

БАКТЕРИЕМИИ И ИНФЕКЦИИ ЦНС У ДЕТЕЙ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*: МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ



З.З. Садеева¹, И.Е. Новикова¹, А.В. Лазарева¹, Н.М. Алябьева¹, О.В. Карасева^{1,2},
О.Г. Янюшкина², М.Г. Вершинина¹, А.П. Фисенко¹

¹ ФГАУ Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

² НИИ неотложной детской хирургии и травматологии Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия

Резюме. *Klebsiella pneumoniae* является одним из наиболее значимых и опасных для жизни возбудителей внутрибольничных инфекций. Этот оппортунистический микроорганизм может вызывать инфекции кровотока, респираторного тракта, мочевыводящих путей, кожи и мягких тканей, воспаление мозговой оболочки головного и спинного мозга, приводя к увеличению госпитальной летальности. Целью нашего исследования было ретроспективное изучение молекулярно-генетических характеристик *K. pneumoniae*, выделенных из образцов крови и ликвора, а также описание клинических особенностей при бактериемии и инфекции ЦНС. По результатам оценки клинических данных изоляты *K. pneumoniae* были выделены от 64 детей, наблюдавшихся с хирургической патологией (врожденные пороки сердца — 30%, абдоминальная патология — 39%, тяжелая сочетанная травма — 12%) и с соматическими заболеваниями, сопровождающимися антибактериальной и/или глюкокортикостероидной терапией — 14%. Минимальные подавляющие концентрации антибиотиков определяли методом серийных микроразведений в бульоне. Карбапенемазы выявляли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Определение генов вирулентности и капсульных серотипов K1/K2 проводили методом мультиплексной ПЦР. Биопленки выращивали с использованием плоскодонных полистироловых планшетов с последующей окраской, фиксированием, элюированием и детекцией результатов. Популяционное разнообразие оценивали методом мультилокусного сиквенс-типирования. Бактериемии и инфекции ЦНС, ассоциированные с *K. pneumoniae*, в 25% случаев завершились летальным исходом. Значительная часть изолятов продемонстрировала фенотип широкой лекарственной устойчивости (ШЛУ) — 43%, фенотип множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) проявили 16% изолятов. Ген цефалоспоринызы *bla*_{CTX-M} был обнаружен у 85% штаммов. Главной детерминантой устойчивости к карбапенемам был ген *bla*_{OXA-48} (33%); у 9% штаммов выявлен ген *bla*_{NDM}. Сочетание *bla*_{OXA-48} и *bla*_{NDM} обнаружено у 7% изолятов. Изучение продукции биопленок показало, что умеренную способность к образованию биопленок проявлял 61%, сильную — 21% и слабую — 15% изолятов. Два изолята (3%) не образовывали биопленок. Гены вирулентности *entB* и *mrkD* были выявлены у 100% изолятов, *ybtS* — у 78%. У 18% штаммов определялся ген

Адрес для переписки:

Садеева Зульфияр Закиевна
119296, Россия, Москва, Ломоносовский пр., 2,
ФГАУ Национальный медицинский исследовательский центр
здоровья детей МЗ РФ.
Тел.: 8 977 129-31-01. E-mail: zulfiryasadeeva@yandex.ru

Contacts:

Zulfirya Z. Sadeeva
119296, Russian Federation, Moscow, Lomonosovsky pr., 2,
National Medical Research Center for Children's Health,
Ministry of Health of the Russian Federation.
Phone: +7 977 129-31-01. E-mail: zulfiryasadeeva@yandex.ru

Для цитирования:

Садеева З.З., Новикова И.Е., Лазарева А.В., Алябьева Н.М.,
Карасева О.В., Янюшкина О.Г., Вершинина М.Г., Фисенко А.П.
Бактериемии и инфекции ЦНС у детей, ассоциированные с *Klebsiella pneumoniae*: молекулярно-генетическая характеристика и клинические особенности // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 6. С. 1117–1128.
doi: 10.15789/2220-7619-PBA-14482

Citation:

Sadeeva Z.Z., Novikova I.E., Lazareva A.V., Alyabyeva N.M., Karaseva O.V.,
Yanushkina O.G., Vershinina M.G., Fisenko A.P. Pediatric bacteremia and
CNS infections associated with *Klebsiella pneumoniae*: molecular genetic
characteristics and clinical features // Russian Journal of Infection and
Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 6, pp. 1117–1128.
doi: 10.15789/2220-7619-PBA-14482

iutA. Два изолята показали наличие гена *kfu*. К серотипу K2 принадлежали семь изолятов. У изученных нами изолятов *K. pneumoniae* было обнаружено 27 различных генотипов. Наиболее часто встречающимися были: ST307 — 21%, ST395 — 12%, ST48 — 7%, ST39 — 6% и ST29 — 6%. Инфекции кровотока и центральной нервной системы, ассоциированные *K. pneumoniae*, имеют большое значение в клинической практике. Этот микроорганизм способен длительно сохраняться на биотических и абиотических поверхностях, обладает широкой природной и приобретенной резистентностью к антибиотикам.

Ключевые слова: *Klebsiella pneumoniae*, бактериемия, нозокомиальные инфекции, резистентность, вирулентность, сепсис.

PEDIATRIC BACTEREMIA AND CNS INFECTIONS ASSOCIATED WITH *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*: MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTICS AND CLINICAL FEATURES

Sadeeva Z.Z.^a, Novikova I.E.^a, Lazareva A.V.^a, Alyabyeva N.M.^a, Karaseva O.V.^{a,b}, Yanushkina O.G.^b, Vershinina M.G.^a, Fisenko A.P.^a

^a National Medical Research Center for Children's Health of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

^b Clinical and Research Institute of Emergency Pediatric Surgery and Trauma, Department of Public Health of Moscow, Moscow, Russian Federation

Abstract. *Klebsiella pneumoniae* is one of the most significant and life-threatening pathogen of nosocomial infections. This opportunistic microorganism can cause infections of the bloodstream, respiratory tract, urinary tract, skin and soft tissues, inflammation of meninges of the brain and spinal cord, leading to elevated hospital mortality. The purpose of our study was a retrospective analysis of molecular genetic characteristics of *K. pneumoniae* isolated from blood and liquor samples as well as to describe clinical features in bacteremia and CNS infections. According to the results of assessed clinical data, *K. pneumoniae* isolates were selected from 64 children suffered from surgical pathology (congenital heart defects — 30%, abdominal pathology — 39%, severe combined trauma — 12%) and somatic diseases accompanied by antibacterial and/or glucocorticosteroid therapy — 14%. The minimum suppressive concentrations of antibiotics were determined by the broth micro-dilution method. Carbapenemases were detected by real time polymerase chain reaction. Virulence genes and capsule serotypes K1/K2 were assessed by multiplex PCR. Biofilms were grown using flat-bottomed polystyrene plates, followed by coloring, fixation, elution and data detection. The population diversity was assessed by multilocus sequence typing. Bacteremia and CNS infections associated with *K. pneumoniae* were fatal in 25% of cases. A substantial portion of the isolates demonstrated the phenotype of extremely drug resistance (XDR) — 43%, the phenotype of multidrug resistance (MDR) was shown in 16% of the isolates. The *bla*_{CTX-M} cephalosporinase gene was found in 85% of the strains. The main determinant of resistance to carbapenems was the *bla*_{OXA-48} gene (33%); the *bla*_{NDM} gene was detected in 9% of strains. The combination of *bla*_{OXA-48} and *bla*_{NDM} was found in 7% of isolates. The study of biofilm production showed that moderate ability to form biofilms was shown in 61%, strong — 21%, and weak — 15% isolates. Two isolates (3%) did not form biofilms. The virulence genes *entB* and *mrkD* were detected in 100% of isolates, *ybtS* — in 78%. The *iutA* gene was found in 18% of the strains. Two isolates showed the presence of the *kfu* gene. Seven isolates belonged to the K2 serotype. 27 different genotypes were found in *K. pneumoniae* isolates examined. The most common were: ST307 — 21%, ST395 — 12%, ST48 — 7%, ST39 — 6% and ST29 — 6%. Infections of the bloodstream and central nervous system associated with *K. pneumoniae* have great importance in clinical practice. This microorganism is able to long persist on biotic and abiotic surfaces, has a wide natural and acquired resistance to antibiotics.

