

<https://doi.org/10.34883/PI.2022.10.3.004>



Егоров С.К. ✉, Семёнов В.М., Дмитраченко Т.И.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
Витебск, Беларусь

Анализ изолятов *Klebsiella pneumoniae*, обладающих широкой резистентностью к антибиотикам

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Егоров С.К. – проведение исследования, анализ данных, подготовка и редактирование текста; Семёнов В.М. – концепция и дизайн исследования, редактирование текста, утверждение окончательного варианта статьи; Дмитраченко Т.И. – обзор литературы, редактирование текста.

Подана: 01.09.2022

Принята: 26.09.2022

Контакты: delta505@yandex.ru

Резюме

Введение. *Klebsiella pneumoniae* – хорошо известный, традиционно считающийся условно-патогенным микроорганизм. *K. pneumoniae* способна служить причиной целого ряда тяжелых инфекций у пациентов с ослабленным иммунитетом, страдающих сахарным диабетом, злокачественными новообразованиями, алкогольной зависимостью, а также у лиц, подвергающихся медицинскому вмешательству, как правило, развивающихся в условиях стационара.

Цель. Определение генетических характеристик и детерминант антибиотикорезистентности (генов, мутаций, однонуклеотидных полиморфизмов), обуславливающих широкую резистентность к антибиотикам изолятов *K. pneumoniae*, выделенных от пациентов реанимационных отделений.

Материалы и методы. Выполнено полногеномное секвенирование найденных изолятов с широкой резистентностью к антибиотикам. Проведен генетический анализ нуклеотидных последовательностей.

Результаты. Определены сиквенс-типы, капсульные типы, локусы поверхностных полисахаридов исследуемых изолятов *Klebsiella pneumoniae*. Найдены гены и плазмиды, способные детерминировать резистентность к антибиотикам.

Выводы. Результаты указывают на циркуляцию гипервирулентных штаммов *Klebsiella pneumoniae* в Республике Беларусь, что затрудняет клиническую диагностику и может сопровождаться неэффективностью проведения стандартной антибактериальной терапии у пациентов различного возраста, что имеет особое значение для отделений интенсивной терапии и отделений патологии новорожденных.

Ключевые слова: *Klebsiella pneumoniae*, инфекции, резистентность, вирулентность, антибиотики

Sergei K. Egorov ✉, Valery M. Semenov, Tatiana I. Dmitrachenko
Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Belarus

Analysis of *Klebsiella Pneumoniae* Isolates with Extremely High Antibiotic Resistance

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Sergei K. Egorov – conducting research, data analysis, manuscript text preparation and editing; Valery M. Semenov – research concept and design, manuscript text editing, approving of the final version of the article; Tatiana I. Dmitrachenko – literature review, manuscript text editing.

Submitted: 01.09.2022

Accepted: 26.09.2022

Contacts: delta505@yandex.ru

Abstract

Introduction. *Klebsiella pneumoniae* is a well-known pathogen which is considered opportunistic. It can cause a severe infection in immunocompromised patients with diabetes mellitus, malignant neoplasms, alcohol dependence, as well as in individuals undergoing medical intervention, usually in hospital conditions.

Purpose. To establish genetic characteristics and determinants of drug- resistance to antibiotics (genes, mutations, single-nucleotide polymorphisms) responsible for extensive antibiotic resistance of *K. Pneumoniae* isolates from intensive care unit patients.

Materials and methods. Full-genome sequencing and genetic analysis of the primary nucleotide sequences was performed.

Results. Sequence types, capsule types, and surface polysaccharide loci of *Klebsiella pneumoniae* isolates were determined. Genes and plasmids capable of determining resistance to antibiotics were found and characterized.

