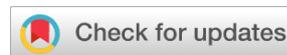


Оригинальное исследование
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-329>



Структура ESKAPE-патогенов, изолированных от пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии новорождённых Национального госпиталя педиатрии г. Ханой, Социалистическая Республика Вьетнам

Степанова Т.Ф.¹, Катаева Л.В.^{1✉}, Посоюзных О.В.¹, Богун А.Г.², Кисличкина А.А.², Tran Thi Nhai³

¹Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора, Тюмень, Россия;

²Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, Оболенск, Россия;

³Совместный Российско-Вьетнамский тропический научно-исследовательский и технологический центр (Тропический центр), Ханой, Вьетнам

Аннотация

Введение. Заболеваемость инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи, является одной из глобальных мировых проблем на современном этапе развития здравоохранения и затрагивает все страны вне зависимости от их экономического статуса. Основными возбудителями этих инфекций являются патогены группы ESKAPE.

Цель исследования — изучить структуру, молекулярные и антигенные характеристики ESKAPE-патогенов, выделенных со слизистых зева и ануса пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии новорождённых (ОРИТН), для установления их этиологического значения в возникновении инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.

Материалы и методы. Обследовано 49 детей, в том числе 40 новорождённых, пациентов ОРИТН Национального госпиталя педиатрии г. Ханой. Посев биоматериала (мазки со слизистых зева, ректальные мазки) и выделение бактериальных культур осуществлялись классическим бактериологическим методом. Идентификация изолятов проведена методом масс-спектрометрии. Штаммы *Klebsiella pneumoniae* изучены методом полногеномного секвенирования.

Результаты. Группа грамположительных ESKAPE-патогенов, идентифицированных со слизистой зева, представлена изолятами *Enterococcus faecium* и *Staphylococcus aureus*. Среди изолятов семейства *Enterobacteriaceae* выделены *K. pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*; в группе неферментирующих грамотрицательных бактерий — *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*. Структура ESKAPE-патогенов, персистирующих на слизистой ануса, характеризовалась преобладанием бактерий *Enterococcus* spp., *E. coli*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*. Результаты полногеномного секвенирования изолятов *K. pneumoniae* выявили 7 кластеров и 8 сиквенс-типов. Преимущественно определены ST14 и ST1741 — по 25% соответственно от количества исследованных штаммов. Молекулярное серотипирование установило, что по O-антигену штаммы отнесены в основном к серотипам O1v1, O1/O2v2, O5; по наличию капсульного антигена — к серотипам KL2, KL104, KL60.

Заключение. Исследование структуры ESKAPE-патогенов, изолированных со слизистых зева и ануса пациентов ОРИТН Национального госпиталя педиатрии г. Ханой, выявили этиологически значимых возбудителей бактериальных инфекций: *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. cloacae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*. Проведение молекулярно-генетических исследований штаммов *K. pneumoniae*, циркулирующих одновременно на слизистых нескольких пациентов отделения, позволило установить их гомологию, что указывает на контаминацию детей госпитальными штаммами при оказании медицинской помощи.

Ключевые слова: ESKAPE-патогены, новорождённые, слизистые зева и ануса, *Klebsiella pneumoniae*, сиквенс-типы, молекулярное серотипирование

Этическое утверждение. Исследование выполнено при добровольном информированном согласии законных представителей несовершеннолетних пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Тюменского научно-исследовательского института краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора (протокол № 1 от 01.06.2022).

Источник финансирования. Исследование выполнено при поддержке бюджетного финансирования в рамках НИР № АААА-А20-1200109990062-4.

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

Для цитирования: Степанова Т.Ф., Катаева Л.В., Посоюзных О.В., Богун А.Г., Кисличкина А.А., Tran Thi Nhai. Структура ESKAPE-патогенов, изолированных от пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии новорождённых Национального госпиталя педиатрии г. Ханой, Социалистическая Республика Вьетнам. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2023;100(2):168–177.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-329> EDN: <https://www.elibrary.ru/mlnofx>

Original article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-329>

The structure of ESKAPE pathogens isolated from patients of the neonatal intensive care unit at the National Hospital of Pediatrics in Hanoi, the Socialist Republic of Vietnam

Tatiana F. Stepanova¹, Lyubov V. Kataeva^{1✉}, Olga V. Posoyuznykh¹, Alexander G. Bogun², Angelina A. Kislichkina², Tran Thi Nhai³

¹Tyumen Region Infection Pathology Research Institute, Tyumen, Russia;

²State Scientific Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia;

³Joint Russian-Vietnamese Tropical Research and Technology Center (Tropical Center), Hanoi, Vietnam

Abstract

Introduction. The incidence of healthcare-associated infections is a major public health problem worldwide, affecting all countries regardless of their economic status. The main agents of these infections are pathogens belonging to the ESKAPE group.

The **aim** of the study was to explore the structure, molecular and antigenic characteristics of the ESKAPE pathogens isolated from oral and anal mucosa of patients of the neonatal intensive care unit (NICU), and to assess their etiological significance in occurrence of healthcare-associated infections.

Materials and methods. Samples from a total of 49 children were tested, including 40 newborns – patients of NICU at the National Hospital of Pediatrics in Hanoi. Collection and processing of biomaterial (oropharyngeal swabs, rectal swabs) and isolation of bacterial cultures were performed using conventional bacteriological methods. Mass spectrometry was used for identification of isolates. *Klebsiella pneumoniae* strains were analyzed using the whole-genome sequencing method.