Key words: *Klebsiella pneumoniae*, bacteremia, nosocomial infections, resistance, virulence, sepsis.

Введение

Klebsiella pneumoniae является одним из наиболее значимых и опасных для жизни возбудителей внутрибольничных инфекций. Этот оппортунистический микроорганизм может вызывать инфекции кровотока, респираторного тракта, мочевыводящих путей, кожи и мягких тканей, воспаление мозговой оболочки головного и спинного мозга, приводя к увеличению госпитальной летальности, особенно у иммуносупрессированных пациентов, новорожденных и пожилых пациентов [19]. *K. pneumoniae* наряду с другими представителями порядка *Enterobacterales* имеет множество факторов, спо-

собствующих колонизации организма хозяина, а также способность к приобретению устойчивости к многим классам антибиотиков [6]. Геном *K. pneumoniae* может содержать большое количество детерминант резистентности, среди них особое значение имеют гены, кодирующие ферменты, разрушающие антибиотики. С точки зрения эпидемиологии наибольшую роль играют карбапенемазы групп: KPC, OXA-48, NDM и β-лактамазы расширенного спектра действия CTX-M типа [9, 18]. Распространение множественно-резистентных *K. pneumoniae* часто ассоциировано с международными клонами высокого риска, которые являются носителями генов карбапенемаз [24]. Изоляты, обладающие

устойчивостью ко многим группам антибиотиков, а также имеющие дополнительные факторы вирулентности, играют большую роль в высокой смертности при инфекциях, ассоциированных с нозокомиальными патогенами [10].

Целью данного исследования было ретроспективное изучение молекулярно-генетических характеристик *K. pneumoniae*, выделенных из образцов крови и ликвора, а также описание клинических особенностей при бактериемии и инфекции ЦНС.

Материалы и методы

Бактериальные культуры. В период с 2014 по 2021 г. из положительных гемокультур и проб ликвора были отобраны 67 изолятов *K. pneumoniae*, которые были выделены от пациентов из двух многопрофильных детских стационаров: ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России (С1) — отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), ОРИТ новорожденных, соматические отделения, и НИИ неотложной детской хирургии и травматологии Департамента здравоохранения г. Москвы (С2) — ОРИТ. Образцы крови инкубировали в анализаторе гемокультур «BACTEC 9050» (Becton Dickinson, США), «BacT/ALERT» (bioMerieux, Франция) до фиксации роста микроорганизмов, затем пробу отсекали на плотные питательные среды для выделения чистой культуры возбудителя. Посевы производили на питательные среды: кровяной агар и Uri-select агар (BioRad, США), далее инкубировали в термостате при температуре 37°C в течение 24–48 ч. Идентификацию возбудителя проводили методом масс-спектрометрии MALDI-ToF (Bruker Daltonics, Германия).

Чувствительность к антибактериальным препаратам. Были определены минимальные подавляющие концентрации (МПК) следующих антибиотиков: меропенем, имипенем, колистин, азтреонам, тобрамицин, амикацин, гентамицин, фосфомицин, цефтазидим, цефепим, тикарциллин/клавуланат, пиперациллин/тазобактам, триметоприм/сульфаметоксазол, ципрофлоксацин. МПК антибиотиков определяли методом серийных микроразведений в бульоне Мюллера–Хинтон (bioMerieux, Франция), Sensititre™ (ThermoScientific, Великобритания). МПК меропенема определяли методом микроразведений в соответствии со стандартом (ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010). Результаты интерпретировали в соответствии с критериями Европейского комитета по тестированию чувствительности к антибиотикам (EUCAST), версия 10.0 (EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, version 10.0, 2020, pp. 10–20).

Все изоляты были разделены на штаммы с множественной лекарственной устойчивостью

(МЛУ) и штаммы с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ) в соответствии с рекомендациями [7]. Классификация базируется на чувствительности микроорганизмов к 6 группам антибиотиков: аминогликозидам (тобрамицин или гентамицин), пенициллинам (пиперациллин/тазобактам), карбапенемам (имипенем или меропенем), цефалоспорином (цефотаксим, цефтриаксон или цефтазидим), фторхинолонам (ципрофлоксацин), сульфаниламидам (триметоприм/сульфаметоксазол). Изоляты, проявляющие устойчивость к 3 или 4 перечисленным группам, классифицировали как МЛУ, штаммы, резистентные к 5 или 6 группам, относили к ШЛУ.

Выделение ДНК и определение генов карбапенемаз. Для выделения ДНК использовали суточную культуру. Бактериальную ДНК выделяли согласно инструкции производителя с использованием коммерческих наборов «ГК-экспресс» (ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия). Полученные образцы хранили до использования при температуре –20°C.

Выявление генов, отвечающих за продукцию цефалоспориноаз и карбапенемаз, проводили с использованием наборов с гибридным флуоресцентной детекцией «АмплиСенс ESBL CTX-M-FL» (CTX-M), «АмплиСенс MDR KPC/OXA-48-FL» (KPC, OXA-48), «АмплиСенс MDR MBL-FL» (IMP, NDM, VIM) производства ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. Проведение ПЦР осуществляли согласно инструкции производителя. ПЦР проводили с помощью амплификатора «LightCycler 96» (Roche, Швейцария/Германия).

Определение генов вирулентности и капсульных серотипов K1/K2. Гены вирулентности и принадлежность к капсульным серотипам K1/K2 определяли методом мультиплексной ПЦР [4]. Было определено наличие следующих генов: *magA*, специфичного для серотипа K1; *rmpA*, регулирующего синтез мукоидного фенотипа; *entB*, ассоциированного с синтезом энтеробактина; *ybtS*, связанного с синтезом йерсиниебактина; *kfu*, ответственного за связывание трехвалентного железа; *iutA*, кодирующего транспортер аэробактина; *mrkD*, ассоциированного с фимбриальными адгезинами 3 типа; *allS*, связанного с метаболизмом аллантиона; *wzi*, специфичного для серотипа K2. Ген *entB* использовался в качестве положительного контроля, так как широко распространен у изолятов *K. pneumoniae*. Результаты оценивали проведением электрофореза в 2% агарозном геле. Последовательности праймеров для определения генов вирулентности и K1/K2 были описаны Comrain F. и соавт. [4].

