

# МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗОЛЯТОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*, ВЫДЕЛЕННЫХ В УСЛОВИЯХ КАРДИОХИРУРГИЧЕСКОГО СТАЦИОНАРА



М.В. Кузнецова<sup>1,2</sup>, В.И. Сергевнин<sup>2</sup>, В.С. Михайловская<sup>1</sup>, Л.Г. Кудрявцева<sup>3</sup>, О.Г. Пегушина<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН — филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, г. Пермь, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера Минздрава России, г. Пермь, Россия

<sup>3</sup> ФГБУ Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии имени С.Г. Суханова Минздрава России, г. Пермь, Россия

**Резюме.** *Klebsiella pneumoniae* является одним из основных возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), во всем мире. Цель исследования: молекулярно-генетическая характеристика устойчивости к бета-лактамам антибиотикам культур *K. pneumoniae*, выделенных в условиях кардиохирургического стационара, выявление гипервирулентных изолятов, а также оценка генетического родства культур. Были изучены изоляты, выделенные из клинического материала пациентов (n = 50) кардиохирургических отделений и отделения анестезиологии и реанимации (ОАиР), находившихся на лечении в кардиохирургическом стационаре г. Перми с июля 2021 г. по декабрь 2022 г. Бактериологические исследования были выполнены на автоматическом анализаторе «WalkAway-96Plus» (Beckman Coulter, США). Определена чувствительность культур к тринадцати антимикробным препаратам и продукция бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС), оценен фенотип множественной лекарственной устойчивости (МЛУ). Для определения гипермукоидного фенотипа *K. pneumoniae* использовали стринг-тест. Родственность изолятов (ERIC-ПЦР), присутствие генов бета-лактамаз (*bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX-M</sub>, *bla*<sub>SHV</sub>, *bla*<sub>OXA</sub>, *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>VIM-2</sub>, *bla*<sub>IMP-1</sub>, *bla*<sub>NDM-1</sub>), а также генов, ассоциированных с гипервирулентностью (*prmpA*, *iucA*, *peg-344*, *wzyK2*, *magA*), определяли методом ПЦР по конечной точке. Амплификацию проводили на термоциклере «DNA Engine Dyad Thermal Cycler» (Bio-Rad, США), визуализацию полос и документирование данных осуществляли с помощью системы гель-документации «Gel-Doc XR» (Bio-Rad, США). По результатам исследования установлено, что карбапенемоустойчивые *K. pneumoniae* составили почти 76% всех культур, фенотип БЛРС имели 90%, а МЛУ — 88% изолятов. Среди определенных бета-лактамаз наиболее широко в коллекции культур были представлены ферменты типов CTX-M, VIM-2 и NDM-1, гены которых часто локализованы на мобильных генетических элементах, обеспечивающих быстрое внутри- и межвидовое распространение. Согласно результатам стринг-теста, гипермукоидный фенотип имели 8% изолятов *K. pneumoniae*. В отношении генов, ассоциированных с гипервирулентностью, показано, что наиболее рас-

## Адрес для переписки:

Кузнецова Марина Валентиновна  
614081, Россия, г. Пермь, ул. Голева, 13,  
Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН.  
Тел.: 8 (342) 212-44-76. E-mail: mar@iegm.ru

## Contacts:

Marina V. Kuznetsova  
614081, Russian Federation, Perm, Goleva str., 13,  
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms Ural Branch  
Russian Academy of Sciences.  
Phone: +7 (342) 212-44-76. E-mail: mar@iegm.ru

## Для цитирования:

Кузнецова М.В., Сергевнин В.И., Михайловская В.С., Кудрявцева Л.Г., Пегушина О.Г. Микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика изолятов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в условиях кардиохирургического стационара // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 1. С. 103–114. doi: 10.15789/2220-7619-MAM-15631

## Citation:

Kuznetsova M.V., Sergevnin V.I., Mihailovskaya V.S., Kudryavtseva L.G., Pegyushina O.G. Microbiological and molecular genetic characteristics of *Klebsiella pneumoniae* isolates, extracted under conditions of cardiac surgery hospital // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2024, vol. 14, no. 1, pp. 103–114. doi: 10.15789/2220-7619-MAM-15631

Работа выполнена в рамках НИОКР № 124020500028-4.

This work was supported by Research & Development program (No. 124020500028-4).

пространственным оказался ген *iucA*, амплифицированный у 54% изолятов, *prmpA* детектировали у 38% культур, 48% культур имели гены *wzyK2* или *magA*, маркирующие капсулы типа K1/K2. Почти треть *K. pneumoniae* сохранила комбинацию генов *prmpA* и *iucA*, при этом выделяли их чаще в группе пациентов с активной инфекцией. Гипермукоидный фенотип, капсульный тип K1 и комбинацию генов *prmpA*, *iucA*, *peg-344* имели только чувствительные к карбапенемам культуры, тогда как капсульный тип K2 был наиболее распространен среди устойчивых к карбапенемам *K. pneumoniae*. На основании молекулярно-генетического типирования выявлено, что 24% культур *K. pneumoniae* распределились в 4 геномогруппы идентичных изолятов, 76% культур имели индивидуальные профили. Обнаружены близкородственные изоляты у пациентов разных отделений, что указывает на возможную циркуляцию возбудителя в замкнутом контуре «отделение—ОАиР—отделение».

**Ключевые слова:** *Klebsiella pneumoniae*, кардиохирургический стационар, молекулярное типирование, бета-лактамазы расширенного спектра, карбапенемазы, гипервирулентность.

## MICROBIOLOGICAL AND MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTICS OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* ISOLATES, EXTRACTED UNDER CONDITIONS OF CARDIAC SURGERY HOSPITAL

Kuznetsova M.V.<sup>a,b</sup>, Sergevnin V.I.<sup>b</sup>, Mihailovskaya V.S.<sup>a</sup>, Kudryavtseva L.G.<sup>c</sup>, Pegyshina O.G.<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms Ural Branch Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation

<sup>b</sup> Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner, Perm, Russian Federation

<sup>c</sup> Cardiovascular Surgery Federal Center named after S.G. Sukhanov Ministry of Health of the Russian Federation, Perm, Russian Federation

**Abstract.** *Klebsiella pneumoniae* is one of the main causative agents of healthcare-associated infections (HAI) worldwide. The study was aimed at molecular characterization of beta-lactam antibiotic resistance in *K. pneumoniae* isolated in the cardiac surgery hospital, identify hypervirulent isolates and assess isolate genetic relatedness. *K. pneumoniae* isolated from the clinical material of patients (n = 50) at cardiac surgery departments as well as anesthesiology and reanimation department treated at the cardiovascular surgery hospital in Perm from July 2021 to December 2022 were analyzed. Bacteriological studies were performed on an automatic analyzer WalkAway-96Plus (Beckman Coulter, USA). The sensitivity to thirteen antimicrobials, production of extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) and multidrug resistance (MDR) phenotype were assessed. The string test was used to screen hypermucoviscous *K. pneumoniae*. Isolate relatedness (ERIC-PCR), presence of beta-lactamase genes (*bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX-M</sub>, *bla*<sub>SHV</sub>, *bla*<sub>OXA</sub>, *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>VIM-2</sub>, *bla*<sub>IMP-1</sub>, *bla*<sub>NDM-1</sub>), as well as genes associated with hypervirulence (*prmpA*, *iucA*, *peg-344*, *wzyK2*, *magA*) were analyzed by PCR. Amplifications were performed in a DNA Engine Dyad Thermal Cycler (Bio-Rad, USA). Gel documentation system Gel-Doc XR (Bio-Rad, USA) was used for band visualization and data documentation. According to the study results, it was found that carbapenem-resistant isolates accounted for almost 76% of all isolates, the ESBL-phenotype had 90%, and MDR-phenotype — 88% of studied isolates. According to the string test results, 8% of *K. pneumoniae* isolates had a hypermucoviscous phenotype. As for genes associated with hypervirulence, it was shown that the *iucA* gene was the most common, amplified in 54% of isolates, *prmpA* was detected in 38% of isolates, 48% of isolates had *wzyK2* or *magA* genes encoding capsular type K1/K2. Almost a third of *K. pneumoniae* samples contained a combination of the *prmpA* and *iucA* genes, and they were isolated more often in the group of patients with active infection. Only carbapenem-sensitive microorganisms had hypermucoviscous phenotype, K1 capsular type, and a combination of *prmpA*, *iucA*, *peg-344* genes, whereas the K2 capsular type was most common among carbapenem-resistant *K. pneumoniae*. Based on molecular genetic typing, it was found that 24% of *K. pneumoniae* isolates were assigned to four genome groups of identical cultures, 76% of the isolates had individual profiles. Closely related isolates were found among patients from different departments that indicates a potential pathogen circulation in the closed circuit “surgery department—department of anesthesiology” and “reanimation—surgery department”.

**Key words:** *Klebsiella pneumoniae*, cardiac surgery hospital, molecular typing, extended beta-lactamase spectrum, carbapenemase, hypervirulence.

