерококков являются энтерококковый поверхностный протеин, субстанция агрегации, цитолизин, экзоферменты желатиназа и гиалуронидаза.

Энтерококковый поверхностный протеин, кодируемый геном *esp*, обладает адгезивными свойствами. Он имеет существенное значение в процессе колонизации и развитии энтерококковой инфекции мочевыводящих путей [3, 4]. Также в исследованиях на животных было показано участие энтерококкового поверхностного протеина в формировании биопленок [5, 6, 7]. Образованию биопленок способствует адгезия микроорганизмов к различным органическим и неорганическим поверхностям, приводящая к развитию катетер-ассоциированных инфекций. В исследованиях было продемонстрировано, что другой фермент энтерококков – желатиназа (внеклеточная цинксодержащая металлопротеиназа, кодируемая геном *gelE*), также может принимать участие в формировании биопленок. Желатиназа гидролизует желатин, коллаген, фибриноген, казеин, гемоглобин, инсулин и ряд других биологически-активных соединений [8]. Следующим ферментом, способным повреждать ткани, является гиалуронидаза, кодируемая геном *hyl*. Известно, что гиалуронидаза разрушает гиалуроновую кислоту, входящую в состав соединительных тканей, и является ферментом, повышающим инвазивную способность микроорганизма. Таким образом, гиалуронидаза способствует проникновению бактерий в ткани макроорганизма [9].

Одним из наиболее хорошо изученных факторов вирулентности является субстанция агрегации, кодируемая геном *asa1*. Субстанция агрегации является бактериальным адгезином, обеспечивающим прямой контакт между бактериями при обмене плазмидами. Наряду с адгезивными

функциями при бактериальной конъюгации, субстанция агрегации способствует адгезии *E. faecalis* к различным эукариотическим клеткам. Это подтверждено в исследованиях *in vitro* на клетках эпителия мочевыводящих путей и кишечника [10]. К факторам вирулентности относится цитолизин, который является бактериальным токсином и кодируется геном *cytA*. Цитолизин обладает β -гемолитическими свойствами и бактерицидным действием в отношении других грамположительных бактерий [11].

Известно, что гены, кодирующие цитолизин, субстанцию агрегации, энтерококковый поверхностный протеин и гиалуронидазу, могут находиться в составе мобильных элементов ДНК (плазмиды и островки патогенности) и передаваться между штаммами энтерококков.

Целью данного исследования было изучение генов вирулентности (*esp*, *asa1*, *cytA*, *hyl* и *gelE*) у штаммов *Enterococcus* spp., выделенных из гемокультуры у больных гемобластомами.

Материалы и методы

Материалом исследования являлись госпитальные штаммы *Enterococcus* spp, выделенные из гемокультур от больных, находившихся на стационарном лечении в гематологических отделениях 12 лечебных учреждений России. Для исследования брали первый штамм, выделенный из крови.

Все штаммы были доставлены в лабораторию ФГБУ «Гематологического научного центра» Министерства здравоохранения РФ (ГНЦ), где была проведена реидентификация всех микроорганизмов и последующие молекулярные исследования.

Хромосомную ДНК выделяли путем суспендирования одной петли бактериальных клеток из ночной культуры в 0,5 мл воды Milli Q. Суспензию клеток нагревали в течении 5 мин при 95°C, затем центрифугировали 1 мин при 13000 об/мин и отбирали супернатант.

Мультиплексную ПЦР для определения генов вирулентности ставили в трех вариантах. В первом варианте использовались специфичные праймеры для определения генов *asa1*, *cytA*, *esp*. Во втором варианте были использованы праймеры для определения генов *hyl* и *gelE*. Третий вариант мультиплексной ПЦР был направлен на определение генотипа (*vanA* или *vanB*) ванкомицин-устойчивых штаммов *E. faecium* с использованием специфичных праймеров. Мультиплексную ПЦР проводили в конечном объеме 20 мкл, содержащем 6 мкл экстрагированной ДНК, 8 мкл ПЦР-смеси-2-blue (ИнтерЛабСервис, Россия), 0,2

мМ дидоксирибонуклеозидтрифосфатов (dNTP), специфичные праймеры (табл.1) в концентрации 0,1 мкМ (каждый).

