

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР ЗДОРОВЬЯ ДЕТЕЙ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи



Садеева Зульфия Закиевна

**Характеристика грамотрицательных бактерий, выделенных из крови и
ликвора у детей**

1.5.11. Микробиология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук
Лазарева Анна Валерьевна

Москва – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	15
1.1. Бактериемии и инфекции центральной нервной системы у детей.....	15
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	36
2.1. Выделение и идентификация микроорганизмов.....	36
2.2. Определение чувствительности к антимикробным препаратам.....	36
2.3. Исследование биопленкообразования	38
2.4. Молекулярно-генетические методы исследования.....	39
2.5. Статистические методы.....	47
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВИ И ЛИКВОРА У ДЕТЕЙ.....	48
3.1. Спектр микроорганизмов, выделенных из положительных гемокультур и проб ликвора.....	48
3.2. Чувствительность к антибиотикам микроорганизмов, выделенных из положительных гемокультур и ликвора.....	52
ГЛАВА 4. <i>ACINETOBACTER BAUMANNII</i>	59
4.1. Фенотипы, генотипы антибиотикорезистентности и вирулентности, популяционная структура <i>A. baumannii</i>	59
4.2. Клинические параметры при бактериемии и инфекции центральной нервной системы, ассоциированных с <i>A. baumannii</i>	67
ГЛАВА 5. <i>KLEBSIELLA PNEUMONIAE</i>	72
5.1. Фенотипы, генотипы устойчивости к антибиотикам и вирулентности, клональное разнообразие <i>K. pneumoniae</i>	72
5.2. Клинические особенности <i>K. pneumoniae</i> -инфекции кровотока и инфекции центральной нервной системы.....	86
ГЛАВА 6. <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i>	95
6.1. Фенотипы, генотипы антибиотикорезистентности и вирулентности, популяционное разнообразие <i>P. aeruginosa</i>	95

6.2. Клинические характеристики случаев инфекции кровотока и инфекции центральной нервной системы, ассоциированных с <i>P. aeruginosa</i>	103
ГЛАВА 7. <i>SERRATIA MARCESCENS</i>	113
7.1. Фенотипы и генотипы антибиотикорезистентности, биопленкообразование, популяционная структура <i>S. marcescens</i>	113
7.2. Клинические параметры при bacteriemia и инфекции центральной нервной системы, ассоциированных с <i>S. marcescens</i>	119
ГЛАВА 8. ПОЛНОГЕНОМНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ ИЗОЛЯТОВ, ИМЕЮЩИХ НАИБОЛЕЕ НЕБЛАГОПРИЯТНЫЕ ПРОФИЛИ УСТОЙЧИВОСТИ К АНТИБИОТИКАМ.....	122
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	128
ВЫВОДЫ.....	146
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	148
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	149
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	150
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	153

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Инфекции кровотока и центральной нервной системы (ЦНС), вызванные множественно-резистентными грамотрицательными микроорганизмами, имеют большое значение в педиатрических стационарах. Особенно острой эта проблема является для отделений реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) [338]. Приобретение отдельными патогенами множественных механизмов устойчивости к антибиотикам различных классов вызывает особую настороженность, поскольку существенно ограничивает или, в некоторых случаях, полностью исключает эффективные варианты лечения [138].

Это приводит, прежде всего, к высокому уровню летальности при данных состояниях, а также к затруднениям в назначении своевременного и подходящего лечения [90]. Основную роль в антибиотикорезистентности играет ферментативное воздействие на антибиотики. Для грамотрицательных микроорганизмов особенно важна продукция карбапенемаз [234].

Кроме того, патогены, выделенные из образцов крови и ликвора, имеют множество дополнительных факторов вирулентности, благодаря которым реализуется их способность к адгезии, инвазии, персистенции, формированию биопленок и токсинообразованию [225]. Одним из общих свойств вирулентности для многих микроорганизмов является способность к формированию биопленок на биотических и абиотических поверхностях [86]. Формирование биопленок приводит к увеличению резистентности к различным классам антимикробных препаратов (АМП). Это осуществляется несколькими путями: протективное действие полимера, высокая плотность бактериальных клеток в составе биопленки, дифференциальная экспрессия генов, связанных с устойчивостью к АМП [190].

Среди бактериальных причин инфекции кровотока и ЦНС стоит отметить представителей порядка *Enterobacterales* и неферментирующие

грамотрицательные бактерии (НГОб), таких как *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa* [174]. Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) в 2017 году эти патогены были отнесены к наиболее критическим из всех микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), представляющих особую угрозу в лечебных учреждениях [340].

Степень разработанности темы исследования

Грамотрицательные микроорганизмы при инфекциях кровотока и ЦНС способны к формированию множественной резистентности к различным АМП. Сочетание МЛУ с вирулентностью в последние годы описывается все чаще.

В базе данных PubMed за последние пять лет представлено более 1000 публикаций, посвященных грамотрицательным инфекциям кровотока и ЦНС, в которых проводится анализ устойчивости к АМП, популяционной принадлежности, исследуются предикторы резистентности и вирулентности, а также изучаются факторы риска усиления тяжести этих состояний и особенности при неблагоприятных исходах инфекции.

В отечественной литературе описаны исследования, изучающие отдельные аспекты инфекции кровотока у взрослого населения: диагностика бактериемии [14], идентификация возбудителей [25, 27], этиологическая структура и чувствительность к АМП [4, 32], антимикробная терапия [1], инфекции кровотока у отдельных категорий пациентов [9, 12, 38]. Отдельно стоит выделить публикации, в которых изучены особенности бактериемии у детей, в частности, диагностика [8, 16], микробный спектр [7, 31], бактериемии у детей до года [3], инфекции кровотока у отдельных категорий педиатрических пациентов [47]. Имеются работы по изучению роли некоторых грамотрицательных патогенов в инфекции ЦНС у детей, они посвящены антибиотикорезистентности и клиническим аспектам инфекции [11, 29].

В настоящее время возрастает интерес зарубежного научного сообщества к вопросу вирулентности грамотрицательных МЛУ микроорганизмов [82, 90, 249, 311]. Среди работ отечественных коллег также наблюдается интерес к вопросам вирулентности и резистентности различных бактерий [2, 26].

Однако молекулярно-генетические особенности грамотрицательных возбудителей и их связь с клиническими аспектами инфекции кровотока и ЦНС у детей в отечественной литературе описаны недостаточно.

Цель и задачи исследования

Цель исследования:

Охарактеризовать популяционную структуру и молекулярно-генетические предикторы антибиотикорезистентности и вирулентности у грамотрицательных бактерий, выделенных из крови и ликвора у детей.

Задачи исследования:

1. Охарактеризовать спектр микроорганизмов, выделенных из крови и ликвора у детей.
2. Изучить антибиотикорезистентность изолятов *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *S. marcescens*.
3. Описать клональное разнообразие и молекулярно-генетические механизмы антибиотикорезистентности *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *S. marcescens*.
4. Оценить вирулентные свойства и наличие их сочетания с резистентностью к антибиотикам у изолятов *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*.
5. Охарактеризовать способность к образованию биопленок у изолятов *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *S. marcescens* и изучить их чувствительность к антимикробным препаратам в составе биопленок.

6. Оценить клинические исходы бактериемии и инфекции центральной нервной системы в зависимости от вирулентности и резистентности микроорганизмов.

Научная новизна

Получены новые данные о популяционной структуре *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *S. marcescens*, выделенных из проб крови и ликвора у детей. Показано преобладание сиквенс-типов ST (Sequence Type) высокого эпидемического риска: ST1104^{Oxf}, ST450^{Oxf} у *A. baumannii*, ST307, ST395, ST48 у *K. pneumoniae*, ST654 и ST235 у *P. aeruginosa*. Впервые был успешно применен метод мультилокусного сиквенсового анализа для изучения генотипического состава *S. marcescens*, выделенной из биоматериала пациентов педиатрического профиля.

Были описаны и внесены в международную базу данных <http://pubmlst.org> ранее не встречавшиеся сиквенс-типы *A. baumannii* – ST2419^{Oxf} и *P. aeruginosa* – ST3819, ST3821, ST3822, ST3823, ST3824, ST3825 и ST3826.

Дополнены данные о механизме устойчивости к карбапенемам: основными детерминантами устойчивости *A. baumannii* являются карбапенемазы группы OXA-40 (41%), *K. pneumoniae* – OXA-48 (33%), *P. aeruginosa* – VIM (56%), *S. marcescens* – комбинация OXA-48 и NDM – 16%.

Были дополнены данные о биопленкообразовании у изолятов *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *S. marcescens*, выделенных из проб крови и ликвора. Было показано, что у изолятов *K. pneumoniae* и *S. marcescens* чаще всего определялась умеренная способность к образованию биопленок – 61% и 68%, соответственно. Для изолятов *P. aeruginosa* была наиболее характерна способность к формированию биопленок высокой интенсивности (48%). Изоляты *A. baumannii* чаще образовывали биопленки слабой интенсивности – 59%.

Были получены новые данные о вирулентных свойствах *A. baumannii*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*. Установлено, что все изоляты *A. baumannii* имели гены вирулентности биопленкообразования (*bfpR*, *bap*) и каталазы (*katE*). Ген белка наружной мембраны (*ompA*) был обнаружен у 94% штаммов, а ген пилей (*csuA/B*) – у 88%. Все штаммы *K. pneumoniae* имели гены сидерофора энтеробактина (*entB*) и фимбрий (*mrkD*). Ген сидерофора иерсиниебактина (*ybtS*) – 78%. Сидерофор аэробактин (*iutA*) – у 18%. Ген системы утилизации железа (*kfu*) был характерен для 3%. Капсульный серотип K2 был определен у 10% изолятов. У всех изолятов *P. aeruginosa* были обнаружены гены гидролаз (*lasB*, *plcH* и *aprA*). Гены альгината (*algD*) и пиоционина (*phzM*) были выявлены у 96% и 92% изолятов, соответственно. Гены нейраминидазы *nan1* – у 4% и *nan2* – 60% штаммов. Гены пилей (*pilA* и *pilB*) были выявлены 12% и 48% штаммов, соответственно.

Полногеномный анализ позволил определить дополнительные детерминанты устойчивости к АМП и вирулентности у изолятов *K. pneumoniae*, выделенных из проб крови и ликвора.

Изучение механизмов устойчивости к полимиксинам у изолятов *K. pneumoniae* показало, что характерными являются изменения в гене *PhoP_26Q*.

Впервые были получены данные о молекулярно-генетических характеристиках *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *S. marcescens* при неблагоприятных исходах бактериемии и инфекции ЦНС. Было выявлено, что при данных инфекциях уровень смертности составляет от 5 до 25% случаев. При этом этиологические агенты инфекции кровотока/ЦНС относятся к категории МЛУ и широко-лекарственно устойчивые (ШЛУ), обладают множеством генетических детерминант резистентности и вирулентности.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные результаты позволили определить генетические механизмы устойчивости к β -лактамам у основных грамотрицательных возбудителей инфекции кровотока/ЦНС у детей. Эти данные будут востребованы для оптимального подбора АМП и преодоления антибиотикорезистентности.

Данные об эпидемиологической структуре основных грамотрицательных патогенов, выделенных из проб крови и ликвора позволяют сформировать представления о популяционном разнообразии, распространенности международных клонов высокого эпидемического риска и определить наличие генотип-ассоциированных механизмов резистентности и вирулентности.

Полученные данные о генетических конформациях, приводящих к устойчивости к колистину, позволяют совершенствовать знания о механизмах колистинрезистентности в популяции *K. pneumoniae*.

Проведенный полногеномный анализ наиболее резистентных изолятов *K. pneumoniae*, выделенных из проб крови и ликвора, характеризует генетические детерминанты резистентности к широкому спектру АМП, типичные факторы вирулентности и клональную принадлежность.

В базе данных GenBank размещены полные геномы семи штаммов *K. pneumoniae*.

Сформирована коллекция штаммов и дезоксирибонуклеиновых кислот (ДНК) *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *S. marcescens*, выделенных из проб крови и ликвора, которая может быть использована в дальнейших исследованиях для изучения эволюционных изменений данных грамотрицательных патогенов. Создана электронная база данных, содержащая сведения о резистентности к АМП, носительстве β -лактамаз, сиквенс-типе, наличии плазмид резистентности.