Биопленкообразование. Анализ формирования биопленок на абиотической поверхности про-

водили с использованием сердечно-мозгового бульона (ВНВ; Becton Dickinson, США) по ранее описанной методике с модификациями [12].

Биопленки выращивали в 96-луночных полистироловых планшетах с плоским дном в трех повторах. Аликвоту 20 мкл бактериальной суспензии с мутностью 0,8 по МакФарланду вносили в лунки, содержащие 180 мкл ВНВ с последующей 24-часовой инкубацией при 37°C без перемешивания. После удаления бульона и планктонных клеток фиксировали биопленки добавлением 200 мкл 2,5% глутарового альдегида (инкубация 5 мин при комнатной температуре). Затем трижды промывали дистиллированной водой. Для окрашивания вносили 200 мкл кристаллического фиолетового (0,1% спиртовой раствор), инкубировали в течение 10 мин. После этого трижды промывали дистиллированной водой. Для растворения и обесцвечивания связанного красителя добавляли 200 мкл 95% этанола — инкубация 30 мин. Оптическую плотность итогового раствора измеряли при длине волны 590 нм с использованием планшетного считывателя «Infinite 200M» (Tecan, Австрия). Интенсивность биопленкообразования определяли согласно рекомендациям АРМИС 2007, Stepanović S. и соавт. [23].

Мультилокусное секвенирование-типирование (МЛСТ). Генотипирование штаммов *K. pneumoniae* проводили методом МЛСТ согласно схеме, предложенной Институтом Пастера (Париж) [5]. Был проведен анализ семи «генов домашнего хозяйства»: *rpoB* (бета-субъединицы РНК-полимеразы), *gapA* (глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы), *mdh* (малатдегидрогеназы), *pgi* (фосфоглюкоза-изомеразы), *phoE* (фосфорина E), *infB* (фактора инициации трансляции 2), *tonB* (периплазматического энергетического трансдучера). Полученные нуклеотидные последовательности анализировали с использованием программы SeqMan (DNASTAR Inc.) и затем сравнивали с аллельными профилями базы данных BIGSdb (<https://bigsdb.pasteur.fr/klebsiella>).

Оценка клинических данных. Ретроспективно были проанализированы клинические данные пациентов, из крови или ликвора которых была выделена *K. pneumoniae*.

Статистические методы. Статистическую обработку данных проводили с помощью программ SPSS 20.0 (SPSS Statistics, США) и Microsoft Excel 2010. Различия считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты

Чувствительность к антибиотикам и фенотипы резистентности. Чувствительность к антимикробным препаратам изолятов *K. pneumoniae* представлена в табл. 1.

Фенотип МЛУ проявили 11 (16%) изолятов, фенотип ШЛУ имели 29 (43%) штаммов. При этом ШЛУ в сочетании с устойчивостью к колистину была выявлена у 17 (25%) штаммов. Достоверные различия по чувствительности к антибиотикам между двумя стационарами были определены только для ципрофлоксацина. Для изолятов из стационара С1 ципрофлоксацин *in vitro* был более эффективен, чем из стационара С2 ($p = 0,0247$).

Гены резистентности. Ген, отвечающий за продукцию цефалоспоридазы *bla*_{CTX-M}, был обнаружен у 57 изолятов, что составило 85%. Основной детерминантой устойчивости к карбапенемам был ген *bla*_{OXA-48} — частота его выявления составила 33%. Ген МБЛ (металло-β-лактамаза) *bla*_{NDM} обнаруживался значительно реже — у 9% изолятов. Комбинацию *bla*_{OXA-48} и *bla*_{NDM} имели 7% штаммов. Гены *bla*_{KPC}, *bla*_{IMP} и *bla*_{VIM} найдены не были. Было определено, что *bla*_{NDM} достоверно чаще определялся в период с 2018 по 2021 гг. ($p = 0,003$).

Вирулентность. Все штаммы *K. pneumoniae* имели гены *entB* и *mrkD*. В значительной доле случаев определялся ген *ybtS* — 52 (78%). Аэробактин *iutA* был обнаружен у 12/67 (18%) штаммов. Способность к связыванию трехвалентного железа, кодируемая геном *kfu*, была характерна всего для двух изолятов (3%). Ген *wzi*, кодирующий капсульный серотип K2, был определен у семи изолятов *K. pneumoniae*. Штаммы, относящиеся к гипервирулентному серотипу K1, в нашем исследовании не встречались. Гены *rmpA* и *allS* не определялись ни у одного из изученных изолятов. Комбинации различных генов вирулентности у одного изолята представлены на рис. 1.

Биопленкообразование. Основная масса изолятов *K. pneumoniae* была способна к образованию биопленок. Всего два изолята (3%) не образовывали биопленок. Умеренную способность к образованию биопленок проявлял 41 (61%) изолят; сильную — 14 (21%) штаммов и слабую — 10 (15%) изолятов. Было определено, что в период с 2014 по 2017 г. чаще выявлялись изоляты, образующие сильные биопленки ($p = 0,0005$), а в период с 2018 по 2021 г. преобладали изоляты с умеренной способностью к образованию биопленок ($p = 0,002$).

Генотипирование. У изученных нами изолятов *K. pneumoniae* было обнаружено 27 различных генотипов. Наиболее часто встречающимися были: ST307 — 21%, ST395 — 12%, ST48 — 7%, ST39 — 6% и ST29 — 6% (рис. 2).

Основная масса резистентных к карбапенемам изолятов принадлежала к генотипам ST307, ST395, ST48, ST29, ST2975 и ST198. Устойчивые к колистину изоляты относились к генотипам ST395 (5/17), ST307 (4/17), ST2975 (3/17), по од-

Таблица 1. Чувствительность K. pneumoniae к антимикробным препаратам

Table 1. K. pneumoniae sensitivity to antimicrobial drugs

Антимикробный препарат Antimicrobial drug	Чувствительный Sensitive		Чувствительный при повышенной экспозиции Sensitive at increased exposure		Резистентный Resistant	
	n	%	n	%	n	%
Меропенем Meropenem	37	55	7	11	23	34
Имипенем Imipenem	39	58	5	8	23	34
Колистин Colistin	46	69	–	–	21	31
Азтреонам Aztreonam	6	9	–	–	61	91
Тобрамицин Tobramycin	8	12	–	–	59	88
Амикацин Amikacin	26	39	–	–	41	61
Гентамицин Gentamicin	16	24	–	–	51	76
Фосфомицин Fosfomycin	37	55	–	–	30	45
Цефтазидим Ceftazidime	5	8	–	–	62	92
Цефепим Cefepime	4	6	6	9	57	85
Тикарциллин/клавуланат Ticarcillin/clavulanat	3	5	1	1	63	94
Пиперациллин/тазобактам Piperacillin/tasobactam	12	18	4	6	51	76
Триметоприм/сульфаметоксазол Trimethoprim/sulfamethoxazole	17	25	–	–	50	75
Ципрофлоксацин Ciprofloxacin	12	18	6	9	49	73

ному изоляту — к генотипам ST48, ST11, ST39, ST29, ST985. На рис. 3 представлены генотипы изолятов, обладающих карбапенемазами.