## Введение

*Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) является одним из основных возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), во всем мире [8, 11, 32, 37]. В условиях стационара клебсиеллезная инфекция может быть следствием эндогенного инфицирования, а также результатом попадания возбудителя из объектов больницы среды [8]. Известно, что предварительная колонизация желудочно-кишечного тракта бактериями *K. pneumoniae* способствует развитию

эндогенной инфекции у пациентов в послеоперационный период [27]. Пациенты, перенесшие операции на сердце, подвергаются повышенному риску развития ИСМП по сравнению с другими группами хирургических больных в связи с выраженной иммуносупрессией [12, 18].

Из-за высокой способности *K. pneumoniae* приобретать резистентность к антимикробным препаратам лечение инфекционных осложнений представляет проблему для всех категорий больных [29, 33]. По мнению ряда авторов, продукция бета-лактамаз расширенного спектра

(БЛРС) является основной причиной высокой смертности среди пациентов с инфекциями, вызванными *K. pneumoniae* [10, 32]. В качестве резервного варианта лечения пациентов с тяжелыми инфекциями в стационарах используют карбапенемы, что привело к появлению продуцентов карбапенемо-гидролизующих лактамаз (карбапенемаз) как основного механизма резистентности к этой группе антибиотиков. Сегодня отмечается высокая распространенность нозокомиальных штаммов *K. pneumoniae*, обладающих устойчивостью к карбапенемам и/или множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) как в России, так и за рубежом [3, 10, 12, 27, 33].

Многочисленными исследованиями показано, что МЛУ является характерным свойством штаммов клебсиелл, принадлежащих к эволюционной ветви классических *K. pneumoniae*, а способность вызывать тяжелые формы инфекций — штаммов, относящихся к эволюционной ветви гипервирулентных *K. pneumoniae* [1]. Вирулентные свойства бактерий *K. pneumoniae* связаны с наличием полисахаридной капсулы, фимбрий, систем эффлюкса и секреции VI типа, а также с продукцией сидерофоров и способностью утилизировать аллантоин [27]. Гипервирулентный патотип возбудителя ассоциирован с несколькими геномными кластерами и индивидуальными генами (*iucABCD* и *iroBCDN*, *peg-344* и *peg-589*, *rmpA* и *rmpA2*), расположенными на плаزمиде, наличие которых, как было показано, коррелирует с вирулентностью в моделях инфекции *in vivo* [37]. Установлена принадлежность гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae* к K1- и K2-капсульным серологическим типам (K-типам), представители которых наиболее распространены в клинической практике и часто обладают гипермукоидным фенотипом [31]. Появление и распространение гипервирулентных и антибиотикорезистентных штаммов усугубило проблему, связанную с нозокомиальным инфицированием *K. pneumoniae* [2, 19, 22, 23, 24, 36].

Комплексных исследований молекулярно-генетических свойств *K. pneumoniae* с использованием данных микробиологического мониторинга в кардиохирургических стационарах недостаточно. Ранее нами была изучена групповая заболеваемость гнойно-септическими инфекциями клебсиеллезной этиологии пациентов крупного кардиохирургического стационара [7]. Показано, что штаммы *K. pneumoniae* были полирезистентными, и, в большинстве случаев, устойчивыми к карбапенемам. В этой работе представлены данные о молекулярно-генетических свойствах штаммов *K. pneumoniae*, циркулирующих в кардиохирургическом стационаре г. Перми.

Цель исследования — провести молекулярно-генетическую характеристику устойчивости к бета-лактамам антибиотикам культур *K. pneumoniae*, выделенных в условиях кардиохирургического стационара, выявить гипервирулентные изоляты, а также оценить генетическое родство культур.

## Материалы и методы

Объектами изучения служили 50 изолятов *K. pneumoniae*, выделенных из клинического материала (моча, кровь, мокрота, отделяемое раны и др.) пациентов, находившихся на лечении в кардиохирургическом стационаре г. Перми в период с июля 2021 г. по декабрь 2022 г. Для анализа полученных данных все изоляты были разделены на 2 группы: первая группа — изоляты от пациентов, длительно (более 48 ч) находящихся в ОАиР ( $n = 31$ ), вторая группа — изоляты от пациентов, не прошедших ОАиР или находящихся в ОАиР менее 48 ч ( $n = 19$ ). Последние были обозначены как изоляты от пациентов кардиохирургических отделений (КХО): 18% ( $n = 9$ ) из КХО № 1, 14% ( $n = 8$ ) из КХО № 2, по 2% ( $n = 1$ ) из КХО № 3 и КХО № 4. Из числа обследованных пациентов 28 человек имели клинические проявления гнойно-септических инфекций (острая инфекция), 22 изолята были отнесены к бессимптомному носительству (колонизации).

Бактериологические исследования были выполнены на автоматическом анализаторе «WalkAway-96Plus» (Beckman Coulter, США) с использованием панели NBC 41. Чувствительность к антибиотикам изучали путем определения минимальных ингибирующих концентраций к тринадцати антимикробным препаратам. Культуры клебсиелл тестировали на чувствительность к бета-лактамам (ампициллин цефотаксим, цефтазидим, цефтриаксон, цефепим), включая ингибитор-защищенные бета-лактамы (ампициллин/сульбактам, амоксициллин/клавуланат) и карбапенемы (меропенем, имипенем), аминогликазидам (гентамицин, амикацин) и фторхинолонам (ципрофлоксацин, левофлоксацин). Результаты интерпретировали в соответствии с клиническими рекомендациями «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (EUCAST-2023, версия 13.0).

Продукцию БЛРС детектировали на бактериологическом анализаторе «WalkAway-96Plus» (Beckman Coulter, США) с использованием панели NBC 41. Фенотип множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) оценивали, как описано [26].

Для определения гипермукоидного фенотипа клебсиелл использовали стринг-тест [14]. Колонии выращивали на кровяном агаре при

температуре 37°C в течение 18–20 ч. Тест считали положительным, если слизь с колоний вытягивалась бактериологической петлей на 5 мм с поверхности агара.

Для выделения ДНК петлю биомассы бактериальной культуры инокулировали в 100 мкл сверхчистой воды, прогревали при 97°C в твердотельном термостате с таймером ТТ-2 «Термит» (Россия) 15 мин, пробы охлаждали, центрифугировали 5 мин при 13 тыс. об/мин. Супернатанты перенесли в чистые эппендорфы и хранили при –20°C.

Присутствие генов бета-лактамаз *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>CTX-M</sub>, *bla*<sub>SHV</sub>, *bla*<sub>OXA</sub>, *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>VIM-2</sub>, *bla*<sub>IMP-1</sub>, *bla*<sub>NDM-1</sub>, а также генов, ассоциированных с гипервирулентностью — *prmpA*, *iucA*, *peg-344*, *wzyK2*

и *magA*, определяли методом ПЦР по конечной точке, используя праймеры (ООО «Синтол», Москва, Россия) и протоколы, согласно рекомендациям авторов (табл. 1). Амплификацию проводили на термоциклере «DNA Engine Dyad Thermal Cycler» (Bio-Rad, США). Визуализацию полос и документирование данных осуществляли с помощью системы гель-документации «Gel-Doc XR» (Bio-Rad, США).

Генетическое типирование культур осуществляли в системе двойного контроля посредством гер-ПЦР с праймером M13 (5'-GAG GGTGGCGGTTCT) и с праймерами ERIC1/ERIC2 (5'-CACTTAGGGGTCCTCGAATGTA/5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG), исполь-

**Таблица 1. Праймеры для детекции генов бета-лактамаз, интегровов 1 класса (А) и генов вирулентности (Б)**

Table 1. Primers for detection of beta-lactamase genes, class 1 integrons (A) and virulence genes (B)

