



Антибиотикорезистентность и вирулентность карбапенем-устойчивых штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных у детей в реанимационных и хирургических отделениях

Новикова И.Е.^{1✉}, Садеева З.З.¹, Алябьева Н.М.¹, Самойлова Е.А.¹, Карасева О.В.^{1,2}, Янюшкина О.Г.², Лазарева А.В.¹

¹Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей, Москва, Россия;

²Научно-исследовательский институт неотложной детской хирургии и травматологии, Москва, Россия

Аннотация

Введение. Инфекции, ассоциированные с карбапенемрезистентной (Карба-Р) *Klebsiella pneumoniae* (КР), представляют собой серьезную проблему здравоохранения, поскольку приводят к увеличению длительности пребывания в стационаре, затрат на лечение, повышению заболеваемости и смертности пациентов.

Цель — охарактеризовать антибиотикорезистентность, вирулентные свойства и генотипы Карба-Р-штаммов КР, выделенных от пациентов, находившихся в реанимационных и хирургических отделениях.

Материалы и методы. В 2018–2020 гг. было собрано 455 штаммов КР, не чувствительных к меропенему и/или имипенему либо чувствительных к меропенему и/или имипенему при увеличенной экспозиции. Для дальнейшего исследования было отобрано 90 изолятов КР, выделенных из клинически значимых локусов: крови/ликвора/мочи/нижних дыхательных путей/ран/брюшной полости пациентов реанимационных и хирургических отделений. Чувствительность к антимикробным препаратам определяли методом микроразведений в бульоне. Гены карбапенемаз детектировали методом ПЦР в режиме реального времени. Гены вирулентности и принадлежность к K1/K2-капсульным серотипам определяли методом мультиплексной ПЦР. Сиквенс-типы (ST) были определены с помощью мультилокусного сиквенс-типирования.

Результаты. Большинство отобранных штаммов (97%) продемонстрировали фенотип широкой лекарственной устойчивости, 3 изолята обладали фенотипом множественной лекарственной устойчивости. Главной детерминантой резистентности была карбапенемаза группы OXA-48 (53%), у 13% штаммов выявлена металло-бета-лактамаза группы NDM, сочетание карбапенемаз NDM и OXA-48 обнаружено у 31% изолятов. Два штамма обладали карбапенемазой группы KPC. У большинства изолятов встречались гены вирулентности *entB* (100%), *mrkD* (99%) и *ybtS* (78%). У 16% штаммов был найден ген *iutA*. Четыре изолята показали наличие генов *kfu*, и у 4 штаммов был найден ген *rmpA*. К серотипу K2 принадлежали 13% изолятов. В исследованной популяции преобладали ST: ST395 (26%), ST2975 (19%), ST198 (12%) и ST307 (11%).

Заключение. Карба-Р-изоляты КР имели высокий уровень устойчивости не только к карбапенемам, но и к антибиотикам других классов. Устойчивость к карбапенемам главным образом была обусловлена карбапенемазой OXA-48. Главными детерминантами вирулентности были *entB*, *mrkD* и *ybtS*. Преобладающими генетическими линиями были эпидемически успешные клоны CG395 и CG307. Резистентность к антимикробным препаратам сочеталась с наличием различных факторов вирулентности. Полученные данные важны для эпиднадзора за распространением КР и имеют важное клиническое значение.

Ключевые слова: *Klebsiella pneumoniae*, антибиотикорезистентность, вирулентность

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов и их законных представителей. Протокол исследования одобрен Локальным независимым этическим комитетом Национального медицинского исследовательского центра здоровья детей (протокол № 5 от 02.06.2022).

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Новикова И.Е., Садеева З.З., Алябьева Н.М., Самойлова Е.А., Карасева О.В., Янюшкина О.Г., Лазарева А.В. Антибиотикорезистентность и вирулентность карбапенем-устойчивых штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных у детей в реанимационных и хирургических отделениях. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023;100(4):321–332.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-373>

EDN: <https://www.elibrary.ru/rmjxsl>

Original Study Article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-373>

Antimicrobial resistance and virulence of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from children in intensive care and surgical units

Irina E. Novikova^{1✉}, Zulfirya Z. Sadeeva¹, Natalya M. Alyabieva¹, Ekaterina A. Samoylova¹, Olga V. Karaseva^{1,2}, Olga G. Yanyushkina², Anna V. Lazareva¹

¹National Medical Research Center of Children's Health, Moscow, Russia;

²Clinical and Research Institute of Emergency Pediatric Surgery and Trauma, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. Infections associated with carbapenem-resistant (Carba-R) *Klebsiella pneumoniae* (KP) are a serious public health problem because they lead to an increase in hospital stays, treatment costs, and an increase in patient morbidity and mortality.

Aim — to characterize antimicrobial resistance, virulence factors and genotypes of Carba-R KP strains isolated from patients in intensive care and surgical units.

Materials and methods. In total, 455 KP strains that were resistant to meropenem and/or imipenem, or susceptible to meropenem and/or imipenem at increased exposure were collected in 2018–2020. For further analysis, total 90 KP strains isolated from clinically significant sites — blood/cerebrospinal fluid/urine/lower respiratory tract/wounds/abdominal cavity of patients in intensive care and surgical units were selected. Antibiotic susceptibility was determined using the broth microdilution method. Carbapenemase genes were detected by real-time PCR. The virulence genes and K1/K2 capsular serotypes were determined by multiplex PCR. Sequence types (ST) were determined using multilocus sequence typing.

Results. Most of the selected isolates (97%) were recognized as extensively drug-resistant pathogens, three isolates were classified as multidrug-resistant pathogens. The major determinant of carbapenem resistance was *bla*_{OXA-48-like} (53%), *bla*_{NDM-group} was detected in 13% strains, a combination of *bla*_{NDM-group} and *bla*_{OXA-48-like} genes was found in 31% isolates. Two isolates harbored *bla*_{KPC-group}. Most of the isolates had the virulence genes *entB* (100%), *mrkD* (99%), and *ybtS* (78%). The *iutA* gene was found in 16% strains. Four isolates had *kfu* gene and four strains carried *rmpA* gene. The K2 capsule type was determined in 13% isolates. Four ST dominated in the studied population: ST395 (26%), ST2975 (19%), ST198 (12%) and ST307 (11%).

Conclusion. Carba-R KP isolates had a high level of resistance not only to carbapenems, but also to antibiotics of other classes. Carbapenem resistance was mainly associated with OXA-48 carbapenemase. The *entB*, *mrkD* and *ybtS* genes were the main determinants of virulence. The epidemically successful clones CG395 and CG307 were the predominant genetic lines. Resistance to antimicrobials was combined with the presence of various virulence factors. The data obtained are important for the epidemiological surveillance of the spread of KP and have important clinical implications.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, antimicrobial resistance, virulence

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients and their legal representatives. The research protocol was approved by the Local Independent Ethics Committee of the National Medical Research Center of Children's Health (protocol No. 5, June 2, 2022).