Программа амплификации с использованием термоциклера CFX96 Touch (BioRad, США) включала следующие этапы: предварительная денатурация 94°C - 3 мин, затем следовали 33 цикла денатурации (94°C в течение 1 мин), отжига (56°C для *asa1*, *esp*, *cylA*, 46 °C для *hyl*, *gelE* и 50 °C для *vanA*, *vanB*), элонгации (72 °C в течение 1 мин), затем один цикл при 72 °C в течение 7 мин. Полученные продукты ПЦР разделяли в 1% агарозном геле (Helicon, Россия, biotechnology grade) с добавлением этидия бромида (BioRad, США) при 200В в 1хТАЕ буфере (Литех, Россия). Визуализацию полос проводили при облучении геля УФ-светом с длиной волны 260 нм при помощи трансиллюминатора (Vilber Lourmat, Франция). В качестве маркера молекулярной массы использовали ДНК маркер GeneRuler™, 100 п.н. (Thermo Fisher Scientific, США).

Результаты и обсуждение

Было исследовано 363 штамма *Enterococcus* spp., выделенных из гемокультуры в период с 2002 по 2014 гг.. Среди выделенных изолятов было 77.4% (281) *E. faecium*, 20.4% (74) *E. faecalis*, 2.2% (8) другие *Enterococcus* spp. (5 *E. gallinarum*, 2 *E. durans* и 1 *E. hirae*). К ванкомицину были резистентными 37 (13.2%) *E. faecium* (VREfm) и один (1.4%) *E. faecalis*. Изоляты VREfm имели гены *vanA* (n=29) и *vanB* (n=8).

Гены вирулентности были обнаружены у 334 (92%) изолятов. Самым распространенным геном был *esp*, он был найден у 64.7% (n=235) *Enterococcus* spp.. Вторым по распространению являлся ген *hyl*, который был обнаружен у 55.4% (n=201) штаммов. В меньшей степени выявлялись гены *gelE*, *asa1* и *cylA* (19.6% (n=71), 14.9% (n=54), 8.3% (n=30), соответственно). Исследуемые гены отсутствовали у 29 (8%) *Enterococcus* spp., в их число вошли 23 (8.2%) *E. faecium*, 3 (4.1%) *E. faecalis* и 3 (37.5%) штамма из категории других *Enterococcus* spp. (*E. gallinarum*, *E. durans*, *E. hirae*).

Гены вирулентности были обнаружены у 258 (91,8%) изолятов *E. faecium* и у 71 (96%) изолята *E. faecalis*. Распределение генов среди *E. faecium* и *E. faecalis* показано в табл. 2. Гены *esp* и *hyl* достоверно чаще выявлялись у *E. faecium*, чем у *E. faecalis* (соответственно 75.8% против 29.7%, 65.5% против 17.6%, p<0.001). Доминирующими генами у *E. faecalis* были *gelE* и *asa1* (соответственно 68.9% и 62.2%). Наши данные согласуются с результатами других исследователей [17]. В работе Yu и соавт. [17] были изучены штаммы *E. faecium* и *E. faecalis*, выделенные из разных локусов у больных, находившихся на лечении в гематологическом отделении. Так ген *esp* также чаще обнаруживали у *E. faecium*, чем у *E. faecalis* (56.5% против 34.2%, p=0.016), а гены *gelE* и *asa1* - у *E. faecalis* (соответственно 13.9% против 4.3%, p=0.092, 38% против 4.3%, p<0.001). В исследовании Soheili и соавт. [18] ген *hyl* также преобладал

Таблица 1. Праймеры, используемые для проведения мультиплексной ПЦР.