Методология и методы исследования

Методология настоящего исследования спланирована в соответствии с целью. Объектами исследования являлись изоляты *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. marcescens*, выделенные из проб крови и ликвора у детей. Минимальные подавляющие концентрации антибактериальных препаратов определяли при помощи метода микроразведений в бульоне. Наличие генов карбапенемаз определяли полимеразной цепной реакцией (ПЦР) в реальном времени. Определение способности к образованию биопленок проводили в полистироловых микропланшетах с последующей фиксацией, окраской и измерением оптической плотности. Наличие генов вирулентности выявляли с помощью ПЦР и детекцией в агарозном геле.

Популяционный состав определяли с помощью секвенирования по Сэнгеру.

Определение дополнительных детерминант резистентности и вирулентности у наиболее резистентных изолятов *K. pneumoniae* проводили методом полногеномного секвенирования.

Статистическую обработку данных проводили при помощи программы SPSS 20.0 (SPSS Statistics) и Microsoft Excel.

Личный вклад автора

Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации, заключалось в проведении микробиологической части исследования (культуральные исследования, идентификация микроорганизмов, определение резистентности к АМП методом микроразведений в бульоне, определение способности к формированию биопленок микроорганизмов) в лаборатории микробиологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей Минздрава России. А также молекулярно-генетической части исследования (выделение ДНК, постановка ПЦР, учет и интерпретация результатов ПЦР, подготовка образцов для

секвенирования, интерпретация результатов секвенирования) в лаборатории молекулярной микробиологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей Минздрава России.

Выбор материала для исследования проводился совместно с зав. лабораторией микробиологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» д.м.н., гл.н.с. Лазаревой А.В.

Определение генов системы секреции III типа и GES у *P. aeruginosa* проводилось соискателем совместно с д.б.н., ст.н.с. Михайловичем В.М. в лаборатории биологических микрочипов ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН.

Изучение популяционной структуры методами мультилокусного сиквенс-типирования изолятов *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, многолокусного сиквенсового анализа *S. marcescens* и секвенирование генов по методу Сэнгера проводилось соискателем совместно с к.б.н., в.н.с. Пушковым А.А., научным сотрудником Пахомовым А.В. в лаборатории медицинской геномики и к.м.н., в.н.с. Алябьевой Н.М., м.н.с. Комягиной Т.М. в лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России.

Полногеномное секвенирование и биоинформатическая обработка результатов проводились совместно с к.б.н., доцентом, зав. лабораторией Ворониной О.Л. к.б.н., ст.н.с. Кунда М.С., к.б.н., ст.н.с. Рыжовой Н.Н., к.б.н., ст.н.с. Аксеновой Е.И. в лаборатории анализа геномов ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России.

Положения, выносимые на защиту

1. Среди грамотрицательных бактерий, выделенных из крови и ликвора у детей, преобладали *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *S. marcescens*.
2. Устойчивость к карбапенемам обусловлена выработкой карбапенемаз: *A. baumannii* – OXA-40, *K. pneumoniae* – OXA-48, *P. aeruginosa* – VIM, *S. marcescens* – комбинацией OXA-48 и NDM.

3. В популяционной структуре преобладают генотипы высокого эпидемического риска: *A. baumannii* – ST1104^{Oxf}, ST450^{Oxf}, *K. pneumoniae* – ST307, ST395, ST48, *P. aeruginosa* – ST654 и ST235.

4. Все изоляты *A. baumannii* имели гены вирулентности, биопленкообразования: *bfmR*, *bar* и каталазы *katE*. Все изоляты *K. pneumoniae* имели гены сидерофора энтеробактина *entB* и фимбрий *mrkD*. У всех изолятов *P. aeruginosa* были обнаружены гены гидролаз *lasB*, *plcH* и *aprA*, большинство изолятов имели гены альгината *algD* и пиоционина *phzM* (96% и 92%).

5. При бактериемии и инфекции ЦНС, ассоциированной с *A. baumannii*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*, летальность достигает 25%. При этом изоляты относятся к МЛУ и ШЛУ, обладают карбапенемазами (до 80%) и различными факторами вирулентности (биопленки – до 100%, токсины – 60%, сидерофоры – до 88% изолятов).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные результаты и положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 1.5.11. Микробиология п. 1. Систематика и филогения микроорганизмов, п. 7. Ферменты микроорганизмов, п. 11. Геномный и метагеномный анализ микроорганизмов и их сообществ, п. 15. Структурированные сообщества микроорганизмов, в том числе биопленки.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов работы подтверждается использованием современных методов исследования, в соответствии с международными рекомендациями, которые характеризуются высокой чувствительностью, специфичностью и объективностью. Результаты микробиологических методов

сопоставимы с данными молекулярно-генетических исследований, что свидетельствует о достоверности полученных результатов.

В работе использовались микробиологические, молекулярно-генетические, спектрофотометрические и масс-спектрометрические методы. Всё оборудование, на котором проводились исследования, проходило регулярную метрологическую поверку.

Диссертация апробирована на заседании проблемной комиссии по педиатрии совместно с сотрудниками лабораторного отдела Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России (протокол № 74 от «4» июня 2024 года).

Материалы диссертации были представлены и обсуждены на XXIII, XXIV, XXV Международных конгрессах МАКМАХ по антимикробной терапии и клинической микробиологии (Москва, 2021, 2022, 2023); на 31-ом (Онлайн, 2021) и 32-ом (Португалия, Лиссабон, 2022) Европейских конгрессах по клинической микробиологии и инфекционным заболеваниям (ECCMID); на VIII и IX Российских конгрессах лабораторной медицины (Москва, 2022, 2023); на 3-м (Псков, 2021) и 4-м (Томск, 2023) Российских микробиологических конгрессах; на IX и X Конгрессах с международным участием «Контроль и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи» (Москва, 2021, 2022); на Конгрессе с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность» (Москва, 2022); на XXVIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Научные лабораторные технологии для клинической медицины. «Лабораторная диагностика» (Москва, 2023); на Научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Студеникинские чтения» (Москва, 2021, 2022).

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликована 21 работа, в том числе 4 научных статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/ Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, в том числе, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus, PubMed, MathSciNet, zbMATH, Chemical Abstracts, Springer, 2 иные публикации по результатам исследования, 15 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 2 зарубежных конференций).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 196 страницах машинописного текста и состоит из введения, основной части (обзора литературы, описания материалов и методов исследования и шести глав, отражающих результаты собственных исследований), заключения, выводов, практических рекомендаций, описания перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы. Диссертация иллюстрирована 42 таблицами и 23 рисунками. Библиографический указатель включает 342 источника литературы, в том числе 53 ссылки на отечественных авторов и 289 ссылок на зарубежных авторов.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Бактериемии и инфекции центральной нервной системы у детей

Бактериемии и инфекции центральной нервной системы (ЦНС) остаются одними из наиболее актуальных проблем здравоохранения за счет высокой летальности и колоссальных экономических затрат, являющихся последствиями этих состояний [8]. В связи с бурным развитием медицинских инвазивных технологий, длительностью пребывания в ОРИТ, антибактериальной и иммуносупрессивной терапией, трансплантологией и протезированием, а также увеличением количества МЛУ микроорганизмов за последние десятилетия частота септических состояний возросла в более чем в 10 раз [30].

Бактериологические посевы крови и ликвора являются основными для диагностики инфекций кровотока и ЦНС у детей. Преимуществом данного метода является возможность идентификации возбудителя и проведения тестов на чувствительность к антибиотикам для оптимального подбора антибактериальной терапии и ее продолжительности [20, 82].

Факторы, влияющие на выявление патогенов в образцах крови, включают время взятия крови, количество собранных образцов и объем крови. Наиболее важным фактором является объем исследуемого образца крови. Кроме того, сроки выявления микроорганизма при бактериологическом исследовании крови обратно пропорционально коррелируют с объемом культивируемого образца [320]. Для педиатрической популяции объем крови и ликвора, забираемый для анализа, особенно важен, поскольку получение их достаточного количества может быть затруднено с учетом малого веса пациентов [263].

Спектр возбудителей инфекции кровотока претерпевал различные вариации в разные временные промежутки. В середине XX века в этиологической структуре бактериемий преобладали грамположительные микроорганизмы, как правило, стафилококки, однако с появлением в 70-е годы полусинтетических

пенициллинов, устойчивых к действию пенициллиназ, стали преобладать грамотрицательные бактерии [31]. Затем, с совершенствованием методов лечения грамотрицательных инфекций, доля грамположительных микроорганизмов снова возросла [150]. В 90-е годы XX века опасность представляли ванкомицинрезистентные энтерококки, МЛУ НГОБ и энтеробактерии-продуценты β -лактамаз расширенного спектра действия (БЛРС) [172].

В последние десятилетия особую роль в этиологии бактериемий занимают грамотрицательные микроорганизмы, обладающие устойчивостью к карбапенемам и полимиксидам [241]. При этом стоит отметить, что в количественном отношении в структуре инфекций кровотока у детей преобладают грамположительные микроорганизмы – стафилококки (75%) за счет коагулазонегативных типов. Среди грамотрицательных микроорганизмов преобладает *K. pneumoniae* (27%) [8]. Преобладание коагулазо-негативных стафилококков (КНС) в структуре бактериемий может быть связано с их преобладанием на коже пациентов и широким применением центральных венозных катетеров (ЦВК), а также способности КНС разрушать материал катетеров [15, 197].

При этом необходимо учитывать, что использование ЦВК широко распространено в педиатрических стационарах. Это связано с необходимостью обеспечения инфузионной лекарственной терапии, парентерального питания, переливания компонентов крови, мониторинга показателей крови [19]. Существует два пути инфицирования ЦВК: экстралюминарный (контаминация микробиотой кожи пациента в месте катетеризации) и интралюминарный (возникает при манипуляциях с катетером медицинским персоналом). Инфицирование ЦВК гематогенным путем в результате инфекций нижних дыхательных путей и мочевыводящих путей встречается намного реже [19].

Считается, что при выделении типичных патогенов, таких как *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *A. baumannii* и представителей порядка *Enterobacterales*, диагностическое значение имеет получение даже одной положительной гемокультуры. В то время как для подтверждения истинной бактериемии,

ассоциированной с КНС, коринебактериями необходимо минимально две положительные гемокультуры [14, 30].

Контаминация является серьезной проблемой при бактериологических посевах крови. За последнее время по данным некоторых авторов она достигает 56% [14, 20, 55].

Для определения роли КНС в этиологии бактериемии в каждом случае необходим индивидуальный подход с учетом состояния и возраста пациента, показателей маркеров системного воспаления.

Определение этиологической роли ассоциаций микроорганизмов из проб крови довольно затруднительно. Поскольку забор крови у маленьких детей может вызывать определенные трудности, к тому же при взятии крови через катетеры, сложно исключить катетер-ассоциированную инфекцию кровотока или колонизацию самого катетера [8, 14, 20].

Пациенты с тяжелой сочетанной травмой (ТСТ), с черепно-мозговыми травмами подвержены возникновению системных инфекций и менингитов. Вероятность возникновения менингитов после нейрохирургических операций достигает 25% [261, 327].

Возникновение бактериального менингита и инфекции кровотока у новорожденных детей и детей раннего возраста связывают с незрелостью иммунной системы, особенно у недоношенных [94]. Основными возбудителями менингитов у пациентов, находившихся в больнице или ОРИТ, являются грамположительные микроорганизмы, в частности *Staphylococcus aureus* и КНС. Однако на сегодняшний день при возникновении нозокомиальных инфекций ЦНС более важная роль принадлежит грамотрицательным микроорганизмам, особенно МЛУ энтеробактериям и НГОб [18, 237]. Тяжесть инфекций, вызванных грамотрицательными микроорганизмами, превышает таковую при грамположительной инфекции, это увеличивает продолжительность пребывания в больнице, затрудняет их лечение, а также повышает вероятность летального исхода [62, 152, 261].

Высокая смертность от менингитов, вызванных грамотрицательными патогенами, может быть связана с ограниченным выбором препаратов для лечения, к тому же некоторые АМП плохо диффундируют в ЦНС через гематоэнцефалический барьер [274].