Conclusions. The results indicate the presence of hypervirulent strains of *Klebsiella pneumoniae*, which complicates diagnosing and may be accompanied by the ineffectiveness of standard antibiotic therapy in patients of different ages, being of particular importance for intensive care units and neonatal pathology departments.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, infection, resistance, virulence, antibiotics

■ ВВЕДЕНИЕ

Klebsiella pneumoniae – хорошо известный, традиционно считающийся условно-патогенным микроорганизм. *K. pneumoniae* способна служить причиной целого ряда тяжелых инфекций у пациентов с ослабленным иммунитетом, страдающих сахарным диабетом, злокачественными новообразованиями, алкогольной зависимостью, а также у лиц, подвергающихся медицинскому вмешательству, как правило, развивающихся в условиях стационара. От 3% до 9% всех вспышек внутрибольничных инфекций обусловлены *K. pneumoniae* [1, 2]. Спектр заболеваний, причиной которых является *K. pneumoniae*, включает пневмонию, инфекции мочевыводящих путей, брюшной полости, мягких тканей, сопровождающиеся бактериемией и развитием сепсиса [3]. Большинство инфекций, вызванных *K. pneumoniae*, в странах Западной Европы и США связаны с так называемыми классическими штаммами. В последнее время

клиническая значимость классических штаммов *K. pneumoniae* (сКр) из-за их склонности к приобретению детерминант устойчивости к противомикробным препаратам существенно выросла [4]. Для указанных микроорганизмов характерны два основных типа устойчивости к бета-лактамам антибиотикам. Один механизм включает экспрессию β -лактамаз расширенного спектра (БЛРС), обеспечивающих резистентность к цефалоспорином и монобактамам. Другой реализуется продукцией карбапенемаз, что делает штаммы *K. pneumoniae* устойчивыми почти ко всем доступным β -лактамам, включая карбапенемы. В настоящее время в штаммах *K. pneumoniae* были обнаружены такие карбапенемазы, как KPC, MBL, NDM-1, IMP и VIM [5]. Особую тревогу вызывает появление штаммов не только с устойчивостью к карбапенемам (CRKP), но и штаммов с множественной лекарственной устойчивостью (MDR), что стало серьезной глобальной проблемой общественного здравоохранения [6]. Многоцентровое эпидемиологическое исследование, проведенное в России в 2015–2016 гг., показало, что более 75% нозокомиальных штаммов *K. pneumoniae* продуцировали БЛРС, а 26,5% являлись продуцентами карбапенемаз: OXA-48 – 21,5%, NDM – 4,3%, OXA-48 и NDM – 0,6%, KPC – 0,1% [7].

Способность клебсиелл приобретать новый генетический материал содействовала продолжающейся эволюции и появлению новых штаммов [8]. В результате появился особый тип, получивший название гипервирулентной *K. pneumoniae* (hvKp), отличительной чертой которого является продукция избыточного количества слизи на чашках с агаром (гипермукоида). Предложен фенотипический тест («струнный тест»), позволяющий при использовании инокуляционной петли растянуть колонию бактерии как минимум на пять миллиметров и тем самым определить наличие гипермукоида. Данный тест используется для дифференциации классических (сКр) и гипервирулентных (hvKp) штаммов [1, 4, 8]. Однако установлено, что не все штаммы hvKp являются гипермукоидными, кроме того, некоторые штаммы сКр также обладают этой характеристикой. В результате клинические лаборатории испытывают трудности в дифференцировке классических и гипервирулентных штаммов, однако недавно было показано, что несколько биомаркеров и количественная продукция сидерофоров позволяют точно определить штаммы hvKp, что в будущем может привести к разработке диагностического теста для использования в эпидемиологическом надзоре и научных исследованиях [9]. В отличие от классических штаммов особенностью гипервирулентных *K. pneumoniae* является более высокая вирулентность и, как следствие, способность вызывать внебольничные инфекции у здоровых людей, не имеющих сопутствующей патологии. В настоящее время как классические, так и гипервирулентные *K. pneumoniae* получили широкое распространение, создавая серьезную проблему для здравоохранения. Заболеваемость инфекциями, вызванными hvKp, неуклонно растет в течение последних 3 десятилетий, что характерно в первую очередь для стран Азиатско-Тихоокеанского региона. Распространенность hvKp среди *K. pneumoniae* в эндемичных районах достигает 12–45% [8]. Несмотря на то, что сКр является доминирующим возбудителем в западных странах, инфекции, вызванные hvKp, все чаще выявляются и в этом регионе [8]. Традиционно hvKp считались внебольничными и сохраняли чувствительность к антибиотикам. Однако в настоящее время среди этих штаммов отмечен значительный рост резистентности к антимикробным лекарственным средствам, что сопровождается и резко меняющейся клинической картиной заболеваний, вызванных гипервирулентной