Results. The group of gram-positive ESKAPE pathogens identified in oral mucosa was represented by isolates *Enterococcus faecium* and *Staphylococcus aureus*. The isolates of the family *Enterobacteriaceae* included *K. pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*; the group of nonfermenting gram-negative bacteria was represented by *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*. The structure of ESKAPE pathogens persistent in anal mucosa was characterized by dominance of *Enterococcus* spp., *E. coli*, *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* bacteria. The whole-genome sequencing of *K. pneumoniae* isolates revealed 7 clusters and 8 sequence types. ST14 and ST1741 prevailed, accounting for 25%, respectively, of the total number of the studied strains. The molecular serotyping showed that by the O antigen, strains belonged mainly to serotypes O1v1, O1/O2v2, O5; by the presence of the capsular antigen — to serotypes KL2, KL104, KL60.

Conclusion. The analysis of the structure of the ESKAPE pathogens isolated from the oral and anal mucosa of patients of NICU at the National Hospital of Pediatrics in Hanoi identified etiologically significant agents of bacterial infections: *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. cloacae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*. The molecular and genetic analysis of *K. pneumoniae* strains co-circulating in mucous membranes of several patients of the unit revealed their homology, thus confirming healthcare-associated contamination of children with nosocomial strains.

Keywords: ESKAPE pathogens, newborns, oral and anal mucosa, *Klebsiella pneumoniae*, sequence types, molecular serotyping

Ethics approval. The study was performed with the voluntary informed consent of the legal representatives of underage patients. The research protocol was approved by the Ethics Committee of the Tyumen Region Infection Pathology Research Institute (protocol No. 1, June 1, 2022).

Funding source. The study was supported by budget financing within the framework of research work No. AAA-A-20-1200109990062-4.

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

For citation: Stepanova T.F., Kataeva L.V., Posoyuznykh O.V., Bogun A.G., Kislichkina A.A., Tran Thi Nhai. The structure of ESKAPE pathogens isolated from patients of the neonatal intensive care unit at the National Hospital of Pediatrics in Hanoi, the Socialist Republic of Vietnam. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2023;100(2):168–177.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-329> EDN: <https://www.elibrary.ru/mlnofx>

Введение

Возникновение бактериальных инфекций новорождённых связано с действием множества факторов риска. Многообразие клинических форм инфекций детей обусловлено, прежде всего, несовершенством естественных барьерных функций организма, тем более на фоне антибактериальной терапии [1]. Уровень инфекционной заболеваемости определяется в основном частотой поражения кожи, глаз, пупка и желудочно-кишечного тракта. В этой связи в учреждениях родовспоможения мониторинг циркулирующих ESKAPE-патогенов особенно важен, поскольку в силу физиологического статуса новорождённых повышается риск развития бактериальных заболеваний [2, 3].

Широкое распространение инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), в медицинских организациях различного профиля, в первую очередь акушерского и педиатрического, наносит значительный ущерб здоровью новорождённых и населения в целом, экономике и демографической ситуации в разных странах [4, 5]. Приводимые в отечественной и зарубежной литературе показатели случаев внутрибольничных инфекций новорождённых часто не сопоставимы из-за отсутствия общих подходов в организации системы учёта и регистрации заболеваний [6, 7].

Распространение мультирезистентных нозокомиальных патогенов, провоцирующих инфекционные осложнения у детей, вызывает беспокойство клиницистов по всему миру. Среди этиологически значимых бактерий в настоящее время определяют группу видов ESKAPE, к которым относят *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter* spp. Доминирующие позиции среди этих возбудителей госпитальных инфекций занимают патогены, для которых характерно разнообразие механизмов резистентности к противомикробным препаратам. ESKAPE-патогены отнесены Всемирной организацией здравоохранения в группу микроорганизмов важнейшей приоритетности для разработки новых антибиотиков или новых способов лечения [8].

Оценка случаев внутрибольничных инфекций, особенно среди детей в странах с низким и средним уровнем дохода, недостаточно известна, и в большинстве случаев нет опубликованных данных. Европейское многоцентровое исследование случаев внутрибольничных инфекций в педиатрических стационарах показало их распространённость от 2,5% в отделениях общего профиля до 23,6% в отделениях интенсивной терапии. Высокие показатели этих инфекций также были зарегистрированы в отделениях интенсивной терапии новорождённых, распространённость была в 3–20 раз выше в условиях ограниченных ресурсов

по сравнению со странами с высоким уровнем дохода населения.

Вьетнам — страна с низким уровнем дохода и быстро растущим государственным и частным сектором здравоохранения. Низкие показатели валового национального дохода и общегосударственных расходов на здравоохранение на душу населения приводят к тому, что около 80% расходов оплачиваются пациентами. В обществе широко используются антибиотики, которые в основном приобретаются в частных аптеках и клиниках. Сектор здравоохранения перегружен при относительно низкой численности медицинского персонала на душу населения (7 врачей на 10 000 населения), переполненности больничных коек до 170%. Во Вьетнаме нет национальной системы эпидемиологического надзора за ИСМП, а данные о случаях в отделениях интенсивной терапии ограничены. В сочетании с высоким уровнем инфекционной заболеваемости это делает Вьетнам «очагом» устойчивости к противомикробным препаратам с одними из самых высоких показателей в Азии [9–11].