В этиологии нозокомиальных инфекций особое значение имеют грамотрицательные микроорганизмы, проявляющие МЛУ и ШЛУ. Изоляты с МЛУ проявляют резистентность как минимум к трем классам противомикробных препаратов, изоляты с ШЛУ устойчивы к пяти классам противомикробных препаратов, включая карбапенемы [20, 95]. В настоящее время в стационарах часто выделяют изоляты, резистентные к полимиксинам [45, 252].

Вызывает беспокойство приобретение отдельными патогенами множественных механизмов устойчивости, что существенно ограничивает или, в некоторых случаях, полностью исключает эффективные варианты лечения, приводя к плохим клиническим результатам [95].

Для каждого микроорганизма характерен свой набор факторов резистентности к АМП. Наиболее распространенными являются ферментативная инактивация антибиотиков, изменение мишени действия антибиотика, потеря или конформация пориновых каналов, повышенная экспрессия эффлюксных помп [18, 170].

Одним из общих свойств для многих микроорганизмов является способность к формированию биопленок на биотических и абиотических поверхностях. Биопленки – это ассоциации микроорганизмов, заключенные в матрикс и выполняющие функцию кооперативного консорциума для обеспечения защиты микроорганизмов и повышения устойчивости к различным антимикробным веществам [20, 85, 86]. Матрикс состоит из липидов, нуклеиновых кислот, полисахаридов и белков; они поддерживают структурную целостность биопленки, облегчают ее фиксацию к поверхностям и образуют своеобразную сеть биополимеров, обеспечивающих стабильность биопленки [79, 290]. Образование биопленок и экспрессия факторов вирулентности контролируется системой кворум-сенсинга (quorum sensing – QS), которая

контролирует разнообразные функции бактерии с помощью сигнальных молекул [160]. Формирование биопленок – комплексный процесс, включающий множество факторов, таких как агрегация, адгезия коллагена, экспрессия пилей и захват железа [218].

Этот процесс состоит из четырех стадий: 1) обратимое прикрепление планктонных клеток к поверхности; 2) пролиферация микробных клеток и их необратимое прикрепление к поверхности с формированием микроколоний; 3) рост клеток, созревание микроколоний в кластеры многослойных клеток, активный синтез внеклеточной полимерной субстанции; 4) отделение от биопленки отдельных планктонных клеток, деструкция биопленки и формирование новых микроколоний в других условиях [221].

Биопленки существуют практически повсеместно, населяя живые ткани, медицинские импланты, водные трубы, поверхности медицинских и промышленных помещений [140]. В медицинской практике имеет особое значение формирование микробных биопленок на инвазивных устройствах, таких как желудочковые шунты, сосудистые катетеры, суставные протезы, ортопедические импланты, мочевые катетеры, кардиостимуляторы, сосудистые трансплантаты, эндотрахеальные трубки [153, 238].

Кроме того, существует ряд тканевых инфекций, ассоциированных с микробными биопленками: пародонтит, поражение легких при муковисцидозе, хронический тонзиллит, ларингит, инфекции желчевыводящих и мочевыводящих путей [20, 221].

Формирование биопленок приводит к увеличению уровня резистентности к различным классам антимикробных препаратов [44]. Этому способствует множество факторов: протективное действие полимера, высокая плотность бактериальных клеток в составе биопленки, дифференциальная экспрессия генов, связанных с устойчивостью к АМП [190].

Бактериemia может быть первичной, не имеющей определенного источника, или вторичной, возникающей из различных инфекционных очагов. Считается, что основная масса первичных бактериемий возникает вследствие колонизации

кишечника [146]. Также выделяется отдельный тип – транзиторная бактериемия, сопровождающая такие рутинные процедуры и состояния, как например уход за полостью рта [77, 93]. Однако этот тип имеет неопределенное клиническое значение.

Большинство эпизодов инфекции кровотока, вызванных грамотрицательными бактериями, являются мономикробными и обусловлены наличием ранее существовавших инфекционных поражений [20, 112, 222]. Развитие грамотрицательной бактериемии происходит в три этапа. На начальном этапе микроорганизмы колонизируют первичные локусы инфекции; на втором этапе они преодолевают различные барьеры организма хозяина и проникают в кровотоки; затем происходит приспособление бактерий к выживанию в кровотоке. Грамотрицательные микроорганизмы демонстрируют общие и уникальные патогенетические механизмы на каждом этапе бактериемии: формирование капсулы, адгезинов, метаболические изменения, в некоторых случаях – продукция токсинов [253]. Бактериemia может привести к сепсису, что в свою очередь вызывает органную дисфункцию и опасность для жизни, связанные с разрушением адекватности ответа организма хозяина на инфекцию [108, 324]. Септические состояния могут привести к необратимой дисфункции организма, включая когнитивные нарушения и органную недостаточность [266]. Кроме того, инфекции кровотока связаны с очень высоким риском смертности [54, 163]. По некоторым данным уровень летальности от инфекций кровотока варьируется от 30 до 52% [279].

Acinetobacter baumannii

A. baumannii вызывает различные госпитальные инфекции во всем мире. Представители рода *Acinetobacter* признаны одними из наиболее приоритетных нозокомиальных возбудителей, вызывающих инфекции с высокими показателями смертности и экономическими затратами на лечение [17, 141]. Внутрибольничные инфекции, ассоциированные с *A. baumannii*, стали актуальной проблемой для

здравоохранения во многих странах. Этот патоген способен вызывать различные инфекции, такие как бактериемия, эндокардит, пневмония, менингит, раневые инфекции и инфекции мочевыводящего тракта [62, 75]. Особенно настораживает тот факт, что в последние годы продолжает увеличиваться частота инфицирования кровотока грамотрицательными неферментирующими бактериями, в том числе множественно-резистентными изолятами *A. baumannii* [48, 72].

Бактериемия, ассоциированная с *A. baumannii*, часто возникает как вторичная инфекция от контаминированного медицинского оборудования или инфицированных ран после хирургических вмешательств [119, 236]. На долю *A. baumannii* приходится относительно невысокий процент от общей бактериемии, но за счет множества механизмов лекарственной устойчивости и высокой способности к ее приобретению *A. baumannii* представляет глобальную проблему [68, 237, 314]. В частности, серьезную проблему для терапии *A. baumannii* инфекций представляет возрастающее число штаммов, устойчивых к карбапенемам [97, 245].

Наиболее распространенным и вызывающим опасение механизмом устойчивости к этой группе препаратов является ферментативный гидролиз АМП карбапенемазами [205]. Для *A. baumannii* наиболее характерна продукция карбапенемаз класса D (ОХА-23, ОХА-40), реже встречаются карбапенемазы класса А (КРС, GES) и класса В (металло- β -лактамазы – МБЛ) [177, 265]. Отличие оксациллиназ *A. baumannii* от продуцируемых энтеробактериями заключается в том, что они устойчивы ко всем используемым в настоящее время ингибиторам β -лактамаз [224]. Примечательно, что для *A. baumannii* характерно усиление транскрипции β -лактамаз при воздействии человеческого сывороточного альбумина, это указывает на потенциальные механизмы устойчивости к АМП в сыворотке [181].

Гены ОХА-51 встречаются в природе в геноме *A. baumannii*, недавно они были обнаружены у других представителей рода *Acinetobacter*, проявляющих устойчивость к карбапенемам. Обнаружение ОХА-51 подобного гена может быть

использовано в качестве дополнительной идентификации *A. baumannii* до вида [142].

Еще одной проблемой в лечении *A. baumannii* инфекций является появление устойчивости этого патогена к полимиксидам, которые являются одной из последних альтернатив терапии нозокомиальных грамотрицательных инфекций. Первоначально были известны только хромосомные механизмы устойчивости к полимиксину – гены *lpxA*, *lpxC*, *lpxD*, аминокислотные замены в генах *pmrB* и *pmrC* [117, 138, 259]. Позднее появились данные о плазмид-опосредованных генах, в частности *mcr* [57, 258].

Способность этого возбудителя сохраняться в различных условиях, в том числе, при высушивании, приводит к сохранению его жизнеспособности во внутрибольничной среде до нескольких месяцев [120, 162]. Образование биопленок на биотических и абиотических поверхностях также сохраняют жизнеспособность этого патогена [48, 316].

A. baumannii обладает регуляторной системой, включающей белок наружной мембраны (*ompA*), пили (*csu*), белки, ассоциированные с биопленкой (*bar*), каталазу (*katE*) [48, 220, 305]. Двухкомпонентная регуляторная система (two-component signal transduction system – TCS), белок внешней мембраны и белки, ассоциированные с биопленкой, поддерживают и регулируют вирулентность, а именно, чувство кворума, образование биопленки, подвижность, продукцию каталазы и ферментов [332]. Для *ompA* также известна роль в устойчивости к АМП, сывороточной резистентности, апоптозе и иммуномодуляции [299, 333]. Ген *bfmR* является регулятором ответа TCS, он контролирует передачу сигналов и активирует экспрессию факторов вирулентности [185]. В прикреплении биопленок к поверхностям ключевую роль играют пили. Их экспрессия кодируется опероном *csu*, который в свою очередь регулируется *bfmS/R* [158].

Факторы вирулентности играют определенную роль при терапии *A. baumannii*, потому как наличие биопленки может затруднять проникновение антибиотиков в микробную клетку, вследствие чего, происходит увеличение

минимальных ингибирующих концентраций антибактериальных препаратов [158]. Имеются данные, что при попадании в кровоток *A. baumannii* снижает экспрессию генов, ответственных за формирование биопленок и адгезию, но при этом увеличивает продукцию генов, способствующих диссеминации планктонных форм [171, 181].

Вирулентные свойства помогают микроорганизму сохраняться в организме хозяина, скрываться от его иммунной системы и проявлять свою патогенность [48, 159]. Известно, что при воздействии сыворотки человека, гибель *A. baumannii* незначительна, что свидетельствует о наличии у данного микроорганизма факторов сопротивления иммунным факторам [284]. Например, продукция каталазы микробной клеткой способствует разрушению активных форм кислорода, которые вырабатываются нейтрофилами хозяина при инфицировании, что вносит существенный вклад в патогенез инфекции [300].

Выживаемость *A. baumannii* в кровотоке во многом зависит от способности к персистенции и поддержания плотности бактериальной популяции в крови, в меньшей степени на это влияют традиционные факторы вирулентности [253, 317]. Во время бактериемии повышается активация генов, ассоциированных с биосинтезом капсулы, необходимой для защиты от опсонизации; также происходит увеличение экспрессии генов, контролирующих бактериальный захват железа [171, 215, 216]. В то же время, экспрессия других факторов вирулентности либо остается неизменной, либо снижается. По-видимому, в процессе инфицирования кровотока *A. baumannii*, в отличие от других НГОб, не использует мощную активацию токсинообразования и факторов вирулентности [253].

Сложная таксономия бактерий рода *Acinetobacter* связана с высоким потенциалом генетической изменчивости [158]. В настоящее время существует более 2800 вариантов последовательностей мультилокусного сиквенс-типирования (МЛСТ), внесенных в базу данных МЛСТ *A. baumannii* (<https://pubmlst.org/organisms/acinetobacter-baumannii/>) [48]. Известно наличие шести основных крупных международных клональных линий, распространенных

на всех континентах [193]. Эти международные клональные линии включают три основных первоначальных эпидемических клона и отражают появление новых клонов эпидемического риска [319].

Acinetobacter spp. чаще всего вызывает инфицирование пациентов, подвергшихся инвазивным вмешательствам (катетеризация, интубация трахеи), имеющих травматическое или хирургическое повреждение кожных покровов, а также в случаях длительного применения антимикробных препаратов широкого спектра действия, особенно у пациентов с травмами и в отделениях интенсивной терапии [286]. Наиболее распространенными инфекциями, связанными с *A. baumannii*, в клинике являются нозокомиальная пневмония и бактериемия. Фактором, провоцирующим возникновение пневмоний, может быть наличие у пациентов эндотрахеальных трубок и высокая способность *A. baumannii* колонизировать их [87]. Инфекции кровотока, как правило, связаны с наличием центрального венозного катетера или очагов инфекции, способствующих диссеминации патогена [235]. Менингиты, ассоциированные *A. baumannii*, обычно возникают после операций или при наличии вентрикулостомы [111].