| Ген | Название праймера | Последовательность олигонуклеотидов (5'-3') | Размер ПЦР -продукта (пар нуклеотидов) | Литературный источник |
|-------------|-------------------|---|--|-----------------------|
| <i>asa1</i> | <i>asa1_1</i> | CCAGCCAACSTATGGCGGAATC | 529 | [12] |
| | <i>asa1_2</i> | CCTGTTCGCAAGATCGACTGTA | | |
| <i>esp</i> | TE34 | TTGCTAATGCTAGTCCACGACC | 933 | [13] |
| | TE36 | GCGTCAACACTTGCATTGCCGAA | | |
| <i>cylA</i> | <i>cylAF</i> | TTGCTGGAGTAATAGACACGATTG | 427 | [14] |
| | <i>cylAR</i> | TTGTAATTGTCACCATATCCTCCTG | | |
| <i>hyl</i> | Hyl n1 | ACAGAAGAGCTGCAGGAAATG | 276 | [15]. |
| | Hyl n2 | GACTGACGTCCAAGTTTCCAA | | |
| <i>gelE</i> | TE9 | ACCCCGTATCATTGGTTT | 419 | [13] |
| | TE10 | ACGCATTGCTTTTCCATC | | |
| <i>vanA</i> | A1 | GGGAAAACGACAATTGC | 732 | [16] |
| | A2 | GTACAATGCGGCCGTTA | | |
| <i>vanB</i> | B1 | ATGGGAAGCCGATAGTC | 635 | [16] |
| | B2 | GATTTTCGTTCCCTCGACC | | |

у *E. faecium* в сравнении с *E. faecalis* (82.7% против 8%, $p < 0.001$). В этой работе были изучены штаммы *Enterococcus* spp., выделенные из разных локусов. Полученные нами данные по частоте обнаружения гена *esp* совпадают с результатами ряда исследований, в которых ген *esp* был выявлен у 77% и 76.9% *E. faecium*, выделенных из гемокультуры [19, 20]. В то же время есть разногласия с этими работами по частоте детекции гена *hyl* у *E. faecium*, в которых этот показатель составлял 13% и 7.7%, а в нашем исследовании – 65,5% [19, 20]. Полагают, что такие отличия могут быть связаны с регионом исследования и анализируемой популяцией бактерий.

Наличие только одного гена вирулентности достоверно чаще определялось у *E. faecium* (35,6%) в сравнении с *E. faecalis* (17.6%, $p < 0.01$), в то время как сочетание двух и более генов преобладало у *E. faecalis* (78.4% против 56.2%, $p < 0.01$).

Среди ванкомицин-чувствительных *E. faecium* (VSEfm) и VREfm распределение генов вирулентности *esp*, *cytA*, *hyl*, *gelE* было сопоставимым за исключением гена *asa1*, который преобладал у изолятов VREfm (8.1% (3) против 1.6% (4), $p < 0.02$) (табл. 3). Ген *esp* был доминирующим как у VSEfm штаммов, так и у VREfm (соответственно 76.6% и 70.3%). Ген *cytA* не был обнаружен у VREfm, что совпадает с результатами ранее опубликованного нами исследования [21], в котором были изучены VREfm, выделенные преимущественно со слизи-

стой оболочки кишечника больных с опухолями системы крови. В нашем исследовании 2010 г [21] также доминирующим геном у VREfm был *esp* (91%), но были значимые отличия в выявлении генов *hyl* и *gelE* у VREfm при сравнении с результатами данного исследования (соответственно *hyl* 59.5% против 27%, *gelE* 10.8% против 67%, $p < 0.001$). Вероятно, такие отличия обусловлены изучаемой популяцией микроорганизмов. В представленном исследовании все штаммы VREfm были выделены только из гемокультуры, а в публикации 2010 г. преимущественно со слизистой оболочки кишечника.

Среди VREfm преобладали изоляты с генами *vanA* (78%). У VREfm с генотипом *vanA* ($n=29$) были обнаружены гены вирулентности *esp*, *hyl*, *asa1*, *gelE* (69% ($n=20$), 55.2% ($n=16$), 10.3% ($n=3$), 13.8% ($n=4$), соответственно), в то время как у изолятов VREfm с генотипом *vanB* ($n=8$) присутствовали только *esp* и *hyl*. Наши результаты подтверждают данные, полученные в работе Worth и соавт. [20], в которой гены *asa1*, *cytA* и *gelE* также не были обнаружены среди VREfm с генотипом *vanB*. Исследуемые гены вирулентности не были нами обнаружены у 4 изолятов VREfm с генотипом *vanA*.

