

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

Садеева З. З.¹

Новикова И.Е.¹

Лазарева А.В.¹

Алябьева Н.М.¹

Карасева О.В.^{1, 2}

Янюшкина О.Г.²

Вершинина М. Г.¹

Фисенко А. П.¹

¹ Лаборатория молекулярной микробиологии, лаборатория микробиологии. Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей Федеральное государственное автономное учреждение Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119296, Москва, Россия.

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

**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

^aThe laboratory of molecular microbiology, the microbiological laboratory.

National medical research center for children's health federal state autonomous institution of the ministry of health of the Russian Federation, 119296, Moscow, Russia

^b Clinical and research institute of emergency pediatric surgery and trauma, Department of public health of Moscow, Moscow, Russia.

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 – 17%) 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 27% случаев завершились летальным исходом. Значительная часть изолятов продемонстрировали фенотип широкой лекарственной устойчивости (ШЛУ) – 43%, фенотип множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) проявили 16% изолятов. Ген цефалоспоринызы *bla_{CTX-M}* был обнаружен у 87% 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 проявляли (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 *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.

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 – 17%) 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 27% 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 87% 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.

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

1 Введение

2 *Klebsiella pneumoniae* является одним из наиболее значимых и опасных для
3 жизни возбудителей внутрибольничных инфекций. Этот оппортунистический
4 микроорганизм может вызывать инфекции кровотока, респираторного тракта,
5 мочевыводящих путей, кожи и мягких тканей, воспаление мозговой оболочки
6 головного и спинного мозга, приводя к увеличению госпитальной
7 летальности, особенно у иммуносупрессированных пациентов,
8 новорожденных и пожилых пациентов [19]. *K. pneumoniae* наряду с другими
9 представителями порядка *Enterobacterales* имеет множество факторов,
10 способствующих колонизации организма хозяина, а также способность к
11 приобретению устойчивости к многим классам антибиотиков [6]. Геном *K.*
12 *pneumoniae* может содержать большое количество детерминант
13 резистентности, среди них особое значение имеют гены, кодирующие
14 ферменты, разрушающие антибиотики. С точки зрения эпидемиологии
15 наибольшую роль играют карбапенемазы групп: KPC, OXA-48, NDM и β -
16 лактамазы расширенного спектра действия CTX-M типа [9,18].
17 Распространение множественно-резистентных *K. pneumoniae* часто
18 ассоциировано с международными клонами высокого риска, которые
19 являются носителями генов карбапенемаз [24]. Изоляты, обладающие
20 устойчивостью ко многим группам антибиотиков, а также имеющие
21 дополнительные факторы вирулентности, играют большую роль в высокой
22 смертности при инфекциях, ассоциированных нозокомиальными патогенами
23 [10].

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

28 **Материалы и методы**

29 1.1. Бактериальные культуры

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

45 1.2. Чувствительность к антибактериальным препаратам

46 Были определены минимальные подавляющие концентрации (МПК)
47 следующих антибиотиков: меропенем, имипенем, колистин, азтреонам,
48 тобрамицин, амикацин, гентамицин, фосфомицин, цефтазидим, цефепим,
49 тикарциллин/клавуланат, пиперациллин тазобактам,
50 триметоприм/сульфаметоксазол, ципрофлоксацин. МПК антибиотиков
51 определяли методом серийных микроразведений в бульоне Мюллера-Хинтон
52 (BioMerieux, Франция), Sensititre™ (ThermoScientific, Великобритания).
53 МПК меропенема определяли методом микроразведений в соответствии со
54 стандартом (ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010). Результаты интерпретировали в

55 соответствии с критериями Европейского комитета по тестированию
56 чувствительности к антибиотикам (EUCAST) версия 10.0. (EUCAST: European
57 Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, version 10.0. 2020; P.10-20).

58 Все изоляты были разделены на штаммы с множественной лекарственной
59 устойчивостью (МЛУ) и штаммы с широкой лекарственной устойчивостью
60 (ШЛУ) в соответствии с рекомендациями [7]. Классификация базируется на
61 чувствительности микроорганизмов к 6 группам антибиотиков:
62 аминогликозидам (тобрамицин или гентамицин), пенициллинам
63 (пиперациллин-тазобактам), карбапенемам (имипенем или меропенем),
64 цефалоспорином (цефотаксим, цефтриаксон или цефтазидим), фторхинолонам
65 (ципрофлоксацин), сульфаниламидам (триметоприм-сульфаметоксазол).
66 Изоляты, проявляющие устойчивость к 3 или 4 перечисленным группам,
67 классифицировали как МЛУ, штаммы резистентные к 5 или 6 группам,
68 относили к ШЛУ.

69 1.3. Выделение ДНК и определение генов карбапенемаз

70 Для выделения ДНК использовали суточную культуру. Бактериальную ДНК
71 выделяли согласно инструкции производителя с использованием
72 коммерческих наборов «ГК-экспресс» (ЦНИИ эпидемиологии
73 Роспотребнадзора). Полученные образцы хранили до использования при
74 температуре – 20°C.

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

82 1.4. Определение генов вирулентности и капсульных серотипов K1/K2

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

96 1.5. Биопленкообразование

97 Анализ формирования биопленок на абиотической поверхности проводили с
98 использованием сердечно-мозгового бульона (ВНВ; Becton Dickinson, США)
99 по ранее описанной методике с модификациями [12].