K. pneumoniae. Слияние гипервирулентности и экстремальной или множественной лекарственной устойчивости hvKP может создать неразрешимую проблему лечения пациентов с инфекцией, вызванной такими «супербактериями» в дальнейшем [9]. Сообщения о вспышках инфекций со смертельным исходом, обусловленных широко резистентными штаммами (XDR) hvKp, вызывают большое беспокойство, при этом особую тревогу представляют данные о наличии таких штаммов у детей [10, 11]. Помимо поражения дыхательных и мочевых путей, чаще наблюдаемых при заболеваниях, обусловленных классическими штаммами клебсиелл, характерным проявлением hvKP-инфекции является внебольничный абсцесс печени, реже абсцесс селезенки и абсцессы других локализаций, а также спонтанный бактериальный перитонит. Описаны необычные очаги hvKP-инфекции, включая эндофтальмит и менингит, их сочетание и способность к метастатическому распространению инфекции [5, 13]. Несмотря на то, что большинство пациентов с hvKP-инфекцией являются, как правило, молодыми людьми, которые не имеют сопутствующих заболеваний, уровень летальности достигает 3–42%, при этом наиболее высокие показатели летальности характерны для внебольничной пневмонии, сопровождающейся бактериемией (55%), и для некротизирующего фасциита (47%) [8, 9].

Традиционно принято считать, что *K. pneumoniae* способна вызывать заболевание преимущественно у взрослых, т. к. колонизация слизистых дыхательных путей, ЖКТ и мочевых путей с возрастом увеличивается. В западных странах частота выделения *K. pneumoniae* из носоглотки здоровых людей составляет от 1 до 11%. У детей в возрасте до 10 лет этот показатель, как правило, не превышает 1,6%, однако в некоторых регионах он может достигать 7%. При этом в странах Юго-Восточной Азии доля hvKP среди выделенных клебсиелл может являться определяющей [9]. Особому риску заражения *K. pneumoniae* из-за незрелой иммунной защиты, отсутствия сформированной микробиоты и относительно высокой проницаемости слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта подвержены новорожденные, особенно недоношенные или находящиеся в отделении интенсивной терапии. В некоторых развивающихся странах *K. pneumoniae* часто является основной причиной неонатального сепсиса [14, 15].

Несмотря на то, что сегодня большинство штаммов hvKP все еще сохраняют чувствительность к противомикробным препаратам, лечение инфекций, вызванных hvKP, в ближайшем будущем может стать чрезвычайно сложной задачей, что обусловлено возможностью слияния гипервирулентности и экстремальной или панлекарственной устойчивости в hvKP, это может привести к появлению новых «супербактерий» и реализации «постантибиотического» сценария [5, 8]. Особое опасение вызывает и появление все большего числа сообщений, в которых описываются hvKP-инфекции, возникающие в медицинских учреждениях, хотя известно, что характерными чертами hvKP является развитие внебольничных инфекций [9].

Постоянно растущее распространение hvKP, а также ожидаемый рост устойчивости к антибиотикам как среди классических, так и среди гипервирулентных штаммов требуют расширения знаний, позволяющих разработать систему профилактики распространения данных инфекций в условиях стационара, предложить оптимальные алгоритмы терапии и не допустить роста летальности.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение генетических характеристик и детерминант антибиотикорезистентности (генов, мутаций, однонуклеотидных полиморфизмов), обуславливающих широкую резистентность к антибиотикам изолятов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных от пациентов реанимационных отделений.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Лабораторная часть работы выполнялась на базе молекулярно-генетической лаборатории кафедры инфекционных болезней с курсом ФПК и ПК УО «Витебский государственный медицинский университет».

Периферическая кровь забиралась в объеме 5 мл, использовались пробирки для сбора крови, содержащие ЭДТА. Для получения плазмы кровь центрифугировали на скорости 1500 оборотов в минуту в течение 10 минут, пипетировали и хранили в пробирках типа эппендорф.