Из табл. 2 можно сделать вывод, что факторы, отвечающие за гипервирулентность изолятов, распространены в определенных генотипах. Так сидерофор аэробактин (*iutA*) в 10/12 случаев определялся у представителей ST307 ($p < 0,05$). Гипермукоидный гипервирулентный капсульный K2 серотип в шести из семи случаев был определен у изолятов ST395 ($p < 0,05$).

Представители ST307 были способны к формированию биопленок разной интенсивности: половина изолятов формировала умеренные биопленки, четыре изолята — сильные и три — слабые. Половина изолятов ST395 также формировала умеренные биопленки, три — слабые и один изолят не формировал биопленку. Изоляты ST48 имели сильные и умеренные биопленки. Два из трех изолятов ST2975 формировали умеренные биопленки и один — сильную. Все представители ST39, ST29, ST198, ST6, ST4 образовывали биопленки умеренной интенсивности. Оба изолята генотипа ST11 формирова-

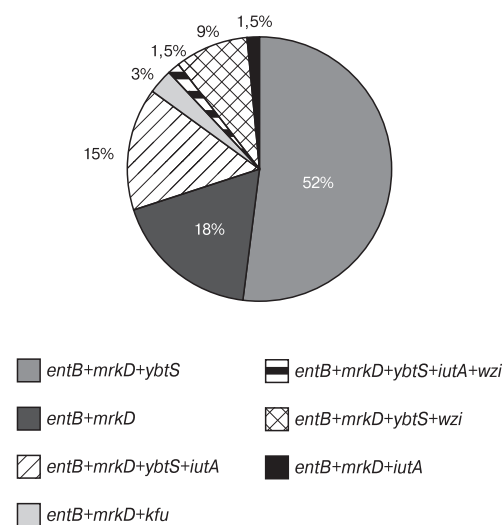
Детерминанты вирулентности
Determinants of virulence**Рисунок 1. Комбинации детерминант вирулентности у изолятов K. pneumoniae**

Figure 1. Combinations of virulence determinants in K. pneumoniae isolates

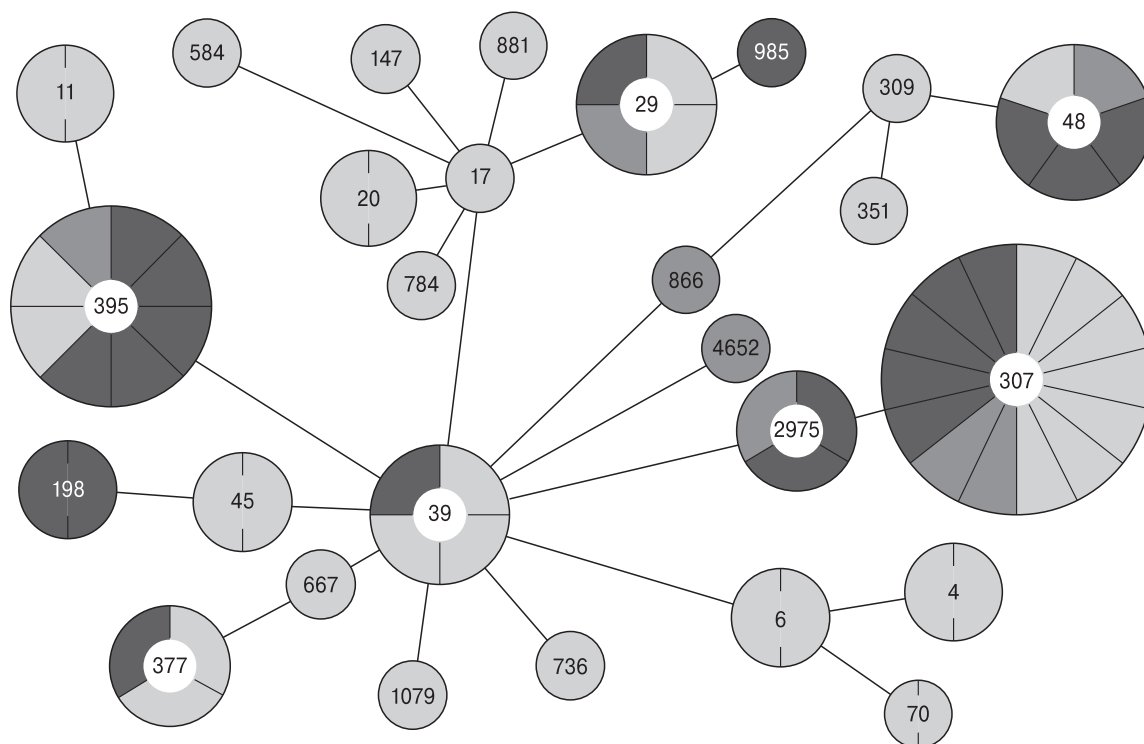


Рисунок 2. Генотиповой состав *K. pneumoniae* при бактериемии и инфекции ЦНС

Figure 2. *K. pneumoniae* genotype composition in bacteremia and CNS infection

Примечание. Светло-серым цветом обозначены изоляты, чувствительные к карбапенемам; серым — чувствительные при повышенной экспозиции; темно-серым — резистентные. Секторами обозначено количество изолятов в генотипе.

Note. Isolates sensitive to carbapenems are indicated in light grey; grey — sensitive at increased exposure; dark grey — resistant. Sectors indicate the number of isolates in the genotype.

ли сильные био пленки. Популяционная структура *K. pneumoniae* в разных отделениях по стационарам представлена в табл. 3.

В ОРИТ С1 в течение четырех лет, с 2015 по 2018 г. при бактериемии и инфекции ЦНС

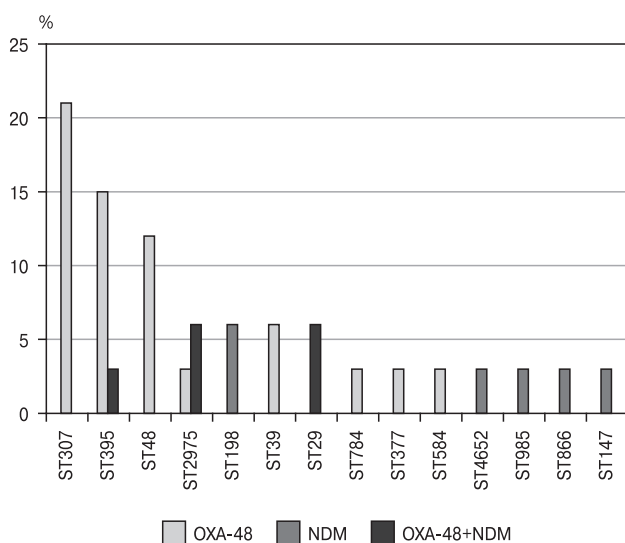


Рисунок 3. Распространенность карбапенемаз среди представителей различных генотипов

Figure 3. Carbapenemase prevalence among representatives of various genotypes

у детей часто выделялись *K. pneumoniae* с генотипом ST307. В 2018 г. появился его однолокусный вариант ST2975. Изоляты ST395 выделялись в 2017 и 2019 гг. Генотип ST29 встречался с 2018 по 2019 г. Изоляты с генотипами ST6, ST11, ST17, ST784, ST881, ST985 и ST4652 встречались только в этом отделении.