Заключение

Результаты исследования свидетельствуют о преобладании *E. faecium* среди *Enterococcus*

Таблица 2. Распределение исследуемых генов вирулентности среди *E. faecium* и *E. faecalis*.

| Исследуемые гены вирулентности | <i>E. faecium</i> ($n = 281$) | <i>E. faecalis</i> ($n = 74$) | P |
|--------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|--------|
| <i>esp</i> | 213 (75.8%) | 22 (29.7%) | 0.0001 |
| <i>hyl</i> | 184 (65.5%) | 13 (17.6%) | 0.0001 |
| <i>gelE</i> | 18 (6.4%) | 51 (68.9%) | 0.0001 |
| <i>asa1</i> | 7 (2.5%) | 46 (62.2%) | 0.0001 |
| <i>cytA</i> | 3 (1.1%) | 27 (36.5%) | 0.0001 |
| не обнаружены | 23 (8.2%) | 3 (4.1%) | 0.225 |

Таблица 3. Распределение исследуемых генов вирулентности среди *E. faecium*.

| Исследуемые гены вирулентности | VSE ($n = 244$, 86.8%) | VRE ($n = 37$, 13.2%) | P |
|--------------------------------|-----------------------------|----------------------------|-------|
| <i>esp</i> | 187 (76.6%) | 26 (70.3%) | 0.399 |
| <i>hyl</i> | 162 (66.4%) | 22 (59.5%) | 0.408 |
| <i>gelE</i> | 14 (5.7%) | 4 (10.8%) | 0.24 |
| <i>asa1</i> | 4 (1.6%) | 3 (8.1%) | 0.019 |
| <i>cytA</i> | 3 (1.2%) | 0 | 0.498 |
| не обнаружены | 19 | 4 | 0.532 |

spp., выделенных из гемокультуры от больных гемобластозами. Гены вирулентности, которые могут иметь значение в инфекционном процессе, были выявлены у большинства изолятов *Enterococcus* spp. (у 91.8% *E. faecium* и у 96% *E. faecalis*). Гены *esp* и *hyl* достоверно чаще определялись у *E. faecium*, гены *asa1* и *gelE* – у *E. faecalis* ($p < 0.001$).

При изучении генов вирулентности у VSEfm и VREfm были определены достоверные отличия в частоте обнаружения только одного гена *asa1*, который преобладал у VREfm. У VREfm с генотипом *vanA* присутствовали практически все исследуемые гены, кроме *cylA*, в то время как у штаммов с генотипом *vanB* – только два (*esp* и *hyl*).