Для забора проб мокроты и бронхоальвеолярного лаважа использовали одноразовые катетеры для аспирации дыхательных путей и взятия проб. Забор мокроты проводили в стерильных условиях во избежание соприкосновения биологического материала с внешней средой. Контейнер с пробой герметично закрывали дополнительной крышкой.

Образцы цереброспинальной жидкости (ЦСЖ), мочи, гноя собирались в стерильных условиях согласно общепринятым методикам забора, помещались в пробирки типа эппендорф, свободные от ДНКаз и РНКаз.

Все биологические образцы плазмы крови, ЦСЖ, мокроты, мочи, плевральной и перитонеальной жидкости, бронхоальвеолярного лаважа, гноя подвергались стандартным микробиологическим методам исследования. Микробиологический анализ (идентификация микроорганизмов и определение чувствительности к антибиотикам) проводили в бактериологическом отделе клинико-диагностической лаборатории учреждения здравоохранения «Витебская областная клиническая больница» с использованием микробиологического автоматического анализатора BD Phoenix M50 (Becton Dickinson, США). Диско-диффузионный метод определения чувствительности к антибиотикам выполнялся с использованием дисков с антибиотиками (Liofilchem, Италия; HiMedia, Индия) на агаре Мюллера – Хинтона (Liofilchem, Италия).

Интерпретация значений минимальных подавляющих концентраций и диаметров зон подавления роста проводилась согласно ежегодно обновляемым версиям таблиц клинических пограничных значений Европейского комитета по определению чувствительности к антибиотикам (EUCAST), стандартов производительности для тестирования антимикробной чувствительности CLSI [16, 17]. Классификация принадлежности изолятов как имеющих широкую резистентность к антибиотикам (XDR) выполнялась согласно определению CDC и ECDC (центры по контролю и профилактике заболеваний США и Европы) [18].

Получение чистых культур производилось стандартным микробиологическим методом. Подтверждение наличия исследуемых бактерий в чистой культуре и исключение наличия других неучтенных патогенов проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени разработанной нами тест-системой «Мультибак» для одномоментного определения ДНК *A. baumannii*, *Ps. aeruginosa*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*,

N. meningitidis, *L. monocytogenes* методом ПЦР в реальном времени (ООО «Сивитал», Республика Беларусь, ТУ BY 391360704.021–2020).

Полногеномное секвенирование проводили на секвенаторе NextSeq 550 (Illumina, США). ДНК чистых культур патогенов выделяли с помощью набора MagListo 5M Genomic DNA Extraction Kit (Bioneer, Южная Корея). При подготовке библиотеки ДНК для секвенирования использовали набор Nextera XT DNA Library Preparation Kit (Illumina, США), секвенирование проводили с использованием набора NextSeq 500/550 v2.5 sequencing reagent kit (Illumina, США) на 300 циклов.

С целью анализа нуклеотидных последовательностей проводили сборку полученных коротких чтений с использованием SPAdes v3.15.3. Определение сиквенс-типов (ST) проводили с помощью базы PubMLST и пакета MLST v2.11. Для поиска детерминант антибиотикорезистентности и патогенности использовали базы данных CARD, MEGARES. Для определения локусов вирулентности, плазмид и определения капсульных антигенов и серотипов использовали Kleborate v2.2.0.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Разнообразные биологические образцы – плазма крови, ЦСЖ, мокрота, моча, плевральная и перитонеальная жидкости, бронхоальвеолярный лаваж, гной были собраны у пациентов, поступивших в отделение интенсивной терапии в 2020–2021 гг. После определения видовой принадлежности было найдено 60 изолятов *Klebsiella pneumoniae*. Диско-диффузионный метод определения чувствительности к антибиотикам и данные микробиологического автоматического анализатора позволили отобрать 8 изолятов с широкой резистентностью к антибиотикам.

Для идентификации известных генетических детерминант резистентности (субклассы бета-лактамаз, подгруппы генетических вариаций, мобильные элементы, способные влиять на эффективность химиотерапии) и проведения мультилокусного типирования было проведено полногеномное секвенирование данных 8 изолятов.

Из них было определено 5 изолятов, относящихся к сиквенс-типу 395 (ST395) и 3 изолята гипервирулентного сиквенс-типа 23 (ST23). Типы локусов представлены в табл. 1.