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Novikova I.E., Sadeeva Z.Z., Alyabieva N.M., Samoylova E.A., Karaseva O.V., Yanyushkina O.G., Lazareva A.V. Antimicrobial resistance and virulence of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from children in intensive care and surgical units. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2023;100(4):321–332. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-373>. EDN: <https://www.elibrary.ru/rmjxsl>

Введение

Представители порядка *Enterobacterales* играют важную роль в структуре нозокомиальных инфекций. Среди них особое место занимает *Klebsiella pneumoniae* (KP), входящая в группу ESKAPE

(*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter species*), представители которой являются ведущей причиной внутрибольничных инфекций во всём мире [1].

КР занимает различные ниши в природе, а также колонизирует желудочно-кишечный тракт человека и животных. Зачастую КР может быть инфекционным агентом при различных тяжёлых состояниях: пневмонии, бактериемии, менингите [2].

Глобальной проблемой здравоохранения является растущая антибиотикорезистентность КР. Штаммы КР могут сочетать различные механизмы резистентности, что ведёт к появлению мультирезистентных патогенов, устойчивых практически ко всем классам антибактериальных препаратов (АМП), что значительно усложняет лечение [3]. Основными препаратами для лечения инфекций, вызванных КР, являются бета-лактамы антибиотиков. Продукция ферментов бета-лактамаз ведёт к разрушению бета-лактамового кольца, обеспечивающего антимикробную активность препарата [4]. Бета-лактамазы разделяют на четыре молекулярных класса. Сериновые бета-лактамазы относятся к классам А, С, D. Металло-бета-лактамазы (МБЛ), содержащие 1 или 2 атома цинка в активном центре, относятся к классу В [4].

В 1980-х гг. появились первые сообщения о внебольничных инфекциях у здоровых людей, вызванных гипервирулентными штаммами КР, приводящими к эндофальмиту, гнойному абсцессу печени и другим заболеваниям [5]. В настоящее время вызывает беспокойство появление гипервирулентных штаммов, резистентных к бета-лактамам антибиотикам, в том числе карбапенемам [6].

Важную роль в развитии инфекционного процесса играют факторы вирулентности КР: капсула, липополисахарид, системы утилизации ионов трёхвалентного железа и адгезивные структуры [7]. Полисахаридная капсула обеспечивает защиту бактериальной клетки от воздействия антител и факторов комплемента. Гипервирулентные штаммы ассоциированы с мукоидным фенотипом за счёт гиперпродукции капсульных полисахаридов. Гены-регуляторы мукоидного фенотипа *rmpA* и *rmpA2* ответственны за регуляцию синтеза внеклеточных полисахаридов. Наличие слизистого фенотипа также связано с геном *magA*, который располагается в кластере генов *cps* и кодирует капсульную полимеразу Wзу, ассоциированную с серотипом K1 [8]. По данным нескольких исследований, вирулентные штаммы КР, обладающие гипермукоидным фенотипом, чаще всего принадлежали к капсульным серотипам K1 и K2 [9, 10]. Во время инфекционного процесса клеткам КР, как и другим бактериальным патогенам, требуется железо.

Сидерофоры — молекулы, секретирующиеся клетками КР для получения ионов железа из организма хозяина. У КР встречаются несколько видов сидерофоров: энтеробактин, йерсиниабактин, сальмохелин и аэробактин. Наиболее часто КР продуцируют энтеробактин, он широко распространён

среди как классических, так и гипервирулентных изолятов. Экспрессию энтеробактина способен нейтрализовать липокалин-2 — белок, синтезируемый нейтрофилами и другими клетками во время инфекции. Сальмохелин — это гликозилированная форма энтеробактина, не позволяющая липокалину-2 нейтрализовать сальмохелин [7]. Йерсиниабактин, впервые обнаруженный как фактор вирулентности у бактерий рода *Yersinia*, чаще экспрессируется гипервирулентными клебсиеллами (90%), чем классическими (18%) [7]. Аэробактин наиболее распространён среди гипервирулентных изолятов (93–100%), у классических штаммов встречается редко [7]. Считается, что система утилизации трёхвалентного железа Kfu также ассоциируется с гипервирулентными КР. Штаммы, обладающие этой системой поглощения железа, главным образом, выделялись от пациентов с инвазивными инфекциями [7].

Адгезивные структуры — ещё один важный фактор патогенности КР. Фимбрии 1-го и 3-го типов обеспечивают прикрепление КР к клеткам человека и абиотическим поверхностям, участвуют в формировании биоплёнок. Фимбрии 1-го типа кодируются кластером генов *fim*, фимбрии 3-го типа кодирует кластер генов *mrkABCD* [11]. Метаболизм аллантаина помогает бактериям получать углерод и азот из окружающей среды. По данным исследования, проведённого в Тайване, ген, ассоциированный с усвоением аллантаина, присутствовал в 100% гипервирулентных КР [12].

Высокий уровень устойчивости к АМП в сочетании с повышенной вирулентностью КР способствует её длительной персистенции в организме пациента. При этом происходит диссеминация микроорганизма из локусов мониторинга (зев, анус) в клинически значимые стерильные локусы (раны, нижние дыхательные пути, кровоток, мочевыводящие пути и др.) Это неблагоприятно сказывается на течении основного заболевания, приводя к увеличению сроков пребывания в лечебном учреждении и повышению расходов на лечение, поэтому мониторинг факторов вирулентности и антибиотикорезистентности крайне важен.

Цель исследования — охарактеризовать антибиотикорезистентность, вирулентные свойства и генотипы карбапенемрезистентных (Карба-Р) штаммов КР, выделенных от пациентов, находившихся в реанимационных и хирургических отделениях.

Материалы и методы

Бактериальные культуры

В 2018–2020 гг. собраны 455 штаммов КР, не чувствительных к меропенему и/или имипенему (минимальная подавляющая концентрация (МПК) меропенема и имипенема более 8 и 4 мг/л соответственно) либо чувствительных к меропенему и/или

имипенему при увеличенной экспозиции (МПК меропенема и имипенема 2–8 и 2–4 мг/л соответственно). Штаммы были получены от пациентов, находившихся в реанимационных и хирургических отделениях НМИЦ здоровья детей и НИИ неотложной детской хирургии и травматологии.

Для дальнейшего исследования были отобраны 90 изолятов КР, выделенных из клинически значимых локусов: крови и ликвора ($n = 10$), мочи ($n = 41$), нижних дыхательных путей ($n = 22$), ран ($n = 10$), брюшной полости ($n = 7$). Отобранные изоляты КР были получены от 79 пациентов через 48 ч и более после госпитализации. Штаммы от одного пациента включали в исследование, если между датами выделения прошло не менее 1 мес.

Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов и их законных представителей. Протокол исследования одобрен Локальным независимым этическим комитетом Национального медицинского исследовательского центра здоровья детей (протокол № 5 от 02.06.2022).

Посевы биологического материала производили на питательную среду Uri-select agar («BioRad») и инкубировали при 37°C в течение 24–48 ч. Видовую идентификацию проводили на масс-спектрометре «MALDI-ToF-MS» («Bruker Daltonics»). Рекомендуемые значения Score $\geq 2,0$ использовали в качестве критерия надёжной видовой идентификации.

Чувствительность к антибактериальным препаратам

Для определения чувствительности к АМП использовали метод микроразведений в бульоне Мюллера–Хинтона («bioMérieux»). Клинические категории чувствительности изолятов к АМП определяли на основании пограничных МПК в соответствии с рекомендациями EUCAST, версия 10.0 [13]. Определена чувствительность к 15 АМП: пиперациллину-тазобактаму, тикарциллину-клавуланату, цефтазидиму, цефепиму, азтреонаму, меропенему, имипенему, тобрамицину, амикацину, гентамицину, ципрофлоксацину, левофлоксацину, колистину, триметоприму-сульфаметоксазолу и фосфомицину.