Литература

1. Top J., Willems R., Bonten M. Emergence of CC17 *Enterococcus faecium*: from commensal to hospital-adapted pathogen. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2008; 52: 297–308. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2008.00383.x.
2. Клясова Г.А., Сперанская Л.Л., Миронова А.В., и соавт. Возбудители сепсиса у иммунокомпрометированных больных: структура и проблемы антибиотикорезистентности (результаты многоцентрового исследования). *Гематология и трансфузиология.* 2007; 52 (1): 13-18.
3. Shankar N., Lockatell C.V., Baghdayan A.S. et al. Role of *Enterococcus faecalis* surface protein *Esp* in the pathogenesis of ascending urinary tract infection. *Infect Immun* 2001; 69: 4366–4372
4. Borgmann S., Niklas D.M., Klare I. et al. Two episodes of vancomycin resistant *Enterococcus faecium* outbreaks caused by two genetically different clones in a newborn intensive care unit. *Int J Hyg Environ Health* 2004; 207, 386–389.
5. Heikens E., Bonten M.J., Willems R.J. Enterococcal surface protein *Esp* is important for biofilm formation of *Enterococcus faecium* E1162. *J Bacteriol.* 2007; 189: 8233–8240.
6. Leendertse M., Heikens E., Wijnands L.M. et al. Enterococcal surface protein transiently aggravates *Enterococcus faecium* induced urinary tract infection in mice. *J Infect Dis.* 2009; 200: 1162–1165. DOI: 10.1086/605609.
7. Heikens E., Singh K.V., Jacques-Palaz K.D. et al. Contribution of the enterococcal surface protein *Esp* to pathogenesis of *Enterococcus faecium* endocarditis. *Microbes Infect.* 2011; 13: 1185–1190. DOI: 10.1016/j.micinf.2011.08.006.
8. Mäkinen P.L., Clewell D.B., An F. et al. Purification and substrate specificity of a strongly hydrophobic extracellular metalloendopeptidase ('gelatinase') from *Streptococcus faecalis* (strain OG1-10). *J. Biol. Chem.* 1989; 264: 3325–3334.
9. Hynes W.L., Walton S.L. Hyaluronidases of Gram-positive bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.* 2000; 183: 201–207.
10. Krefit B., Marre R., Schramm U. et al. Aggregation substance of *Enterococcus faecalis* mediates adhesion to cultured renal tubular cells. *Infect. Immunol.* 1992; 60: 25–30.
11. Coburn P.S., Hancock L.E., Booth M.C. et al. A novel means of self-protection, unrelated to toxin activation, confers immunity to the bactericidal effects of the *Enterococcus faecalis* cytotoxin. *Infect. Immun.* 1999; 67: 3339–3347.
12. Kolodjjeva V., Yafaev R., Yermolenko E. et al. Incidence of virulence determinants in enterococcal strains of probiotic and clinical origin. *Int. Cong. Series.* 2006; 1289: 367–369.
13. Eaton T.J., Gasson M.J. Molecular screening of *Enterococcus* virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates. *Appl. Environ. Microbiol.* 2001; 67: 1628–1635.
14. Khan S.A., Nawaz M.S., Khan A.A. et al. Molecular characterization of multidrug-resistant *Enterococcus* spp. From poultry and dairy farms: detection of virulence and vancomycin resistance gene markers by PCR. *Mol Cell Probes.* 2005; 19(1): 27–34.
15. Vankerckhoven V., Van Autgaerden T., Vael C. et al. Development of a multiplex PCR for the detection of *asa1*, *gelE*, *cylA*, *esp*, and *hyl* genes in enterococci and survey for virulence determinants among European hospital isolates of *Enterococcus faecium*. *J Clin Microbiol.* 2004; 42: 4473–4479.
16. Dutka-Malen S., Evers S., Courvalin P. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. *J Clin Microbiol.* 1995; 33: 24–27 [Erratum in: *J Clin Microbiol* 1995; 33:1434].
17. Yu J., Shi J., Zhao R. et al. Molecular characterization and resistant spectrum of enterococci isolated from a haematology unit in China. *J Clin Diagn Res.* 2015; 9(6): DC04-7. DOI: 10.7860/JCDR/2015/12864.6097.
18. Soheili S., Ghafourian S., Sekawi Z. et al. Wide distribution of virulence genes among *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* clinical isolates. *ScientificWorldJournal.* 2014; 2014: 623174. DOI: 10.1155/2014/623174.
19. Rosvoll T.C., Lindstad B.L., Lunde T.M. et al. Increased high-level gentamicin resistance in invasive *Enterococcus faecium* is associated with *aac(6)Ie-aph(2)Ia*-encoding transferable megaplasmids hosted by major hospital-adapted lineages. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2012; 66(2): 166–76. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2012.00997.x.
20. Worth L.J., Slavin M.A., Vankerckhoven V. et al. Virulence determinants in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* *vanB*: clonal distribution, prevalence and significance of *esp* and *hyl* in Australian patients with haematological disorders. *J Hosp Infect.* 2008; 68(2):137–44.
21. Brilliantova A.N., Kliasova G.A., Mironova A.V. et al. Spread of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in two haematological centres in Russia. *Int J Antimicrob Agents.* 2010; 35(2): 177–81. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2009.10.006.

Сведения об авторах:

Клясова Галина Александровна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая научно-клинической лабораторией клинической бактериологии, микологии и антибиотической терапии ФГБУ «Гематологический научный центр» Министерства здравоохранения РФ. Адрес: Москва, 125167, Новый Зыковский проезд, д. 4. Телефон: +7(495) 612-51-81. E-mail: klyasova.g@blood.ru

Поступила 19.01.2016 г.