<b>А (А)</b>					
Ген Gene	Праймер Primer	Последовательность 5'-3' Sequence 5'-3'	п.н. bp	Источник Reference	
<i>bla</i> <sub>TEM</sub>	TEM-C	ATCAGCAATAAACCCAGC	516	Aleisa, 2013	
	TEM-H	CCCCGAAGAACGTTTTTC			
<i>bla</i> <sub>SHV</sub>	SHV-F	AGGATTGACTGCCTTTTTG	392		
	SHV-R	ATTTGCTGATTCGCTCG			
<i>bla</i> <sub>OXA</sub>	OXA-F	ATATCTCTACTGTTGCATCTCC	619		
	OXA-R	AAACCCTTCAAACCATCC			
<i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> унив./universal	CTX-M-F	CGTCTTGCGATGTGCAG	551		Ahmed, 2007
	CTX-M-R	ACCGCGATATCGTTGGT			
<i>bla</i> <sub>VIM-2</sub>	VIM-2F	ATGTTCAAACCTTTTGAGTAGTAAG	801		Poirel et al., 2000 Senda et al., 1996
	VIM-2R	CTACTCAACGACTGAGCG			
<i>bla</i> <sub>IMP</sub>	IMP1-F	ACCGCAGCAGAGTCTTTGCC	587		
	IMP1-R	ACAACCAGTTTTGCCTTACC			
<i>bla</i> <sub>KPC</sub>	KPC-F	TGTTGCTGAAGGAGTTGGGC	340		
	KPC-R	ACGACGGCATAGTCATTTGC			
<i>bla</i> <sub>NDM-1</sub>	NDM-F	TAAAATACCTTGAGCGGGC	439		
	NDM-R	AAATGGAAACTGGCGACC			
<b>Интегроны 1 класса</b> Class 1 integrons	5'CS	GGCATCCAAGCAGCAAG	—*	Lévesque, 1995	
	3'CS	AAGCAGACTTGACCTGA			
<b>Б (Б)</b>					
Ген Gene	Праймер Primer	Последовательность 5'-3' Sequence 5'-3'	п.н. bp	Источник Reference	
<i>prmpA</i>	prmpA-F	GAGTAGTTAATAAATCAATAGCAAT	332	Russo et al., 2018	
	prmpA-R	CAGTAGGCATTGCAGCA			
<i>iucA</i>	iucA-1F	AATCAATGGCTATTCGCCGCTG	239		
	iucA-1R	CGCTTCACTTCTTTCACTGACAGG			
<i>peg-344</i>	peg344-2F	AAAGGACAGAAAGCCAGTG	411		
	peg344-2R	CAATGACGAGGGGGATAATC			
<i>magA</i>	magA-F	GGTGCTCTTTACATCATTGC	1283	Nadasy et al., 2007	
	magA-R	GCAATGGCCATTTGCGTTAG			
<i>wzyK2</i>	wzyK2-F	GACCCGATATTCATACTTGACAGAG	641	Turton et al., 2008	
	wzyK2-R	CCTGAAGTAAATCGTAAATAGATGGC			

**Примечание.** \* — продукт амплификации может быть представлен несколькими последовательностями разного размера.

Note. \* — amplicons can be of different sizes.



зую соответствующие режимы реакций [20, 38]. Амплификацию, визуализацию полос и документирование данных осуществляли аналогично вышесказанному. Все воспроизводимые полосы оценивались вручную и анализировались. Была создана матрица данных (0/1), которая в дальнейшем использовалась для построения дендрограммы с использованием метода иерархической кластеризации (UPGMA — невзвешенный метод парных групп с арифметическими средними) с программным обеспечением DARwin 6.0.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы Statistica v.10. Для выявления статистически значимых различий использовали  $\chi^2$  (с поправкой Йейтса) или точный критерий Фишера (F-test). Для оценки значимости признака вычисляли отношение шансов (OR) с определением 95%-ного доверительного интервала.

## Результаты

**Фенотипическая характеристика устойчивости к антибиотикам изолятов *K. pneumoniae*.** Проведенное исследование показало, что большинство культур *K. pneumoniae* имело значительный уровень резистентности к протестированным антибиотикам. Все изоляты были устойчивы к ампициллину. К цефотаксиму, цефтазидиму, цефтриаксону, цефепиму, ампициллину-сульбактаму оказались нечувствительными 90% изолятов, а к амоксициллину/клавулановой кислоте — 84%. Кроме того, 88% изолятов проявляли устойчивость к цiproфлоксацину и левофлоксацину, тогда как 76% были устойчивы к имипенему и меропенему. Самый низкий уровень резистентности был обнаружен для гентамицина (58%) и амикацина (46%). Среди 50 изолятов *K. pneumoniae* фенотип продукции БЛРС имели 90% культур. Большинство штаммов (88%) имели фенотип МЛУ. При распределении культур с учетом профиля отделения, оказалось, что встречаемость антибиотикорезистентных культур была выше в ОАиР (табл. 2). Так, шанс встретить в ОАиР изоляты, устойчивые к карбапенемам, был выше в 4,9 раз, к цiproфлоксацину — в 3,9 раз, к амикацину — в 2,6 раза, чем в кардиохирургических отделениях. Кроме того, *K. pneumoniae*, нечувствительные к амоксициллину/клавуланату, а также карбапенемам, достоверно чаще встречались в ОАиР, чем в КХО (F-test:  $p = 0,041$  и  $p = 0,038$  соответственно). МЛУ-изоляты, а также культуры с фенотипом БЛРС были равномерно распределены между выборками штаммов, изолированных от пациентов с клиническими проявлениями инфекции и бессимптомным носительством. Тем

не менее шанс выделить культуры с фенотипом БЛРС был выше у пациентов с клиническими проявлениями клебсиеллезной инфекции (OR = 6,000).

**Молекулярная характеристика устойчивости к бета-лактамам антибиотикам изолятов *K. pneumoniae*.** Учитывая высокую устойчивость культур к бета-лактамам антибиотикам, представляло интерес оценить встречаемость бета-лактамаз с наибольшей клинической значимостью. Все культуры содержали хотя бы один ген, детерминирующий устойчивость к бета-лактамам антибиотикам, а 40% ( $n = 20$ ) культур содержали 5 и более генов резистентности одновременно. Подавляющее большинство изолятов содержали ген  $bla_{TEM}$  (95,6% БЛРС-положительных изолятов, 96% всех культур). Детерминанты  $bla_{CTX-M}$ ,  $bla_{OXA}$  и  $bla_{SHV}$  в различных комбинациях были детектированы в 91,1/82% ( $n = 41$ ), 75,6/68% ( $n = 34$ ) и 42,2/40% ( $n = 19$ ) случаев соответственно. Анализ разнообразия генов БЛРС показал, что большинство БЛРС-положительных изолятов *K. pneumoniae* (91,1%) чаще содержали комбинации двух и более генов. Наиболее распространенной была комбинация  $bla_{CTX-M}+bla_{TEM}+bla_{OXA}$ , встречающаяся, в том числе с другими генами, у 40% ( $n = 18$ ). Необходимо отметить, что все фенотипически БЛРС-негативные культуры содержали только фрагменты  $bla_{TEM}$  и в одном случае — комбинацию  $bla_{TEM}+bla_{SHV}$ . Детерминанты  $bla_{VIM-2}$  и  $bla_{NDM-1}$  встречались в 68,9/62% ( $n = 31$ ) и 42,2/38% ( $n = 19$ ) случаев соответственно. Комбинацию генов  $bla_{VIM-2}+bla_{NDM-1}$  содержали 37,8/34% ( $n = 17$ ) изолятов. Ген  $bla_{KPC}$  был детектирован только у трех изолятов (№ 5, 6, 20), имеющих идентичные генетические профили (см. ниже). Ни один изолят не имел ген  $bla_{IMP-1}$ . Все индивидуальные комбинации генов бета-лактамаз представлены в табл. 3.

В целом распространенность генов бета-лактамаз (за исключением  $bla_{SHV}$ ) была выше в изолятах группы «ОАиР». Так, шанс детектировать в данной субпопуляции *K. pneumoniae* карбапенемазу  $bla_{NDM-1}$  был в 3,5 раз, а  $bla_{VIM-2}$  — в 2,7 раз выше, чем среди культур из хирургических отделений. Стоит отметить, что *K. pneumoniae*, продуцирующие бета-лактамазу КРС, были выделены только от пациентов с признаками инфекции, кроме того, в данной группе достоверно чаще встречались продуценты металло-бета-лактамазы NDM-1 (53,6% vs 18,2%:  $p = 0,02$ , F-тест).

Интегроны 1 класса с молекулярной массой от 800 до 2500 п.н. были выявлены у 32 изолятов (64%). Интегроны достоверно чаще детектировали в группе карбапенеморезистентных культур, чем у чувствительных изолятов (81,6% vs 8,3%,  $p < 0,01$ ; F-тест).

**Таблица 2. Распространенность устойчивости к антибиотикам среди изолятов *K. pneumoniae* (n = 50)**Table 2. Prevalence of antibiotic resistance among *K. pneumoniae* isolates (n = 50)

Антибиотик Antibiotic	Количество изолятов, n (%)   Number of isolates, n (%)			Отношение шансов (OR) Odds ratio
	Общее (n = 50) General (n = 50)	ОАиР (n = 31) Department of anesthesiology and reanimation (n = 31)	Хирургические отделения (n = 19) Cardiac surgery department (n = 19)	
Ампициллин/Ampicillin	50 (100,0)	31 (100)	19 (100)	–
Цефотаксим/Cefotaxime	45 (90,0)	29 (93,5)	16 (84,2)	2,7
Цефтазидим/Ceftazidime				
Цефтриаксон/Ceftriaxone				
Цефепим/Cefepime	38 (76,0)	27 (87,1)*	11 (57,9)	4,9
Меропенем/Meropenem				
Имипенем/Imipenem	45 (90,0)	29 (93,5)	16 (84,2)	2,7
Ампициллин/сульбактам Ampicillin/sulbactam				
Амоксициллин/клавуланат Amoxicillin/clavulanate	42 (84,0)	29 (93,5)*	13 (68,4)	6,6
Ципрофлоксацин/Ciprofloxacin	44 (88,0)	29 (93,5)	15 (78,9)	3,8
Левифлоксацин/Levofloxacin				
Амикацин/Amikacin	23 (46,0)	17 (54,3)	6 (31,6)	2,6
Гентамицин/Gentamicin	29 (58,0)	20 (64,5)	9 (47,4)	2,0
Фенотип БЛРС/ESBL phenotype	45 (90,0)	29 (93,5)	16 (84,2)	2,7
Фенотип МЛУ/MDR phenotype	44 (88,0)	29 (93,5)	15 (78,9)	3,8

Примечание. \* — встречаемость в выборке достоверно выше (p &lt; 0,01, F-тест).