Все изоляты были разделены на штаммы с множественной лекарственной устойчивостью (multidrug-resistant, MDR) и на штаммы с широкой лекарственной устойчивостью (extensively drug-resistant, XDR) в соответствии с рекомендациями G.J. German и соавт. [14]. Классификация основана на чувствительности микроорганизмов к 6 группам АМП: аминогликозидам (тобрамицин или гентамицин), пенициллинам (пиперациллин-тазобактам), карбапенемам (имипенем или меропенем), цефалоспорином (цефотаксим, цефтриаксон или цефтазидим), фторхинолонам (ципрофлоксацин), сульфа-

зиламидам (триметоприм-сульфаметоксазол). Изоляты, не чувствительные к 3 или 4 перечисленным группам, классифицировали как MDR, штаммы, не чувствительные к 5 или 6 группам, — как XDR.

Определение генов карбапенемазы

Бактериальную ДНК выделяли из суточной культуры с помощью коммерческих наборов «ГК-экспресс» (ЦНИИ Эпидемиологии). Карбапенемазы групп IMP, NDM, VIM, KPC, OXA-48 определяли с использованием наборов с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс MDR MBL-FL», «АмплиСенс MDR KPC/OXA-48-FL» (ЦНИИ Эпидемиологии). В качестве положительного и отрицательного контролей использовали образцы, входящие в состав набора. Реакцию амплификации проводили в соответствии с инструкцией производителя.

Определение факторов вирулентности и капсульных серотипов

Гены вирулентности и принадлежность к капсульным серотипам K1/K2 определяли методом мультиплексной ПЦР [15].

Изоляты были протестированы на наличие следующих генов:

- *magA*, специфичный для серотипа K1;
- *rmpA*, регулирующий синтез мукоидного фенотипа;
- *entB*, ассоциированный с синтезом энтеробактина;
- *ybtS*, связанный с синтезом йерсениобактина;
- *kfu*, ответственный за связывание железа;
- *iutA*, кодирующий транспортер азробактина;
- *mrkD*, ассоциированный с фимбриальными адгезинами 3-го типа;
- *allS*, связанный с метаболизмом аллантаина;
- *wzi*, специфичный для серотипа K2.

Ген *entB* был включён в дизайн исследования в качестве положительного контроля, т.к. широко распространён среди КР. Результаты реакции оценивали путём проведения электрофореза в 2% агарозном геле. Использованные праймеры представлены в **табл. 1**.

Мультилокусное секвенирование-типирование

Генотипирование штаммов КР проводили согласно схеме, предложенной Институтом Пастера [18], основанной на анализе аллельных профилей 7 «генов домашнего хозяйства»: *rpoB* (бета-субъединицы РНК-полимеразы), *gapA* (глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназы), *mdh* (малатдегидрогеназы), *pgi* (фосфоглюкоза-изомеразы), *phoE* (фосфорина E), *infB* (фактора инициации трансляции 2), *tonB* (периплазматического энергетического трансдуцера). Полученные нуклеотидные последовательности анали-

Таблица 1. Праймеры, использованные для определения генов вирулентности и серотипов K1/K2
Table 1. Primers used for identification of the virulence genes and K1/K2 serotypes

Праймер Primer	Последовательность 5'–3' Sequence 5'–3'	Размер продукта, п.о. Amplicon size, bp	Источник Source
ybtS_f	GACGGAAACAGCACGGTAAA	242	[15]
ybtS_r	GAGCATAATAAGGCGAAAGA		
mrkD_f	AAGCTATCGCTGTACTTCCGGCA	340	[15]
mrkD_r	GGCGTTGGCGCTCAGATAGG		
entB_f	GTCAACTGGGCSTTTGAGCCGTC	400	[15]
entB_r	TATGGGCGTAAACGCCGGTGAT		
rmpA_f	CATAAGAGTATTGGTTGACAG	461	[15]
rmpA_r	CTTGCATGAGCCATCTTTCA		
K2_f	CAACCATGGTGGTTCGATTAG	531	[16]
K2_r	TGGTAGCCATATCCSTTTGG		
kfu_f	GGCCTTTGTCCAGAGCTACG	638	[15]
kfu_r	GGGTCTGGCGCAGAGTATGC		
allS_f	CATTACGCACSTTTGTCAGC	764	[15]
allS_r	GAATGTGTCCGGCGATCAGCTT		
iutA_f	GGGAAAGGCTTCTCTGCCAT	920	[15]
iutA_r	TTATTCGCCACCACGCTCTT		
magA_f	GGTGCTCTTTACATCATTGC	1,283	[17]
magA_r	GCAATGGCCATTTGCGTTAG		

зировали с помощью программы «SeqMan» и затем сравнивали с аллельными профилями базы данных BIGSdb¹. Сиквенс-типы (ST) идентифицировали на основании комбинации аллелей.

Результаты

Почти все отобранные штаммы ($n = 87$; 97%) продемонстрировали фенотип XDR, оставшиеся 3 изолята обладали фенотипом MDR. Все изоляты показали высокий уровень устойчивости к карбапенемам. К меропенему были нечувствительны 79 (88%) штаммов (МПК > 8 мг/л), 11 (12%) изолятов относились к категории чувствительных при повышенной экспозиции (МПК 2–8 мг/л). Резистентность к имипенему проявили 72 (80%) штамма (МПК > 4 мг/л), 16 (18%) изолятов были чувствительны к имипенему при повышенной экспозиции (МПК 2–4 мг/л), 2 (2%) штамма были чувствительны к имипенему (МПК < 2 мг/л).

Все исследованные штаммы были устойчивы к пиперациллину-тазобактаму, тикарциллину-клавуланату и тобрамицину. Высокая частота устойчивости была выявлена к цефтазидиму (98%), цефепиму (98%), азтреонаму (94%), фосфомоцину (91%), амикацину (89%), гентамицину (83%), ципрофлоксацину (87%), левофлоксацину (87%), триметоприму-сульфаметоксазолу (87%), колистин (43%) (табл. 2).

¹ URL: <https://bigsdb.pasteur.fr/klebsiella>

Продукция карбапенемаз обнаружена у всех исследованных изолятов КР. Главной детерминантой резистентности была карбапенемаза группы OXA-48 ($n = 48$; 53%), в 12 (13%) штаммах выявлена МБЛ группы NDM, сочетание карбапенемаз NDM и OXA-48 обнаружено у 28 (31%) изолятов. Два штамма обладали карбапенемазой группы KPC. Карбапенемаз VIM и IMP найдено не было.