Для упрощения анализа мы воспользовались представленным в доступных литературных источниках распределением антимикробной резистентности и детерминант вирулентности в популяции *K. pneumoniae* [19], согласно которым данные генотипирования могут быть представлены с помощью простых числовых суммарных баллов, отражающих накопление локусов и способствующих клинически значимому уровню резистентности или гипервирулентности. Баллы вирулентности варьируют от 0 до 5 в зависимости от наличия ключевых локусов, связанных с увеличением

Таблица 1
Результаты мультилокусного типирования исследуемых изолятов *Klebsiella pneumoniae*
Table 1
Results of multilocus sequence typing of *Klebsiella pneumoniae* isolates

Число изолятов	Сиквенс-тип	Тип локуса						
		gapA	infB	mdh	pgi	phoE	rpoB	tonB
5	ST395	3	1	2	4	1	1	4
3	ST23	2	1	1	1	9	4	12

риска инвазивности (иерсиниабактин < колибактин < аэробактин). В свою очередь баллы резистентности варьируют от 0 до 3 на основании обнаружения генотипов, требующих эскалации антимикробной терапии (БЛРС < наличие карбапенемаз < наличие карбапенемаз и резистентности к колистину). При подсчете общего количества генов резистентности некоторые мутации не учитывались. Данные, характеризующие исследуемые изоляты, представлены в табл. 2.

Наличие аэробактина (*iuc1*), иерсиниебактина (*ybt9*, ICEKp3; *ybt16*, ICEKp12) было найдено в 6 изолятах. Белок наружной мембраны *wzi* (*wzi77*) и локус K (*KL57*) были найдены в 4 изолятах. Более подробное описание локусов, определяющих серотипы возбудителя, перечислены в табл. 3.

Во всех изолятах обнаружено от 7 до 19 генов резистентности. Эти гены могут обуславливать резистентность к бета-лактамам (CTX-M-15, NDM-1, OXA-1, OXA-48, SHV-1, SHV-11, TEM-1B); фторхинолонам (*aac(6')-Ib-cr*, *qnrB1*, *qnrS1*); аминогликозидам (*armA*, *rmtf*, *aac(3)-IIa*, *aac(6')-Ib-cr*, *aac(6')-Ib-Hangzhou*, *aph(3')-VI*); макролидам (*mphA*, *mphE*, *msrE*); тетрациклинам (*tetA*); фениколам (*catA1*, *oqxA*, *oqxB*); сульфониламидам (*sul1*, *sul2*); триметоприму (*dfrA1*, *dfrA5*); рифамицинам (ARR-3). Продукция карбапенемаз с

Таблица 2
Сравнительный уровень вирулентности и резистентности исследуемых изолятов *Klebsiella pneumoniae*

Table 2
Comparative virulence and resistance levels of the *Klebsiella pneumoniae* isolates

Образец	ST	Вирулентность (баллы)	Резистентность (баллы)	Количество генов резистентности
KL33	ST395	0	1	10
KL34	ST23	4	3	7
KL35	ST23	4	3	7
KL37	ST395	4	1	10
KL38	ST23	4	3	7
KL39	ST395	4	3	19
KL40	ST395	4	2	6
KL41	ST395	3	2	19

Таблица 3
Капсульные типы и локусы поверхностных полисахаридов исследуемых изолятов *Klebsiella pneumoniae*

Table 3
Capsule types and surface polysaccharide loci of *Klebsiella pneumoniae* isolates

Образец	Иерсиниебактин	Аэробактин	Белок <i>wzi</i>	К-локус	О-локус	О-тип
KL33	–	–	<i>wzi105</i>	KL108	O1/O2v2	O1
KL34	<i>ybt 9</i> ; ICEKp3	<i>iuc 1</i>	<i>wzi77</i>	KL57	O1/O2v2	O2afg
KL35	<i>ybt 9</i> ; ICEKp3	<i>iuc 1</i>	<i>wzi77</i>	KL57	O1/O2v2	O2afg
KL37	<i>ybt 16</i> ; ICEKp12	<i>iuc 1</i>	<i>wzi160</i>	KL39	O1/O2v1	O1
KL38	<i>ybt 9</i> ; ICEKp3	<i>iuc 1</i>	<i>wzi77</i>	KL57	O1/O2v2	O2afg
KL39	<i>ybt 16</i> ; ICEKp12	<i>iuc 1</i>	<i>wzi2</i>	KL2	O1/O2v1	O1
KL40	<i>ybt 9</i> ; ICEKp3	<i>iuc 1</i>	<i>wzi77</i>	KL57	O1/O2v1	O2a
KL41	–	<i>iuc 1</i>	<i>wzi160</i>	KL39	O1/O2v1	O1