В ОРИТ новорожденных С1 в 2014 и 2015 гг. наблюдалось выделение *K. pneumoniae* с генотипом ST48. Изоляты ST395 определялись в 2018, 2019 и 2021 гг. Генотип ST39 встречался в 2018 и 2020 гг. Штаммы, имеющие ST20, были выделены в этом отделении в 2020 и 2021 гг. Генотипы ST20, ST198, ST309, ST351 и ST736 определялись только в ОРИТ новорожденных С1.

Спорадические случаи бактериемии в двух соматических отделениях С1 в 2017 и 2020 гг. ассоциированы с *K. pneumoniae* разных генотипов, которые не входят в число клонов высокого международного риска.

В ОРИТ С2 в 2016, 2019 и 2020 гг. определялись изоляты *K. pneumoniae* с генотипом ST395. В 2017 и 2019 гг. выделялись штаммы ST377. В 2020 г. был выявлен изолят с генотипом ST667, а в 2021 г. появился его однолокусный вариант ST39. Штаммы с генотипами ST70, ST147, ST377, ST584 и ST667 выделялись только из стационара С2.

Таблица 2. Детерминанты вирулентности у представителей различных генотипов K. pneumoniae

Table 2. Virulence determinants in representatives of various K. pneumoniae genotypes

Генотип (n) Genotype (n)	n	K2 (wzi)	ybtS	mrkD	entB	kfu	iutA
ST307 (14)	10		+	+	+		+
	4		+	+	+		
ST395 (8)	5	+	+	+	+		
	1		+	+	+		
	1			+	+		
	1	+	+	+	+		+
ST48 (5)	5		+	+	+		
ST39 (4)	4		+	+	+		
ST29 (4)	4		+	+	+		
ST2975 (3)	3		+	+	+		
ST377 (3)	3			+	+		
ST45 (2)	2		+	+	+		
ST198 (2)	2		+	+	+		
ST4 (2)	2		+	+	+		
ST6 (2)	2		+	+	+		
ST20 (2)	2			+	+		
ST11 (2)	2			+	+		
ST784 (1)	1		+	+	+		
ST309 (1)	1		+	+	+		
ST866(1)	1		+	+	+		
ST667 (1)	1		+	+	+		
ST147 (1)	1		+	+	+		
ST70 (1)	1			+	+		
ST17 (1)	1			+	+		
ST351 (1)	1			+	+		
ST985 (1)	1		+	+	+		
ST1079(1)	1			+	+		
ST4652 (1)	1			+	+	+	
ST736 (1)	1			+	+	+	
ST881 (1)	1	+	+	+	+		
ST584(1)	1			+	+		+
Всего Total	67	7 (10%)	52 (78%)	67 (100%)	67 (100%)	2 (3%)	12 (18%)

Таблица 3. Генотипическое разнообразие K. pneumoniae в отделениях в разные годы

Table 3. K. pneumoniae genotypic diversity in the departments in different years

Год Year	ОРИТ С1 ICU H1	ОРИТ новорожденных С1 ICU of newborns H1	Соматические отделения С1 Somatic departments H1	ОРИТ С2 ICU H2
2014	ST11++, ST48++	ST48+, ST307++	–	ST70+
2015	ST17+, ST307+++	ST48++, ST351+	–	–
2016	ST307++++, ST4652+	–	–	ST395+
2017	ST307++, ST395+, ST784+ (DLV** ST17), ST881+	–	ST4+	ST4+, ST45+, ST307++, ST377++
2018	ST6++, ST29+, ST307+, ST985+ (SLV* ST29), ST2975+ (SLV ST307)	ST29++, ST39+ ST198++, ST309+ ST395+, ST2975++ (SLV ST307)	–	–
2019	ST29+, ST395+	ST395+	–	ST395+, ST377+
2020	–	ST20+, ST39+	ST866+, ST1079+	ST395+, ST584+, ST667+ (SLV ST39)
2021	ST45+	ST20+, ST395+, ST736+	–	ST39++ (SLV ST667), ST147+

Примечание. * — однолокусный вариант; ** — двухлокусный вариант; «+» — частота выделения.

Note. * — a single-locus variant; ** — a two-locus variant; «+» — frequency of allocation.

Представители клонов высокого международного риска ST48, ST29, ST198, ST2975 (SLV 307) встречались только в стационаре С1. ST377 был характерен только для стационара С2. В то же время такие генотипы международного риска, как ST39, ST307 и ST395, были определены в обоих стационарах.

Клинические данные. По результатам оценки клинических данных изоляты *K. pneumoniae* были выделены от 64 детей в возрасте от 5 суток до 17 лет. Медиана возраста — 4 месяца (1 м; 12 м). Пациенты были разделены на 4 возрастные группы: I (0–1 год) — 46 детей (71,8%), II (1–3 лет) — 3 ребенка (4,7%), III (3–7 лет) — 3 ребенка (4,7%), IV (7–17 лет) — 12 детей (18,8%). Характеристика изолятов, выделенных от детей разных возрастных групп, отображена в табл. 4.

Штаммы *K. pneumoniae* были получены от детей, наблюдавшихся с хирургической патологией (врожденные пороки сердца — 30%, абдоминальная патология — 39%, тяжелая сочетанная травма — 12%) и с соматическими заболеваниями, сопровождающимися антибактериальной и/или глюкокортикостероидной терапией — 14%. Из 60 пациентов с положительной гемокультурой диагноз «Сепсис» был у 19 (32%), из них 10 имели неблагоприятный исход (всего было 16 неблагоприятных исходов). В четырех случаях положительные высевы *K. pneumoniae* были получены из образцов ликвора, при этом у двух пациентов с диагнозом «Менингит». Микробиологическая характеристика неблагоприятных исходов отображена в табл. 5.

При бактериемии с летальным исходом, ассоциированной с *K. pneumoniae*, 12 пациентов были в возрасте до одного года, два пациента — от года до семи лет, и два — от семи до 17 лет. 15 пациентов наблюдались с хирургической патологией, и один — с соматической, у 10 был выявлен сепсис.

Обсуждение

Результаты данного исследования подтверждают общую негативную тенденцию последних лет — возрастание уровня резистентности у изолятов *K. pneumoniae*. Инфекции кровотока и ЦНС, ассоциированные с карбапенем-резистентными *K. pneumoniae*, распространены среди пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии [29]. При изучении молекулярно-генетических характеристик штаммов *K. pneumoniae*, выделенных из образцов крови и ликвора у детей, нами был обнаружен высокий уровень устойчивости штаммов к антимикробным препаратам. Множественно-резистентные и экстремально резистентные штаммы составляли 16 и 43% соответственно. Около четверти изолятов прояв-

ляли широкую лекарственную устойчивость, в том числе к колистину, который является последней линией терапии. В исследованиях наших китайских коллег распространенность множественно-резистентных *K. pneumoniae* при инфекциях кровотока варьируется от 18 до 61% [25]. В нашем исследовании до 88% изолятов *K. pneumoniae* проявляли устойчивость к аминогликозидам, 85% — к цефепиму, 91% — к азтреонаму. К карбапенемам, колистину и бисептолу были нечувствительны 34, 31 и 75% изолятов соответственно. Полученные результаты во многом отличаются от резистентности при инфекциях кровотока в США, где к аминогликозидам резистентны около 17%, к цефепиму — 9%, к азтреонаму — 16%, к меропенему — 9% и к бисептолу — 33% штаммов *K. pneumoniae*. При этом наши коллеги отмечают значительную роль множественно-резистентных изолятов *K. pneumoniae* при инфекциях кровотока [15]. Основной причиной резистентности к карбапенемам изолятов клебсиеллы из кровотока и ликвора была продукция карбапенемаз, в частности *bla_{OXA-48}*. Она распространена во многих странах [22], в том числе в России [1].