В ранее проведённых расследованиях случаев внутрибольничных инфекций в отделениях интенсивной терапии 3 вьетнамских педиатрических больниц отмечалось, что распространённость их составила 33% [9]. Одним из ведущих возбудителей нозокомиальных инфекций являются бактерии *K. pneumoniae*, обладающие способностью приобретать устойчивость к антимикробным препаратам [11–13]. Результаты молекулярно-генетических исследований штаммов бактерий, циркулирующих одновременно в конкретном отделении определённой медицинской организации, свидетельствуют об их высокой гетерогенности. Актуален вопрос о проведении мероприятий, направленных на предупреждение формирования высоковирулентных и резистентных штаммов, а также ограничение их распространения [14].

Изучение структуры ESKAPE-патогенов, контаминирующих новорождённых детей, в том числе недоношенных, получающих лечение в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТН), является актуальной проблемой медицинских организаций как в России, так и в других странах, её решение будет способствовать минимизации рисков развития неблагоприятных эпидемиологических ситуаций.

Цель исследования — изучить структуру, молекулярные и антигенные характеристики ESKAPE-патогенов, выделенных со слизистых зева и ануса пациентов ОРИТН, для установления их этиологического значения в возникновении ИСМП.

Исследования проводились в соответствии с НИР ФБУН ТНИИКИП Роспотребнадзора во исполнение Плана мероприятий по оказанию научно-методической и материально-технической поддержки

Социалистической Республике Вьетнам в области противодействия угрозам инфекционных болезней и минимизации рисков, связанных с опасными для здоровья химическими веществами, в 2020–2022 гг.¹

Материалы и методы

В исследование включены 49 детей в возрасте 0–60 дней, в том числе 40 новорождённых (медиана показателя составила 13 дней; Q_1 – Q_3 : 7–23), получавших лечение в ОРИТН Национального госпиталя педиатрии г. Ханой. Образцы биоматериала отбирались одномоментно у всех детей вне зависимости от возраста, способа родоразрешения, степени недоношенности, массы тела при рождении, типа вскармливания, длительности пребывания в отделении, антибиотикотерапии (метод случайной выборки). Исследование проводилось при добровольном информированном согласии представителей пациентов. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Тюменского научно-исследовательского института краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора (протокол № 1 от 01.06.2022).

Проведено бактериологическое исследование 98 образцов биоматериала, отобранных со слизистых зева и анального отверстия детей, рост микроорганизмов регистрировался в 96 пробах. Со слизистой зева обследованных детей выделен 101 изолят, со слизистой ануса — 137. Штаммы *K. pneumoniae* ($n = 20$), изолированные из исследованных локусов, изучены методом полногеномного секвенирования.

Микробиологические исследования проводились классическим бактериологическим методом. Видовую идентификацию бактерий подтверждали методом масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией с использованием программного обеспечения «Maldi BioTyper 3.0». Уровень идентификации выше 2.0 свидетельствовал о высокой достоверности.

Полученные единичные прочтения для каждого штамма были собраны в контиги при помощи программы «Unicycler v.0.4.7». Образцы с величиной средних покрытий геномов выше 200 свидетельствовали о достаточном объёме данных. Обработка результатов полногеномного секвенирования проводилась с помощью программного обеспечения анализа метагеномных образцов «Kraken Metagenomics version 2» (классификатор ридов — коротких нуклеотидных последовательностей). Филогенетические исследования осуществляли в программе «Wombac 2.0», которая позволяла находить коровые однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) в нуклеотидных последовательностях и производить выравнивание этих полиморфизмов. Для опреде-

ления О-антигенов и капсульных антигенов штаммов *K. pneumoniae* использовали сервер «Kaptive». Сиквенс-типы определяли с использованием сервера MLST 2.0² и программы «Lasergene».

Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов были реализованы в электронных таблицах «Microsoft Office Excel 2016». Для анализа полученных данных применяли методы статистической обработки с применением программы «SPSS v. 22». Номинальные данные описывали с указанием абсолютных значений и процентных долей с указанием 95% доверительных интервалов (ДИ) — метод Клоппера–Пирсона.

Результаты

Результаты бактериологического исследования слизистых зева и анального прохода детей свидетельствуют о том, что выделенные изоляты представлены грамположительными и грамотрицательными бактериями, а также незначительным количеством грибов рода *Candida*. Группу грамположительных бактерий (27,3% [95% ДИ 21,7–33,4]) составили бактерии родов *Staphylococcus* (*S. aureus* и другие виды), *Streptococcus* (преимущественно *S. vestibularis*, *S. salivarius*) и *Enterococcus faecalis*. Грамотрицательные изоляты представлены бактериями *Enterobacterales* (41,6% [95% ДИ 35,3–48,1]) и неферментирующими грамотрицательными бактериями (22,7% [95% ДИ 17,5–28,5]). Среди представителей *Enterobacterales* идентифицированы бактерии родов: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Enterobacter*; кластер неферментирующих грамотрицательных бактерий составляли *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Stenotrophomonas maltophilia* и *Elizabethkingia meningoseptica*. В структуре изолятов исследуемых локусов отмечено преобладание бактерий *Enterobacterales*. Грибы рода *Candida* составили 8,4% (95% ДИ 5,2–12,7).

Характеристика количества выявленных изолятов указанных локусов определила незначительное преобладание бактерий *Enterobacterales* на слизистой анального прохода. На слизистой зева детей неферментирующие грамотрицательные бактерии идентифицировались в 35,6% случаев (95% ДИ 26,4–45,8), в отличие от частоты выделения их со слизистой ануса — 13,1% (95% ДИ 8,0–19,9) (рис. 1). Группы грамположительных бактерий, выделенных со слизистых зева и ануса, обнаруживались практически в равных долях.