Таблица 4

Гены исследуемых изолятов *Klebsiella pneumoniae*, детерминирующие резистентность к антибиотикам

Table 4

Genes of *Klebsiella pneumoniae* isolates determining the resistance to antibiotics

Ген резистентности	KL33	KL34	KL35	KL37	KL38	KL39	KL40	KL41
aac(3)-IIa	–	–	–	–	–	+	–	–
aac(6')-Ib-cr	+	+	+	+	+	+	–	–
aac(6')-Ib-Hangzhou	–	+	+	–	+	–	–	–
ant(2'')-Ia	–	–	–	–	–	–	+	–
aph(3')-VI	–	–	–	–	–	+	–	–
aph(6)-Id	–	–	–	–	–	–	+	+
armA	–	–	–	–	–	+	–	+
ARR-3	–	+	+	–	+	–	–	–
blaCMY-74	–	–	–	–	–	–	+	–
blaCTX-M-15	+	+	+	+	+	+	–	–
blaNDM-1	–	–	–	–	–	+	–	–
blaOXA-1	+	–	–	+	–	+	–	–
blaOXA-48	–	+	+	–	+	+	–	+
blaSHV-1	–	+	+	–	+	–	–	–
blaSHV-11	+	–	–	+	–	+	–	+
blaTEM-1B	+	–	–	+	–	+	–	–
catA1	+	+	+	+	+	+	–	+
catB4	+	–	–	+	–	+	–	–
dfrA1	+	–	–	+	–	+	–	+
dfrA5	–	–	–	–	–	+	–	–
fosA	+	+	+	+	+	+	+	+
mph(A)	–	–	–	–	–	+	–	+
mph(E)	–	–	–	–	–	+	–	+
msr(E)	–	–	–	–	–	+	–	+
oqxA	+	+	+	+	+	+	–	+
oqxB	+	+	+	+	+	+	–	+
qnrB1	–	+	+	–	+	–	–	–
qnrB71	–	–	–	–	–	–	+	–
qnrS1	+	–	–	+	–	+	–	+
rmtf	–	+	+	–	+	–	–	–
strA	–	–	–	–	–	–	+	+
sul1	+	–	–	+	–	+	–	+
sul2	–	–	–	–	–	+	–	–
tet(A)	+	–	–	+	–	+	–	+

резистентностью к колистину (мутации MgrB) найдена в 4 изолятах. Полный список генов, детерминирующих устойчивость к антибиотикам, приведен в табл. 4.

Для описания профиля резистентности нами также проводился поиск мобильных элементов (плазмид). Были обнаружены плазмиды ColpVC, IncFIB (Mar), IncFIB (pQil), IncHI1B, IncL/M (pOXA-48), IncR.