Ранее считалось, что бактерии, имеющие множественную резистентность, не способны проявлять гипервирулентность. В последние годы появляется много сообщений о выделении одновременно гипервирулентных и мультирезистентных штаммов *K. pneumoniae* [13, 16]. Эти штаммы могут представлять особую опасность для пациентов, поскольку способны вызывать тяжелые инфекции и длительно персистировать в организме пациента и в больничной среде. При изучении факторов вирулентности нами было обнаружено, что сидерофор энтеробактин определялся во всех клебсиеллах, как и во многих других исследованиях. Сидерофор иерсиниебактин *ybtS*, по результатам зарубежных работ, наиболее часто ассоциирован с инфекциями респираторного тракта, а у изолятов, выделенных из крови, встречается редко [3]. При этом в нашей работе 78% изолятов имели ген иерсиниебактина. Сидерофор аэробактин является одним из маркеров гипервирулентности [20]. Встречаемость гена аэробактина *iutA* достигает 56,8% у пациентов с менингитом [11]. При пиогенных абсцессах печени встречаемость этого фактора достигает 85,3% [28]. У исследованных нами изолятов аэробактин был выделен в 18%. Ген *mrkD*, кодирующий фимбрии 3 типа, отвечающие за биопленкообразование, встречался у всех изученных нами изолятов, это соотносится с данными других исследований [28]. Считается, что *K. pneumoniae*, относящиеся к K1/K2 серотипам, более вирулентные, чем представители других серотипов [20]. Мы не выя-

Таблица 4. Характеристика изолятов *K. pneumoniae* в разных возрастных группахTable 4. Characteristics of *K. pneumoniae* isolates in different age groups

Параметры Parameters		Группы Groups	Группа 1 Group 1 n = 46	Группа 2 Group 2 n = 3	Группа 3 Group 3 n = 3	Группа 4 Group 4 n = 12
Карбапенемазы Carbapenemases	ОХА-48		13	2	2	5
	NDM		5	–	–	1
	ОХА-48+NDM		4	–	–	1
Фенотип резистентности Resistance phenotype	Чувствительные Sensitive		8	–	–	1
	МЛУ MDR		8	1	–	1
	ШЛУ XDR		16	2	3	7
	ШЛУ+СОЛ XDR+COL		14	–	–	3
Интенсивность биофленок Biofilm intensity	Нет биофленки No biofilm		–	–	–	2
	Слабая Weak		6	2	–	2
	Умеренная Moderate		31	1	2	5
	Сильная Strong		9	–	1	3
Вирулентность Virulence	Иерсиниебактин Yersiniebactin		36	2	2	10
	Аэробактин Aerobactin		8	2	1	1
	К2 серотип K2 serotype		5	–	–	2
	Система kfu System kfu		2	–	–	–
Генотипы (ST) Genotypes (ST)		307 (n = 10), 395 (n = 6), 48 (n = 5), 29 (n = 3), 2975 (n = 3), 11 (n = 2), 20 (n = 2), 39 (n = 2), 198, 4, 6, 45, 309, 351, 736, 784, 866, 881, 985, 4652	307 (n = 2), 377 (n = 1)	307 (n = 2), 377 (n = 1)	39 (n = 2), 395 (n = 2), 4, 29, 45, 70, 147, 584, 667, 1079	

Таблица 5. Характеристика *K. pneumoniae* при неблагоприятных исходах бактериемии и инфекции ЦНС (n = 16)Table 5. Characteristics of *K. pneumoniae* in unfavorable outcomes of bacteremia and CNS infection (n = 16)

Фенотип резистентности Resistance phenotype	Гены резистентности Resistance genes	Вирулентность Virulence	Биофленки Biofilms	ST*****
Чувствительные – 25% Sensitive – 25% ШЛУ* – 25% XDR* – 25% ШЛУ + R** к колистину – 50% XDR + R** to colistin – 50%	СТХ-М – 100% ОХА-48 – 31% NDM – 6% ОХА-48+NDM – 6%	Энтеробактин – 100% Enterobactin – 100% Фимбриальный адгезин – 100% Fimbrial adhesive – 100% Иерсиниебактин – 88% Yersiniebactin – 88% Аэробактин – 25% Aerobactin – 25% К2 капсульный серотип – 13% K2 capsule serotype – 13%	L*** – 13% M**** – 50% S***** – 37%	307 – 25% 395 – 13% 11 – 13% 6, 29, 39, 45, 48, 784, 985, 2975 – по 6% 6, 29, 39, 45, 48, 784, 985, 2975 – by 6%

Примечание. * – широкая лекарственная устойчивость, ** – широкая лекарственная устойчивость, в том числе устойчивость к колистину, *** – слабая биофленка, **** – умеренная биофленка, ***** – сильная биофленка, ***** – сиквенстип.

Note. * – extremely resistant, ** – extremely resistant, including resistance to colistin, *** – weak biofilm, **** – moderate biofilm, ***** – strong biofilm, ***** – sequenstype.

вили изолятов K1-серотипа, а к серотипу K2 принадлежало 10% изолятов. Стоит отметить, что 6 из 7 изолятов K2-серотипа имели генотип ST395. Эти данные согласуются с результатами отечественного исследования, в котором капсульный серотип K2 обнаруживался у 15,7% штаммов и ассоциировался с ST395 [14]. Ген *kfu*, отвечающий за обмен железа, встречается редко, у изученных нами изолятов — всего в 3%. Аналогичные данные получены российскими и зарубежными учеными [6, 21].

У нозокомиальных изолятов клебсиеллы чаще всего наблюдается продукция умеренных и сильных биопленок [2]. Наши результаты соответствуют этим данным — 61% изолятов образовывали умеренные биопленки и 21% — сильные.

Представители генотипа ST307, выделенные из кровотока, часто имеют множественную лекарственную устойчивость и гипервирулентность [15], они способны вызывать внутрибольничные вспышки [26]. ST307 в этом исследовании был самым распространенным (21%). Изоляты этого генотипа чаще остальных обладали карбапенемазами и факторами гипервирулентности. Этот генотип был характерен для обоих стационаров и в некоторых отделениях выявлялся на протяжении нескольких лет.

Факторами риска для возникновения *K. pneumoniae*-ассоциированных инфекций кровотока и ЦНС являются хирургические вмешательства, травмы, наличие внутрисосудистого катетера, интубация трахеи, госпитализация в отделение реанимации, предшествующая антибиотикотерапия [27]. В нашей работе большая часть пациентов наблюдалась с хирургической патологией (68%). У 14% пациентов до выявления бактериемии или инфекции ЦНС проводились курсы антибиотикотерапии и/или применялись глюкокортикостероиды.