100 Биопленки выращивали в 96-ти луночных полистироловых планшетах с
101 плоским дном в трех повторах. Аликвоту 20 мкл бактериальной суспензии с
102 мутностью 0,8 по Мак Фарланду вносили в лунки, содержащие 180 мкл ВНВ
103 с последующей инкубацией 24 часа при 37°C без перемешивания. После
104 удаления бульона и планктонных клеток фиксировали биопленки
105 добавлением 200 мкл 2,5% глутарового альдегида (инкубация 5 минут при
106 комнатной температуре). Затем трижды промывали дистиллированной водой.
107 Для окрашивания вносили 200 мкл кристаллического фиолетового (0,1%
108 спиртовой раствор), инкубировали в течение 10 минут. После этого трижды

109 промывали дистиллированной водой. Для растворения и обесцвечивания
110 связанного красителя добавляли 200 мкл 95% этанола – инкубация 30 минут.
111 Оптическую плотность итогового раствора измеряли при длине волны 590 нм
112 с использованием планшетного считывателя Infinite 200M (Tecan, Австрия).
113 Интенсивность биопленкообразования определяли согласно рекомендациям
114 APMIS 2007, Stepanović S., et al [23].

115 1.6. Мультилокусное секвенирование-типирование (МЛСТ)

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

126 1.7. Оценка клинических данных

127 Ретроспективно были проанализированы клинические данные пациентов, из
128 крови или ликвора которых была выделена *K. pneumoniae*.

129 1.8. Статистические методы

130 Статистическую обработку данных проводили с помощью программ SPSS
131 20.0 (SPSS Statistics, США) и Microsoft Excel 2010. Различия считались
132 статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

134 **Результаты**

135 2.1. Чувствительность к антибиотикам и фенотипы резистентности

136 Чувствительность к антимикробным препаратам изолятов *K. pneumoniae*
137 представлена в таблице 1.

138 Таблица 1. Чувствительность *K. pneumoniae* к антимикробным препаратам.

139 Table 1. Sensitivity of *K. pneumoniae* to antimicrobial drugs.

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

146 2.2. Гены резистентности

147 Ген, отвечающий за продукцию цефалоспориназы *bla*_{CTX-M}, был обнаружен у
148 58 изолятов, что составило 87%. Основной детерминантой устойчивости к
149 карбапенемам был ген *bla*_{OXA-48} – частота его выявления составила 33%. Ген
150 МБЛ (металло-β-лактамаза) *bla*_{NDM} обнаруживался значительно реже – у 9%
151 изолятов. Комбинацию *bla*_{OXA-48} и *bla*_{NDM} имели 7% штаммов. Гены *bla*_{KPC},
152 *bla*_{IMP} и *bla*_{VIM} найдены не были. Было определено, что *bla*_{NDM} достоверно чаще
153 определялся в период с 2018 по 2021 годы ($p=0,003$).

154 2.3. Вирулентность

155 Все штаммы *K. pneumoniae* имели гены *entB* и *mrkD*. В значительной доле
156 случаев определялся ген *ybtS* – 52 (78%). Аэробактин *iutA* был обнаружен у
157 12/67 (18%) штаммов. Способность к связыванию трехвалентного железа,
158 кодируемая геном *kfi*, была характерна всего для двух изолятов (3%). Ген *wzi*,

159 кодирующий капсульный серотип K2, был определен у семи изолятов *K.*
160 *pneumoniae*. Штаммы, относящиеся к гипервирулентному серотипу K1, в
161 нашем исследовании не встречались. Гены *rmpA* и *allS* не определялись ни у
162 одного из изученных изолятов. Комбинации различных генов вирулентности
163 у одного изолята представлены на рисунке 1.

164 Рисунок 1. Комбинации детерминант вирулентности у изолятов *K.*
165 *pneumoniae*. Figure 1. Combinations of virulence determinants in *K. pneumoniae*
166 isolates.

167 2.4. Биопленкообразование

168 Основная масса изолятов *K. pneumoniae* была способна к образованию
169 биопленок. Всего два изолята (3%) не образовывали биопленок. Умеренную
170 способность к образованию биопленок проявляли 41(61%) изолят; сильную –
171 14 (21%) штаммов и слабую – десять (15%) изолятов. Было определено, что в
172 период с 2014 по 2017 годы чаще выявлялись изоляты, образующие сильные
173 биопленки ($p=0,0005$), а в период с 2018 по 2021 годы преобладали изоляты с
174 умеренной способностью к образованию биопленок ($p=0,002$).

175 2.5. Генотипирование

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

179 Рисунок 2. Генотиповой состав *K. pneumoniae* при bacteremia и инфекции
180 ЦНС.

181 Figure 2. Genotype composition of *K. pneumoniae* in bacteremia and CNS infection.

182 Основная масса резистентных к карбапенемам изолятов принадлежала к
183 генотипам: ST307, ST395, ST48, ST29, ST2975 и ST198. Устойчивые к

184 колистину изоляты относились к генотипам: ST395 (5/17), ST307 (4/17),
185 ST2975 (3/17), по одному изоляту – ST48, ST11, ST39, ST29, ST985. На рисунке
186 3 представлены генотипы изолятов, обладающих карбапенемазами.

187 Рисунок 3. Распространенность карбапенемаз среди представителей
188 различных генотипов.

189 Figure 3. Prevalence of carbapenemases among representatives of various
190 genotypes.

191 Распределение детерминант вирулентности среди представителей различных
192 генотипов отображено в таблице 2.

193 Таблица 2. Детерминанты вирулентности у представителей различных
194 генотипов *K. pneumoniae*.