■ ВЫВОДЫ

1. Представленные результаты указывают, что на территории Республики Беларусь циркулируют гипервирулентные штаммы *Klebsiella pneumoniae*, характеризующиеся широкой резистентностью к антибиотикам.
2. Создана карта генетических детерминант резистентности к антибиотикам выделенных госпитальных изолятов, позволяющая прогнозировать неэффективность антибиотикотерапии.
3. Наличие указанных штаммов позволяет предполагать возможность нетипичного течения инфекции, обусловленной *Klebsiella pneumoniae*, что в конечном итоге может обуславливать трудности в клинической диагностике и сопровождаться неэффективностью проведения стандартной антибактериальной терапии у пациентов различного возраста, что имеет особое значение для отделений интенсивной терапии и отделений патологии новорожденных.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Chebotar IV, Bocharova Iu, Podoprigora I, Shagin D. Why *Klebsiella pneumoniae* is becoming the leading opportunistic pathogen. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy* 2020;22:4–19. (in Russian)
2. Endimiani A, Depasquale JM, Forero S et al. Emergence of blaKPC-containing *Klebsiella pneumoniae* in a long-term acute care hospital: a new challenge to our healthcare system. *J Antimicrob Chemother* 2009;64:1102–10. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp327>.
3. Wang G, Zhao G, Chao X, Xie L, Wang H. The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae*. *Int J Environ Res Public Health* 2020;17:E6278. <https://doi.org/10.3390/ijerph17176278>.
4. Bardasheva A, Fomenko N, Kalymbetova T, Babkin I, Chretien S, Zhirakovskaya E, et al. Genetic characterization of clinical isolates of *Klebsiella* circulating in Novosibirsk. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding* 2021;25:234. (in Russian)
5. Paczosa MK, Mecsas J. *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense. *Microbiol Mol Biol Rev* 2016;80:629–61. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00078-15>.
6. Qin J, Qiu Y, Guo S, Li M, Lin F, Wan R, et al. Distribution and antimicrobial resistance profile of *Klebsiella pneumoniae*. *Chinese Journal of Infection and Chemotherapy* 2017;26:9–72.
7. Sukhorukova M, Edelstein M, Skleenova EY 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): 147–159. (in Russian)
8. Shon AS, Bajwa RPS, Russo TA. Hypervirulent (hypermuticoviscous) *Klebsiella pneumoniae*: a new and dangerous breed. *Virulence* 2013;4:107–18. <https://doi.org/10.4161/viru.22718>.
9. Russo TA, Marr CM. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Clin Microbiol Rev* 2019;32:e00001-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00001-19>.
10. Dong F, Zhang Y, Yao K, Lu J, Guo L, Lyu S, et al. Epidemiology of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Infections in a Chinese Children's Hospital: Predominance of New Delhi Metallo-β-Lactamase-1. *Microb Drug Resist* 2018;24:154–60. <https://doi.org/10.1089/mdr.2017.0031>.
11. Liu Z, Gu Y, Li X, Liu Y, Ye Y, Guan S, et al. Identification and Characterization of NDM-1-producing Hypervirulent (Hypermuticoviscous) *Klebsiella pneumoniae* in China. *Ann Lab Med* 2019;39:167–75. <https://doi.org/10.3343/alm.2019.39.2.167>.
12. Lee H-C, Chuang Y-C, Yu W-L, Lee N-Y, Chang C-M, Ko N-Y, et al. Clinical implications of hypermuticoviscosity phenotype in *Klebsiella pneumoniae* isolates: association with invasive syndrome in patients with community-acquired bacteraemia. *J Intern Med* 2006;259:606–14. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2006.01641.x>.
13. Yamamoto H, Iijima A, Kawamura K, Matsuzawa Y, Suzuki M, Arakawa Y. Fatal fulminant community-acquired pneumonia caused by hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* K2-ST86: Case report. *Medicine (Baltimore)* 2020;99:e20360. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000020360>.
14. Afroza S. Neonatal sepsis – a global problem: an overview. *Mymensingh Med J* 2006;15:108–14. <https://doi.org/10.3329/mmj.v15i1.2>.
15. Collado MC, Cernada M, Neu J, Pérez-Martínez G, Gormaz M, Vento M. Factors influencing gastrointestinal tract and microbiota immune interaction in preterm infants. *Pediatr Res* 2015;77:726–31. <https://doi.org/10.1038/pr.2015.54>.
16. C.L.S.I. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement. C.L.S.I. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015.
17. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST Version. 2019;9(0).
18. Basak S, Singh P, Rajurkar M. Multidrug Resistant and Extensively Drug Resistant Bacteria: A Study. *J Pathog* 2016;2016:4065603. <https://doi.org/10.1155/2016/4065603>.
19. Lam MMC, Wick RR, Watts SC, Cerdeira LT, Wyres KL, Holt KE. A genomic surveillance framework and genotyping tool for *Klebsiella pneumoniae* and its related species complex. *Nat Commun* 2021;12:4188. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24448-3>.