В исследовании Girometti N. и соавт. отмечено, что инфекции кровотока связаны с более высокой смертностью, чем инфекции других локализаций [8]. Наши данные соотносятся с этим утверждением, уровень летальности по данным проведенного исследования составил 25%. Высокая смертность, возможно, ассоциирована с вирулентностью микроорганизмов [17]. В нашем исследовании у изолятов, выделенных при неблагоприятных исходах, определялось множество факторов вирулентности, в частности иерсиниебактин — 88%, аэробактин — 25% и капсульный серотип K2 — 13%.

Заключение

Наши результаты подтверждают, что бактериемии и инфекции ЦНС, ассоциированные с *K. pneumoniae*, относительно распространены у педиатрических пациентов, что представляет собой серьезную проблему для здравоохранения. Эти инфекции значительно осложняют течение основного заболевания и связаны с большим числом летальных исходов. Нерациональное применение антибиотиков способствует селективному распространению множественно-резистентных изолятов, которые к тому же приобретают факторы вирулентности. На основании этого клиницистам необходимо строго контролировать применение антимикробных препаратов, обеспечивая их рациональное использование.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Исследование не имело финансовой поддержки.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта интересов, который необходимо обнаружить.

Список литературы/References

- Новикова И.Е., Садеева З.З., Шакирзянова Р.А., Алябьева Н.М., Лазарева А.В., Карасева О.В., Вершинина М.Г., Фисенко А.П. Использование полимеразной цепной реакции для детекции генов резистентности у грамотрицательных бактерий в рутинной практике педиатрического стационара // Клиническая лабораторная диагностика. 2022. Т. 67, № 3. С. 180–185. [Novikova I.E., Sadeeva Z.Z., Shakirzyanova R.A., Alyabieva N.M., Lazareva A.V., Karaseva O.V., Vershinina M.G., Fisenko A.P. The using of the polymerase chain reaction for the detection of resistance genes in gram-negative bacteria in routine practice in a pediatric hospital. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2022, vol. 67, no. 3, pp. 180–185. (In Russ.)] doi: 10.51620/0869-2084-2022-67-3-180-185
- Ahmed H.A., Ibrahim E.H.S., Abdelhaliem E., Elariny E.Y.T. Biotyping, virulotyping and biofilm formation ability of ESBL-Klebsiella pneumoniae isolates from nosocomial infections. *J. Appl. Microbiol.*, 2022, vol. 132, no. 6, pp. 4555–4568. doi: 10.1111/jam.15563
- Bachman M.A., Oyler J.E., Burns S.H., Caza M., Lépine F., Dozois C.M., Weiser J.N. Klebsiella pneumoniae yersiniabactin promotes respiratory tract infection through evasion of lipocalin 2. *Infect. Immun.*, 2011, vol. 79, no. 8, pp. 3309–3316. doi: 10.1128/IAI.05114-11
- Compain F., Babosan A., Brisse S., Genel N., Audo J., Ailloud F., Kassir-Chikhani N., Arlet G., Decré D. Multiplex PCR for detection of seven virulence factors and K1/K2 capsular serotypes of Klebsiella pneumoniae. *J. Clin. Microbiol.*, 2014, vol. 52, no. 12, pp. 4377–4380. doi: 10.1128/JCM.02316-14
- Diancourt L., Passet V., Verhoef J., Grimont P.A., Brisse S. Multilocus sequence typing of Klebsiella pneumoniae nosocomial isolates. *J. Clin. Microbiol.*, 2005, vol. 43, no. 8, pp. 4178–4182. doi: 10.1128/JCM.43.8.4178-4182.2005