При анализе факторов вирулентности выявлено, что все штаммы КР обладали геном *entB* ($n = 90$; 100%). Ген *mrkD* найден у всех исследованных штаммов ($n = 89$; 99%), за исключением 1 изолята. У большинства изолятов был обнаружен ген *ybtS* ($n = 70$; 78%). У 14 (16%) штаммов найден ген *iutA*. Четыре изолята показали наличие генов *kfu*, и у 4 штаммов был найден ген *rmpA*. Гена *allS* не было найдено ни в одном исследованном изоляте. Было обнаружено 7 комбинаций от 2 до 5 генов вирулентности. Комбинация 2 генов (*mrkD* + *entB*) и (*ybtS* + *entB*) найдена у 15 и 1 изолятов соответственно; 3 генов (*ybtS* + *mrkD* + *entB*) и (*mrkD* + *entB* + *iutA*) — у 56 и 5 штаммов соответственно; 4 генов (*ybtS* + *mrkD* + *entB* + *iutA*) и (*ybtS* + *mrkD* + *entB* + *kfu*) — у 5 и 4 изолятов соответственно; 5 генов (*ybtS* + *mrkD* + *entB* + *rmpA* + *iutA*) — у 4 изолятов. Двенадцать (13%) изолятов принадлежали к серотипу K2. Штаммов, относящихся к серотипу K1, не обнаружено (табл. 3).

Таблица 2. Устойчивость к антибиотикам изолятов *K. pneumoniae***Table 2.** Antibiotic resistance of *K. pneumoniae* isolates

Антибиотик Antibiotic	МПК, мг/л* MIC, mg/l*		Число резистентных изолятов Number of resistant isolates	
	чувствительность ≤ susceptibility ≤	резистентность > resistance >	<i>n</i>	%
Меропенем Meropenem	2	8	79	88
Имипенем Imipenem	2	4	72	80
Пиперациллин-тазобактам Piperacillin-tazobactam	8	16	90	100
Тикарциллин-клавуланат Ticarcillin-clavulanate	8	16	90	100
Цефтазидим Ceftazidime	1	4	88	98
Цефепим Cefepime	1	4	88	98
Амикацин Amikacin	8	8	80	89
Гентамицин Gentamicin	2	2	75	83
Тобрамицин Tobramycin	2	2	90	100
Ципрофлоксацин Ciprofloxacin	0,25	0,5	78	87
Левифлоксацин Levofloxacin	0,5	1	78	87
Триметоприм-сульфаметоксазол Trimethoprim-sulfamethoxazole	2	4	78	87
Колистин Colistin	2	2	39	43
Азтреонам Aztreonam	1	4	85	94
Фосфомицин Fosfomycin	32	32	82	91

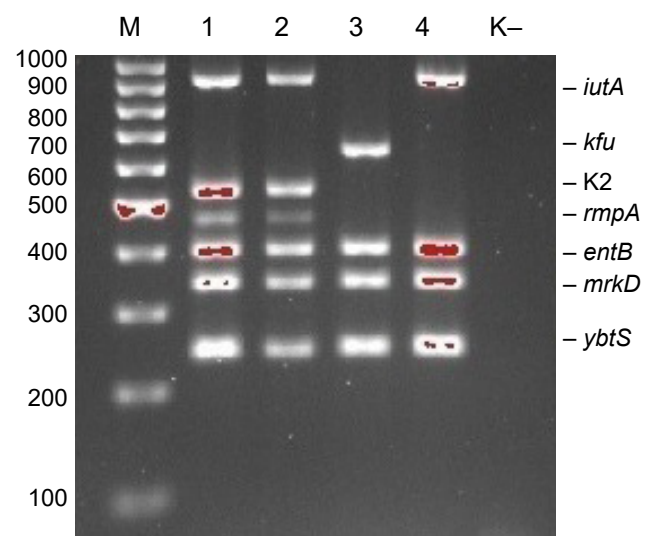
Примечание. *В соответствии с EUCAST [13].

Note. *According to EUCAST [13].

Результаты анализа амплификации генов вирулентности *K. pneumoniae* представлены на **рисунке**.

Наиболее вирулентные штаммы, сочетающие 4–5 генов вирулентности, были выделены из нижних дыхательных путей ($n = 4/22$), мочи ($n = 5/41$), ран ($3/10$), брюшной полости ($n = 1/7$). Из 28 штаммов, сочетающих 2 гена карбапенемаз, 15 (54%) приходилось на изоляты, выделенные из мочи. В штаммах из других локусов 2 гена карбапенемаз встречались у единичных изолятов: нижние дыхательные пути ($n = 3$), брюшная полость ($n = 3$), кровь ($n = 3$), рана ($n = 4$).

Большинство исследованных штаммов ($n = 33$; 37%) сочетали 1 ген резистентности к карбапенемам и 3 гена вирулентности: OXA-48 + *ybtS* + *mrkD* + *entB* ($n = 22$); OXA-48 + *mrkD* + *entB* + *iutA* ($n = 3$); NDM + *ybtS* + *mrkD* + *entB* ($n = 8$). Сочетание 2 генов резистентности и 3 генов вирулентности встречалось в 28 (31%) изолятах: OXA-48 + NDM + *ybtS* + *mrkD* + *entB* ($n = 26$); OXA-48 + NDM + *mrkD* + *entB* + *iutA* ($n = 2$). Шестнадцать (18%) штаммов обладали одним геном резистентности и 2 генами вирулентности: OXA-48 + *mrkD* + *entB* ($n = 9$); OXA-48 + *ybtS* + *entB* ($n = 1$); NDM + *mrkD* + *entB* ($n = 4$); KPC + *mrkD* + *entB* ($n = 2$). Комбинация 1 гена резистентности и 4–5 генов вирулентности встречалась у 13 (14%) штаммов: OXA-48 + *ybtS* +



Анализ ПЦР-амплификации генов вирулентности КР при помощи электрофореза в 2% агарозном геле.

М — линейка молекулярных масс; штаммы КР: 1, 2 — *ybtS*, *mrkD*, *entB*, *rmpA*, серотип K2, *iutA*; 3 — *ybtS*, *mrkD*, *entB*, *kfu*; 4 — *ybtS*, *mrkD*, *entB*, *iutA*; К- — отрицательный контроль реакции.

Analysis of PCR amplification of *K. pneumoniae* virulence genes by electrophoresis in 2% agarose gel.

M — molecular size marker; *K. pneumoniae* strains: 1, 2 — *ybtS*, *mrkD*, *entB*, *rmpA*, K2 serotype, *iutA*; 3 — *ybtS*, *mrkD*, *entB*, *kfu*; 4 — *ybtS*, *mrkD*, *entB*, *iutA*; K- — negative control.

Таблица 3. Распределение изолятов *K. pneumoniae* в зависимости от ST, носительства детерминант вирулентности и принадлежности к серотипу K2

Table 3. Distribution of *K. pneumoniae* isolates depending on the ST, carriage of virulence determinants, and belonging to K2 serotype

ST (n)	n	K2	ybtS	mrkD	entB	rmpA	kfu	iutA
ST395 (23)	7	+	+	+	+			
	6			+	+			
	4		+	+	+			
	3		+	+	+			+
	2	+	+	+	+	+		+
	1		+		+			
ST2975 (17)	17		+	+	+			
ST198 (11)	11		+	+	+			
ST307 (10)	8		+	+	+			
	1		+	+	+		+	
	1		+	+	+			+
ST377 (6)	3			+	+			+
	3			+	+			
ST29 (4)	4		+	+	+			
ST147 (4)	3		+	+	+			
	1			+	+			
ST397 (2)	2		+	+	+		+	
ST512 (2)	2			+	+			
ST584 (2)	1	+		+	+			+
	1			+	+			+
ST5829 (2)	2	+	+	+	+	+		+
ST 23(1)	1		+	+	+			+
ST42 (1)	1			+	+			
ST280 (1)	1			+	+			
ST405 (1)	1		+	+	+		+	
ST985 (1)	1		+	+	+			
ST3346 (1)	1			+	+			
Новый ST (1) New ST (1)	1		+	+	+			
Всего Total	90	12 (13%)	70 (78%)	89 (99%)	90 (100%)	4 (4%)	4 (4%)	14 (16%)

mrkD + *entB* + *iutA* ($n = 5$); OXA-48 + *ybtS* + *mrkD* + *entB* + *kfu* ($n = 4$); OXA-48 + *ybtS* + *mrkD* + *entB* + *rmpA* + *iutA* ($n = 4$).