195 Table 2. Determinants of virulence in representatives of various *K. pneumoniae*
196 genotypes.

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

203 Представители ST307 были способны к формированию биопленок разной
204 интенсивности: половина изолятов формировала умеренные биопленки,
205 четыре изолята – сильные и три – слабые. Половина изолятов ST395 также
206 формировала умеренные биопленки, три – слабые и один изолят не
207 формировал биопленку. Изоляты ST48 имели сильные и умеренные
208 биопленки. Два из трех изолятов ST2975 формировали умеренные биопленки
209 и один – сильную. Все представители ST39, ST29, ST198, ST6, ST4

210 образовывали биопленки умеренной интенсивности. Оба изолята генотипа
211 ST11 формировали сильные биопленки. Популяционная структура *K.*
212 *pneumoniae* в разных отделениях по стационарам представлена в таблице 3.

213 Таблица 3. Генотипическое разнообразие *K. pneumoniae* в отделениях в разные
214 годы.

215 Table 3. Genotypic diversity of *K. pneumoniae* in the departments in different years.

216 В ОРИТ С1 в течение четырех лет с 2015 по 2018 годы при бактериемии и
217 инфекции ЦНС у детей часто выделялись *K. pneumoniae* с генотипом ST307. В
218 2018 году появился его однолокусный вариант ST2975. Изоляты ST395
219 выделялись в 2017 и 2019 годах. Генотип ST29 встречался с 2018 по 2019
220 годы. Изоляты с генотипами ST6, ST11, ST17, ST784, ST881, ST985 и ST4652
221 встречались только в этом отделении.

222 В ОРИТ новорожденных С1 в 2014 и 2015 годах наблюдалось выделение *K.*
223 *pneumoniae* с генотипом ST48. Изоляты ST395 определялись в 2018, 2019 и
224 2021 годах. Генотип ST39 встречался в 2018 и 2020 годах. Штаммы, имеющие
225 ST20, были выделены в этом отделении в 2020 и 2021 годах. Генотипы ST20,
226 ST198, ST309, ST351 и ST736 определялись только в ОРИТ новорожденных
227 С1.

228 Спорадические случаи бактериемии в двух соматических отделениях С1 в
229 2017 и 2020 годах ассоциированы с *K. pneumoniae* разных генотипов, которые
230 не входят в число клонов высокого международного риска.

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

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

241 2.6. Клинические данные

242 По результатам оценки клинических данных изоляты *K. pneumoniae* были
243 выделены от 64 детей в возрасте от 5 суток до 17 лет. Медиана возраста – 4
244 месяца (1м; 12м). Пациенты были разделены на 4 возрастные группы: I (0-1
245 год) – 45 детей (70%), II (1-3 лет) – 3 ребенка (5%), III (3-7 лет) – 3 ребенка
246 (5%), IV (7-17 лет) – 13 детей (20%). Характеристика изолятов, выделенных от
247 детей разных возрастных групп, отображена в таблице 4.

248 Таблица 4. Характеристика изолятов *K. pneumoniae* в разных возрастных
249 группах.

250 Table 4. Characteristics of *K. pneumoniae* isolates in different age groups.

251 Штаммы *K. pneumoniae* были получены от детей, наблюдавшихся с
252 хирургической патологией (врожденные пороки сердца – 30%, абдоминальная
253 патология – 39%, тяжелая сочетанная травма – 17%) и с соматическими
254 заболеваниями, сопровождающимися антибактериальной и/или
255 глюкокортикостероидной терапией – 14%. Из 60 пациентов с положительной
256 гемокультурой диагноз сепсис был у 19 (32%), из них 12 имели
257 неблагоприятный исход (всего было 17 неблагоприятных исходов). В четырех
258 случаях положительные высевы *K. pneumoniae* были получены из образцов
259 ликвора. При этом у двух пациентов был диагноз менингит.
260 Микробиологическая характеристика неблагоприятных исходов отображена в
261 таблице 5.

262 Таблица 5. Характеристика *K. pneumoniae* при неблагоприятных исходах
263 бактериемии и инфекции ЦНС (n=17).

264 Table 5. Characteristics of *K. pneumoniae* in adverse outcomes of bacteremia and
265 CNS infection (n=17).

266 При бактериемии с летальным исходом, ассоциированной с *K. pneumoniae*, 12
267 пациентов были в возрасте до одного года, три пациента – от года до семи лет,
268 и два – от семи до 17 лет. 16 пациентов наблюдались с хирургической
269 патологией, и один – с соматической. У 11 – был выявлен сепсис.

270 **Обсуждение**

271 Результаты данного исследования подтверждают общую негативную
272 тенденцию последних лет – возрастание уровня резистентности у изолятов *K.*
273 *pneumoniae*. Инфекции кровотока и ЦНС, ассоциированные с
274 карбапенемрезистентными *K. pneumoniae*, распространены среди пациентов
275 отделений реанимации и интенсивной терапии [29]. При изучении
276 молекулярно-генетических характеристик штаммов *K. pneumoniae*,
277 выделенных из образцов крови и ликвора у детей, нами был обнаружен
278 высокий уровень устойчивости штаммов к антимикробным препаратам.
279 Множественно-резистентные и экстремальнорезистентные штаммы
280 составляли 16% и 43%, соответственно. Около четверти изолятов проявляли
281 широкую лекарственную устойчивость, в том числе к колистину, который
282 является последней линией терапии. В исследованиях наших китайских коллег
283 распространенность множественно-резистентных *K. pneumoniae* при
284 инфекциях кровотока варьируется от 18% до 61% [25]. В нашем исследовании
285 *K. pneumoniae* проявляла устойчивость к аминогликозидам до 88%, к
286 цефепиму – 85%, азтреонаму – 91%. К карбапенемам и колистину были
287 нечувствительны 34% и 31%. К бисептолу оказались устойчивы 75%
288 изолятов. Полученные результаты во многом отличаются от резистентности