Note. \* — sample occurrence is significantly higher (p &lt; 0.01, F-test).

**Таблица 3. Встречаемость индивидуальных комбинаций генов, кодирующих БЛРС и карбапенемазы, среди изолятов *K. pneumoniae***Table 3. Rate of individual combinations of ESBL- and carbapenemase-encoding genes among *K. pneumoniae* isolates

БЛРС-генотип ESBL genotype	n (% от БЛРС/ % от всех изолятов) n (% of ESBL/% of all isolates)
<i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>OXA</sub>	8 (17,8/16,0)
<i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>OXA</sub> + <i>bla</i> <sub>SHV</sub> + <i>bla</i> <sub>VIM-2</sub> + <i>bla</i> <sub>NDM-1</sub>	7 (15,6/14,0)
<i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>OXA</sub> + <i>bla</i> <sub>VIM-2</sub> + <i>bla</i> <sub>NDM-1</sub>	5 (11,1/10,0)
<i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>OXA</sub> + <i>bla</i> <sub>SHV</sub> + <i>bla</i> <sub>VIM-2</sub>	5 (11,1/10,0)
<i>bla</i> <sub>TEM</sub>	4 (8,9/8,0)
<i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>OXA</sub> + <i>bla</i> <sub>VIM-2</sub>	3 (6,7/6,0)
<i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>KPC</sub> + <i>bla</i> <sub>VIM-2</sub>	3 (6,7/6,0)
<i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>SHV</sub> + <i>bla</i> <sub>VIM-2</sub> + <i>bla</i> <sub>NDM-1</sub>	3 (6,7/6,0)
<i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>VIM-2</sub> + <i>bla</i> <sub>NDM-1</sub>	2 (4,4/4,0)
<i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>OXA</sub> + <i>bla</i> <sub>NDM-1</sub>	2 (4,4/4,0)
<i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>OXA</sub> + <i>bla</i> <sub>SHV</sub>	2 (4,4/4,0)
<i>bla</i> <sub>CTX-M</sub> + <i>bla</i> <sub>OXA</sub> + <i>bla</i> <sub>SHV</sub> + <i>bla</i> <sub>VIM-2</sub>	2 (4,4/4,0)
<i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>CTX-M</sub>	2 (4,4/4,0)
<i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>SHV</sub>	1 (2,2/2,0)
<i>bla</i> <sub>TEM</sub> + <i>bla</i> <sub>VIM-2</sub>	1 (2,2/2,0)

Характеристика гипервирулентного фенотипа и генотипа изолятов *K. pneumoniae*. Исследуемые культуры протестировали на присутствие 3 генов, являющихся маркерами гипервирулентного патотипа, а также идентифицировали тип капсулы. Согласно результатам стринг-теста, гипермукоидный фенотип имели всего 8% (n = 4) изолятов *K. pneumoniae* (табл. 4). Хотя бы один ген гипервирулентности был детектирован у большинства (n = 27) изолятов. Наиболее распространенным оказался ген-маркер *iucA*, амплифицированный у 54% (n = 27) *K. pneumoniae*, *prmpA* детектировали у 38% (n = 19) культур. Лишь у 10% (n = 5) изолятов была обнаружена комбинация трех генов-маркеров гипервирулентности *prmpA*+*iucA*+*peg-344*, причем именно эти культуры были положительными в стринг-тесте. Результаты генетического анализа показали, что 4% (n = 2) культур содержали ген *magA*, 44% (n = 22) — ген *wzyK2*, детерминирующие капсулы типа K1 и K2 соответственно, прочие изоляты имели капсулы иного типа, не определяемые в данном исследовании. Все индивидуальные комбинации генов, ассоциированных с гипервирулентностью и капсулообразованием, представлены в табл. 4.

Гипермукоидный фенотип имели только чувствительные к карбапенемам культуры *K. pneumoniae*, их распространенность в данной группе составила 18,2% (4 из 22). Культуры, имеющие капсульный тип K1, также были де-

тектированы только в группе чувствительных к карбапенемам, тогда как тип К2 был наиболее распространен среди устойчивых к карбапенемам *K. pneumoniae* ( $p = 0,04$ ; F-тест).

Интересно, что представленность детерминант гипервирулентности оказалась ниже в изолятах группы «ОАиР», чем в хирургических отделениях, а *K. pneumoniae*, имеющие мукоидный фенотип, встречались только у пациентов хирургических отделений КХО № 1 и КХО № 2 (табл. 5). Кроме того, стоит отметить, что шанс встретить изоляты с гипермукоидным фенотипом у пациентов с клиническими проявлениями инфекции был в 2,5 раза выше, чем без признаков таковой (OR = 2,520). *K. pneumoniae*, содержащие детерминанты гипервирулентности *prmpA* и *iucA*, встречались соответственно в 2,3 раза (46,4% vs 27,3%; OR = 2,311) и в 2,6 раз (64,3% vs 40,9%; OR = 2,600) чаще в группе с признаками инфекции (однако разница не была достоверной).

**Молекулярно-генетическое типирование изолятов *K. pneumoniae*.** Проведенное молекулярное типирование показало, что 76% изолятов ( $n = 38$ ) имели индивидуальные RAPD/ERIC-профили, а 24% культур ( $n = 12$ ) распределились в 4 геном-группы идентичных изолятов (I — изоляты; II — 48 и 49; III — 11, 23 и 47; IV — 12 и 17). На дендрограмме UPGMA генетического сходства на основе повторяющихся ERIC-последовательностей 50 изолятов распределились в 2 основных кластера: кластер А ( $n = 23$ ) и кластер Б ( $n = 26$ ) (рис., III обложка). Первый кластер может быть разделен на 2 подкластера — 1А (№ 43, 9, 50, 10, 8, 20, 5, 6, 25, 21, 14, 15, 4, 18, 13) и 2А (№ 39, 35, 40, 26, 45, 37, 48, 49), каждый из которых включал несколько клональных линий, а один изолят (№ 36)

**Таблица 4. Встречаемость индивидуальных комбинаций генов, ассоциированных с гипервирулентностью и капсулообразованием, среди изолятов *K. pneumoniae***

Table 4. The occurrence of individual combinations for hypervirulence- and capsule formation-associated genes among *K. pneumoniae* isolates

Генотип гипервирулентности Hypervirulence genotype	n (%)
<i>prmpA+iucA</i>	4 (8,0)
<i>wzyK2</i>	11 (22,0)
<i>wzyK2+prmpA+iucA</i>	10 (20,0)
<i>iucA</i>	8 (16,0)
<i>prmpA+iucA+peg-344</i>	2 (4,0)
<i>magA+prmpA+iucA+peg-344</i>	2 (4,0)
<i>wzyK2+prmpA+iucA+peg-344</i>	1 (2,0)
Гипермукоидный фенотип Hypermucoviscous phenotype	4 (8,0)

имел уникальный профиль. Кластер Б также включал два подкластера: 1Б (№ 38, 27, 44, 30, 41, 42, 32, 31, 33, 47, 23, 11, 29, 16, 24, 2, 1) и 2Б (№ 46, 22, 34, 28, 7, 3, 17, 12, 19) с разной степенью сходства изолятов. Коэффициент несходства между изолятами в пределах одной клональной линии колебался от 0,00 до 0,20 (например, между изолятами № 43, 9, 50, 10, 8), что указывает на то, что изоляты принадлежали к одной линии и были близкородственными.

Сравнение чувствительность к антибактериальным препаратам изолятов двух кластеров не выявило существенного различия между

**Таблица 5. Распространенность генов и капсул, ассоциированных с гипервирулентностью, среди изолятов *K. pneumoniae* в зависимости от профиля отделения**

Table 5. The prevalence of hypervirulence- and capsule formation-associated genes among *K. pneumoniae* isolates related to department specialization

Характеристика гипервирулентности Characterization of hypervirulence	Количество изолятов, n (%) Number of isolates, n (%)		Отношение шансов (OR) Odds ratio
	ОАиР (n = 31) Department of anesthesiology and reanimation (n = 31)	Хирургические отделения (n = 19) Cardiac surgery department (n = 19)	
<i>prmpA</i>	9 (29)	10 (52)	2,3
<i>iucA</i>	16 (51,6)	11 (57,9)	2,6
<i>peg-344</i>	1 (3,2)	4 (21,1)	8,0
<i>prmpA+iucA+peg-344</i>	1 (3,2)	4 (21,1)	8,0
Капсула типа К1 K1 type capsule	1 (3,2)	1 (5,3)	–
Капсула типа К2 K2 type capsule	12 (38,7)	10 (52,6)	1,7
Гипермукоидный фенотип Hypermucoviscous phenotype	0	4 (21,1)*	–

**Примечание.** \* — встречаемость в выборке достоверно выше ( $p < 0,01$ , F-тест).

Note. \* — sample occurrence is significantly higher ( $p < 0.01$ , F-test).