Таким образом, *A. baumannii*, обладающий множественной и широкой лекарственной устойчивостью, а также рядом патогенных свойств, способен вызывать тяжелые инфекционные осложнения у пациентов в отделениях реанимации и интенсивной терапии, нередко приводя к неблагоприятным исходам [48, 154].

Klebsiella pneumoniae

K. pneumoniae является одним из наиболее значимых и опасных возбудителей внутрибольничных инфекций. Этот оппортунистический микроорганизм может вызывать инфекции респираторного тракта, мочевыводящих путей, кровотока, инфекции кожи и мягких тканей, менингиты, способствуя увеличению госпитальной смертности, особенно у

иммуносупрессированных пациентов, новорожденных и пожилых людей [6, 149, 166].

K. pneumoniae является ведущим возбудителем инфекций кровотока, ассоциированных с грамотрицательными бактериями [318]. Основными источниками *K. pneumoniae* ассоциированной бактериемии являются пневмонии, инфекции мочевыводящих путей и колонизация кишечника [49, 260]. Для большинства случаев первичной нозокомиальной бактериемии резервуаром является желудочно-кишечный тракт [146].

Интересно, что катетер-ассоциированная бактериемия связана с более низким риском смертности в сравнении с инфекциями кровотока, ассоциированными с инфекционными очагами в организме [49, 264]. Возможно, это связано с более низким вирулентным потенциалом этих микроорганизмов, поскольку возникновение инфекции в этом случае связано с прямым попаданием бактерии в кровоток. В то время как при вторичных бактериемиях, проникновение патогена в кровяное русло происходит посредством преодоления эпителиальных барьеров и факторов иммунной защиты хозяина, что требует от микроорганизма более высокой патогенности [209].

K. pneumoniae редко вызывает спонтанные менингиты, как правило, описываются инфекции ЦНС, возникающие у госпитализированных пациентов в послеоперационный период [213]. Среди грамотрицательных микроорганизмов *K. pneumoniae* является наиболее частой причиной менингитов [164]. Внебольничные случаи клебсиелезного менингита могут быть ассоциированы с инвазивными абсцессами печени и последующей метастатической инфекцией кровотока, однако даже эти случаи довольно редки [207, 212]. Инфекции ЦНС, ассоциированные с *K. pneumoniae*, в большинстве случаев имеют неблагоприятный исход. Плохим прогностическим признаком являются высокие показатели белка в ликворе [113]. Имеются данные о том, что такие тяжелые осложнения, как коматозное состояние, септический шок и сопутствующие экстраменингеальные инфекции, часто сопровождают *K. pneumoniae* менингиты [213].

K. pneumoniae может иметь множество колонизационных факторов, а также способность к приобретению устойчивости ко многим классам антибиотиков [6, 143]. Территориальное распространение классических и гипервирулентных изолятов *K. pneumoniae* варьируется. Для западных стран наиболее характерным является классический тип *K. pneumoniae* [253]. Первое обнаружение гипервирулентных *K. pneumoniae* было зарегистрировано в Юго-Восточной Азии в 80-х прошлого столетия [291].

В развитии инфекционного процесса важную роль играют факторы вирулентности *K. pneumoniae*: капсула, липополисахарид (ЛПС), системы утилизации ионов трехвалентного железа и адгезивные структуры [5, 80, 206, 324]. Одним из основных факторов, обеспечивающих вирулентность и инвазивную функцию *K. pneumoniae*, является гипермукоидный фенотип, возникающий вследствие избыточного формирования экзополисахаридов. Это способствует усилению устойчивости микроорганизма к фагоцитозу за счет предотвращения взаимодействия компонентов комплемента с поверхностью микробной клетки [291].

Среди серотипов *K. pneumoniae* K1 и K2 наиболее часто встречаются у гипервирулентных изолятов, они вызывают нейтрофильную инфильтрацию и некроз тканей, а также ассоциированы с более высокой летальностью [144].

Для успешного протекания инфекционного процесса *K. pneumoniae* требуется железо, для его получения у микроорганизма есть несколько видов сидерофоров: энтеробактин, иерсиниабактин, сальмохелин и аэробактин. Наиболее распространенным является энтеробактин [5]. Экспрессия гена иерсиниабактина более характерна для гипервирулентных изолятов. Встречаемость аэробактина и системы утилизации трехвалентного железа *kfu* также выше среди гипервирулентных изолятов в сравнении с классическими [251]. Есть данные о роли сидерофоров в диссеминации микроорганизма посредством усиления провоспалительного ответа, активации ангиогенеза и повышения проницаемости эпителия хозяина, что способствует выходу бактериальных клеток из первичного очага инфекции в кровотоки [210].

Способность к формированию биопленок также является важным свойством вирулентности *K. pneumoniae* [219]. Фимбрии 1 и 3 типов, кодируемые кластерами генов *fim* и *mrkABCD*, *K. pneumoniae* обеспечивают начальный этап формирования биопленочных структур – адгезию к биотическим и абиотическим поверхностям [109]. Кроме того, кластер генов *mrkCDF* способствует трансмиграции *K. pneumoniae* через кишечный эпителий, что может играть значительную роль в возникновении первичной бактериемии [253].

Несмотря на большой набор факторов вирулентности, *K. pneumoniae* не продуцирует гемолитический токсин и цитотоксический некротизирующий фактор, как некоторые другие представители порядка *Enterobacterales* [253].

В настоящее время вызывает беспокойство появление изолятов, сочетающих в себе гипервирулентность и резистентность к β -лактамам антибиотикам, в том числе карбапенемам [10, 123]. Геном *K. pneumoniae* может содержать большое количество детерминант резистентности к β -лактамам, среди которых особое значение имеют гены, кодирующие ферменты, разрушающие антибиотики [6]. С точки зрения эпидемиологии наибольшую роль играют карбапенемазы групп: KPC, OXA-48, NDM и β -лактамазы расширенного спектра действия CTX-M типа [247, 250]. Географическое распределение различных карбапенемаз у *K. pneumoniae* варьируется. Так в США и Европе преобладают изоляты с различными вариантами KPC [208, 260]. В Южной и Юго-восточной Азии при инфекциях кровотока ассоциированных с карбапенемрезистентными *K. pneumoniae* чаще обнаруживают карбапенемазы групп OXA и NDM [168]. Для России наиболее характерно наличие OXA-48 [5, 143].

K. pneumoniae, проявляющие устойчивость к полимиксинам, становятся еще одной острой проблемой здравоохранения. Приобретение резистентности к колистину может быть опосредовано плазмидой (*mcr*) и альтерациями в двухкомпонентных системах PhoP/PhoQ и PmrAB [10, 45]. Общим механизмом устойчивости к колистину у карбапенемрезистентных *K. pneumoniae* является прерывание последовательности *mgrB* [45, 118].

Распространение множественно-резистентных *K. pneumoniae* часто ассоциировано с международными клонами высокого риска, которые являются носителями генов карбапенемаз [6, 342]. В России основная масса карбапенемрезистентных *K. pneumoniae* принадлежит к клональным группам (CG – clonal group) CG395, CG11, CG147 и CG307 [10, 21].

Изоляты, обладающие устойчивостью ко многим группам антибиотиков, а также имеющие дополнительные факторы вирулентности, играют большую роль в возрастании уровня смертности при инфекциях, ассоциированных с нозокомиальными патогенами [6, 81].

Pseudomonas aeruginosa

P. aeruginosa является условно-патогенной НГОб. Она часто встречается во внутрибольничной среде и вызывает острые и хронические инфекции у иммунокомпрометированных лиц, пациентов с муковисцидозом, при хронической обструктивной болезни легких, пневмониях, онкологических и урологических заболеваниях [40]. *P. aeruginosa* классифицируется всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) как «критический» патоген, Центром по контролю и профилактике заболеваний (CDC – center for disease control and prevention) - как «серьезная угроза» и включен в число “ESKAPE” (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter species*) патогенов, вызывающих внутрибольничные инфекции во всем мире [91].

P. aeruginosa – один из основных возбудителей оппортунистических нозокомиальных инфекций, в том числе сепсиса, пневмонии, инфекций мочевыводящих путей. Бактериальные инфекции кровотока и центральной нервной системы, вызванные *P. aeruginosa*, являются серьезными инфекциями, связанными со значительной заболеваемостью [309], смертностью пациентов и расходами на медицинское обслуживание [40, 304]. Наиболее распространенным источником инфекции при *P. aeruginosa*-бактериемии являются пневмонии [288].

Опасным является развитие инфекции кровотока при синегнойных инфекциях кожи и мягких тканей. Одним из таких примеров является сочетание бактериемии и гангренозной эктимы (некротического поражения кожи) у пациентов с ослабленным иммунитетом [214].

Синегнойный менингит – нечастое инфекционное состояние, возникающее обычно после нейрохирургических процедур, при наличии интравентрикулярных устройств или осложненной травмы головы [121]. Течение данного инфекционного осложнения при травмах головы может усугубляться отсутствием клинической выраженности, приводя к затруднению диагностики [274].

Резервуаром инфекции при внебольничных менингитах является влажная среда [125]. Потенциальным источником синегнойной инфекции также считаются губки, используемые в быту [103]. Важным условием для возникновения внебольничного менингита является снижение иммунитета человека и наличие очага распространения *P. aeruginosa* в окружающей среде [122].

P. aeruginosa обладает природной МЛУ и имеет широкий спектр механизмов, направленных на развитие адаптивной резистентности [129]. *P. aeruginosa* играет большую роль в распространении устойчивости к карбапенемам [52].

К часто встречающимся механизмам антибиотикорезистентности относят потерю или изменение конформации пориновых каналов, через которые в норме проникают антибиотики, и повышенную экспрессию эффлюксных помп, способствующую активному выведению антимикробных препаратов из бактериальной клетки [18, 40, 170]. Основную роль в антибиотикорезистентности играет ферментативное разрушение антибиотиков. *P. aeruginosa* способна приобретать плазмиды, несущие гены карбапенемаз, среди которых наиболее широкое распространение имеют МБЛ [40, 234].

Выраженная инвазивная и колонизирующая способность, длительная персистенция в организме и тяжелое течение инфекционного процесса, вызванного *P. aeruginosa*, связаны как с устойчивостью к антибактериальным препаратам, так и с множеством клеточно-ассоциированных и внеклеточных

факторов вирулентности, в т.ч. способностью микроорганизма образовывать биопленки на биотических и абиотических поверхностях [37, 203].

Факторы вирулентности *P. aeruginosa* включают в себя продукцию токсинов системой секреции III типа [339], секрецию иных ферментов и экзотоксинов (в т.ч. фосфолипазы, эластазы, протеазы и нейраминидазы) и клеточные компоненты (в т.ч. пили, альгинатная капсула) [254].

Система секреции типа III является одним из наиболее значимых факторов вирулентности *P. aeruginosa*. Ее работа зависит от контакта с клеткой, она направляет в клетку-мишень секрецию некоторых бактериальных белков, называемых экзоферментами (Exo) U, S, T и Y [40]. Экспрессия генов *exoS* и *exoU* обуславливает цитотоксичность синегнойной палочки для клеток [40, 195]. Они способствуют более высокой бактериальной нагрузке в тканях и провоцируют более тяжелое течение инфекции, при этом редко выделяются одновременно у одного и того же изолята [147]. ExoU является фосфолипазой, нарушающей целостность клеточных мембран в тканях хозяина, тем самым увеличивая проникновение бактерий в кровотоки [161]. По данным некоторых исследователей ExoS не является цитотоксином, ответственным за гибель клеток, он играет иную роль в патогенезе инфекционного процесса [40, 256]. За счет ингибирования регенерации тканей и заживления ран ExoS может играть ключевую роль в хронических заболеваниях, поддерживая места колонизации [322]. Белки ExoS и ExoT способствуют непосредственному уклонению микроорганизма от иммунных клеток хозяина путем повреждения их актинового цитоскелета [310, 321].