289 при инфекциях кровотока в США, где к аминогликозидам резистентны около
290 17%, к цефепиму – 9%, к азтреонаму – 16%, к меропенему – 9% и к бисептолу
291 – 33%. При этом наши коллеги отмечают значительную роль множественно-
292 резистентных изолятов *K. pneumoniae* при инфекциях кровотока [15].
293 [Основной причиной резистентности к карбапенемам изолятов клебсиеллы из](#)
294 [кровотока и ликвора была продукция карбапенемаз, в частности *bla_{OXA-48}*. Она](#)
295 [распространена во многих странах \[22\], в том числе в России \[1\].](#)

296 [Ранее считалось, что бактерии, имеющие множественную резистентность, не](#)
297 [способны проявлять гипервирулентность.](#) В последние годы появляется
298 много сообщений о выделении одновременно гипервирулентных и
299 мультирезистентных штаммов *K. pneumoniae* [13,16]. Эти штаммы могут
300 представлять особую опасность для пациентов, поскольку способны вызывать
301 тяжелые инфекции и длительно персистировать в организме пациента и в
302 больничной среде. При изучении факторов вирулентности нами было
303 обнаружено, что сидерофор энтеробактин определялся во всех клебсиеллах,
304 как и во многих других исследованиях. Сидерофор иерсиниебактин *ybtS*, по
305 результатам зарубежных работ, наиболее часто ассоциирован с инфекциями
306 респираторного тракта, а у изолятов, выделенных из крови, встречается редко
307 [3]. При этом в нашей работе 78% изолятов имели ген иерсиниебактина.
308 Сидерофор аэробактин является одним из маркеров гипервирулентности [20].
309 Встречаемость гена аэробактина *iutA* достигает 56,8% у пациентов с
310 менингитом [11]. При пиогенных абсцессах печени встречаемость этого
311 фактора достигает 85,3% [28]. У исследованных нами изолятов аэробактин
312 был выделен в 18%. Ген *mrkD*, кодирующий фимбрии 3 типа, отвечающие за
313 биопленкообразование, встречался у всех изученных нами изолятов, это
314 соотносится с данными других исследований [28]. Считается, что *K.*
315 *pneumoniae*, относящиеся к K1/K2 серотипам, более вирулентные, чем
316 представители других серотипов [20]. Мы не выявили изолятов K1 серотипа,

317 а к серотипу K2 принадлежало 10% изолятов. Стоит отметить, что 6 из 7
318 изолятов K2 серотипа имели генотип ST395. Эти данные согласуются с
319 результатами отечественного исследования, в котором капсульный серотип K2
320 обнаруживался у 15,7% штаммов и ассоциировался с ST395 [14]. Ген *kfu*,
321 отвечающий за обмен железа, встречается редко. У изученных нами изолятов
322 – всего в 3%, аналогичные данные получены российскими и зарубежными
323 учеными [6,21].

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

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

334 Факторами риска для возникновения *K. pneumoniae* ассоциированных
335 инфекций кровотока и ЦНС являются хирургические вмешательства, травмы,
336 наличие внутрисосудистого катетера, интубация трахеи, госпитализация в
337 отделение реанимации, предшествующая антибиотикотерапия [27]. В нашей
338 работе большая часть пациентов наблюдалась с хирургической патологией
339 (68%). У 14% пациентов до выявления бактериемии или инфекции ЦНС
340 проводились курсы антибиотикотерапии и/или применялись
341 глюкокортикостероиды.

342 В исследовании Girometti N., et al. отмечено, что инфекции кровотока связаны
343 с более высокой смертностью, чем инфекции других локализаций [8]. Наши

344 данные соотносятся с этим утверждением, уровень летальности по данным
345 проведенного исследования составил 27%. Высокая смертность, возможно,
346 ассоциирована с вирулентностью микроорганизмов [17]. В нашем
347 исследовании у изолятов, выделенных при неблагоприятных исходах,
348 определялось множество факторов вирулентности, в частности
349 иерсиниебактин – 82%, аэробактин – 24% и K2 капсульный серотип – 12%.

350 **Заключение**

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

361 **Источник финансирования.** Исследование не имело финансовой поддержки.

362 **Конфликт интересов.** Авторы подтверждают отсутствие конфликта
363 интересов, который необходимо обнародовать.

РИСУНКИ

Рисунок 1. Комбинации детерминант вирулентности у изолятов *K. pneumoniae*.