Среди общего количества идентифицированных изолятов, выделенных из указанных локусов, к группе ESKAPE-патогенов отнесено 51,7% (95% ДИ 45,1–58,2) штаммов: *S. aureus*, *K. pneumoniae*,

¹ Распоряжение Правительства Российской Федерации от 13.07.2019 № 1536-р.

² Multi-Locus Sequence Typing.
URL: <https://cge.cbs.dtu.dk/services/MLST>

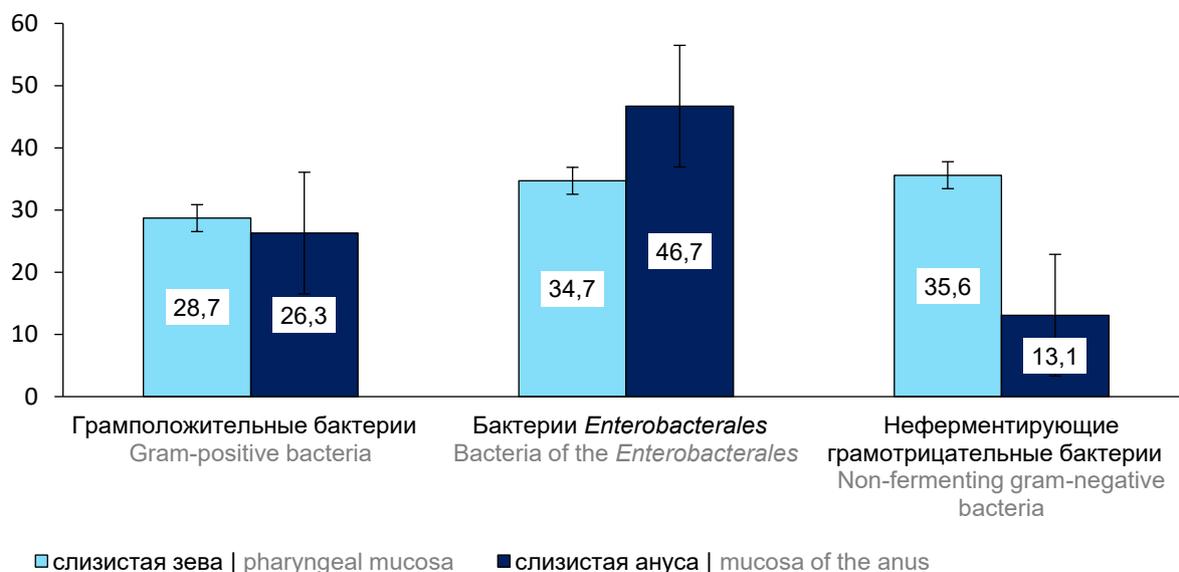


Рис. 1. Частота обнаружения изолятов основных групп бактерий на слизистых зева и анального прохода детей, %.

Fig. 1. The detection frequency of isolates of the main bacteria groups in oral and anal mucosa of the children, %.

E. coli, *E. cloacae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*. Сравнительная характеристика структуры бактерий этой группы, идентифицированных из образцов биоматериала со слизистых зева и анального прохода детей, представлена на **рис. 2**.

Таким образом, анализ изолятов группы ESKAPE, выделенных со слизистой зева, выявил преобладание в этом локусе бактерий семейства *Enterobacteriaceae* и неферментирующих грамотрицательных бактерий. Наряду с этим на слизистых зева обследованных детей были идентифицированы *Streptococcus viridans* и коагулазонегативные

Staphylococcus spp., которые являются резидентной микробиотой зева.

Анализ бактериологического исследования образцов биологического материала пациентов показал, что доминирующее положение в микробиоте слизистой зева и прямой кишки в 51,9% случаев занимали бактерии *K. pneumoniae*. Результаты полногеномного секвенирования штаммов *K. pneumoniae*, изолированных со слизистой зева (9) и прямой кишки (11), свидетельствуют о том, что отобранные штаммы разделились на семь генетических кластеров. В кластер I вошли штаммы *K. pneumoniae* 39,