При исследовании Карба-Р-штаммов КР методом мультилокусного сиквенс-типирования (МЛСТ) выявлены 18 различных ST, в том числе 3 изолята принадлежали к 2 новым, ранее не описанным ST. Один ST из них зарегистрирован в базе данных МЛСТ под номером ST5829 ($n = 2$), для него описан новый вариант гена *tonB*, которому присвоен номер аллеля 809. Второй ST с новым вариантом гена *phoE* ($n = 1$) — в процессе регистрации. Большая часть исследованной популяции (68%)

принадлежала к 4 ST: ST395 ($n = 23$; 26%), ST2975 ($n = 17$; 19%), ST198 ($n = 11$; 12%) и ST307 ($n = 10$; 11%). Шесть (7%) штаммов относились к ST377. По 4 изолята принадлежали к ST29 и ST147, остальные ST были представлены 1–2 штаммами (табл. 4).

Большинство штаммов ST395 ($n = 23$) ассоциировалось с карбапенемазой OXA-48 ($n = 20$). Девять из 12 штаммов серотипа K2 принадлежали к ST395. Среди ST2975 ($n = 17$) преобладали штаммы с сочетанием карбапенемаз OXA-48 и NDM ($n = 13$). Шесть штаммов ST198 сочетали карбапенемазы OXA-48 и NDM, а в 5 изолятах найдена только NDM. Все штаммы ST307 ($n = 10$) обладали един-

Таблица 4. Распределение изолятов *K. pneumoniae* в зависимости от ST и носительства детерминант резистентности, $n = 90$ **Table 4.** Distribution of *K. pneumoniae* isolates depending on ST and carriage of resistance determinants, $n = 90$

ST	n (%)	n	OXA-48	NDM	KPC
ST395	23 (26%)	20	+		
		2	+	+	
		1		+	
ST2975	17 (19%)	13	+	+	
		4	+		
ST198	11 (12%)	6	+	+	
		5		+	
ST307	10 (11%)	10	+		
ST377	6 (7%)	4	+		
		2	+	+	
ST29	4 (4%)	4	+	+	
ST147	4 (4%)	2		+	
		1	+		
		1	+	+	
ST397	2 (2%)	2	+		
ST512	2 (2%)	2			+
ST584	2 (2%)	2	+		
ST5829	2 (2%)	2	+		
ST23	1 (1%)	1	+		
ST42	1 (1%)	1		+	
ST280	1 (1%)	1		+	
ST405	1 (1%)	1	+		
ST985	1 (1%)	1		+	
ST3346	1 (1%)	1		+	
Новый ST New ST	1 (1%)	1	+		

ственной детерминантой резистентности OXA-48. Во всех изолятах ST29 ($n = 4$) найдена комбинация OXA-48 и NDM. Среди 4 изолятов ST147 2 показали наличие только NDM, 1 имел OXA-48, 1 обладал сочетанием OXA-48 + NDM. Два штамма, показавшие наличие KPC, относились к ST512. В изолятах, принадлежащих к ST397 ($n = 2$), ST584 ($n = 2$), ST5829 ($n = 2$), ST23 ($n = 1$), ST405 ($n = 1$), новому ST ($n = 1$), была найдена карбапенемаза OXA-48. В изолятах, принадлежащих к ST42 ($n = 1$), ST280 ($n = 1$), ST985 ($n = 1$) и ST3346 ($n = 1$), найдена МБЛ группы NDM.

Всего с временным интервалом было получено 20 штаммов от 9 пациентов. У 4 пациентов изоляты КР были выделены из разных локусов. Все штаммы имели фенотип XDR. Восемнадцать штаммов обладали одинаковыми детерминантами резистентности и вирулентности (за исключением 2 штаммов от 1 пациента с различием в носительстве гена *kfu*) и принадлежали к одинаковым ST. Два штамма, выделенные от 1 пациента из нижних дыхательных путей и мочи, относились к разным ST (ST395 и

ST2975) и имели различия в носительстве карбапенемазы (OXA-48 и OXA-48 + NDM). Гены вирулентности у этих изолятов были одинаковыми.

Обсуждение

Результаты нашего исследования показали высокий уровень устойчивости к АМП среди Карба-Р-штаммов КР, полученных от пациентов, находившихся в реанимационных и хирургических отделениях НМИЦ здоровья детей и НИИ неотложной детской хирургии и травматологии — стационаров, куда поступают наиболее сложные пациенты из различных регионов России, часто после предшествующих госпитализаций в других учреждениях. Практически все изоляты обладали фенотипом XDR и были нечувствительны к 5–6 группам АМП.

По данным исследования МАРАФОН 2015–2016 гг., среди нозокомиальных изолятов КР высокий уровень устойчивости был выявлен к цефалоспорином III–IV поколения (цефепиму — 87,6%; цефтазидиму — 87,3%) и азтреонаму (88,6%). Ре-

зистентность к имипенему и меропенему проявили 11,9 и 12,2% изолятов соответственно. Оценка чувствительности к аминогликозидам выявила, что резистентными к тобрамицину, гентамицину и амикацину были 81,3, 63,1, 27,1% штаммов КР соответственно. Высоким уровнем устойчивости был к защищённым пенициллинам: тикарциллин-клавуланату — 92,5%, пиперациллин-тазобактаму — 66% изолятов. Резистентность к цiproфлоксацину, триметоприму-сульфамексазолу и фосфомицину проявили 83,6, 76,5, 51,2% изолятов соответственно. Высокую активность в отношении штаммов КР показал колистин, к нему были устойчивы только 9,4% изолятов [19].

В исследовании, проведённом нашими коллегами в 2012–2017 гг., был выявлен высокий уровень резистентности нозокомиальных штаммов КР к цефалоспорином (100%), карбапенемам (93,1–98,7%), фторхинолонам (92,5%), фосфомицину (90,1%), аминогликозидам (49,7–84,3%) и колистину (44,7%) [20]. Исследование 2017–2019 гг. продемонстрировало высокие показатели устойчивости к АМП штаммов КР, выделенных от пациентов в отделении реанимации и интенсивной терапии: большинство штаммов имели фенотип XDR (87,3%). Все изоляты были резистентны к пенициллинам, цефалоспорином и фторхинолонам. Высокий уровень устойчивости был выявлен к аминогликозидам (98,4%), карбапенемам (84,1%), сульфаниламидам (82,5%). К полимиксинам были нечувствительны 28,6% изолятов [21]. Полученные нами результаты подтверждают тенденцию к повышению уровня резистентности к важнейшим группам АМП нозокомиальных штаммов КР.