ними, при этом культуры, содержащие *bla*<sub>КРС</sub> встречались только в кластере А, и достоверно чаще в этой группе встречались гены *bla*<sub>VIM-2</sub> ( $p = 0,016$ ; F-тест) и *bla*<sub>SHV</sub> ( $p = 0,004$ ; F-тест). Шанс встретить изоляты с гипервирулентным генотипом (*prmpA+iucA+peg-344*), напротив, был в 4 раза выше в кластере Б.

Следует отметить, что изоляты, отнесенные к кластеру А, встречались во всех отделениях, тогда как культуры кластера Б не встречались в отделениях кардиохирургии № 3 и № 4. К кластеру Б принадлежали 61,5% ( $n = 16$ ) всех культур, выделенных от пациентов отделения реанимации.

## Обсуждение

*K. pneumoniae* — распространенный грамотрицательный условно-патогенный микроорганизм, вызывающий различные формы ИСМП, в том числе септицемию, пневмонию, инфекции мочевыводящих путей, менингит и абсцессы различной локализации [32]. Многочисленными исследованиями показано, что множественная антибиотикорезистентность является характерным свойством современных штаммов *K. pneumoniae*, и, наряду с другими возбудителями с высокой устойчивостью к используемым в клинике антибиотикам, отнесена центром США по контролю и профилактике заболеваний (CDC) к критически важным ESKAPE-патогенам [30]. Рост устойчивости к противомикробным препаратам у представителей гипервирулентного патотипа *K. pneumoniae* диктует необходимость оптимизации инфекционного контроля и усовершенствование лабораторной диагностики нозокомиальных инфекций, что предполагает использование современных и рациональных подходов и методов при проведении микробиологического мониторинга. Этот аспект имеет существенное значение в кардиохирургических стационарах, так как лечение инфекций у высокоиммунокомпрометированных пациентов является чрезвычайно сложной задачей [31]. Ранее нами были получены результаты, указывающие на возможность концентрирования/персистенции в кардиохирургическом стационаре штаммов *K. pneumoniae* с множественной резистентностью к антибиотикам, в том числе экстремально резистентных и панрезистентных бактерий [7]. Продолжением работы явилось настоящее исследование, в котором у собранной в течение года в кардиохирургическом стационаре коллекции культур *K. pneumoniae* были изучены маркеры гипервирулентного патотипа, идентифицирован тип капсулы, оценена распространенность и доминирующие типы лактамаз, а также определена родственность изолятов.

Среди энтеробактерий клинически значимыми бета-лактамазами являются ферменты следующих молекулярных классов по Ambler: класса А (типы SHV, TEM, CTX-M, PER, KPC, GES), класса В (типы IMP, VIM, NDM, GIM, SIM), С (типы CMY, FOX, MOX, DHA) и D (тип OXA). Gorrie C.L. и соавт. (2022) показали более высокую частоту внутрибольничного инфицирования БЛРС-положительными штаммами *K. pneumoniae* по сравнению с БЛРС-отрицательными [17]. В нашем исследовании фенотип БЛРС имели 90% изученных культур, что может косвенно свидетельствовать о закреплении и персистенции данных бактерий в условиях кардиохирургического стационара. Штаммы клебсиелл, продуцирующие карбапенемазы, часто связаны с внутрибольничными инфекциями и вспышечной заболеваемостью [10, 12, 19]. Инфекции, вызванные продуцирующими карбапенемазы и/или полирезистентными *K. pneumoniae*, существенно осложняют лечение и ассоциируются с высокой смертностью пациентов кардиохирургических стационаров [3, 15, 31]. Карбапенемоустойчивые изоляты, выделенные от пациентов кардиохирургического стационара г. Перми, составили почти 76% всех культур. Устойчивость была опосредована продукцией металло-бета-лактамаз типов VIM и NDM, а также лактамазой КРС. Следует отметить, что доля карбапенемоустойчивых изолятов, содержащих *bla*<sub>VIM-2</sub>, *bla*<sub>NDM-1</sub> и *bla*<sub>КРС</sub> составила 81,6% (31 из 38), 50% (19 из 38) и 7,9% (3 из 38). Согласно Lombardi и соавт. (2015) распространенность карбапенемоустойчивых изолятов *K. pneumoniae* в кардиохирургическом отделении стационара г. Санданато-Миланезе (Италия), составила 35% [25]. Интересно, что устойчивость культур чаще была связана с продукцией *bla*<sub>КРС</sub> (90,8%), тогда как встречаемость *bla*<sub>VIM-2</sub> составила лишь 9,2%. Нозокомиальные штаммы *K. pneumoniae*, продуцирующие карбапенемазы NDM-типа, активно выделяются в стационарах России [3, 4]. Так, среди изолятов *K. pneumoniae*, циркулирующих в стационарах Санкт-Петербурга, частота распространения продукции карбапенемаз достигала 9,2%, при этом чаще всего обнаруживали NDM-тип карбапенемазы [4]. Следует отметить, что продуценты карбапенемаз IMP типа в нашем исследовании не были детектированы. Известно, что гены бета-лактамаз/карбапенемаз *K. pneumoniae* часто переносятся в составе интегронов [5]. По данным Ou Qin и соавт. (2017), интегроны I класса были обнаружены у 77,8% карбапенеморезистентных штаммов *K. pneumoniae* [35]. В нашем исследовании интегроны I класса достоверно чаще детектировали в группе устойчивых к карбапенемам культур, чем у чувствительных изолятов.



На современном этапе отмечается глобальное распространение гипервирулентной *K. pneumoniae*. Если ранее случаи инфицирования такими штаммами были описаны только у здоровых людей вне стационаров, то сегодня они все чаще становятся ответственными за внутрибольничные инфекции [24, 36, 37]. Для оценки вирулентности клебсиелл используют экспериментальную инфекционную модель на мышах или морфологический стринг-тест, позволяющий выявить гипермукоидный фенотип. Первый вариант является трудоемким и сложно воспроизводимым в условиях практических клинических лабораторий, второй — достаточно простой в исполнении тест, однако корреляция этого признака с гипервирулентностью составляет не более 90% [1]. Гипервирулентность бактерий *K. pneumoniae* опосредована генами на большой плазмиде вирулентности или внутри хромосомных островков патогенности [36]. Известно несколько генов, которые, продемонстрировали диагностическую точность > 0,95 для идентификации гипервирулентных штаммов: *iucA* (участвует в биосинтезе сидерофора аэробактерина), переносимый плазмидой ген *prmpA* (ассоциируется с гипермукоидным фенотипом клебсиелл), *peg-344* (предполагаемый переносчик) [37]. Кроме того, значительный вклад в вирулентность *K. pneumoniae* вносит капсула, поскольку культуры серотипов K1 и K2 более устойчивы к фагоцитозу, чем штаммы не K1/K2 [39]. Хромосомный ген *magA* (ассоциирован с вязкостью слизи) и ген *wzyK2* (кодирует поверхностный белок, участвующий в сборке капсулы на наружной мембране клетки) часто детектируют у представителей серотипов K1 и K2 соответственно. В данной работе мы оценили выделенные в кардиохирургическом стационаре изоляты на наличие этих генов, маркирующих гипервирулентный патотип (*prmpA*, *iucA*, *peg-344* и *magA*, *wzyK2*). Ген *rmpA* был выявлен у 19 (38%) культур, что оказалось несколько неожиданным, поскольку гипермукоидным фенотипом обладали только 5 (10%) изолятов. В исследованиях Семеновой и соавт. (2020) показано, что гипервирулентными оказались 11,4% нозокомиальных штаммов *K. pneumoniae*, но необходимо отметить, что авторы считали гипервирулентными только штаммы, положительные в фенотипическом тесте и *rmpA*<sup>+</sup> [6]. Исследования Russo и соавт. (2018) выявили наибольшую значимость продукции аэробактерина для проявления вирулентных свойств, и на основании этих данных авторы сделали вывод, что наличие двух генов, *iucA* и *rmpA*, является достаточным для формирования гипервирулентного фенотипа [37]. В нашем исследовании почти треть

(28%) изученных изолятов содержала комбинацию генов *rmpA* и *iucA*, при этом выделяли их чаще в группе пациентов с активной инфекцией. Следует отметить, что 48% культур имели капсулы типа K1/K2, которые, по некоторым данным, играют более важную роль в определении гипервирулентности *K. pneumoniae*, чем *rmpA* [14, 40]. Таким образом, молекулярно-генетическая характеристика исследуемых изолятов показала, что они обладали гетерогенным набором детерминант, ассоциированных с гипервирулентностью. В нашем исследовании гипермукоидный фенотип, капсульный тип K1 и комбинацию генов *prmpA*, *iucA*, *peg-344* имели только чувствительные к карбапенемам культуры, а капсульный тип K2 был наиболее распространен среди устойчивых к карбапенемам *K. pneumoniae*.