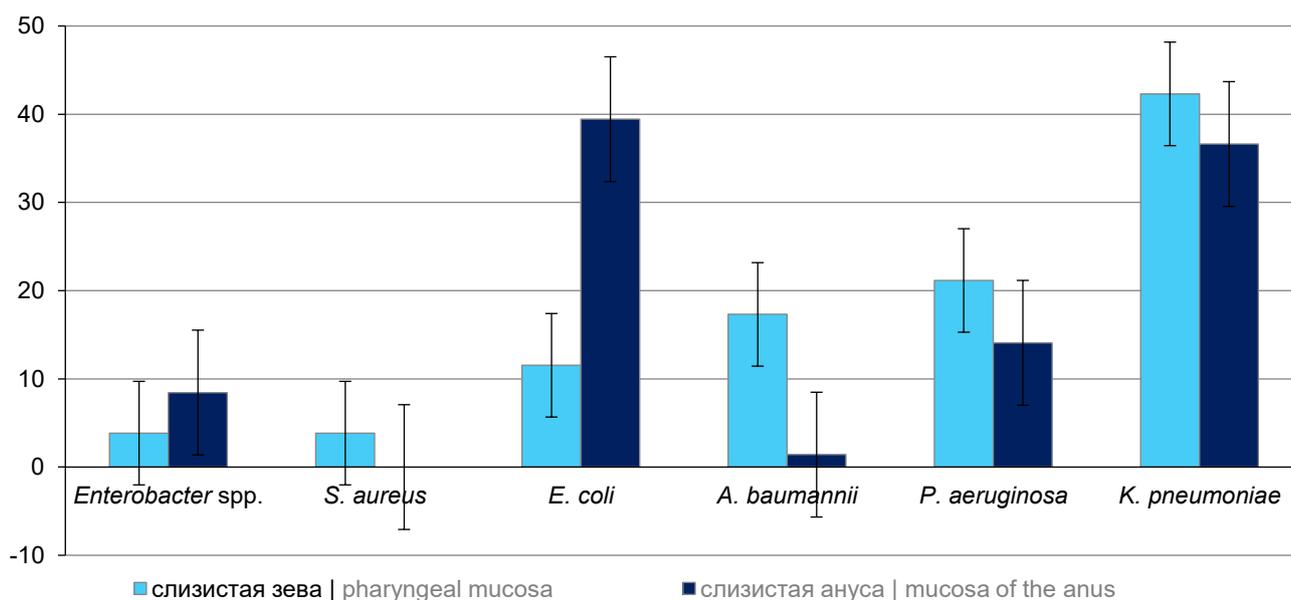


Рис. 2. Сравнительная характеристика бактерий группы ESKAPE-патогенов, выделенных со слизистых зева и анального прохода детей, %.

Fig. 2. Comparative analysis of ESKAPE pathogens isolated from oral and anal mucosa of the children, %.

Таблица 1. Результат сравнения сборок контигов штаммов *K. pneumoniae*, входящих в кластер I
Table 1. Results of comparison of contig assemblies of *K. pneumoniae* strains belonging to cluster I

SNP-dists 0.6.3	Штамм 85 Strain 85	Штамм 96 Strain 96	Штамм 51 Strain 51	Штамм 56 Strain 56	Штамм 57 Strain 57	Штамм 39 Strain 39
<i>K. pneumoniae</i> 96	19					
<i>K. pneumoniae</i> 51	10987	10987				
<i>K. pneumoniae</i> 56	10997	10993	52			
<i>K. pneumoniae</i> 57	10980	10980	17	55		
<i>K. pneumoniae</i> 39	10986	10984	15	55	16	
<i>K. pneumoniae</i> 42	10986	10986	11	51	8	10

51, 57, 85 (выделенные со слизистой зева) и 42, 56, 96 (со слизистой прямой кишки). Структурный анализ коровых SNP-геномов штаммов *K. pneumoniae* кластера I показал деление его на две группы с отличием значения геномов друг от друга чуть более 10 000 SNP. Первая группа представлена штаммами 39, 42, 51, 56, 57, а вторая — 85, 96. Результат попарного сравнения сборок контигов представлен в **табл. 1**. Анализ коровых SNP первой группы штаммов выявил, различие их не более чем на 55, что подтверждает высокую гомологию этих изолятов.

Кластер II сформировали штаммы 91, 49 (со слизистой зева) и 92, 50, 66 (со слизистой прямой

кишки); кластер III — штаммы 53 (со слизистой зева) и 54, 68 (со слизистой прямой кишки). Кластеры IV, V, VI, VII представлены единичными штаммами 74 и 82 (со слизистой прямой кишки) и штаммами 59, 31 (со слизистой зева). Молекулярное серотипирование по O- и капсульному антигенам установило, что каждый кластер штаммов *K. pneumoniae* отнесен к определенному серотипу (**табл. 2**). По O-антигену все штаммы кластера I и VII отнесены к серотипу O1v1. Штаммы кластера II по O-антигену имели некоторые различия и причислены к O1/O2v2 и O1v2, также штамм кластера V. Кластеры III и IV определяли штаммы, содержащие антиген

Таблица 2. Результаты молекулярного серотипирования штаммов *K. pneumoniae*
Table 2. Results of molecular serotyping of *K. pneumoniae* strains

Название штамма Name of the strain	KL-антиген KL-antigen	O-антиген O-antigen	Кластер Cluster
<i>K. pneumoniae</i> 39	KL2	O1v1	I
<i>K. pneumoniae</i> 42	KL2	O1v1	
<i>K. pneumoniae</i> 51	KL2	O1v1	
<i>K. pneumoniae</i> 56	KL2	O1v1	
<i>K. pneumoniae</i> 57	KL2	O1v1	
<i>K. pneumoniae</i> 85	KL112	O1v1	
<i>K. pneumoniae</i> 96	KL112	O1v1	
<i>K. pneumoniae</i> 92	KL104	O1/O2v2	II
<i>K. pneumoniae</i> 50	KL104	O1/O2v2	
<i>K. pneumoniae</i> 66	KL104	O1v2	
<i>K. pneumoniae</i> 49	KL104	O1/O2v2	
<i>K. pneumoniae</i> 91	KL104	O1/O2v2	
<i>K. pneumoniae</i> 68	KL60	O5	
<i>K. pneumoniae</i> 54	KL60	O5	
<i>K. pneumoniae</i> 53	KL60	O5	
<i>K. pneumoniae</i> 74	KL114	O5	IV
<i>K. pneumoniae</i> 59	KL62	O1v2	V
<i>K. pneumoniae</i> 82	KL128	O3b	VI
<i>K. pneumoniae</i> 31	KL62	O1v1	VII
<i>K. pneumoniae</i> 95	—	—	—

Примечание. Штамм 95 — не серотипируемый по O-антигену и KL-антигену.
Note. Strain 95 — non-serotyped by the O antigen and KL antigen.