Главным механизмом резистентности среди исследованных изолятов КР стало носительство карбапенемазы OXA-48. Впервые карбапенемаза OXA-48 была обнаружена у КР в Турции в 2001 г. [22] и впоследствии распространилась по всему миру [23]. Продуцирующая OXA-48-подобные карбапенемазы КР эндемична для России [19, 24]. В исследованной нами популяции преобладал ST395 — клон высокого эпидемического риска, распространяющий карбапенемазы OXA-48 и KPC в Европе и Азии [4]. В России часто встречаются штаммы ST395, продуцирующие *bla*_{OXA-48} [20, 25], что согласуется с нашими данными.

Считается, что ST307 впервые появился в 1990-х гг., за 20 лет до его первого описания, и ответственен за внутрибольничные вспышки по всему миру [26]. Анализ, проведённый K.L. Wuyes и соавт., показал, что ST307 является успешным MDR-клоном, источником генов различных карбапенемаз, а также содержит дополнительные факторы резистентности и вирулентности [26]. В исследовании, проведённом в Испании, получены данные о ST307, ассоциированном с карбапенемазой OXA-48 [27]. В работах из России были описаны

изоляты ST307, продуцирующие *bla*_{OXA-48} [20, 21], что согласуется с нашими данными.

В изученной нами выборке ST2975 однолокусный вариант ST307 был вторым по встречаемости. Первый изолят ST2975, продуцирующий *bla*_{KPC-2}, был выделен в Великобритании [28] и появился в международной базе данных МЛСТ Института Пастера в 2016 г. Мы не нашли других сообщений о ST2975 в зарубежных и отечественных исследованиях. Большая часть штаммов ST2975 нашей коллекции обладала сочетанием карбапенемаз OXA-48 и NDM. Энтеробактерии, продуцирующие NDM, были выделены по всему миру из клинических образцов, окружающей среды и от животных [29].

Впервые штаммы КР ST198, выделенные в 2014–2016 гг., были описаны в исследованиях из Бразилии [30, 31]. R. Nakamura-Silva и соавт. обнаружили в штаммах ST198 карбапенемазы OXA-1 и KPC [31]. В изолятах ST198, выделенных от белого аиста в Алжире, была найдена МБЛ NDM-5 [32]. Сообщалось о штаммах КР ST198, выделенных из образцов животных и человека в США и Норвегии [33, 34]. В изученных нами изолятах ST198 преобладала комбинация карбапенемаз OXA-48 и NDM.

Мы обнаружили карбапенемазу группы KPC в 2 изолятах генотипа ST512, который относится к CG258. В отечественных исследованиях встречались единичные изоляты КР, продуцирующие KPC [20, 35, 36], что согласуется с нашими данными.

В последние годы появляется всё больше сообщений о появлении одновременно гипервирулентных и мультирезистентных штаммов КР [37, 38], хотя ранее считалось, что эти генетические линии не пересекаются [39]. Такие штаммы являются важной проблемой здравоохранения из-за высокого риска распространения и способности вызывать тяжёлые инфекции [40]. Считается, что КР серотипов K1/K2 более вирулентны, чем КР других серотипов [7]. По данным исследования H. Pan и соавт., 4,5% продуцирующих карбапенемазы штаммов КР относились к серотипу K1, 34,8% — к K2 [41]. Мы не обнаружили штаммов с серотипом K1, а к серотипу K2 принадлежало 13% изолятов. Интересно, что 11 из 12 штаммов серотипа K2 относились к ST395 и его однолокусному варианту ST5829. Похожие данные были получены при исследовании штаммов КР, выделенных в 12 больницах России в 2003–2020 гг. Капсульный серотип K2 был обнаружен у 15,7% штаммов и ассоциировался с ST395 [35].

Основными детерминантами вирулентности в нашем исследовании были гены сидерофоров *entB* и *ybtS* и ген *mrkD*, ассоциированный с фимбриями 3-го типа. Согласно анализу, проведённому D. Hu и соавт., распространённость генов *entB* и *mrkD* у КР составила более 90% [42]. В сообщениях из Китая и Индии ген *entB* встречался у 90,5–90,9% изолятов КР, *mrkD* — у 98,5%, *ybtS* — у 44,3–89,4% [41, 43].

В исследовании R. Nan и соавт. выявлено, что гены сидерофоров *entB* и *ybtS* могут существенно увеличить вирулентность Карба-Р-штаммов КР [44]. Сидерофор аэробактин редко продуцируется классическими нозокомиальными штаммами, поскольку более характерен для гипервирулентных КР [7]. Ген транспортера аэробактина *iutA* встречался у 56,8% изолятов КР, выделенных от больных менингитом в Китае [45]. В другом исследовании ген *iutA* был выявлен у 48,5% КР, продуцирующих карбапенемазы [42]. В нашем исследовании *iutA* встречался у 16% штаммов. Гены *rmpA* и *kfu* обнаружены у единичных изолятов, что согласуется с данными других исследований, проведённых среди штаммов КР с фенотипом MDR [21, 41].

Результаты нашего исследования позволяют оценить характеристики Карба-Р-штаммов КР, полученных от пациентов педиатрических стационаров. Наряду с высокой антибиотикорезистентностью, штаммы КР имеют различные вирулентные свойства, что может быть причиной их распространения в стационарах с потенциальным увеличением тяжёлых форм бактериальных инфекций, а также негативно повлиять на успех лечения. Дальнейший мониторинг распространения факторов антибиотикорезистентности и вирулентности является важной задачей.

Заключение

В настоящей работе мы не оценивали распространённость Карба-Р КР в стационарах. Проведённое нами исследование выявило высокий уровень устойчивости Карба-Р-штаммов, выделенных в реанимационных и хирургических отделениях, не только к карбапенемам, но и к антибиотикам других классов. Устойчивость к карбапенемам главным образом была обусловлена карбапенемазой OXA-48 (53%). Преобладающими генетическими линиями были эпидемически успешные клоны CG395 (ST395 — $n = 23$, ST5829 — $n = 2$) и CG307 (ST2975 — $n = 17$, ST307 — $n = 10$). Главными детерминантами вирулентности были *entB* (100%), *mrkD* (99%) и *ybtS* (78%). Другие гены вирулентности встречались у незначительного числа изолятов, однако вызывает беспокойство сочетание антибиотикорезистентности и важных факторов вирулентности.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