Молекулярные методы широко используются для субвидового типирования и определения родства (клональности) выделенных изолятов микроорганизмов, что особенно важно при проведении микробиологического мониторинга. Ряд гер-ПЦР реакций [20, 38], основанных на амплификации повторяющихся последовательностей, являются оптимальными для быстрой оценки локальной эпидемиологической ситуации в медицинских организациях. При дифференцировке нозокомиальных изолятов *K. pneumoniae* показана высокая разрешающая способность метода ERIC-ПЦР, который оказался даже более надежным по сравнению с MALDI-ToF [21, 34]. В случае длительного мониторинга и накопления большого количества образцов из разных источников для определения сходства изолятов обычно используют более одного маркера генетического типирования [28]. Методы ERIC-ПЦР и гер-ПЦР с праймером M13 (в качестве арбитражного) были успешно задействованы для оценки распространенности циркулирующих в российских стационарах штаммов *E. coli* и *K. pneumoniae*, продуцирующих бета-лактамазы CTX-типа [13]. В нашем исследовании на основании типирования с праймерами ERIC и M13 выявлено, что 76% культур *K. pneumoniae* имели индивидуальные профили. Все культуры распределились в 2 основных кластера, каждый из которых включал несколько клональных линий с разной степенью сходства изолятов. Эти результаты согласуются с данными ряда исследований, в которых представлено высокое генетическое разнообразие *K. pneumoniae*, изолированных от пациентов стационаров [39]. При этом в условиях госпитальной среды часто определяют клональную популяционную структуру изолятов. Так, исследование изолятов *K. pneumoniae*, полученных от пациентов с COVID-19, находящихся в отделении интенсивной терапии специа-

лизированного госпиталя в Иране, показало, что 44,2% из них имеют генетическое сходство и могут быть объединены в три основных кластера, между которыми выявлена значительная разница в отношении устойчивости к противомикробным препаратам [16]. В нашей работе мы также наблюдали некоторую разницу в отношении устойчивости к антибиотикам между кластерами А и Б. Штаммы одного кластера в целом были более устойчивыми ко всем протестированным антибиотикам (100% фенотип МЛУ), достоверно чаще были резистентны к амикацину, тогда как представители кластера Б чаще были носителями гена *peg-344* и гипермукоидного фенотипа.

## Выводы

В данном исследовании представлена микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика изолятов *K. pneumoniae*, циркулирующих в кардиохирургическом стационаре. Возбудители имели гетерогенные генетические профили, были в большинстве случаев мультирезистентными, продуцировали БЛРС и карбапенемазы различных типов. Среди определенных бета-лактамаз наиболее широко были распространены ферменты СТХ-М, VIM-2 и NDM-1, что определяется их эффективной передачей

с различными мобильными генетическими элементами. Обнаружены изоляты с гипермукоидным фенотипом. Потенциально патогенные культуры, содержащие комбинацию генов *rtxA* и *iucA*, составили почти 30% и встречались чаще в группе пациентов с активной инфекцией.

Таким образом, полученные нами результаты по целому ряду позиций совпадают с общемировыми и российскими наблюдениями, характеризующими распространенность и уровень антибиотикочувствительности *K. pneumoniae*, выделенной при нозокомиальной инфекции пациентов хирургических стационаров. Следует отметить факт обнаружения близкородственных изолятов одного кластера у пациентов разных отделений кардиохирургического стационара, что указывает на возможную циркуляцию возбудителя в замкнутом контуре «отделение—ОАиР—отделение». Учитывая, что в России комплексное исследование циркулирующих в кардиохирургическом стационаре изолятов *K. pneumoniae* проведено впервые, а также ограниченные данные по этому вопросу в иностранной литературе, необходим дальнейший анализ результатов с учетом оценки длительности циркуляции культур, определения источника и эпидемиологических цепочек для более полной характеристики эпидемиологического процесса.

## Список литературы/References

1. Агеев В.А., Агеев И.В., Сидоренко С.В. Конвергенция множественной резистентности и гипервирулентности у *Klebsiella pneumoniae* // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 3. С. 450–460. [Ageevets V.A., Ageevets I.V., Sidorenko S.V. Convergence of multiple resistance and hypervirulence in *Klebsiella pneumoniae*. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, vol. 12, no. 3, pp. 450–460. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-COM-1825
2. Алексеева А.Е., Бруснигина Н.Ф., Гординская Н.А. Молекулярно-генетическая характеристика карбапенем-устойчивого штамма *Klebsiella pneumoniae* KP254 как представителя эволюционной ветки высоковирулентных штаммов // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 3. С. 506–516. [Alekseeva A.E., Brusnigina N.F., Gordinskaya N.A. Molecular genetic characteristics of the carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* KP254 strain as a representative of the highly virulent strain evolutionary branch. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, vol. 11, no. 3, pp. 506–516. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-MGC-1480
3. Егорова С.А., Кафтырева Л.А., Липская Л.В., Коноваленко И.Б., Пясетская М.Ф., Курчикова Т.С., Ведерникова Н.Б., Морозова О.Т., Смирнова М.В., Попенко Л.Н., Любушкина М.И., Савочкина Ю.А., Макарова М.А., Сузаева Л.В., Останкова Ю.В., Иванова М.Н., Павелкович А.М., Наабер П., Сепп Э., Кыльялг С., Мицюлявичене И., Балода А. Штаммы энтеробактерий, продуцирующие бета-лактамазы расширенного спектра и металло-β-лактамазу ndm-1, выделенные в стационарах в странах Балтийского региона // Инфекция и иммунитет. 2013. Т. 3, № 1. С. 29–36. [Egorova S.A., Kaftyreva L.A., Lipskaya L.V., Konovalenko I.B., Pyasetskaya M.F., Kurchikova T.S., Vedernikova N.B., Morozova O.T., Smirnova M.V., Popenko L.N., Lyubushkina M.I., Savochkina Yu.A., Makarova M.A., Suzhaeva L.V., Ostankova Yu.V., Ivanova M.N., Pavelkovich A.M., Naaber P., Sepp E., Kyl'valg S., Mitsyulyavichene I., Balode A. Enterobacteriaceae, producing ESBLs and metallo-β-lactamase NDM-1, isolated in hospitals of Baltic region countries. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2013, vol. 3, no. 1, pp. 29–36. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2013-1-29-36
4. Лазарева И.В., Агеев В.А., Ершова Т.А., Зуева Л.П., Гончаров А.Е., Дарьина М.Г., Светличная Ю.С., Усков А.Н., Сидоренко С.В. Распространение и антибактериальная резистентность грамотрицательных бактерий, продуцентов карбапенемаз, в Санкт-Петербурге и некоторых других регионах Российской Федерации // Антибиотики и химиотерапия. 2000. Т. 61. С. 11–12. [Lazareva I.V., Ageevets V.A., Ershova T.A., Zueva L.P., Goncharov A.E., Darina M.G., Svetlichnaya Yu.S., Uskov A.N., Sidorenko S.V. Distribution and antibacterial resistance of gram-negative bacteria, producers of carbapenemases, in St. Petersburg and some other regions of the Russian Federation. *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*, 2000, vol. 61, pp. 11–12. (In Russ.)]
5. Кузина Е.С., Асташкин Е.И., Лев А.И., Агеева Е.Н., Карцев Н.Н., Светоч Э.А., Фурсова Н.К. Интегроны классов I и II в госпитальных штаммах грамотрицательных бактерий, выделенных в Москве и регионах Российской Федерации // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2019. Т. 37, № 1. С. 17–24. [Kuzina E.S., Astashkin E.I., Lev A.I.,