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

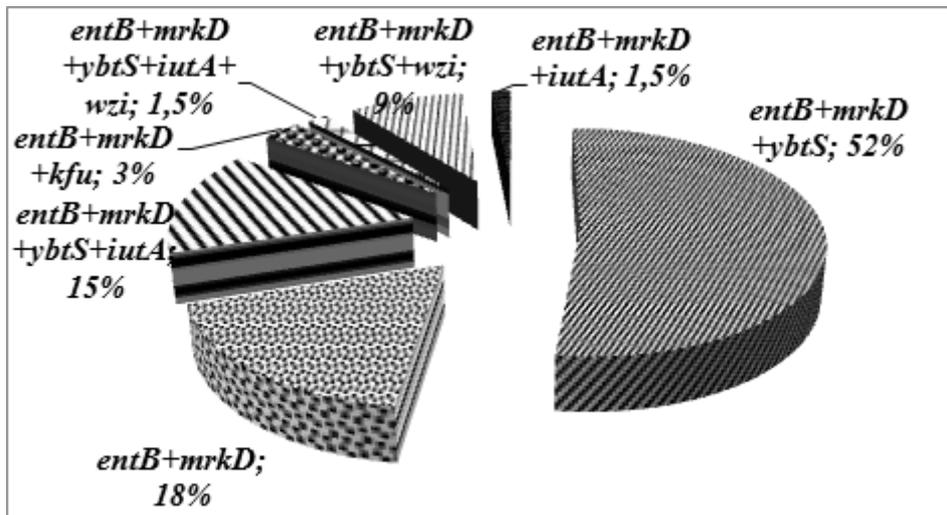
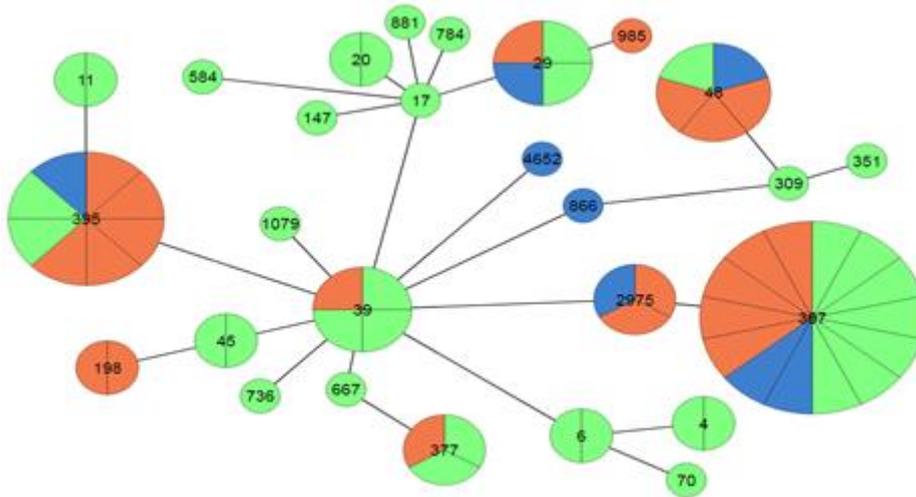


Рисунок 2. Генотиповой состав *K. pneumoniae* при бактериемии и инфекции ЦНС.

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

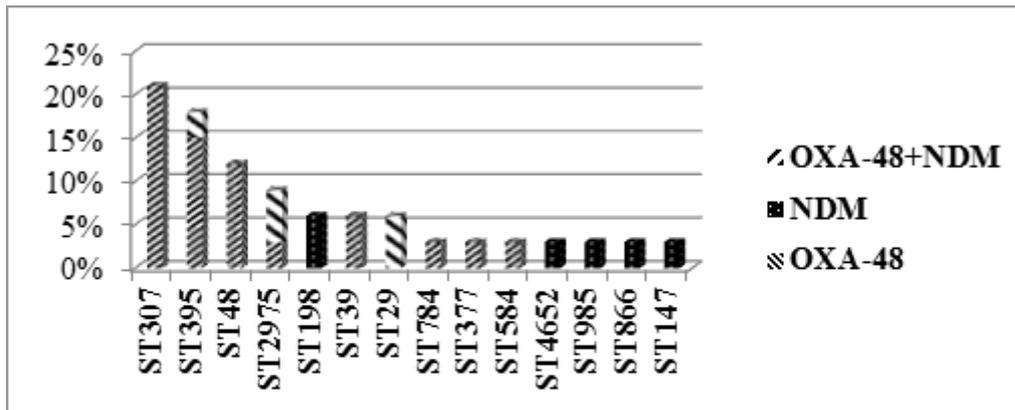


Примечание: зеленым цветом обозначены изоляты, чувствительные к карбапенемам; синим – чувствительные при повышенной экспозиции; оранжевым – резистентные. Секторами обозначено количество изолятов в генотипе.

Note: isolates sensitive to carbapenems are indicated in green; blue – sensitive at increased exposure; orange – resistant. Sectors indicate the number of isolates in the genotype.

Рисунок 3. Распространенность карбапенемаз среди представителей различных генотипов.

Figure 3. Carbapenemase prevalence among representatives of various genotypes.



ТАБЛИЦЫ

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	12	18	6	9	49	73

K. PNEUMONIAE ИЗ КРОВИ И ЛИКВОРА.

K. PNEUMONIAE FROM BLOOD AND CSF.

10.15789/2220-7619-PBA-14482

Ciprofloxacin						
---------------	--	--	--	--	--	--

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	+	+	+	+		

K. PNEUMONIAE ИЗ КРОВИ И ЛИКВОРА.

K. PNEUMONIAE FROM BLOOD AND CSF.

10.15789/2220-7619-PBA-14482

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 C1 ICU H1	ОРИТ новорожденных C1 ICU of newborns H1	Соматические отделения C1 Comatic departments H1	ОРИТ C2 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.

K. PNEUMONIAE ИЗ КРОВИ И ЛИКВОРА.

K. PNEUMONIAE FROM BLOOD AND CSF.

10.15789/2220-7619-PBA-14482

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

Таблица 4. Характеристика изолятов *K. pneumoniae* в разных возрастных группах.

Table 4. Characteristics of *K. pneumoniae* isolates in different age groups.