- Santajit S., Indrawattana N. Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. *Biomed. Res. Int.* 2016; 2016:2475067. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/2475067>
- Ding L., Yang Z., Lu J., et al. Characterization of phenotypic and genotypic traits of *Klebsiella pneumoniae* from lung cancer patients with respiratory infection. *Infect. Drug. Resist.* 2020;13:237–45. DOI: <https://doi.org/10.2147/idr.s229085>
- Aghapour Z., Gholizadeh P., Ganbarov K., et al. Molecular mechanisms related to colistin resistance in *Enterobacteriaceae*. *Infect. Drug. Resist.* 2019;12:965–75. DOI: <https://doi.org/10.2147/idr.s199844>
- Шамина О.В., Самойлова Е.А., Новикова И.Е., Лазарева А.В. *Klebsiella pneumoniae*: микробиологическая характеристика, антибиотикорезистентность и вирулентность. *Российский педиатрический журнал.* 2020;23(3):191–7. Shamina O.V., Samoilova E.A., Novikova I.E., Lazareva A.V. *Klebsiella pneumoniae*: microbiological characterization, antimicrobial resistance, and virulence. *The Russian Journal of Pediatrics.* 2020;23(3):191–7. DOI: <https://doi.org/10.18821/1560-9561-2020-23-3-191-197> EDN: <https://elibrary.ru/fytman>
- Liu Y., Cheng D., Lin C. *Klebsiella pneumoniae* liver abscess associated with septic endophthalmitis. *Arch. Intern. Med.* 1986;146(10):1913–6. DOI: <https://doi.org/10.1001/archinte.1986.00360220057011>
- Gu D., Dong N., Zheng Z., et al. A fatal outbreak of ST11 carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in a Chinese hospital: a molecular epidemiological study. *Lancet. Infect. Dis.* 2018;18(1):37–46. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(17\)30489-9](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(17)30489-9)
- Paczosa M.K., Mecsas J. *Klebsiella pneumoniae*: going on the offense with a strong defense. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2016;80(3):629–61. DOI: <https://doi.org/10.1128/mmbr.00078-15>
- Fang C.T., Lai S.Y., Yi W.C., et al. The function of *wzy_K1* (*magA*), the serotype K1 polymerase gene in *Klebsiella pneumoniae cps* gene cluster. *J. Infect. Dis.* 2010;201(8):1268–9. DOI: <https://doi.org/10.1086/652183>
- Shon A.S., Bajwa R.P., Russo T.A. Hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*: a new and dangerous breed. *Virulence.* 2013;4(2):107–18. DOI: <https://doi.org/10.4161/viru.22718>
- Cubero M., Grau I., Tubau F., et al. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* clones causing bacteraemia in adults in a teaching hospital in Barcelona, Spain (2007–2013). *Clin. Microbiol. Infect.* 2016;22(2):154–60. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.09.025>
- Clegg S., Murphy C.N. Epidemiology and virulence of *Klebsiella pneumoniae*. *Microbiol. Spectr.* 2016;4(1). DOI: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.uti-0005-2012>
- Yu W.L., Ko W.C., Cheng K.C., et al. Comparison of prevalence of virulence factors for *Klebsiella pneumoniae* liver abscesses between isolates with capsular K1/K2 and non-K1/K2 serotypes. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2008;62(1):1–6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2008.04.007>
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Ver. 10.0; 2020. URL: https://www.eucast.org/clinical_breakpoints
- German G.J., Gilmour M., Tipples G., et al. Canadian recommendations for laboratory interpretation of multiple or extensive drug resistance in clinical isolates of *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Can. Commun. Dis. Rep.* 2018;44(1):29–34. DOI: <https://doi.org/10.14745/ccdr.v44i01a07>
- Compain F., Babosan A., Brisse S., et al. Multiplex PCR for detection of seven virulence factors and K1/K2 capsular serotypes of *Klebsiella pneumoniae*. *J. Clin. Microbiol.* 2014;52(12):4377–80. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.02316-14>
- Yu W.L., Fung C.P., Ko W.C., et al. Polymerase chain reaction analysis for detecting capsule serotypes K1 and K2 of *Klebsiella pneumoniae* causing abscesses of the liver and other sites. *J. Infect. Dis.* 2007;195(8):1235–6. DOI: <https://doi.org/10.1086/512686>
- Fang C.T., Chuang Y.P., Shun C.T., et al. A novel virulence gene in *Klebsiella pneumoniae* strains causing primary liver abscess and

- septic metastatic complications. *J. Exp. Med.* 2004;199(5):697–705. DOI: <https://doi.org/10.1084/jem.20030857>
18. Diancourt L., Passet V., Verhoef J., et al. Multilocus sequence typing of *Klebsiella pneumoniae* nosocomial isolates. *J. Clin. Microbiol.* 2005;43(8):4178–82. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.43.8.4178-4182.2005>
19. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Иванчик Н.В. и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Enterobacterales* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРЭФОН 2015–2016. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2019;21(2):147–59. Sukhorukova M.V., Eidel'shtein M.V., Ivanchik N.V., et al. Antimicrobial resistance of nosocomial *Enterobacterales* isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study «Marathon 2015-2016». *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy.* 2019;21(2):147–59. DOI: <https://doi.org/10.36488/cm.2019.2.147-159> EDN: <https://elibrary.ru/qdarvm>
20. Shamina O.V., Kryzhanovskaya O.A., Lazareva A.V., et al. Emergence of a ST307 clone carrying a novel insertion element MITEKpn1 in the mgrB gene among carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* from Moscow, Russia. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2020;55(2):105850. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2019.11.007>
21. Fursova N.K., Astashkin E.I., Gabrielyan N.I., et al. Emergence of five genetic lines ST395^{NDM-1}, ST13^{OXA-48}, ST3346^{OXA-48}, ST39^{CTX-M-14}, and novel ST3551^{OXA-48} of multidrug-resistant clinical *Klebsiella pneumoniae* in Russia. *Microb. Drug. Resist.* 2020;26(8):924–33. DOI: <https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0289>
22. Poirel L., Héritier C., Tolün V., Nordmann P. Emergence of oxacillinase mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004;48(1):15–22. DOI: <https://doi.org/10.1128/aac.48.1.15-22.2004>
23. Potron A., Poirel L., Rondinaud E., Nordmann P. Intercontinental spread of OXA48 beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* over a 11-year period, 2001 to 2011. *Euro Surveill.* 2013;18(31):20549. DOI: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2013.18.31.20549>
24. Новикова И.Е., Садеева З.З., Шакирзянова Р.А. и др. Использование полимеразной цепной реакции для детекции генов резистентности у грамотрицательных бактерий в рутинной практике педиатрического стационара. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2022;67(3):180–5. Novikova I.E., Sadeeva Z.Z., Shakirzyanova R.A., et al. 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;67(3):180–5. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-3-180-185> EDN: <https://elibrary.ru/akcthf>
25. Шайдуллина Э.Р., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю. и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных карбапенемазопродуцирующих штаммов *Enterobacterales* в России: результаты эпидемиологического исследования 2014–2016 гг. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2018;20(4):362–9. Shaidullina E.R., Eidel'shtein M.V., Skleenova E.Yu., et al. Antimicrobial resistance of nosocomial carbapenemase-producing *Enterobacterales* in Russia: results of surveillance, 2014–2016. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics.* 2018;20(4):362–9. DOI: <https://doi.org/10.36488/cm.2018.4.362-369> EDN: <https://elibrary.ru/zaghhn>
26. Wyres K.L., Hawkey J., Hetland M.A.K., et al. Emergence and rapid global dissemination of CTX-M-15-associated *Klebsiella pneumoniae* strain ST307. *J. Antimicrob. Chemother.* 2019;74(3):577–81. DOI: <https://doi.org/10.1093/jac/dky492>
27. Cañada-García J.E., Moure Z., Sola-Campoy P.J., et al. CARB-ES-19 multicenter study of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* from all Spanish provinces reveals interregional spread of high-risk clones such as ST307/OXA-48 and ST512/KPC-3. *Front. Microbiol.* 2022;13:918362. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.918362>
28. Villa L., Feudi C., Fortini D., et al. Diversity, virulence, and antimicrobial resistance of the KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* ST307 clone. *Microb. Genom.* 2017;3(4):e000110. DOI: <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000110>
29. Khan A.U., Maryam L., Zarrilli R. Structure, genetics and worldwide spread of New Delhi metallo-β-lactamase (NDM): a threat to public health. *BMC Microbiol.* 2017;17(1):101. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-017-1012-8>
30. Lopes R., Cerdeira L.T., Fernandes M.R., et al. Draft genome sequence of a CTX-M-15-producing endophytic *Klebsiella pneumoniae* ST198 isolate from commercial lettuce. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 2017;10:19–20. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.03.005>
31. Nakamura-Silva R., Cerdeira L., Oliveira-Silva M., et al. Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*: a retrospective study in Manaus, Brazil. *Arch. Microbiol.* 2022;204(4):202. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00203-022-02813-0>
32. Loucif L., Chelaghma W., Cherak Z., et al. Detection of NDM-5 and MCR-1 antibiotic resistance encoding genes in *Enterobacterales* in long-distance migratory bird species *Ciconia ciconia*, Algeria. *Sci. Total. Environ.* 2022;814:152861. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152861>
33. Holt K.E., Wertheim H., Zadoks R.N., et al. Genomic analysis of diversity, population structure, virulence, and antimicrobial resistance in *Klebsiella pneumoniae*, an urgent threat to public health. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2015;112(27):E3574–81. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1501049112>
34. Raffelsberger N., Hetland M.A.K., Svendsen K., et al. Gastrointestinal carriage of *Klebsiella pneumoniae* in a general adult population: a cross-sectional study of risk factors and bacterial genomic diversity. *Gut Microbes.* 2021;13(1):1939599. DOI: <https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1939599>
35. Khrulnova S., Fedorova A., Frolova I., et al. Distribution of virulence genes and capsule types in *Klebsiella pneumoniae* among bloodstream isolates from patients with hematological malignancies. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2022;104(1):115744. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2022.115744>
36. Лазарева И.В., Агеевец В.А., Ершова Т.А. и др. Распространение и антибактериальная резистентность грамотрицательных бактерий, продуцентов карбапенемаз, в Санкт-Петербурге и некоторых других регионах Российской Федерации. *Антибиотики и химиотерапия.* 2016;61(11–12):28–38. Lazareva I.V., Ageevets V.A., Ershova T.A., et al. The spread and antibacterial resistance of gram-negative bacteria, carbapenemase producers, in St. Petersburg and some other regions of the Russian Federation. *Antibiotics and Chemotherapy.* 2016;61(11–12):28–38. EDN: <https://elibrary.ru/yjtpzr>
37. Karlsson M., Stanton R.A., Ansari U., et al. Identification of a carbapenemase-producing hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* isolate in the United States. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2019;63(7):e00519–19. DOI: <https://doi.org/10.1128/aac.00519-19>
38. Yonekawa S., Mizuno T., Nakano R., et al. Molecular and epidemiological characteristics of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in Japan. *mSphere.* 2020;5(5):e00490–20. DOI: <https://doi.org/10.1128/msphere.00490-20>
39. Bialek-Davenet S., Criscuolo A., Ailloud F., et al. Genomic definition of hypervirulent and multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* clonal groups. *Emerg. Infect. Dis.* 2014;20(11):1812–20. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2011.140206>