- Ageeva E.N., Kartsev N.N., Svetoch E.A., Fursova N.K. Class 1 and class 2 integrons in hospital strains of gram-negative bacteria isolated in Moscow and other regions of the Russian Federation. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya = Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 2019, vol. 37, no 1, pp. 17–24. (In Russ.)] doi: 10.17116/molgen20193701117
6. Семенова Д.Р., Николаева И.В., Фиалкина С.В., Хаертынов Х.С., Анохин В.А., Валиуллина И.Р. Частота колонизации «гипервирулентными» штаммами *Klebsiella pneumoniae* новорожденных и грудных детей с внебольничной и нозокомиальной клебсиеллезной инфекцией // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2020. Т. 65, № 5. С. 158–163. [Semenova D.R., Nikolaeva I.V., Fialkina S.V., Khaertynov K.S., Anohin V.A., Valiullina I.R. Frequency of colonization with “hypervirulent” *Klebsiella pneumoniae* strains of newborns and infants with community-acquired and nosocomial klebsiella infection. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii = Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*, 2020, vol. 65, no. 5, pp. 158–163. (In Russ.)] doi: 10.21508/1027-4065-2020-65-5-158-163
  7. Сергеев В.И., Кудрявцева Л.Г., Пегушина О.Г. Частота выявления и антибиотикорезистентность возбудителей гнойно-септических инфекций // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2022. Т. 21, № 1. С. 74–80. [Sergevni V.I., Kudryavtseva L.G., Pegyshina O.G. Rate of detection and antibiotic resistance pathogens of purulent-septic infections in cardiac surgery patients. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccine Prevention*, 2022, vol. 21, no. 1, pp. 74–80. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2022-21-1-74-80
  8. Чеботарь И.В., Бочарова Ю.А., Подопригра И.В., Шагин Д.А. Почему *Klebsiella pneumoniae* становится лидирующим оппортунистическим патогеном // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2020. Т. 22, № 1. С. 4–19. [Chebotar I.V., Vocharova Yu.A., Podoprigora I.V., Shagin D.A. The reasons why *Klebsiella pneumoniae* becomes a leading opportunistic pathogen. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2020, vol. 22, no. 1, pp. 4–19. (In Russ.)] doi: 10.36488/cmac.2020.1.4-19
  9. Bhatt P.J., Ali M., Rana M., Patel G., Sullivan T., Murphy J., Pinney S., Anyanwu A., Huprikar S., Taimur S. Infections due to multidrug-resistant organisms following heart transplantation: epidemiology, microbiology, and outcomes. *Transpl. Infect. Dis.*, 2020, vol. 22, no. 1: e13215. doi: 10.1111/tid.13215
  10. Gonçalves Barbosa L.C., Silva E Sousa J.A., Bordoni G.P., Barbosa G.O., Carneiro L.C. Elevated mortality risk from CRKp associated with comorbidities: systematic review and meta-analysis. *Antibiotics (Basel)*, 2022, vol. 11, no. 7: 874. doi: 10.3390/antibiotics11070874
  11. Chang D., Sharma L., Dela Cruz C.S., Zhang D. Clinical epidemiology, risk factors, and control strategies of *Klebsiella pneumoniae* infection. *Front. Microbiol.*, 2021, vol. 12: 750662. doi: 10.3389/fmicb.2021.750662
  12. Del Puente F., Giacobbe D.R., Salsano A., Maraolo A.E., Ong D.S.Y., Yusuf E., Tutino S., Marchese A., Santini F., Viscoli C. Epidemiology and outcome of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* (KPC-KP) infections in cardiac surgery patients: a brief narrative review. *J. Chemother.*, 2019, vol. 31, no. 7–8, pp. 359–366. doi: 10.1080/1120009X.2019.1685794
  13. Edelstein M., Pimkin M., Palagin I., Edelstein I., Strachounski L. Prevalence and molecular epidemiology of CTX-M extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Russian hospitals. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2003, vol. 47, no. 12, pp. 3724–3732. doi: 10.1128/aac.47.12.3724-3732.2003
  14. Fang C.T., Chuang Y.P., Shun C.T., Chang S.C., Wang J.T. A novel virulence gene in *Klebsiella pneumoniae* strains causing primary liver abscess and septic metastatic complications. *J. Exp. Med.*, 2004, vol. 199, no. 5, pp. 697–705. doi: 10.1084/jem.20030857
  15. Galvão L.M., Oliveira A.P.R., Ibanês A.S., Monteiro J., Inoue F., Dantas D.C., Sanchez F., Santos D.W., Abboud C.S. Fatal case of donor-derived colistin-resistant carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* transmission in cardiac transplantation. *Braz. J. Infect. Dis.*, 2018, vol. 22, no. 3, pp. 235–238. doi: 10.1016/j.bjid.2018.04.005
  16. Ghanizadeh A., Najafzade M., Rashki S., Marzhoseyni Z., Motallebi M. Genetic diversity, antimicrobial resistance pattern, and biofilm formation in *Klebsiella pneumoniae* Isolated from patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) and ventilator-associated pneumonia. *Biomed. Res. Int.*, 2021, vol. 2021: 2347872. doi: 10.1155/2021/2347872
  17. Gorrie C.L., Mirčeta M., Wick R.R., Judd L.M., Lam M.M.C., Gomi R., Abbott I.J., Thomson N.R., Strugnell R.A., Pratt N.F., Garlick J.S., Watson K.M., Hunter P.C., Pilcher D.V., McGloughlin S.A., Spelman D.W., Wyres K.L., Jenney A.W.J., Holt K.E. Genomic dissection of *Klebsiella pneumoniae* infections in hospital patients reveals insights into an opportunistic pathogen. *Nat. Commun.*, 2022, vol. 13, no. 1: 3017. doi: 10.1038/s41467-022-30717-6
  18. Grigoryev E.V., Shukevich D.L., Matveeva V.G., Kornekyuk R.A. Immunosuppression as a component of multiple organ dysfunction syndrome followed cardiac surgery. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*, 2018, vol. 7 no. 4, pp. 84–91. doi: 10.17802/2306-1278-2018-7-4-84-91
  19. Gu D., Dong N., Zheng Z., Lin D., Huang M., Wang L., Chan E.W., Shu L., Yu J., Zhang R., Chen S. A fatal outbreak of ST11 carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in a Chinese hospital: a molecular epidemiological study. *Lancet Infect. Dis.*, 2018, vol. 18, no. 1, pp. 37–46. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30489-9
  20. Huey B., Hall J., Hypervariable DNA fingerprinting in *Escherichia coli*: minisatellite probe from bacteriophage M13. *J. Bacteriol.*, 1989, vol. 171, no. 5, pp. 2528–2532. doi: 10.1128/jb.171.5.2528-2532.1989
  21. Kundu J., Kansal S., Rathore S., Kaundal M., Angrup A., Biswal M., Walia K., Ray P., Evaluation of ERIC-PCR and MALDI-TOF as typing tools for multidrug resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates from a tertiary care center in India. *PLoS One*, 2022, vol. 17, no. 11: e0271652. doi: 10.1371/journal.pone.0271652
  22. Lazareva I., Ageevets V., Sopova J., Lebedeva M., Starkova P., Likholetova D., Gostev V., Moiseenko V., Egorenkov V., Navatskaya A., Mitroshina G., Myasnikova E., Tsvetkova I., Lobzin Y., Sidorenko S. The emergence of hypervirulent blaNDM-1-positive *Klebsiella pneumoniae* sequence type 395 in an oncology hospital. *Infect. Genet. Evol.*, 2020, vol. 85: 104527. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104527
  23. Lev A.I., Astashkin E.I., Kislichkina A.A., Solovieva E.V., Kombarova T.I., Korobova O.V., Ershova O.N., Alexandrova I.A., Malikov V.E., Bogun A.G., Borzilov A.I., Volozhantsev N.V., Svetoch E.A., Fursova N.K. Comparative analysis of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in 2012–2016 that differ by antibiotic resistance genes and virulence genes profiles. *Pathog. Glob. Health.*, 2018, vol. 112, no. 3, pp. 142–151. doi: 10.1080/20477724.2018.1460949
  24. 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



25. Lombardi F., Gaia P., Valaperta R., Cornetta M., Tejada M.R., Di Girolamo L., Moroni A., Ramundo F., Colombo A., Valisi M., Costa E. Emergence of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: progressive spread and four-year period of observation in a cardiac surgery division. *Biomed. Res. Int.*, 2015, vol. 2015: 871947. doi: 10.1155/2015/871947
26. Magiorakos A.P., Srinivasan A., Carey R.B., Carmeli Y., Falagas M.E., Giske C.G., Harbarth S., Hindler J.F., Kahlmeter G., Olsson-Liljequist B., Paterson D.L., Rice L.B., Stelling J., Struelens M.J., Vatopoulos A., Weber J.T., Monnet D.L. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2012, vol. 18, pp. 268–281. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x
27. Martin R.M., Bachman M.A. Colonization, infection, and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2018, vol. 8, no. 4. doi: 10.3389/fcimb.2018.00004
28. Meacham K.J., Zhang L., Foxman B., Bauer R.J., Marrs C.F. Evaluation of genotyping large numbers of *Escherichia coli* isolates by enterobacterial repetitive intergenic consensus-PCR. *J. Clin. Microbiol.*, 2003, vol. 41, no. 11, pp. 5224–5226. doi: 10.1128/JCM.41.11.5224-5226.2003
29. Navon-Venezia S., Kondratyeva K., Carattoli A. *Klebsiella pneumoniae*: a major worldwide source and shuttle for antibiotic resistance. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2017, vol. 41, no. 3, pp. 252–275. doi: 10.1093/femsre/fux013
30. Pendleton J.N., Gorman S.P., Gilmore B.F. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert. Rev. Anti Infect. Ther.*, 2013, vol. 11, no. 3, pp. 297–308. doi: 10.1586/eri.13.12
31. Pierce G., Resch C., Mourin M., Dibrov P., Dibrov E., Ravandi A. Bacteria and the growing threat of multidrug resistance for invasive cardiac interventions. *Rev. Cardiovasc. Med.*, 2022, vol. 23, no. 1: 15. doi: 10.31083/j.rcm2301015
32. Podschun R., Ullmann U. *Klebsiella* spp as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1998, vol. 11, no. 4, pp. 589–603. doi: 10.1128/CMR.11.4.589
33. Poerio N., Olimpieri T., Henrici De Angelis L., De Santis F., Thaller M.C., D'Andrea M.M., Fraziano M. Fighting MDR-*Klebsiella pneumoniae* infections by a combined host- and pathogen-directed therapeutic approach. *Front. Immunol.*, 2022, vol. 13: 835417. doi: 10.3389/fimmu.2022.835417
34. Purighalla S., Esakimuthu S., Reddy M., Varghese G.K., Richard V.S., Sambandamurthy V.K. Discriminatory power of three typing techniques in determining relatedness of nosocomial *Klebsiella pneumoniae* isolates from a tertiary hospital in India. *Indian. J. Med. Microbiol.*, 2017, vol. 35, no. 3, pp. 361–368. doi: 10.4103/ijmm.IJMM\_16\_308
35. Qin Ou, Wenfang Li, Bei Li, Chunfang Yu. Prevalence of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP) and the distribution of Class 1 Integron in their strains isolated from a hospital in Central China. *Chin. Med. Sci. J.*, 2017, vol. 32, no. 2, pp. 107–112. doi: 10.24920/J1001-9294.2017.018
36. Russo T.A., Marr C.M. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2019, vol. 32, no. 3, pp. e00001–e000019. doi: 10.1128/CMR.00001-19
37. Russo T.A., Olson R., Fang C.T., Stoesser N., Miller M., MacDonald U., Hutson A., Barker J.H., La Hoz R.M., Johnson J.R. Identification of biomarkers for differentiation of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from classical *K. pneumoniae*. *J. Clin. Microbiol.*, 2018, vol. 56, no. 9. doi: 10.1128/JCM.00776-18
38. Versalovic J., Koeuth T., Lupski J.R. Distribution of repetitive DNA sequences in Eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucleic Acids Res.*, 1991, vol. 19, pp. 6823–6831. doi: 10.1093/nar/19.24.6823
39. Wang Q., Li B., Tsang A.K., Yi Y., Woo P.C., Liu C.H. Genotypic analysis of *Klebsiella pneumoniae* isolates in a Beijing Hospital reveals high genetic diversity and clonal population structure of drug-resistant isolates. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 2: e57091. doi: 10.1371/journal.pone.0057091
40. Yeh K.M., Kurup A., Siu L.K., Koh Y.L., Fung C.P., Lin J.C., Chen T.L., Chang F.Y., Koh T.H. Capsular serotype K1 or K2, rather than magA and rmpA, is a major virulence determinant for *Klebsiella pneumoniae* liver abscess in Singapore and Taiwan. *J. Clin. Microbiol.*, 2007, vol. 45, no. 2, pp. 466–471. doi: 10.1128/JCM.01150-06