Группы Groups		Группа 1: (n=45) Group 1: (n=45)	Группа 2: (n=3) Group 2: (n=3)	Группа 3: (n=3) Group 3: (n=3)	Группа 4: (n=13) Group 4: (n=13)
Параметры Parameters					
Карбапенемазы Carbapenemases	ОХА-48	12	2	2	6
	NDM	5	-	-	1
	ОХА-48+NDM	4	-	-	1
Фенотип резистентности Resistance phenotype	Чувствительные Sensitive	8	-	-	1
	МЛУ	8	1	-	1
	МДР	15	2	3	8
	ШЛУ XDR	14	-	-	3
	ШЛУ+COL XDR+COL				
Интенсивность биофленок Biofilm intensity	Нет биофленки No biofilm	-	-	-	2
	Слабая Weak	6	2	-	2
	Умеренная Moderate	31	1	2	5
	Сильная Strong	8	-	1	4
Вирулентность Virulence	Иерсиниебактин Yersiniebactin	36	2	2	10
	Аеробактин Aerobactin	8	2	1	1
	К2 серотип K2 serotype	5	-	-	2
	Система <i>kfu</i> System <i>kfu</i>	2	-	-	-

K. PNEUMONIAE ИЗ КРОВИ И ЛИКВОРА.

K. PNEUMONIAE FROM BLOOD AND CSF.

10.15789/2220-7619-PBA-14482

Генотипы (ST)		307(n=9), 395(n=6), 48(n=5),	307 (n=2)	307 (n=2)	39 (n=2)
Genotypes (ST)		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	377 (n=1)	377 (n=1)	395 (n=2) 4, 29, 45, 70, 147, 307, 584, 667, 1079

Таблица 5. Характеристика *K. pneumoniae* при неблагоприятных исходах бактериемии и инфекции ЦНС (n=17).

Table 5. Characteristics of *K. pneumoniae* in unfavorable outcomes of bacteremia and CNS infection (n=17).

Фенотип резистентности Resistance phenotype	Гены резистентности и Resistance genes	Вирулентность Virulence	Биопленки Biofilms	ST*****
Чувствительные – 24% Sensitive – 24% ШЛУ* – 29% XDR* – 29% ШЛУ + R** к колистину – 47% XDR + R** to colistin – 47%	CTX-M – 94% OXA-48 – 35% NDM – 6% OXA-48+NDM – 6%	Энтеробактин – 100% Enterobactin – 100% Фимбриальный адгезин – 100% Fimbrial adhesive – 100% Йерсиниебактин – 82% Yersiniebactin – 82% Аэробактин – 24% Aerobactin – 24% K2 капсульный серотип – 12% K2 capsule serotype – 12%	L*** – 12% М**** – 53% S***** – 35%	307 – 24% 395 – 12% 11 – 12% 6, 29, 39, 45, 48, 377, 784, 985, 2975 – по 6% –by 6%

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

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

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Садеева Зульфияр Закиевна, м.н.с. лаборатории молекулярной микробиологии.

Sadeeva Zulfirya Zakievna, junior researcher of the Laboratory of Molecular Microbiology

Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей
Федеральное государственное автономное учреждение Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119296, Москва, Россия.

National Medical Research Center for Children's Health Federal State Autonomous Institution of the Ministry of Health of the Russian Federation, 119296, Moscow, Russia

Блок 2. Информация об авторах

Новикова И.Е., м.н.с. лаборатории молекулярной микробиологии

Novikova I.E., junior researcher of the Laboratory of Molecular Microbiology

Лазарева А.В., д.м.н., г.н.с. лаборатории молекулярной микробиологии, заведующая лабораторией микробиологии

Lazareva A.V., MD, Chief Scientific Officer, Laboratory of Molecular Microbiology, Head of the Microbiology Laboratory

Алябьева Н.М., к.м.н., в.н.с., заведующая лабораторией экспериментальной иммунологии и вирусологии

Alyabyeva N.M., Candidate of Medical Sciences, leading researcher, Head of the Laboratory of Experimental Immunology and Virology

Карасева О.В., д.м.н., заместитель директора по научной работе, руководитель отдела сочетанной травмы, анестезиологии-реанимации НИИ

неотложной детской хирургии и травматологии. Заведующий отделом неотложной хирургии и травм детского возраста ФГАУ "НМИЦ здоровья детей" Минздрава России.

Karaseva O.V., MD, Deputy Director for Scientific Work, Head of the Department of Combined Trauma, Anesthesiology-Resuscitation of the Research Institute of Emergency Pediatric Surgery and Traumatology. Head of the Department of Emergency Surgery and Childhood Injuries of the Children's Health Federal State Autonomous Institution of the Ministry of Health of the Russian Federation.

Янюшкина О.Г., научный сотрудник отделения сочетанной травмы НИИ неотложной детской хирургии и травматологии

Yanushkina O.G., Researcher at the Department of Combined Trauma of the Research Institute of Emergency Pediatric Surgery and Traumatology

Вершинина М. Г., д.м.н., в.н.с. лаборатории медицинской геномики

Vershinina M. G., MD, leading researcher of the Laboratory of Medical Genomics

Фисенко А. П., д.м.н., профессор, директор ФГАУ "НМИЦ здоровья детей" Минздрава России

Fisenko A. P., MD, Professor, Director of the National Medical Research Center for Children's Health Federal State Autonomous Institution of the Ministry of Health of the Russian Federation

Блок 3. Метаданные статьи

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

BACTEREMIA AND CNS INFECTIONS OF CHILDREN ASSOCIATED WITH KLEBSIELLA PNEUMONIAE: MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTICS AND CLINICAL FEATURES

K. PNEUMONIAE ИЗ КРОВИ И ЛИКВОРА.

K. PNEUMONIAE FROM BLOOD AND CSF.

10.15789/2220-7619-PBA-14482

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

K. PNEUMONIAE ИЗ КРОВИ И ЛИКВОРА.

K. PNEUMONIAE FROM BLOOD AND CSF.

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

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

Оригинальные статьи

Количество страниц текста – 17, количество таблиц – 5, количество рисунков – 3.