6. Fursova N.K., Astashkin E.I., Gabrielyan N.I., Novikova T.S., Fedyukina G.N., Kubanova M.K., Esenova N.M., Sharapchenko S.O., Volozhantsev N.V. Emergence of five genetic lines ST395^{NDM-1}, ST13^{OXA-48}, ST3346^{OXA-48}, ST39^{CTX-M-14}, and novel ST3551^{OXA-48} of multidrug-resistant clinical *Klebsiella pneumoniae* in Russia. *Microb. Drug Resist.*, 2020, vol. 26, no. 8, pp. 924–933. doi: 10.1089/mdr.2019.0289
7. German G.J., Gilmour M., Tipples G., Adam H.J., Almohri H., Bullard J., Dingle T., Farrell D., Girouard G., Haldane D., Hoang L., Levett P.N., Melano R., Minion J., Needle R., Patel S.N., Rennie R., Reyes R.C., Longtin J., Mulvey M.R. Canadian recommendations for laboratory interpretation of multiple or extensive drug resistance in clinical isolates of Enterobacteriaceae, Acinetobacter species and Pseudomonas aeruginosa. *Can. Commun. Dis. Rep.*, 2018, vol. 44, no. 1, pp. 29–34. doi: 10.14745/ccdr.v44i01a07
8. Girometti N., Lewis R.E., Giannella M., Ambretti S., Bartoletti M., Tedeschi S., Tumietto F., Cristini F., Trapani F., Gaibani P., Viale P. *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection: epidemiology and impact of inappropriate empirical therapy. *Medicine (Baltimore)*, 2014, vol. 93, no. 17, pp. 298–309. doi: 10.1097/MD.0000000000000111
9. Hernández-García M., Pérez-Viso B., León-Sampedro R., Navarro-San Francisco C., López-Fresneña N., Díaz-Agero C., Morosini M.I., Ruiz-Garbajosa P., Cantón R. Outbreak of NDM-1+CTX-M-15+DHA-1-producing *Klebsiella pneumoniae* high-risk clone in Spain owing to an undetectable colonised patient from Pakistan. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2019, vol. 54, no. 2, pp. 233–239. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2019.05.021
10. Herridge W.P., Shibu P., O’Shea J., Brook T.C., Hoyles L. Bacteriophages of *Klebsiella* spp., their diversity and potential therapeutic uses. *J. Med. Microbiol.*, 2020, vol. 69, no. 2, pp. 176–194. doi: 10.1099/jmm.0.001141
11. Hu D., Li Y., Ren P., Tian D., Chen W., Fu P., Wang W., Li X., Jiang X. Molecular epidemiology of hypervirulent carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Front. Cell Infect. Microbiol.*, 2021, vol. 11: 661218. doi: 10.3389/fcimb.2021.661218
12. Hu P., Chen J., Chen Y., Zhou T., Xu X., Pei X. Molecular epidemiology, resistance, and virulence properties of *Pseudomonas aeruginosa* cross-colonization clonal isolates in the non-outbreak setting. *Infect. Genet. Evol.*, 2017, vol. 55, pp. 288–296. doi: 10.1016/j.meegid.2017.09.010
13. Karlsson M., Stanton R.A., Ansari U., McAllister G., Chan M.Y., Sula E., Grass J.E., Duffy N., Anacker M.L., Witwer M.L., Rasheed J.K., Elkins C.A., Halpin A.L. Identification of a Carbapenemase-producing hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* Isolate in the United States. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2019, vol. 63, no. 7: e00519-19. doi: 10.1128/AAC.00519-19
14. Khrulnova S., Fedorova A., Frolova I., Tandilova K., Likold E., Klyasova G. Distribution of virulence genes and capsule types in *Klebsiella pneumoniae* among bloodstream isolates from patients with hematological malignancies. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 2022, vol. 104, no. 1: 115744. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2022
15. Kochan T.J., Nozick S.H., Medernach R.L., Cheung B.H., Gatesy S.W.M., Lebrun-Corbin M., Mitra S.D., Khalatyan N., Krapp F., Qi C., Ozer E.A., Hauser A.R. Genomic surveillance for multidrug-resistant or hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* among United States bloodstream isolates. *BMC Infect. Dis.*, 2022, vol. 22, no. 1: 603. doi: 10.1186/s12879-022-07558-1
16. Liu C., Du P., Xiao N., Ji F., Russo T.A., Guo J. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* is emerging as an increasingly prevalent *K. pneumoniae* pathotype responsible for nosocomial and healthcare-associated infections in Beijing, China. *Virulence*, 2020, vol. 11, no. 1, pp. 1215–1224. doi: 10.1080/21505594.2020.1809322
17. Lv J., Zhu J., Wang T., Xie X., Wang T., Zhu Z., Chen L., Zhong F., Du H. The role of the two-component QseBC signaling system in biofilm formation and virulence of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* ATCC43816. *Front. Microbiol.*, 2022, vol. 13: 817494. doi: 10.3389/fmicb.2022.817494
18. Mairi A., Pantel A., Ousalem F., Sotto A., Touati A., Lavigne J.P. OXA-48-producing Enterobacteriales in different ecological niches in Algeria: clonal expansion, plasmid characteristics and virulence traits. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2019, vol. 74, no. 7, pp. 1848–1855. doi: 10.1093/jac/dkz146
19. Marques A.T., Tanoeiro L., Duarte A., Gonçalves L., Vítor J.M.B., Vale F.F. Genomic analysis of prophages from *Klebsiella pneumoniae* clinical Isolates. *Microorganisms*, 2021, vol. 9, no. 11: 2252. doi: 10.3390/microorganisms9112252
20. Paczosa M.K., Meccas J. *Klebsiella pneumoniae*: going on the offense with a strong defense. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2016, vol. 80, no. 3, pp. 629–661. doi: 10.1128/MMBR.00078-15
21. Pan H., Lou Y., Zeng L., Wang L., Zhang J., Yu W., Qiu Y. Infections caused by carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: microbiological characteristics and risk factors. *Microb. Drug Resist.*, 2019, vol. 25, no. 2, pp. 287–296. doi: 10.1089/mdr.2018.0339
22. Potron A., Poirel L., Rondinaud E., Nordmann P. Intercontinental spread of OXA-48 beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae over a 11-year period, 2001 to 2011. *Euro Surveill.*, 2013, vol. 18, no. 31: 20549. doi: 10.2807/1560-7917.es2013.18.31.20549
23. Stepanović S., Vuković D., Hola V., Di Bonaventura G., Djukić S., Cirković I., Ruzicka F. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*, 2007, vol. 115, no. 8, pp. 891–899. doi: 10.1111/j.1600-0463.2007.apm_630.x
24. Wyres K.L., Holt K.E. *Klebsiella pneumoniae* population genomics and antimicrobial-resistant clones. *Trends Microbiol.*, 2016, vol. 24, no. 12, pp. 944–956. doi: 10.1016/j.tim.2016.09.007
25. Xu M., Fu Y., Kong H., Chen X., Chen Y., Li L., Yang Q. Bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae*: prevalence of bla_{KPC}, virulence factors and their impacts on clinical outcome. *BMC Infect. Dis.*, 2018, vol. 18, no. 1: 358. doi: 10.1186/s12879-018-3263-x
26. Yang Y., Yang Y., Chen G., Lin M., Chen Y., He R., Galvão K.N., El-Gawad El-Sayed Ahmed M.A., Roberts A.P., Wu Y., Zhong L.L., Liang X., Qin M., Ding X., Deng W., Huang S., Li H.Y., Dai M., Chen D.Q., Zhang L., Liao K., Xia Y., Tian G.B. Molecular characterization of carbapenem-resistant and virulent plasmids in *Klebsiella pneumoniae* from patients with bloodstream infections in China. *Emerg. Microbes. Infect.*, 2021, vol. 10, no. 1, pp. 700–709. doi: 10.1080/22221751.2021.1906163
27. Yuan Y., Wang J., Yao Z., Ma B., Li Y., Yan W., Wang S., Ma Q., Zhang J., Xu J., Li L., Wang Y., Fan E. Risk factors for Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections and outcomes. *Infect. Drug Resist.*, 2020, vol. 13, pp. 207–215. doi: 10.2147/IDR.S223243

28. Zhang S., Zhang X., Wu Q., Zheng X., Dong G., Fang R., Zhang Y., Cao J., Zhou T. Clinical, microbiological, and molecular epidemiological characteristics of *Klebsiella pneumoniae*-induced pyogenic liver abscess in southeastern China. *Antimicrob. Resist. Infect. Control*, 2019, vol. 8: 166. doi: 10.1186/s13756-019-0615-2
29. Zheng X., Wang J.F., Xu W.L., Xu J., Hu J. Clinical and molecular characteristics, risk factors and outcomes of Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections in the intensive care unit. *Antimicrob. Resist. Infect. Control*, 2017, vol. 6: 102. doi: 10.1186/s13756-017-0256-2

Авторы:

Садеева З.З., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГАУ Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия;

Новикова И.Е., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГАУ Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия;

Лазарева А.В., д.м.н., главный научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии, зав. лабораторией микробиологии ФГАУ Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия;

Алябьева Н.М., к.м.н., старший научный сотрудник, зав. лабораторией экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия;

Карасева О.В., д.м.н., зав. отделом неотложной хирургии и травм детского возраста ФГАУ Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия; зам. директора по научной работе, руководитель отдела сочетанной травмы, анестезиологии-реанимации НИИ неотложной детской хирургии и травматологии Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия;

Янюшкина О.Г., научный сотрудник отделения сочетанной травмы НИИ неотложной детской хирургии и травматологии Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия;

Вершинина М.Г., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории медицинской геномики ФГАУ Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия;

Фисенко А.П., д.м.н., профессор, директор ФГАУ Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия.

Authors:

Sadeeva Z.Z., Junior Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, National Medical Research Center for Children's Health, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation;

Novikova I.E., Junior Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, National Medical Research Center for Children's Health, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation;

Lazareva A.V., DSc (Medicine), Head Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, Head of the Microbiology Laboratory, National Medical Research Center for Children's Health, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation;

Alyabyeva N.M., PhD (Medicine), Senior Researcher, Head of the Laboratory of Experimental Immunology and Virology, National Medical Research Center for Children's Health, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation;

Karaseva O.V., DSc (Medicine), Head of the Department of Emergency Surgery and Pediatric Trauma, National Medical Research Center for Children's Health, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation;

Deputy Director for Scientific Work, Head of the Department of Combined Trauma, Anesthesiology-Resuscitation, Clinical and Research Institute of Emergency Pediatric Surgery and Trauma, Department of Public Health of Moscow, Moscow, Russian Federation;

Yanushkina O.G., Researcher, Department of Combined Trauma, Institute of Emergency Pediatric Surgery and Trauma, Department of Public Health of Moscow, Moscow, Russian Federation;

Vershinina M.G., PhD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Medical Genomics, National Medical Research Center for Children's Health, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation;

Fisenko A.P., DSc (Medicine), Professor, Director of the National Medical Research Center for Children's Health, Ministry of Health of the Russian Federation.