Вирулентность *P. aeruginosa* также может реализовываться через систему секреции II типа посредством фактора *lasB*. Эта протеаза способна разрушать белки внеклеточного матрикса и гликопротеин сосудистого эпителия кадгерин, способствуя проникновению бактерии в кровяное русло [328]. Также эластаза разрушает иммуноглобулины и факторы системы комплемента, тем самым избегая ответного действия иммунной системы хозяина, что способствует дальнейшей колонизации и деструкции тканей макроорганизма [114]. Известно, что эластаза играет особую роль в развитии синегнойной легочной инфекции,

участвуя в деградации цитокинов, тем самым избегая ответного действия иммунной системы хозяина, что способствует дальнейшей колонизации бактерией и деструкции тканей макроорганизма [273].

Щелочная протеаза А (алкалинпротеаза, *AprA*) считается одним из основных факторов вирулентности *P. aeruginosa*. Кроме своей гидролитической функции фермент регулирует выработку других факторов вирулентности, например, продукцию пиоционина [227]. В организме человека алкалинпротеаза гидролизует важный фибриллярный белок межклеточного матрикса – ламинин, а также, аналогично эластазе, вызывает разрушение факторов комплемента, продуцируемых иммунными клетками, что приводит к замедлению активации системы комплемента и нейтрофильного фагоцитоза [335].

Гемолитическая фосфолипаза С (*plcH*) синегнойной палочки разрушает клеточные мембраны и гидролизует фосфолипиды, в частности, фосфатидилхолин, вызывая гемолиз эритроцитов и разрушение сурфактанта альвеолярного эпителия [98, 223].

Феназинметилтрансфераза (*phzM*), регулирует в бактериальной клетке *P. aeruginosa* продукцию пиоционина [129]. Проникновение пиоционина через цитоплазматическую мембрану клеток макроорганизма вызывает в них окислительный стресс, что приводит к цитотоксическому эффекту [105]. Синтез пиоционина является независимым фактором риска развития септического шока и увеличения уровня смертности у пациентов с синегнойной инфекцией кровотока [176].

Важнейшим компонентом биопленок, образуемых *P. aeruginosa*, является альгинат. Его продуцирует подавляющее большинство клинических изолятов синегнойной палочки (свыше 90%) [267]. На начальном этапе инфекции (адгезии) и последующих стадиях, включая колонизацию и формирование биопленок, одну из ключевых ролей играют бактериальные пили. Структурные протеины пилей (тип IV) кодируются генами *pilA* и *pilB* [267, 268].

Инфекции, вызванные вирулентными *P. aeruginosa* с МЛУ и ШЛУ, связаны с неблагоприятными клиническими исходами [99]. Уровень смертности от синегнойных инфекций кровотока варьируется от 20 до 62% [76, 318].

Наиболее распространенным генотипом среди нозокомиальных изолятов *P. aeruginosa* является ST235 [260]. Особенности *P. aeruginosa*-бактериемий, ассоциированных с этим сиквенс-типом, является частое наличие гена *exoU* и высокий уровень 30-дневной смертности [253].

Прогноз менингита, ассоциированного с *P. aeruginosa*, также неблагоприятный и зависит от множества факторов, в том числе своевременной и эффективной антибактериальной терапии, наличия предрасполагающих факторов и развития осложнений [301].

Некорректно назначенная терапия рассматривается независимым фактором риска повышенной смертности от нозокомиальных инфекций наравне с дыхательной недостаточностью и септическим шоком [271]

Для снижения риска неадекватного назначения антибиотиков при синегнойной инфекции используется комбинированная терапия, заключающаяся в сочетании препаратов с различными механизмами действия [71], что подтверждается данными о значительном снижении смертности при комбинированной терапии тяжелых *P. aeruginosa* инфекций [104].

Препаратами первой линии для борьбы с *P. aeruginosa* являются комбинации β-лактамов/ингибиторов β-лактамаз и цефалоспоринов с антипсевдомонадной активностью [188]. Однако, как уже упоминалось выше, для назначения этих препаратов важно учитывать анамнез пациента. Препаратами второй линии при сепсисе являются карбапенемы. Считается, что меропенем в сравнении с имипенемом реже вызывает устойчивость во время лечения [63]. Что касается полимиксинов, их не рекомендовано использовать, если доступны варианты с меньшей нефротоксичностью. Однако, с учетом роста резистентности, выбор препаратов значительно осложняется [71].

Исследования показали, что использование полимиксинов допускается в качестве экстренной «терапии спасения», когда другие возможности исчерпаны

[116], при этом необходимо тщательно контролировать функцию почек и корректировать дозу. Есть данные о положительных результатах применения комбинации колистина с фосфомицином в случаях тяжелого сепсиса, вызванного устойчивыми штаммами *P. aeruginosa* [178].

Serratia marcescens

S. marcescens представляет собой разнообразный, с точки зрения экологии и генетической структуры, вид грамотрицательных микроорганизмов [41]. Изоляты *S. marcescens* способны к существованию в водной среде, в почве, они могут вызывать патологические состояния у насекомых, растений, а также являются условно-патогенными микроорганизмами человека [41, 83]. Роль этого микроорганизма в этиологии инфекционных заболеваний человека многие годы недооценивалась. Первая вспышка внутрибольничной инфекции, вызванной *S. marcescens*, была подтверждена в середине XX века [65]. Позже количество подобных вспышек увеличилось [64, 246, 296]. *S. marcescens* является шестым наиболее часто встречающимся микроорганизмом в ОРИТ [157]. Она вызывает нозокомиальные инфекции у пациентов в критическом состоянии, особенно у лиц с ослабленным иммунитетом, хроническими заболеваниями, перенесших инвазивные вмешательства, такие как катетеризация или протезирование сердечных клапанов [41, 66, 295].

Для неонатальных пациентов факторами риска инфекции *S. marcescens* являются низкий вес при рождении, недоношенность, искусственная вентиляция легких, наличие ЦВК, колонизация матери [293, 298]. После заражения *S. marcescens* у детей наблюдается стойкая колонизация кишечника, сохраняющаяся в течение нескольких лет и интактная к антибактериальной терапии [58, 127].

Серрация имеет вариабельную патогенность, в результате чего может наблюдаться как бессимптомное носительство этого патогена, так и возникновение инвазивных состояний, таких как инфекции кровотока, мочевыводящих путей, пневмонии и инфекции ЦНС, конъюнктивиты,

эндокардиты и раневые инфекции, особенно в условиях ОРИТ и неонатальных отделений [127, 229, 295, 306].

При нозокомиальных инфекциях чаще всего *S. marcescens* выделяется из кровотока, затем следуют органы дыхания и кишечник [41, 248]. В качестве этиологического фактора бактериемии *S. marcescens* входит в число 10 наиболее частых причин нозокомиальных инфекций кровотока [92, 253].

Менингит *S. marcescens* может осложняться венитрикулитом и образованием множественных абсцессов, приводя к инвалидизирующим неврологическим нарушениям [298].

Считается, что основным местом обитания *S. marcescens* во внешней среде являются влажные поверхности, в том числе в условиях стационаров. Также источниками инфекции в госпитальных условиях могут быть колонизированные пациенты, персонал и медицинское оборудование [53, 293]. При этом большое значение имеет формирование биопленок, в составе которых микроорганизм способен длительно сохраняться [53, 294].

S. marcescens имеет следующие факторы вирулентности: фимбрии, формирование биопленок, сидерофоры, липополисахарид, липазу, протеазы, нуклеазы и гемолизин [130, 186, 336]. В процессе образования биопленок важную функцию выполняют фимбрии (пили), участвующие в адгезии микроорганизма к биотическим/абиотическим поверхностям, колонизации, а также способствующие уклонению от фагоцитоза [53, 60, 278]. В патогенезе *S. marcescens*-бактериемии важны бактериальные системы приобретения железа, в частности, сидерофоры: серрациохелин и энтеробактин [67, 325]. Синтез капсулы и особенности метаболизма глюкозы у *S. marcescens* способствует колонизации селезенки и почек и последующей диссеминации в кровотоке [53, 96].

S. marcescens имеет большое значение в распространении резистентности к антибактериальным препаратам во внутрибольничной среде [53, 127, 297]. Она обладает природной устойчивостью к некоторым β -лактамам, а также способна к приобретению и передаче плазмид резистентности, включая карбапенемазы класса В и класса D [13, 43, 329]. Это значительно усложняет лечение инфекций,

ассоциированных *S. marcescens*, с учетом природной резистентности этого микроорганизма к полимиксидам [41]. Так как они являются последней линией препаратов, применяемых при резистентных к карбапенемам грамотрицательных внутрибольничных инфекциях, наличие природной резистентности к колистину может привести к трудностям в подборе терапии и ухудшению прогноза [74, 124]. По некоторым данным смертность при инфекции, ассоциированной *S. marcescens* составляет от 22% [289] до 63% [100].

Изучение клонального разнообразия *S. marcescens* имеет свои сложности. Существует множество методов, позволяющих оценить популяционную структуру – полногеномное секвенирование (whole-genome sequencing – WGS), гель-электрофорез в импульсном поле (pulsed-field gel electrophoresis – PFGE), типирование мультилокусных последовательностей основного генома (core genome multilocus sequence typing – cgMLST), мультилокусный сиквенсовый анализ (МЛСА) [53]. На сегодняшний день идет активная разработка единой базы данных МЛСТ, что может значительно облегчить сравнение данных, полученных исследователями из разных учреждений и стран [83, 148, 229].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Выделение и идентификация микроорганизмов

В период с 2014 по 2021 гг. были отобраны 67 изолятов *K. pneumoniae*, 25 – *P. aeruginosa*, 17 – *A. baumannii* и 19 – *S. marcescens* из положительных гемокультур и проб ликвора. Изоляты были выделены от пациентов из двух московских детских учреждений: ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России (С1), НИИ неотложной детской хирургии и травматологии Департамента здравоохранения г. Москвы (С2). Изоляты были включены в исследование по принципу «один изолят от одного ребенка». За исключением трех случаев *K. pneumoniae*-бактериемии и инфекции ЦНС, когда повторный положительный высеv учитывался, т.к. у микроорганизма поменялся профиль чувствительности/ были разные локусы выделения/ повторный изолят был получен более, чем через 30 дней с момента первого выделения.

Образцы крови инкубировали в анализаторе гемокультур BACTEC 9050 (Becton Dickinson, США), BacT/ALERT (BioMerieux, Франция) до фиксации роста микроорганизмов, затем пробу отсевали на плотные питательные среды для выделения чистой культуры возбудителя. Посевы производили на питательные среды: кровяной агар и Uri-select агар (BioRad, США), затем инкубировали в термостате при температуре 37°C в течение 24 - 48 ч. Идентификацию возбудителя проводили методом масс-спектрометрии MALDI-TOF (Bruker Daltonics, Германия).

2.2. Определение чувствительности к антимикробным препаратам

Минимальные подавляющие концентрации (МПК) антибиотиков определяли методом серийных микроразведений в бульоне Мюллера-Хинтон Sensititre™ (ThermoScientific, Великобритания). МПК меропенема определяли

методом микроразведений в соответствии со стандартом (ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010).

Результаты интерпретировали в соответствии с критериями Европейского комитета по тестированию чувствительности к антибиотикам (EUCAST) версия 10.0. (Таблица 2.1).

Таблица 2.1 – Критерии оценки чувствительности к АМП EUCAST 2020

АМП	МПК (мг/л) ¹					
	<i>A. baumannii</i>		<i>Enterobacterales</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
	Ч ≤	Р >	Ч ≤	Р >	Ч ≤	Р >
Меропенем	2	8	2	8	2	8
Имипенем	2	4	2	4	0,001	4
Колистин	2	2	2	2	2	2
Тобрамицин	4	4	2	2	2	2
Амикацин	8	8	8	8	16	16
Гентамицин	4	4	2	2	-	-
Триметоприм/сульфаметокс азол ²	2	4	2	4	-	-
Ципрофлоксацин	0,001	1	0,25	0,5	0,001	0,5
Левифлоксацин	0,5	1	-	-	-	-
Азтреонам	-	-	1	4	0,001	16
Фосфомицин	-	-	32	32	-	-
Цефтазидим	-	-	1	4	0,001	8
Цефепим	-	-	1	4	-	-
Тикарциллин/клавуланат ³	-	-	8	16		
Пиперациллин/тазобактам ⁴	-	-	8	16	0,001	16
Цефтазидим/авибактам ⁵	-	-	-	-	8	8
Цефтолозан/тазобактам ⁶	-	-	-	-	4	4

Примечания

1 – В соответствии с EUCAST [156];

2 – Триметоприм : сульфаметоксазол в соотношении 1:19. Контрольные точки выражаются в виде концентрации триметоприма;

3 – Для определения чувствительности используется фиксированная концентрация клавулановой кислоты – 2 мг/л;

4 – Для определения чувствительности используется фиксированная концентрация тазобактама – 4 мг/л;

5 – Для определения чувствительности используется фиксированная концентрация тазобактама – 4 мг/л;

6 – Для определения чувствительности используется фиксированная концентрация авибактама – 4 мг/л.