Дата поступления. 05.07.2023

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

№	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес цитируемой статьи
1	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. Russian Clinical Laboratory Diagnostics, 2022, vol. 67, no. 3, pp. 180-185.	https://elibrary.ru/item.asp?id=48107319 [doi: 10.51620/0869-2084-2022-67-3-180-185]
2	Ahmed H. A., Ibrahim E. H. S., Abdelhaliem E., Elariny E. Y. T. Biotyping, virulotyping and biofilm	-	https://academic.oup.com/jambio/a rticle-

	formation ability of ESBL- <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolates from nosocomial infections. Journal of applied microbiology, 2022, vol. 132, no. 6, pp. 4555–4568.		abstract/132/6/4555/6988619?redirectedFrom=fulltext&login=true [doi:10.1111/jam.15563]
3	Bachman M. A., Oyler J. E., Burns S. H., Caza M., Lépine F., Dozois C. M., Weiser J. N. <i>Klebsiella pneumoniae</i> yersiniabactin promotes respiratory tract infection through evasion of lipocalin 2. Infection and immunity, 2011, vol. 79, no. 8, pp. 3309–3316.	-	https://journals.asm.org/doi/10.1128/IAI.05114-11 [doi:10.1128/IAI.05114-11]
4	Compain F., Babosan A., Brisse S., Genel N., Audo J., Ailloud F., Kassis-Chikhani N., Arlet G., Decré D. Multiplex PCR for detection of seven virulence factors and K1/K2 capsular serotypes of <i>Klebsiella pneumoniae</i> . J Clin Microbiol, 2014, vol. 52, no. 12, pp. 4377-4380.	-	https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.02316-14 [doi:10.1128/JCM.02316-14]

5	Diancourt L., Passet V., Verhoef J., Grimont P. A., Brisse S. Multilocus sequence typing of <i>Klebsiella pneumoniae</i> nosocomial isolates. Journal of clinical microbiology, 2005, vol. 43, no. 8, pp. 4178–4182.	-	https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.43.8.4178-4182.2005 [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. Kh., Esenova N.M., Sharapchenko S.O., Volozhantsev N.V. Emergence of Five Genetic Lines ST395NDM-1, ST13OXA-48, ST3346OXA-48, ST39CTX-M-14, and Novel ST3551OXA-48 of Multidrug-Resistant Clinical <i>Klebsiella pneumoniae</i> in Russia. Microbial drug resistance, 2020, vol. 26, no. 8, pp. 924–933.	-	https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/mdr.2019.0289 [doi:10.1089/mdr.2019.0289]
7	German G. J., Gilmour M., Tipples G., Adam H. J., Almohri H., Bullard J.,	-	https://www.canada.ca/content/dam/phac-

	<p>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 <i>Enterobacteriaceae</i>, <i>Acinetobacter species</i> and <i>Pseudomonas aeruginosa</i>. Canada communicable disease report. Releve des maladies transmissibles au Canada, 2018, vol. 44, no. 1, pp. 29–34.</p>		<p>aspc/documents/services/reports-publications/canada-communicable-disease-report-ccdr/monthly-issue/2018-44/ccdr-volume-44-1-january-4-2018/ccdr-rmtc-44-1-ar07-eng.pdf [doi:10.14745/ccdr.v44i01a07]</p>
8	<p>Girometti N., Lewis R.E., Giannella M., Ambretti S., Bartoletti M., Tedeschi S., Tumietto F., Cristini F., Trapani F., Gaibani P., Viale P. <i>Klebsiella pneumoniae</i> bloodstream infection: epidemiology and impact of inappropriate</p>	-	<p>https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4602416/ [doi:10.1097/MD.000000000000111]</p>

	empirical therapy. <i>Medicine (Baltimore)</i> , 2014, vol. 93, pp. 298–309.		
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 <i>Klebsiella pneumoniae</i> high-risk clone in Spain owing to an undetectable colonised patient from Pakistan. <i>International journal of antimicrobial agents</i> , 2019, vol. 54, no. 2, pp. 233–239.	-	https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924857919301384?via%3Dihub [doi:10.1016/j.ijantimicag.2019.05.021]
10	Herridge W. P., Shibu P., O'Shea J., Brook T. C., Hoyles L. Bacteriophages of <i>Klebsiella spp.</i> , their diversity and potential therapeutic uses. <i>Journal of medical microbiology</i> , 2020, vol. 69, no. 2, pp. 176–194.	-	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7431098/ [doi.org/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 <i>Klebsiella pneumoniae</i> . Front Cell Infect Microbiol, 2021, vol. 11, pp. 661218.	-	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8058458/ [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 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> cross-colonization clonal isolates in the non-outbreak setting. Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases, 2017, vol. 55, pp. 288–296.	-	https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1567134817303167?via%3Dihub [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	-	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6591612/ [doi:10.1128/AAC.00519-19]