рактируется преобладанием в медицинских стационарах Европы, США, Восточной и Юго-Восточной Азии [18–21].

Применение молекулярно-генетических методов исследования микробиома выявляет патогенный потенциал микробных сообществ, обитающих в определенных нишах. Полисахаридная цепочка, входящая в структуру наружной мембраны *K. pneumoniae*, обладает антигенными свойствами и служит признаком для разделения их на O-серотипы. По O-антигену все штаммы семи кластеров имели некоторые различия и отнесены к серотипам O1v1, O1/O2v2 и O1v2, O3b и O5. При этом 70% штаммов имели антигены серотипа O1. Имеются данные о том, что серотипы O1, O2, O3 являются наиболее распространенными и обнаруживаются в 80% случаев инфекций, вызванных бактериями *K. pneumoniae* [22]. Анализ капсульного антигена показал, что штаммы всех кластеров также характеризовались разнообразием, выявлены серотипы KL2, KL60, KL62, KL104, KL112, KL114 и KL128. Серотипы KL2 и KL104 определены у половины штаммов (по 25 % соответственно). В клинической практике выделяют гипервирулентные серотипы KL1 и KL2. Известно, что они обладают гипермукоидным фенотипом и ассоциируются с особо тяжелым течением клебсиеллезной инфекции [23].

Мультилокусное сиквенс-типирование установило гомологию штаммов по кластерам, генотипы во всех кластерах оказались идентичными по локусам tonB, rpoB, rhoE, pgi, mdh, gapA, отличия регистрировались в локусе infB. Выявлено преобладание сиквенс-типов ST14, ST1741 и ST1224. Кроме того, два штамма отнесены к сиквенс-типу ST15. Имеются указания на распространенность в Восточной Азии штаммов ST11, а также ST15, который встречается реже, тем не менее во всем мире о нем сообщается как об источнике больничных вспышек резистентной *K. pneumoniae* [12, 20]. В литературе описано, что эпидемиологическое неблагополучие в педиатрических стационарах связано с циркуляцией штаммов *K. pneumoniae* сиквенс-типов ST17, ST3181 и ST1564 [24].

Таким образом, проведенные молекулярно-генетические исследования свидетельствуют о том, что госпитальная популяция изолятов *K. pneumoniae* характеризовалась циркуляцией гомологичных штаммов одновременно на слизистых нескольких пациентов отделения, что указывает на контаминацию ими новорожденных при оказании медицинской помощи. Изучение не только видового состава циркулирующих микроорганизмов, но и полногеномное секвенирование, серотипирование и мультилокусное сиквенс-типирование, определение генетических маркеров потенциала патогенности штаммов позволяют эффективно идентифицировать возбудителей ИСМП.

Этиологическая структура инфекций, в том числе ИСМП, как известно, зависит от условий каждого конкретного отделения медицинской организации. Учитывая такую тенденцию, становится очевидной необходимость постоянного наблюдения за циркуляцией патогенов группы ESKAPE, не только в случае регистрации проявления бактериальной инфекции, но и в плановом порядке [26]. Внедрение системы микробиологического мониторинга ESKAPE-патогенов, основанное на молекулярно-генетических исследованиях, позволит эффективно выявлять возбудителей ИСМП, прогнозировать эпидемиологическую ситуацию при оказании медицинской помощи новорожденным.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Мухамедова Ш.Т., Шамсутдинов А.С., Хамраева Д.Р., Кароматова Ф.А. Внутрибольничная инфекция у новорожденных детей. *Биология и интегративная медицина*. 2021;(3):75–86. Mukhamedova Sh.T., Shamsutdinov A.S., Khamraeva D.R., Karomatova F.A. Nosocomial infections in newborns. *Biologiya i integrativnaya meditsina*. 2021;(3):75–86. EDN: <https://www.elibrary.ru/eosqum>
2. Никитина И.В., Герасимова А.В., Иванова Л.А. и др. Инфекции, ассоциированные с оказанием медицинской помощи, у критически больных недоношенных новорожденных: эпидемиология, клиническая картина и диагностика в современных условиях. *Неонатология: новости, мнения, обучение*. 2020;8(3):7–17. Nikitina I.V., Gerasimova A.V., Ivanova L.A., et al. Health care-associated infections in critically ill premature newborns: epidemiology, clinical features and diagnostics in modern conditions. *Neonatology: News, Opinions, Training*. 2020;8(3):7–17. DOI: <https://doi.org/10.33029/2308-2402-2020-8-3-7-17> EDN: <https://www.elibrary.ru/ikcmfj>
3. Martin R.M., Bachman M.A. Colonization, infection, and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2018;8:4. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00004>
4. Богданова Н.М. Предупреждение внутрибольничной инфекции в родовспомогательных учреждениях при организации грудного вскармливания. *Медицина: теория и практика*. 2019;4(1):132–7. Bogdanova N.M. Prevention of intrahospital infection in general supporting institutions at the organization of breastfeeding. *Medicine: Theory and Practice*. 2019;4(1):132–7. EDN: <https://www.elibrary.ru/klykty>
5. Иванова М.В., Миндлина А.Я., Полибин Р.В., Ушанова А.В. Эпидемиологические особенности внутриутробных и внутрибольничных инфекций новорожденных в Российской Федерации. *Инфекция и иммунитет*. 2019;9(1):193–202. Ivanova M.V., Mindlina A.Ya., Polibin R.V., Ushanova A.V. Russia-wide epidemiological survey of congenital and nosocomial infections in newborns. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2019;9(1):193–202. DOI: <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2019-1-193-202> EDN: <https://www.elibrary.ru/zgqxqvf>
6. Найговзина Н.Б., Попова А.Ю., Бирюкова Е.Е. и др. Оптимизация системы мер борьбы и профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи в Российской Федерации. *ОРГЗДРАВ: новости, мнения, обучение. Вестник ВШОУЗ*. 2018;(1):17–26. Naigovzina N.B., Popova A.Yu., Biryukova E.E., et al. Optimization of the system of measures to control and prevent infections associated with the provision of medical care in the Russian Federation. *Healthcare Mana-*