Все изоляты были разделены на штаммы с МЛУ и ШЛУ в соответствии с рекомендациями [95]. Классификация базируется на чувствительности микроорганизмов к 6 группам антибиотиков: аминогликозидам (тобрамицин или гентамицин), пенициллинам (пиперациллин/тазобактам), карбапенемам (имипенем или меропенем), цефалоспорином (цефотаксим, цефтриаксон или цефтазидим), фторхинолонам (ципрофлоксацин), сульфаниламидам (триметоприм/сульфаметоксазол). Изоляты, проявляющие устойчивость к 3 или 4 перечисленным группам, классифицировали как МЛУ, штаммы резистентные к 5 или 6 группам, относили к ШЛУ.

2.3. Исследование биопленкообразования

Анализ формирования биопленок на абиотической поверхности проводили с использованием сердечно-мозгового бульона (ВНВ; Vecton Dickinson, США) по ранее описанной методике с модификациями [233].

Биопленки выращивали в 96-ти луночных полистироловых планшетах с плоским дном. Все изоляты тестировали в трех повторах. Для исследования использовались суточные бактериальные культуры. Аликвоту 20 мкл бактериальной суспензии с мутностью 0,8 по Мак Фарланду вносили в лунки, содержащие 180 мкл ВНВ. Инкубировали в течение 24 часов при температуре 37°C без перемешивания. После инкубации бульон и планктонные клетки тщательно отбирали, лунки промывали дистиллированной водой. Для фиксации биопленок добавляли 200 мкл 2,5% глутарового альдегида и инкубировали 5 минут при комнатной температуре. После удаления альдегида лунки трижды промывали дистиллированной водой. Для окрашивания вносили 200 мкл кристаллического фиолетового (0,1% спиртовой раствор), инкубировали в течение 10 минут. После удаления красителя лунки трижды промывали дистиллированной водой. Для растворения и обесцвечивания связанного красителя добавляли 200 мкл 95% этанола с последующей инкубацией в течение 30 минут. Оптическую плотность итогового раствора измеряли при длине волны

590 нм с использованием планшетного считывателя Infinite 200M (Tecan, Австрия). Результаты интерпретировали согласно рекомендациям [277].

Чувствительность биопленочных культур к меропенему определяли на суточных биопленках. После тщательного отбора бульона и планктонных форм в лунки добавляли растворы антибиотика с концентрацией от 0,5 до 512 мг/л (аналогично определению МПК меропенема для планктонных форм) и инкубировали в течение 24 часов при температуре 37°C без перемешивания. Учет результатов проводили по полному отсутствию роста микроорганизма в лунке.

2.4. Молекулярно-генетические методы исследования

Определение генов резистентности к антимикробным препаратам

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

Выявление генов, отвечающих за продукцию цефалоспоринов и карбапенемаз, проводили с использованием наборов с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс ESBL CTX-M-FL» (CTX-M), «АмплиСенс MDR KPC/OXA-48-FL» (KPC, OXA-48), «АмплиСенс MDR MBL-FL» (IMP, NDM, VIM), «АмплиСенс MDR Ab-OXA-FL» (OXA-23, OXA-40, OXA-58, OXA-51) производства ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. Проведение ПЦР осуществляли согласно инструкции производителя. ПЦР проводили с помощью амплификатора LightCycler 96 (Roche, Швейцария/Германия).

ПЦР для детекции гена *bla*_{GES} была разработана в рамках настоящей работы.

Определение генов вирулентности

A.baumannii. Гены *bfmR*, *csuA/B*, *ompA*, *vap*, *katE*, отвечающие за чувство кворума и процесс образования биопленок, определяли методом ПЦР с детекцией в 2% агарозном геле. Праймеры и температуры отжига представлены в Таблице 2.2 [316, 332].

Таблица 2.2 – Праймеры для определения генов, отвечающих за продукцию биопленки *A. baumannii*

Ген	Последовательность 5'-3'		Продукт	Температура отжига (°C)	Источн ик
<i>bfmR</i>	Bfm-f	CTGGTAGGTAATCAGTTCG	200	62	[332]
	Bfm-r	GAGAGACCCAAACCATAACC			
<i>csuA/B</i>	Csu-f	ATGCGGTAAATACTCAAGCA	204	57	[332]
	Csu-r	TCACAGAAATATTGCCACCT			
<i>ompA</i>	Omp-f	CTCTTGCTGGCTTAAACGTA	192	57	[332]
	Omp-r	GCAATTTCTGGGCTTGTATTG			
<i>katE</i>	Kat-f	GTGTCCGGTTCAGGTTTTAC	230	60	[332]
	Kat-r	GGATTCTTGACAGACCCAAC			
<i>vap</i>	Vap-f	ATGCCTGAGATACAAATTATTGC CAAGGATAATC	561	54	[316]
	Vap-r	AGGTGCTGAAGAATCATCATTAC			

Условия и объемы реакции.

Для генов *bfmR*, *csuA/B*, *ompA*, *katE*: компоненты ПЦР смеси – iTaq Universal Probes Supermix, BioRad – 5 мкл; по 1 мкл каждого праймера (F и R); деионизированная вода – 1 мкл; проба ДНК – 2 мкл.

Условия ПЦР реакции:

1. Начальная денатурация – 95°C – 5'
2. Денатурация 94°C – 60"

Отжиг праймеров от 57°C до 62°C (см. табл. 1) – 60"

Элонгация 72° С – 60"

Количество температурных циклов 35

3. Заключительный этап элонгации 72°C – 5'.

Для гена *bar*: компоненты ПЦР смеси – iQ Supermix, BioRad – 5 мкл; по 1 мкл каждого праймера (F и R); деионизированная вода – 1 мкл; проба ДНК – 2 мкл.

Условия ПЦР реакции:

1. Начальная денатурация – 95°C – 5'

2. Денатурация 95°C – 30"

Отжиг праймеров 54°C – 30"

Элонгация 72° С – 45"

Количество температурных циклов 35

3. Заключительный этап элонгации 72°C – 10'.

ПЦР выполняли с использованием амплификатора LightCycler 96; 5 мкл всех продуктов ПЦР подвергали электрофорезу в 1,5% агарозном геле в буфере TBE при 120В и визуализировали в УФ-свете путем окрашивания бромидом этидия.

K. pneumoniae. Определение генов вирулентности и капсульных серотипов K1/K2 проводили методом мультиплексной ПЦР [240]. Было определено наличие следующих генов: *magA*, специфичного для серотипа K1; *rmpA*, регулирующего синтез мукоидного фенотипа; *entB*, ассоциированного с синтезом энтеробактина; *ybtS*, связанного с синтезом йерсиниебактина; *kfu*, ответственного за связывание трехвалентного железа; *iutA*, кодирующего транспортер аэробактина; *mrkD*, ассоциированного с фимбриальными адгезинами 3 типа; *allS*, связанного с метаболизмом аллантаина; *wzi*, специфичного для серотипа K2. Ген *entB* использовался в качестве положительного контроля, так как широко распространен у изолятов *K. pneumoniae*. Последовательности праймеров для определения генов вирулентности и K1/K2 описаны в Таблице 2.3 [240].

Таблица 2.3 – Праймеры, использованные для определения генов вирулентности и серотипов K1/K2

Ген	Название праймера	Последовательность 5' – 3'	Объем праймера в реакции (мкл)	Размер продукта (bp)
<i>ybtS</i>	<i>ybtS_f</i>	GACGGAAACAGCACGGTAAA	1,24	242
	<i>ybtS_r</i>	GAGCATAATAAGGCGAAAGA	1,24	
<i>mrkD</i>	<i>mrkD_f</i>	AAGCTATCGCTGTACTTCCGGCA	0,31	340
	<i>mrkD_r</i>	GGCGTTGGCGCTCAGATAGG	0,31	
<i>entB</i>	<i>entB_f</i>	GTCAACTGGGCCTTTGAGCCGTC	0,31	400
	<i>entB_r</i>	TATGGGCGTAAACGCCGGTGAT	0,31	
<i>rmpA</i>	<i>rmpA_f</i>	CATAAGAGTATTGGTTGACAG	0,62	461
	<i>rmpA_r</i>	CTTGCATGAGCCATCTTTCA	0,62	
<i>wzi</i>	<i>K2_f</i>	CAACCATGGTGGTTCGATTAG	1,24	531
	<i>K2_r</i>	TGGTAGCCATATCCCTTTGG	1,24	
<i>kfu</i>	<i>kfu_f</i>	GGCCTTTGTCCAGAGCTACG	0,31	638
	<i>kfu_r</i>	GGGTCTGGCGCAGAGTATGC	0,31	
<i>allS</i>	<i>allS_f</i>	CATTACGCACCTTTGTCAGC	0,31	764
	<i>allS_r</i>	GAATGTGTCGGCGATCAGCTT	0,31	
<i>iutA</i>	<i>iutA_f</i>	GGGAAAGGCTTCTCTGCCAT	0,31	920
	<i>iutA_r</i>	TTATTCGCCACCACGCTCTT	0,31	
<i>magA</i>	<i>magA_f</i>	GGTGCTCTTTACATCATTGC	0,93	1,283
	<i>magA_r</i>	GCAATGGCCATTTGCGTTAG	0,93	

Амплификацию участков генов проводили мультиплексной ПЦР в 25 мкл реакционной смеси, содержащей *iTaq* Universal Probes Supermix, BioRad – 13 мкл; праймеры – от 0,31 до 1,24 каждого (Таблица 2.2); образец ДНК – 1 мкл; деионизованная вода – до 25 мкл. ПЦР выполняли в термоциклере LightCycler 96 (Roche) в следующем режиме: предварительная денатурация – 15 мин при 95°C, затем 30 циклов (94°C – 30 с, 60°C – 90 с, 72°C – 60 с); заключительная инкубация - 10 мин при 72°C.

P. aeruginosa. Определение генов эффекторов *algD*, *plCH*, *lasB*, *phzM*, *pilA*, *pilB*, *nan1*, *nan2*, *aprA*, *exoS*, *exoT*, *exoU* и *exoY* проводили методом ПЦР с последующей визуализацией с использованием электрофореза. Праймеры для амплификации приведены в Таблице 2.4 [129, 223].