40. Lan P., Jiang Y., Zhou J., Yu Y. A global perspective on the convergence of hypervirulence and carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 2021;25:26–34. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.02.020>
41. Pan H., Lou Y., Zeng L., et al. Infections caused by carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: microbiological characteristics and risk factors. *Microb. Drug Resist.* 2019; 25(2):287–96. DOI: <https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0339>
42. Hu D., Li Y., Ren P., et al. Molecular epidemiology of hypervirulent carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2021;11:661218. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.661218>
43. Remya P.A., Shanthi M., Sekar U. Characterisation of virulence genes associated with pathogenicity in *Klebsiella pneumoniae*. *Indian J. Med. Microbiol.* 2019;37(2):210–8. DOI: https://doi.org/10.4103/ijmm.ijmm_19_157
44. Han R., Niu M., Liu S., et al. The effect of siderophore virulence genes entB and ybtS on the virulence of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Microb. Pathog.* 2022;171:105746. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105746>
45. Xu M., Fu Y., Fang Y., et al. High prevalence of KPC-2-producing hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* causing meningitis in Eastern China. *Infect. Drug Resist.* 2019;12:641–53. DOI: <https://doi.org/10.2147/idr.s191892>

Информация об авторах

Новикова Ирина Евгеньевна[✉] — м.н.с. лаб. молекулярной микробиологии НМИЦ здоровья детей, Москва, Россия, novikovayudina@outlook.com, <https://orcid.org/0000-0003-4234-0209>

Садеева Зульфурья Закиевна — м.н.с. лаб. молекулярной микробиологии НМИЦ здоровья детей, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-4587-0902>

Алябьева Наталья Михайловна — к.м.н., с.н.с., зав. лаб. экспериментальной иммунологии и вирусологии НМИЦ здоровья детей, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-9365-9143>

Самойлова Екатерина Александровна — м.н.с. лаб. молекулярной микробиологии НМИЦ здоровья детей, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5993-8285>

Карасева Ольга Витальевна — д.м.н., зам. директора по научной работе, рук. отдела сочетанной травмы, анестезиологии-реанимации НИИ неотложной детской хирургии и травматологии; зав. отделом неотложной хирургии и травм детского возраста НМИЦ здоровья детей, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-9418-4418>

Янюшкина Ольга Грантовна — н.с. отделения сочетанной травмы НИИ неотложной детской хирургии и травматологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6227-466X>

Лазарева Анна Валерьевна — д.м.н., г.н.с. лаб. молекулярной микробиологии, зав. лаб. микробиологии НМИЦ здоровья детей, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3896-2590>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 21.06.2023;
принята к публикации 30.07.2023;
опубликована 28.08.2023

Information about the authors

Irina E. Novikova[✉] — junior researcher, Laboratory of molecular microbiology, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia, novikovayudina@outlook.com, <https://orcid.org/0000-0003-4234-0209>

Zulfirya Z. Sadeeva — junior researcher, Laboratory of molecular microbiology, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-4587-0902>

Natalya M. Alyabyeva — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Head, Laboratory of experimental immunology and virology, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-9365-9143>

Ekaterina A. Samoylova — junior researcher, Laboratory of molecular microbiology, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5993-8285>

Olga V. Karaseva — D. Sci. (Med.), Deputy director for scientific work, Head, Department of combined trauma, anesthesiology and resuscitation, Clinical and Research Institute of Emergency Pediatric Surgery and Trauma; Head, Department of Emergency Surgery and Pediatric Trauma, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-9418-4418>

Olga G. Yanyushkina — researcher, Department of combined trauma, Clinical and Research Institute of Emergency Pediatric Surgery and Trauma, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6227-466X>

Anna V. Lazareva — D. Sci. (Med.), chief researcher, Laboratory of molecular microbiology, Head, Laboratory of microbiology, National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3896-2590>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 21.06.2023;
accepted for publication 30.07.2023;
published 28.08.2023