- gement: News, Views, Education. *Bulletin of VSHOUZ*. 2018;(1):17–26. EDN: <https://www.elibrary.ru/yusipb>
7. Наумкина Е.В., Пахалкова Е.В., Пядочкина Т.В., Абросимова О.А. Микробиологический мониторинг в отделениях перинатального центра. *Мать и дитя в Кузбассе*. 2018;(1):23–7. Naumkina E.V., Pakhal'kova E.V., Pyadochkina T.V., Abrosimova O.A. Microbiological monitoring in the departments of the perinatal center. *Mother and Baby in Kuzbass*. 2018;(1):23–7. EDN: <https://www.elibrary.ru/yopgqq>
 8. Ярец Ю.И. Патогенный потенциал бактерий группы ESKAPE, выделенных из ран: характеристика фено- и генотипических маркеров и возможность их практического применения. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2022;20(4):400–13. Yarets Yu.I. Pathogenic potential of ESKAPE group bacteria isolated from wounds: characterization of phenotypic and genotypic markers and possibility of their practical application. *Journal of the Grodno State Medical University*. 2022;20(4):400–13. DOI: <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2022-20-4-400-413> EDN: <https://www.elibrary.ru/vtsale>
 9. Le N.K., Hf W., Vu P.D., et al. High prevalence of hospital-acquired infections caused by gram-negative carbapenem-resistant strains in Vietnamese pediatric ICUs: A multicentre point prevalence survey. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(27):e4099. DOI: <https://doi.org/10.1097/md.0000000000004099>
 10. Berglund B., Hoang N.T.B., Lundberg L., et al. Clonal spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* among patients at admission and discharge at a Vietnamese neonatal intensive care unit. *Antimicrob. Resist. Infect. Control*. 2021;10(1):162. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13756-021-01033-3>
 11. Berglund B., Hoang N.T.B., Tärnberg M., et al. Colistin- and carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* carrying mcr-1 and blaOXA-48 isolated at a paediatric hospital in Vietnam. *J. Antimicrob. Chemother.* 2018;73(4):1100–2. DOI: <https://doi.org/10.1093/jac/dkx491>
 12. Piperaki E.T., Syrogiannopoulos G.A., Tzouveleki L.S., Daikos G.L. *Klebsiella pneumoniae*: virulence, biofilm and antimicrobial resistance. *Pediatr. Infect. Disease*. 2017;36(10):1002–5. DOI: <https://doi.org/10.1097/inf.0000000000001675>
 13. Бондаренко А.П., Троценко О.Е., Зайцева Т.А. и др. Микробиологические и молекулярно-биологические методы в эпидемиологической оценке заболеваний, обусловленных *Klebsiella pneumoniae* и связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП). *Дальневосточный журнал инфекционной патологии*. 2021;(41):68–75. Bondarenko A.P., Trotsenko O.E., Zaitseva T.A., et al. Microbiological and molecular-biological methods in epidemiological evaluation of healthcare associated infections caused by *Klebsiella pneumoniae*. *The Far Eastern Journal of Infectious Pathology*. 2021;(41):68–75. EDN: <https://www.elibrary.ru/ypthje>
 14. Скачкова Т.С., Шипулина О.Ю., Шипулин Г.А. и др. Изучение генетического разнообразия штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в многопрофильном медицинском центре г. Москвы, с помощью секвенирования нового поколения. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2019;21(1):69–74. Skachkova T.S., Shipulina O.Yu., Shipulin G.A., et al. Characterization of genetic diversity of the *Klebsiella pneumoniae* strains in a Moscow tertiary care center using next-generation sequencing. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2019;21(1):69–74. EDN: <https://www.elibrary.ru/wuxmap>
 15. Zheng X., Wang J.F., Xu W.L., et al. Clinical and molecular characteristics, risk factors and outcomes of Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections in the intensive care unit. *Antimicrob. Resist. Infect. Control*. 2017;6:102. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13756-017-0256-2>
 16. Белова И.В., Точилина А.Г., Соловьева И.В. и др. Характеристика госпитальных штаммов *Klebsiella pneumoniae*, циркулирующих в педиатрическом стационаре. *Здоровье населения и среда обитания – ЗНУСО*. 2019;(8):25–9. Belova I.V., Tochilina A.G., Solov'eva I.V., et al. Characteristic of hospital *Klebsiella pneumoniae* strains circulating in the pediatric hospital. *Public Health and Life Environment – PH&LE*. 2019;(8):25–9. DOI: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2019-317-8-25-29> EDN: <https://www.elibrary.ru/bbavei>
 17. Peters L., Olson L., Khu D.T.K., et al. Multiple antibiotic resistance as a risk factor for mortality and prolonged hospital stay: A cohort study among neonatal intensive care patients with hospital-acquired infections caused by gram-negative bacteria in Vietnam. *PLoS One*. 2019;14(5):e0215666. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215666>
 18. Berglund B., Hoang N.T.B., Tärnberg M., et al. Molecular and phenotypic characterization of clinical isolates belonging to a KPC-2-producing strain of ST15 *Klebsiella pneumoniae* from a Vietnamese pediatric hospital. *Antimicrob. Resist. Infect. Control*. 2019;16(8):156. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0613-4>
 19. Fursova N.K., Astashkin E.I., Lev A.I., et al. Phenotypes and genotypes of classical and hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* clinical strains isolated in Moscow in 2013–2018. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2018;8(4):747. EDN: <https://www.elibrary.ru/pohodv>
 20. Чеботарь И.В., Бочарова Ю.А., Подопригра И.В., Шагин Д.А. Почему *Klebsiella pneumoniae* становится лидирующим оппортунистическим патогеном. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2020;22(1):4–19. Chebotar' I.V., Bocharova Yu.A., Podoprigora I.V., Shagin D.A. The reasons why *Klebsiella pneumoniae* becomes a leading opportunistic pathogen. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2020;22(1):4–19. DOI: <https://doi.org/10.36488/cmhc.2020.1.4-19> EDN: <https://www.elibrary.ru/ockpac>
 21. Yu V.L., Hansen D.S., Ko W.C., et al. Virulence characteristics of *Klebsiella* and clinical manifestations of *K. pneumoniae* bloodstream infections. *Emerg. Infect. Dis*. 2007;13(7):986–93. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid1307.070187>
 22. Точилина А.Г., Белова И.В., Соловьева И.В. и др. Молекулярное типирование госпитальных штаммов *Klebsiella pneumoniae* ssp. *pneumoniae*. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2019;21(S1):63–4. Tochilina A.G., Belova I.V., Solov'eva I.V., et al. Molecular typing of hospital strains of *Klebsiella pneumoniae* ssp. *pneumoniae*. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2019;21(S1):63–4. EDN: <https://www.elibrary.ru/ikfgvt>
 23. Кузьменко С.А., Брежнева Н.И., Гончаров А.Е., Тугельян А.В. Характеристика свойств внутрибольничной популяции *Klebsiella pneumoniae*. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2019;4(2):58–65. Kuz'menko S.A., Brezhneva N.I., Goncharov A.E., Tutel'yan A.V. Features of nosocomial *Klebsiella pneumoniae* population. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2019;4(2):58–65. DOI: <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2019-4-2-58-65> EDN: <https://www.elibrary.ru/fwfxlj>
 24. Кондратенко Т.А., Шеожева А.В. Мониторинг микробиотеноса у новорождённых в период пребывания в отделении реанимации и интенсивной терапии. *Профилактика и клиническая медицина*. 2018;(2):31–3. Kondratenko T.A., Sheozheva A.V. Monitoring of the microbiocenosis in newborns within intensive care units. *Preventive and Clinical Medicine*. 2018;(2):31–3. EDN: <https://www.elibrary.ru/xwtohb>