	M.L., Rasheed J.K., Elkins C.A., Halpin A.L. Identification of a carbapenemase-producing hypervirulent <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolate in the United States. Antimicrob Agents Chemother, 2019, vol. 63, no. 7, pp. e00519-19.		
14	Khrulnova S., Fedorova A., Frolova I., Tandilova K., Likold E., Klyasova G. Distribution of virulence genes and capsule types in <i>Klebsiella pneumoniae</i> among bloodstream isolates from patients with hematological malignancies. Diagn Microbiol Infect Dis, 2022, vol. 104, no. 1, pp. 115744.	-	https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0732889322001109?via%3Dihub [doi:10.1016/j.diagmicrobio.2022.115744]
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-	-	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9263067/ [doi:10.1186/s12879-022-07558-1]

K. PNEUMONIAE ИЗ КРОВИ И ЛИКВОРА.

K. PNEUMONIAE FROM BLOOD AND CSF.

10.15789/2220-7619-PBA-14482

	resistant or hypervirulent <i>Klebsiella pneumoniae</i> among United States bloodstream isolates. BMC infectious diseases, 2022, vol. 22, no. 1, pp. 603.		
16	Liu C., Du P., Xiao N., Ji F., Russo T.A., Guo J. Hypervirulent <i>Klebsiella pneumoniae</i> is emerging as an increasingly prevalent <i>K. pneumoniae</i> pathotype responsible for nosocomial and healthcare-associated infections in Beijing, China. Virulence, 2020, vol. 11, pp. 1215–1224.	-	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7549996/ [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 <i>Klebsiella</i>	-	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9019566/ [doi:10.3389/fmicb.2022.817494]

	<i>pneumoniae</i> ATCC43816. <i>Frontiers in microbiology</i> , 2022, vol.13, pp. 817494.		
18	Mairi A., Pantel A., Ousalem F., Sotto A., Touati A., Lavigne J.P. OXA-48-producing <i>Enterobacterales</i> in different ecological niches in Algeria: clonal expansion, plasmid characteristics and virulence traits. <i>The Journal of antimicrobial chemotherapy</i> , 2019, vol. 74, no. 7, pp. 1848–1855.	-	https://academic.oup.com/jac/article/74/7/1848/5472242?login=true [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 <i>Klebsiella pneumoniae</i> Clinical Isolates. <i>Microorganisms</i> , 2021, vol. 9, pp. 2252.	-	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8617712/ [doi:10.3390/microorganisms9112252]
20	Paczosa M.K., Meccas J. <i>Klebsiella pneumoniae</i> : Going on the Offense with a Strong Defense. <i>Microbiol Mol Biol Rev</i> , 2016, vol. 80, no. 3, pp. 629-661.	-	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4981674/ [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 <i>Klebsiella pneumoniae</i> : Microbiological Characteristics and Risk Factors. <i>Microb Drug Resist</i> , 2019, vol. 25, no. 2, pp. 287-296.	-	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6441289/ [doi: 10.1089/mdr.2018.0339]
22	Potron A., Poirel L., Rondinaud E., Nordmann P. Intercontinental spread of OXA48 beta-lactamase-producing <i>Enterobacteriaceae</i> over a 11-year period, 2001 to 2011. <i>Euro Surveill</i> , 2013, vol.18, pp. 20549.	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23929228/ [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	-	https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-0463.2007.apm_630.x [doi:10.1111/j.1600-0463.2007.apm_630.x]

	staphylococci. <i>APMIS</i> : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica, 2007, vol. 115, no. 8, pp. 891–899.		
24	Wyres K. L., Holt K. E. <i>Klebsiella pneumoniae</i> Population Genomics and Antimicrobial-Resistant Clones. <i>Trends in microbiology</i> , 2016, vol. 24, no. 12, pp. 944–956.	-	https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0966842X16301391?via%3Dihub [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 <i>Klebsiella pneumoniae</i> : prevalence of <i>bla</i> _{KPC} , virulence factors and their impacts on clinical outcome. <i>BMC Infect Dis</i> , 2018, vol.18, pp. 358.	-	https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-018-3263-x [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	-	https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/22221751.2021.1906163

	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 <i>Klebsiella pneumoniae</i> from patients with bloodstream infections in China. <i>Emerging microbes & infections</i> , 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 <i>Klebsiella pneumoniae</i> Bloodstream Infections and Outcomes. <i>Infection and drug resistance</i> , 2020, vol. 13, pp. 207–215.	-	https://www.dovepress.com/risk-factors-for-carbapenem-resistant-klebsiella-pneumoniae-bloodstream-peer-reviewed-fulltext-article-IDR [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	-	https://aricjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13756-019-0615-2 [doi:10.1186/s13756-019-0615-2]

K. PNEUMONIAE ИЗ КРОВИ И ЛИКВОРА.

K. PNEUMONIAE FROM BLOOD AND CSF.

10.15789/2220-7619-PBA-14482

	<p>of <i>Klebsiella pneumoniae</i>-induced pyogenic liver abscess in southeastern China. Antimicrobial resistance and infection control, 2019, vol. 8, pp. 166.</p>		
29	<p>Zheng X., Wang J.F., Xu W.L., Xu J., Hu J. Clinical and molecular characteristics, risk factors and outcomes of Carbapenem-resistant <i>Klebsiella pneumoniae</i> bloodstream infections in the intensive care unit. Antimicrobial resistance and infection control, 2017, vol. 6, no. 1, pp. 102.</p>	-	<p>https://aricjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13756-017-0256-2 [doi:10.1186/s13756-017-0256-2]</p>