Таблица 2.4 – Праймеры для амплификации генов вирулентности и GES

Ген	Праймер	Последовательность 5' > 3'	Длина продукта, п.н.	Температура отжига, °С	Источник
<i>algD</i>	<i>algD_F</i>	ATGCGAATCAGCATCTTTGGT	1310	66	[223]
	<i>algD_R</i>	CTACCAGCAGATGCCCTCGGC			
<i>plcH</i>	<i>plcH_F</i>	GAAGCCATGGGCTACTTCAA	307	62	
	<i>plcH_R</i>	AGAGTGACGAGGAGCGGTAG			
<i>lasB</i>	<i>lasB_F</i>	GGAATGAACGAGGCGTTCTC	300	62	
	<i>lasB_R</i>	GGTCCAGTAGTAGCGGTTGG			
<i>phzM</i>	<i>phzM_F</i>	ATGGAGAGCGGGATCGACAG	875	55	[129]
	<i>phzM_R</i>	ATGCGGGTTTCCATCGGCAG			
<i>pilA</i>	<i>pilA_F</i>	ACAGCATCCAACTGAGCG	1675	56	
	<i>pilA_R</i>	TTGACTTCCTCCAGGCTG			
<i>pilB</i>	<i>pilB_F</i>	TCGAACTGATGATCGTGG	408	45	
	<i>pilB_R</i>	CTTTCGGAGTGAACATCG			
<i>nan1</i>	<i>nan1_F</i>	AGGATGAATACTTATTTTGAT	1316	53	
	<i>nan1_R</i>	TCACTAAATCCATCTCTGACCCGATA			
<i>nan2</i>	<i>nan2_F</i>	GTTTTGCTGATGCTGGTTCA	1161	53	
	<i>nan2_R</i>	TGTCCAGCAATTCTCTTGC			
<i>aprA</i>	<i>aprA_F</i>	TGTCCAGCAATTCTCTTGC	1017	51	[129]
	<i>aprA_R</i>	CGTTTTCCACGGTGACC			
<i>GES</i>	<i>ges_F</i>	TCCCCAAGGAGAGATCGT	194	55	Сконструированы в настоящей работе
	<i>ges_R</i>	CCGATGCTAGAAACCGCT			
<i>exoS</i>	<i>exoS_F</i>	CTCTACACCGGCATTCACTAC	230	60	
	<i>exoS_R_ad</i>	GGCTGTACGCTGTC* TTCAGGGAGGTGGAGAGATAG			
<i>exoT</i>	<i>exoT_F</i>	CGAGTACCAGCACCTGAATC	330	60	
	<i>exoT_R_ad</i>	GGCTGTACGCTGTC* TAGAGGATCTCCTGCTCATCG			
<i>exoU</i>	<i>exoU_F</i>	CGCAAAGTGGCGGTTATTG	240	60	
	<i>exoU_R_ad</i>	GGCTGTACGCTGTC* CTTAGCCATCTCAACGGTAGTC			
<i>exoY</i>	<i>exoY_F</i>	ATTCGCCCGGTTGAAAGA	224	56	
	<i>exoY_R_ad</i>	GGCTGTACGCTGTC* AGGTCCGGTCTGGGTATAGG			

Примечание – Адаптерная часть праймеров для проведения мультиплексной ПЦР.

Амплификацию участков генов *aprA*, *lasB*, *plcH*, *phzM*, и *pilB* проводили в 10 мкл реакционной смеси, содержащей *iQ* Supermix, BioRad (*iTaq* Universal Probes Supermix, BioRad для *pilB*)– 5 мкл; праймеры – 1 мкл каждого; образец ДНК – 2 мкл; деионизованная вода – до 10 мкл. ПЦР выполняли в термоциклере LightCycler 96 (Roche) в следующем режиме: предварительная денатурация – 5

мин при 94°C, затем 30 циклов (94°C – 40 с, 51-62°C – 60 с, 72°C – 70 с); заключительная инкубация - 7 мин при 72°C.

Аmplification участков генов *algD*, *nan1*, *nan2*, *pilA* проводили в 25 мкл реакционной смеси, содержащей *iProof* High-Fidelity PCR Master Mix, BioRad – 12,5 мкл; праймеры – 1 мкл каждого; DMSO – 0,75 мкл 100%; образец ДНК – 1 мкл; деионизованная вода – до 25 мкл. ПЦР проводили в термоциклере LightCycler 96 (Roche) в следующем режиме: предварительная денатурация – 5 мин при 94°C, затем 35 циклов (98°C – 30 с, 51-66°C – 50 с, 72°C – 95 с); заключительная инкубация - 7 мин при 72°C.

Аmplification участков генов *exoS*, *exoT*, *exoU* и *exoY* проводили в 30 мкл реакционной смеси, содержащей 3 мкл 10 × *Taq* buffer («Евроген», Россия), 0,25 мМ каждого дНТФ («Евроген»), 2,5 ед. HS *Taq* ДНК-полимеразы («Евроген»), 0,17 мкМ каждого (прямого и обратного) праймера и 1 мкл образца бактериальной ДНК. ПЦР выполняли в термоциклере C1000 Touch Thermal Cycler (BioRad, США) в следующем режиме: предварительная денатурация – 10 мин при 95°C, затем 35 циклов (95°C – 30 с, 60°C – 30 с, 72°C – 30 с); заключительная инкубация - 5 мин при 72°C.

Продукты амплификации (для всех генов) анализировали методом электрофореза в 2% агарозном геле в буфере TBE при 120 В и визуализировали в УФ-свете путем окрашивания бромидом этидия. В качестве положительного контроля использовали образцы с заведомо известным наличием соответствующих генов. В качестве отрицательного контроля – деионизованную воду.

Типирование микроорганизмов

Для сиквенс-типирования изолятов *A. baumannii* использовали метод МЛСТ. Подготовка включала амплификацию участков семи генов домашнего хозяйства: *gltA*, *gyrB*, *gdhB*, *recA*, *cpn60*, *gpi*, *rpoD*. Были использованы праймеры из общепринятой схемы МЛСТ [134]. Очистку ПЦР-продуктов от избытка

праймеров, димеров праймеров и дНТФ проводили ферментативным разрушением с помощью экзонуклеазы I и щелочной фосфатазы (SAP, Affymetrix, США) при 37°C в течение 30 мин. с последующей инактивацией при 85°C. Секвенирование проводили с использованием наборов реагентов и оборудования фирмы Applied Biosystems (США) в соответствии с рекомендациями производителя. Нуклеотидные последовательности, полученные в результате секвенирования, анализировали с помощью программы SeqMan (DNASTAR Inc.) и затем сравнивали с базой аллелей МЛСТ [202]. Генотип определяли по комбинации аллелей.

Генотипирование штаммов *K. pneumoniae* проводили методом МЛСТ согласно схеме, предложенной Институтом Пастера (Париж) [239]. Был проведен анализ семи «генов домашнего хозяйства»: *rpoB* (бета-субъединицы РНК-полимеразы), *gapA* (глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназы), *mdh* (малат-дегидрогеназы), *pgi* (фосфоглюкоза-изомеразы), *phoE* (фосфорина E), *infB* (фактора инициации трансляции 2), *tonB* (периплазматического энергетического трансдучера). Полученные нуклеотидные последовательности анализировали с использованием программы SeqMan (DNASTAR Inc.) и затем сравнивали с аллельными профилями базы данных BIGSdb [201].

Для сиквенс-типирования изолятов *P. aeruginosa* использовали метод МЛСТ. Подготовка включала амплификацию участков семи генов домашнего хозяйства: *acsA*, *aroE*, *guaA*, *mutL*, *nuoD*, *ppsA* и *trpE*. Были использованы праймеры из общепринятой схемы МЛСТ [135]. Подготовка ампликонов осуществляли с помощью стандартных методик. Секвенирование проводили с помощью наборов реагентов и оборудования фирмы Applied Biosystems (США) в соответствии с рекомендациями производителем. Нуклеотидные последовательности, полученные в результате секвенирования, анализировали, с помощью программы SeqMan (DNASTAR Inc.), и затем сравнивали с базой аллелей МЛСТ [202].

Для типирования изолятов *S. marcescens* использовали метод МЛСА. Были амплифицированы участки шести генов домашнего хозяйства: аденилатциклаза

(*adk*), фумаратгидратаза (*fumC*), субъединица β гиразы (*gyrB*), изоцитрат/изопропилмалатдегидрогеназа (*icd*), малатдегидрогеназа (*mdh*) и фактор связывания АТФ/ГТФ (*recA*). Были использованы праймеры и условия проведения реакции из более раннего исследования [83]. Секвенирование проводили с использованием наборов реагентов и оборудования фирмы Applied Biosystems (США) в соответствии с рекомендациями производителя. Нуклеотидные последовательности, полученные в результате секвенирования, анализировали с помощью программы SeqMan (DNASTAR Inc.). Филогенетический анализ последовательностей был проведен с использованием программы MEGA, 11 [307].

Полногеномное секвенирование изолятов

ДНК из изолятов выделяли по методике, дополненной очисткой от полисахаридов с помощью СТАВ (cetyltrimethylammonium bromide) [341].

Библиотеки ДНК готовили по протоколу Nextera DNA Flex Library Prep (Illumina, San Diego, CA, USA) и секвенировали на приборе NextSeq 500/550 (Illumina, San Diego, CA, USA), используя картридж Mid Output 300 cycles.

Для сборки геномов применяли CLC Genomic Workbench v.21.0.1 (QIAGEN, Germantown, MD, USA) and SPAdes v.3.13.0 [303]. Для визуализации результатов сборки репликонов и сравнения геномов использовали CGView Server [107, 175]. Аннотацию выполняли с помощью Rapid Annotations Subsystems Technology (RAST) и NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline (PGAP) [282, 283]. Результаты полногеномного секвенирования депонировали в GenBank в биопроект PRJNA561493.

Анализ геномных данных проводили с помощью ресурсов платформы Pathogenwatch v21.0.0 позволяющей взаимодействовать с Kleborate version: v2.2.0., ресурсом, специально разработанным для исследования *Klebsiella pneumoniae complex* [56, 255]. С помощью Kleborate определяли генотип в контексте генов МЛСТ – ST (Sequence Type), факторы вирулентности:

иерсиниабактин (*ybt*), аэробактин (*iuc*), колибактин (*clb*), сальмохелин (*iro*), гипермукоидность (*rmpA*, *rmpA2*), детерминанты антимикробной резистентности. С обращением к сайту Kaptive определяли аллели *wzi* гена, типировали К (капсула) и О (ЛПС) локусы [204].

Для анализа расширенного спектра факторов вирулентности использовали базу данных VFDB (virulence factor database) [330, 331]. К веб-сайту «Institut Pasteur Klebsiella pneumoniae species complex» обращались для уточнения генотипов для *ybt*, *iuc*, *clb* [194].

Более полный спектр генов резистентности определяли с помощью ресурса CARD - Comprehensive Antibiotic Resistance Database [101], а также BV-BRC - Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center [78], образованного на основе PATRIC (pathosystems resource integration center) [102, 198].

PlasmidFinder 2.1 использовали для выявления групп несовместимости (incompatibility, Inc) репликонов плазмид [189, 257].

2.5. Статистические методы

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

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВИ И ЛИКВОРА У ДЕТЕЙ

3.1. Спектр микроорганизмов, выделенных из положительных гемокультур и проб ликвора

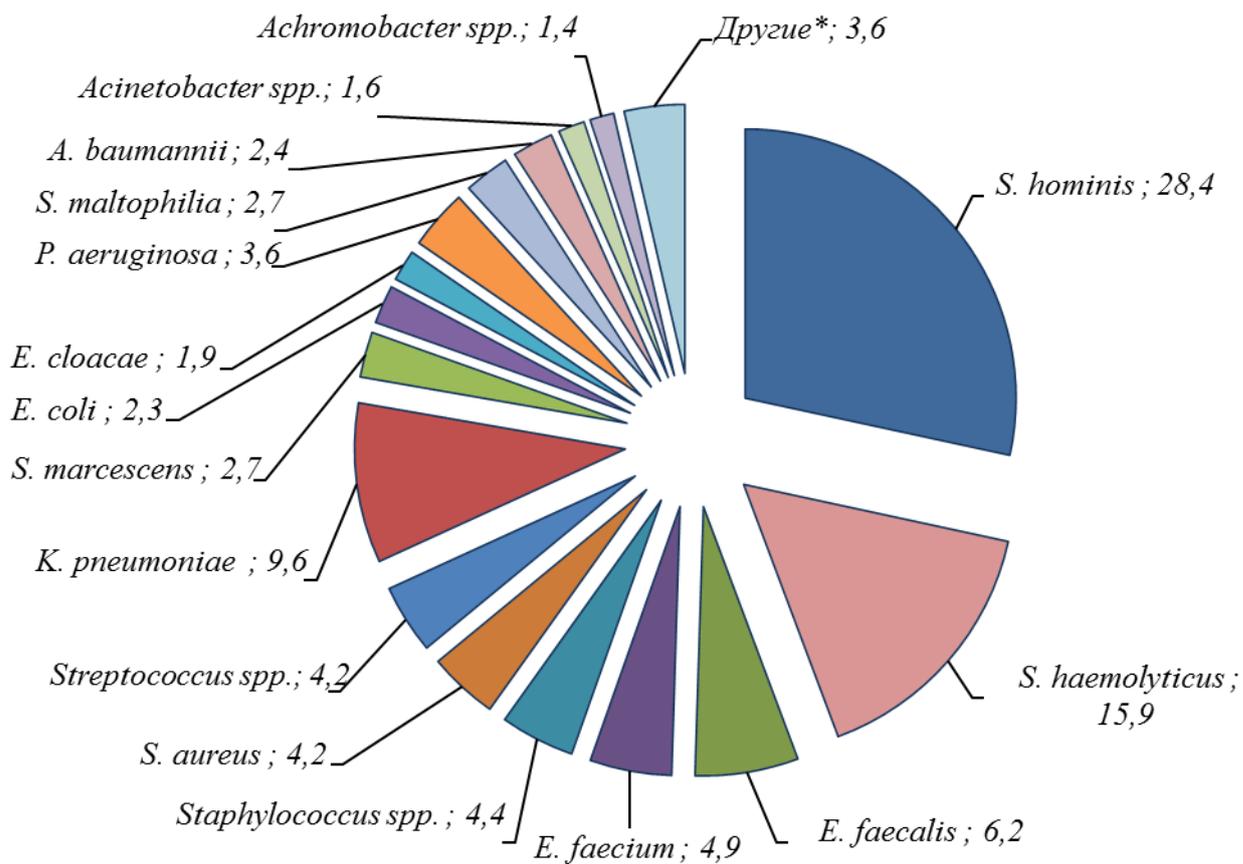
В период 2014 - 2021 гг. были проанализированы 697 образцов положительных проб гемокультур (n=655) и ликвора (n=42), полученных от детей с симптомами бактериальной инфекции. Производилось изучение грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов в монокультуре, без учета грибов и микробных ассоциаций.