Информация об авторах

Степанова Татьяна Федоровна — д.м.н., проф., директор Тюменского научно-исследовательского института краевой инфекционной патологии, Тюмень, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6289-6274>

Катаева Любовь Владимировна[✉] — д.м.н., г.н.с., зав. бактериологической лабораторией Тюменского научно-исследовательского института краевой инфекционной патологии, Тюмень, Россия, info@tniikip.rosпотребнадzor.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9966-8454>

Посоюзных Ольга Викторовна — биолог бактериологической лаборатории Тюменского научно-исследовательского института краевой инфекционной патологии, Тюмень, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-4364-9868>

Богун Александр Геннадьевич — к.б.н., зав. отделом коллекционных культур ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболensk, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5454-2495>

Кисличкина Ангелина Александровна — к.б.н., с.н.с. отдела коллекционных культур ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболensk, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-8389-2494>

Tran Thi Nhai — н.с. Совместного Российско-Вьетнамского тропического научно-исследовательского и технологического центра (Тропический центр), Ханой, Вьетнам, <https://orcid.org/0009-0003-1892-3241>

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 22.12.2022;
принята к публикации 01.03.2023;
опубликована 28.04.2023

Information about the authors

Tatyana F. Stepanova — D. Sci. (Med.), Professor, Director, Tyumen Research Institute of Regional Infectious Pathology, Tyumen, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6289-6274>

Lyubov V. Kataeva[✉] — D. Sci. (Med.), chief researcher, Head, Bacteriological laboratory, Tyumen Research Institute of Regional Infectious Pathology, Tyumen, Russia, info@tniikip.rosпотребнадzor.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9966-8454>

Olga V. Posoyuznykh — biologist, Bacteriological laboratory, Tyumen Research Institute of Regional Infectious Pathology, Tyumen, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-4364-9868>

Alexander G. Bogun — Cand. Sci. (Biol.), Head, Department of collection cultures, State Scientific Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5454-2495>

Angelina A. Kislichkina — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Department of collection cultures, State Scientific Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8389-2494>

Tran Thi Nhai — researcher, Joint Russian-Vietnamese Tropical Research and Technology Center (Tropical Center), Hanoi, Vietnam <https://orcid.org/0009-0003-1892-3241>

Author contributions. All authors made a significant contribution to the search and analytical work and preparation of the article, read and approved the final version before publication.

The article was submitted 22.12.2022;
accepted for publication 01.03.2023;
published 28.04.2023