**Авторы:**

**Кузнецова М.В.**, д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биотехнологии Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиала ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия;

**Сергеев В.И.**, д.м.н., профессор кафедры эпидемиологии и гигиены ФГБОУ ВО Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера МЗ РФ, г. Пермь, Россия;

**Михайловская В.С.**, бакалавр, инженер лаборатории молекулярной биотехнологии Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук — филиала ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия;

**Кудрявцева Л.Г.**, к.м.н., врач-эпидемиолог, зав. эпидемиологическим отделом Федерального центра сердечно-сосудистой хирургии имени С.Г. Суханова МЗ России, г. Пермь, Россия;

**Пегушина О.Г.**, врач-бактериолог Федерального центра сердечно-сосудистой хирургии имени С.Г. Суханова МЗ России, г. Пермь, Россия.

**Authors:**

**Kuznetsova M.V.**, DSc (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Biotechnology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation;

**Sergevni V.I.**, DSc (Medicine), Professor, Department of Epidemiology and Hygiene, Perm State Medical University named after academician E.A. Wagner, Perm, Russian Federation;

**Mikhailovskaya V.S.**, Bachelor, Engineer, Laboratory of Molecular Biotechnology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation;

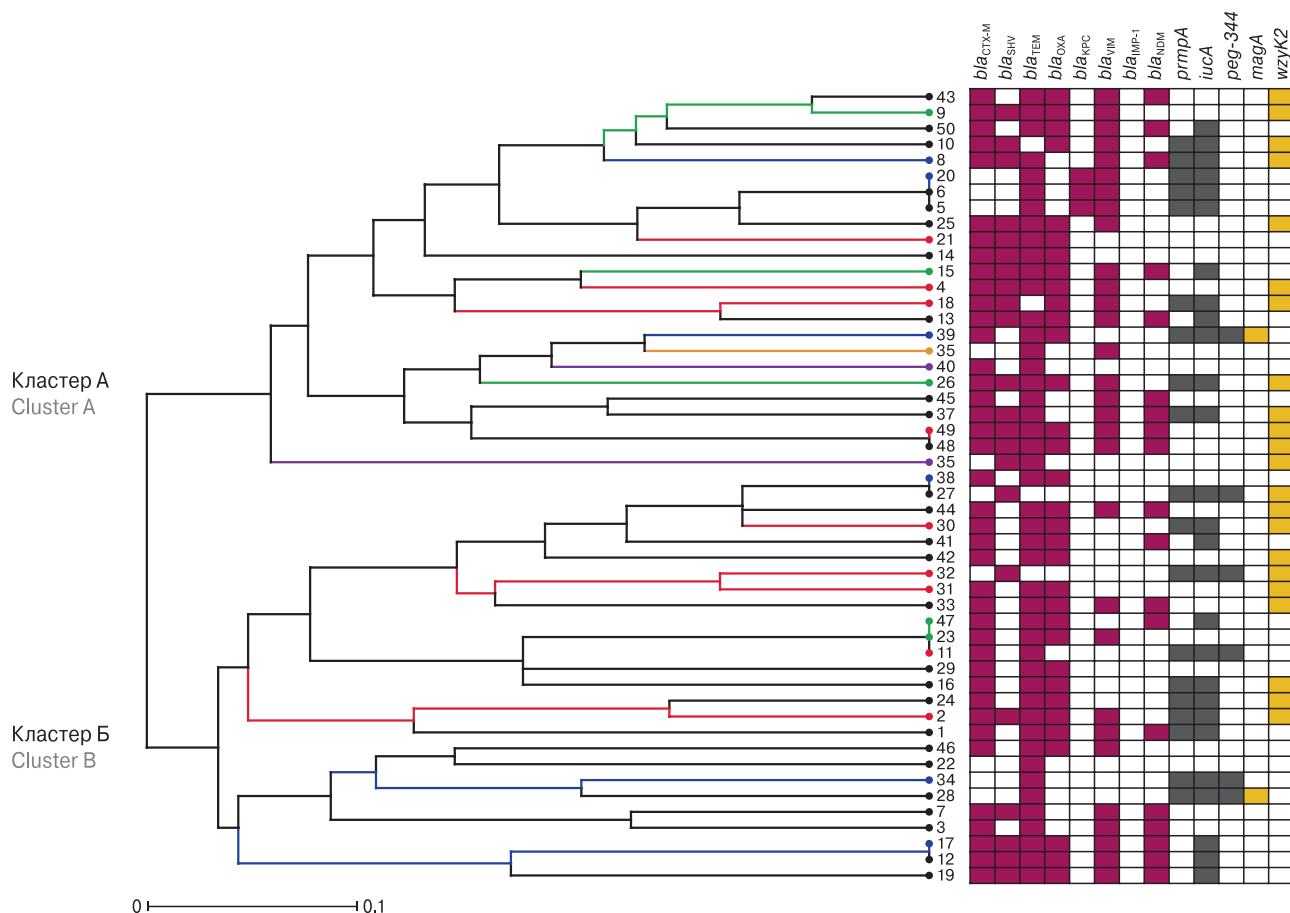
**Kudryavtseva L.G.**, PhD (Medicine), Head of the Epidemiological Department, Doctor-Epidemiologist, Federal Center for Cardiovascular Surgery named after S.G. Sukhanov, Perm, Russian Federation;

**Pegushina O.G.**, Bacteriologist, Federal Center for Cardiovascular Surgery named after S.G. Sukhanov, Perm, Russian Federation.



**Иллюстрация к статье «Микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика изолятов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в условиях кардиохирургического стационара» (авторы: М.В. Кузнецова, В.И. Сергевнин, В.С. Михайловская, Л.Г. Кудрявцева, О.Г. Пегушина) (с. 103–114)**

Illustration for the article “Microbiological and molecular genetic characteristics of *Klebsiella pneumoniae* isolates, extracted under conditions of cardiac surgery hospital” (authors: Kuznetsova M.V., Sergevnin V.I., Mihailovskaya V.S., Kudryavtseva L.G., Pegyshina O.G.) (pp. 103–114)



**Рисунок. Дендрограмма, характеризующая филогенетические взаимоотношения изученных штаммов *K. pneumoniae***

Figure. Dendrogram of phylogenetic relations for the studied *K. pneumoniae* strains

**Примечание.** Шкала отражает процент сходства паттернов ERIC-типирования (n = 50). Цвета показывают тип отделения: черный — общая реанимация, красный — кардиохирургическое отделение № 1, синий — кардиохирургическое отделение № 2, оранжевый — кардиохирургическое отделение № 3, зеленый — палата интенсивной терапии кардиохирургического отделения № 4, фиолетовый — кардиохирургическое отделение № 4.

Note. The scale reflects the percent of similarity of ERIC-typing patterns (n = 50). The type of department is color coded: black — common intensive care unit, red — cardiac surgery department No. 1, blue — cardiac surgery department No. 2, orange — cardiac surgery department No. 3, green — intensive care unit of cardiac surgery department No. 4, purple — cardiac surgery department No. 4.