Лидирующее место по частоте выделения занимали КНС: *Staphylococcus hominis* и *Staphylococcus haemolyticus* – 198 (28,4%) и 111 (15,9%), соответственно (Рисунок 3.1). Энтерококки были представлены: *Enterococcus faecalis* – 43 (6,2%), *Enterococcus faecium* – 34 (4,9%). *Staphylococcus aureus* был выявлен в 29 (4,2%) эпизодах. Другие представители рода *Staphylococcus* включали 31 (4,4%) изолят. Различные виды рода *Streptococcus* – 29 (4,2%) случаев.

Частота выделения грамотрицательных микроорганизмов составила 30,4%. Из представителей порядка *Enterobacterales* преобладала *K. pneumoniae* – 67 (9,6%), другие микроорганизмы, такие как *E. coli*, *Enterobacter cloacae* и *S. marcescens* были выделены из положительных образцов с частотой – 16 (2,3%), 13 (1,9%) и 19 (2,7%), соответственно.

Среди НГОБ преобладала *P. aeruginosa* – 25 (3,6%) случаев. *Stenotrophomonas maltophilia* и *A. baumannii* составили 19 (2,7%) и 17 (2,4%), соответственно. Бактерии рода *Acinetobacter* и *Achromobacter* выделялись практически с одинаковой частотой – 11 (1,6%) и 10 (1,4%) случаев.

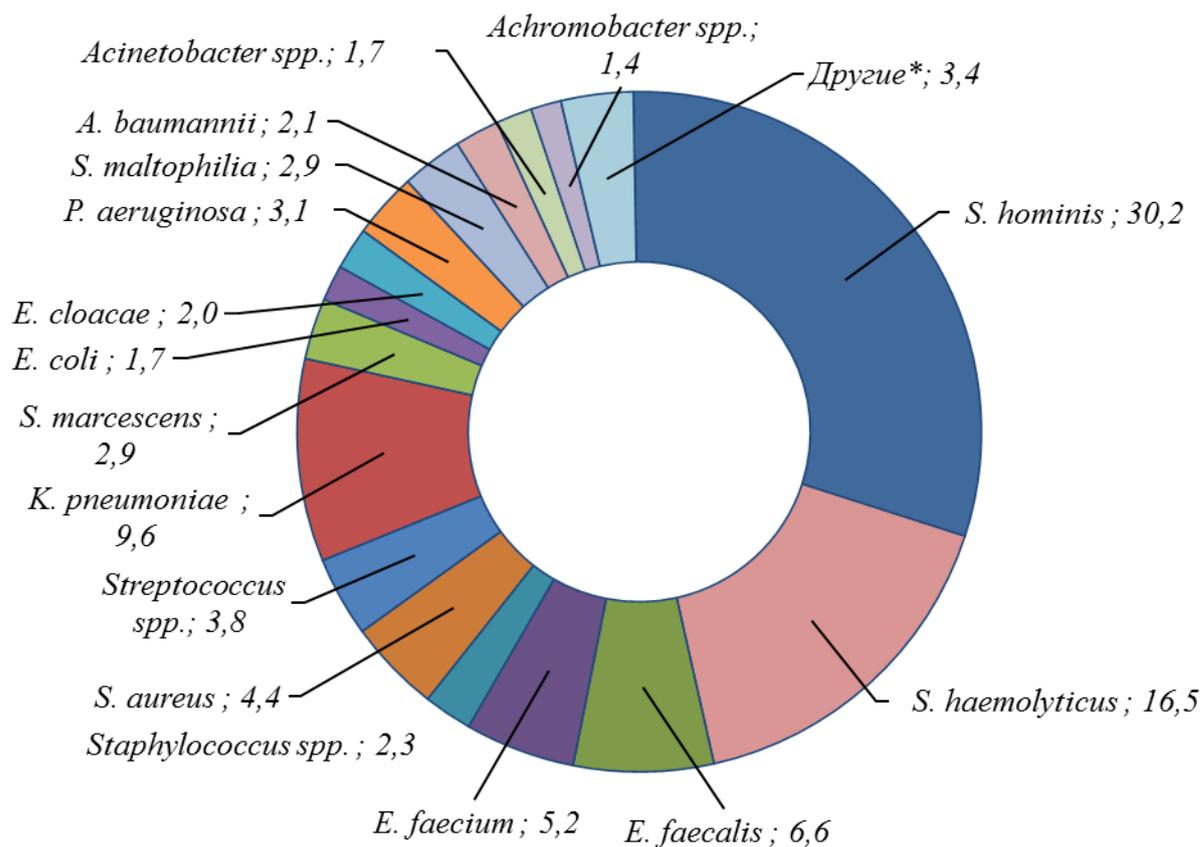
Другие микроорганизмы определялись гораздо реже и суммарно составили 25 (3,6%). В эту категорию были отнесены наименее многочисленные патогены: *Corynebacterium spp.*, *Enterobacter spp.*, *Burkholderia spp.*, *Citrobacter gillenii*, *Proteus mirabilis* и *Haemophilus influenzae*.



Примечание – Другие* - *Corynebacterium spp.*, *Enterobacter spp.*, *Burkholderia spp.*, *Citrobacter gillenii*, *Proteus mirabilis* и *Haemophilus influenzae*.

Рисунок 3.1 – Спектр микроорганизмов, выделенных из гемокультур и проб ликвора (n=697, %)

Отдельно нами был изучен спектр бактерий, выделяемых в гемокультурах (Рисунок 3.2) и в пробах ликвора (Рисунок 3.3).



Примечание – Другие* - *Corynebacterium spp.*, *Enterobacter spp.*, *Burkholderia spp.*, *Citrobacter gillenii*, *Proteus mirabilis*.

Рисунок 3.2 – Спектр микроорганизмов, выделенных из гемокультур (n=655, %)

Рисунок 3.2 показывает, что основную роль в формировании микробного спектра играют штаммы, выделенные из гемокультуры, поскольку их количество значительно превышает количество таковых из проб ликвора.

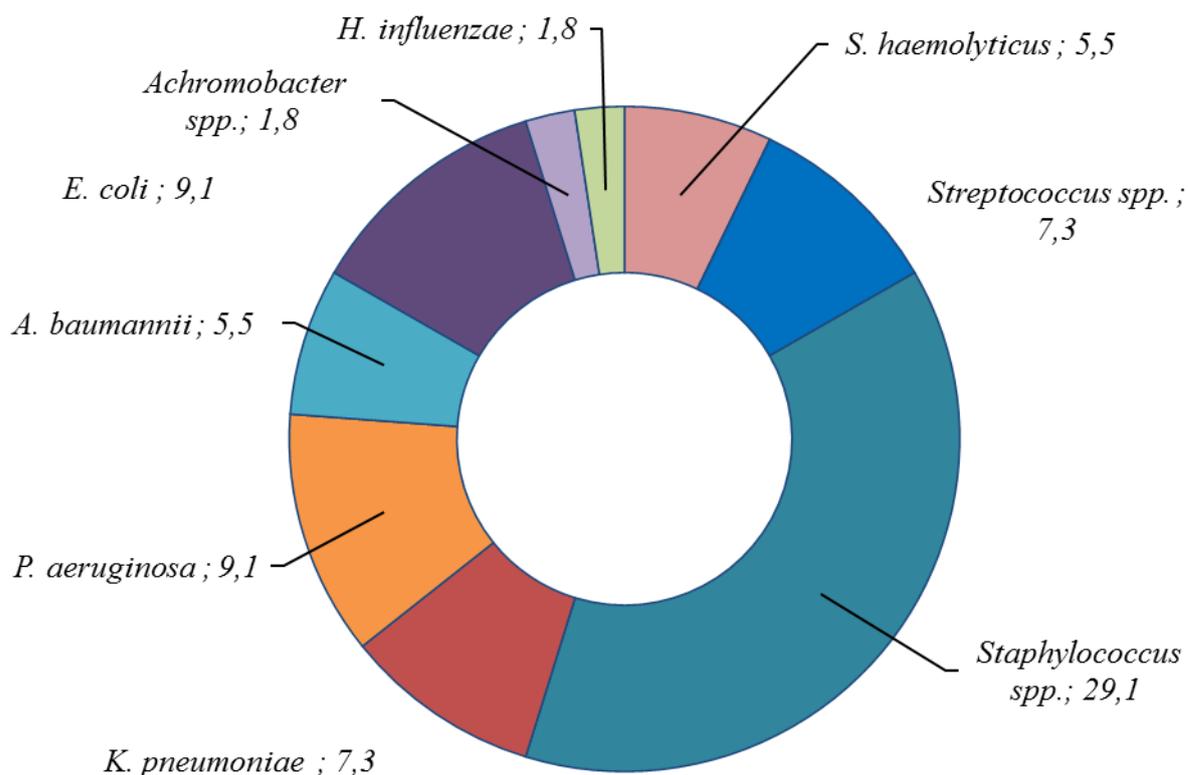


Рисунок 3.3 – Спектр микроорганизмов, выделенных из проб ликвора (n=42, %)

Микробный спектр, полученный при изучении образцов ликвора, менее разнообразный (Рисунок 3.3). Значительно снижена доля кокковой флоры, в том числе КНС. Возможно, это связано с низкой проницаемостью гематоэнцефалического барьера, отсутствием постоянных катетеров и меньшей долей контаминированных образцов. Кроме того, важно помнить, что выявляемая бактериемия может быть транзиторной, в то время как транзиторное существование бактерий в ликворе маловероятно.

Частота определения грамотрицательных микроорганизмов из образцов ликвора выше, чем из образцов гемокультуры.

3.2. Чувствительность к антибиотикам микроорганизмов, выделенных из положительных гемокультур и ликвора

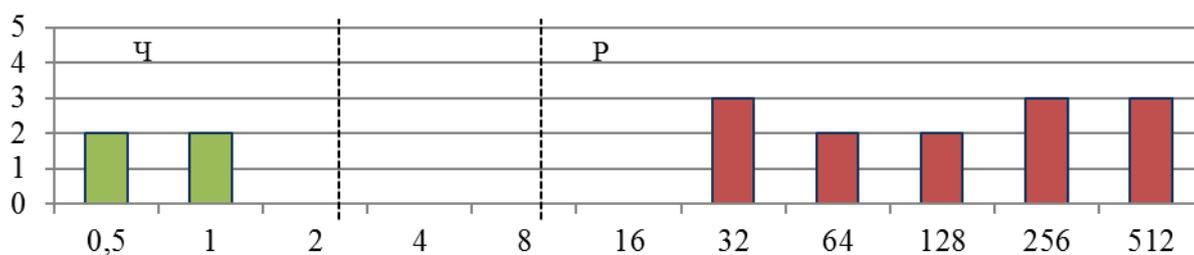
Для проведения адекватной антибиотикотерапии инфекционного процесса был выполнен анализ чувствительности к антибиотикам грамотрицательных микроорганизмов, выделенных из положительных гемокультур и ликвора.

A. baumannii. Результаты определения чувствительности *A. baumannii* к АМП представлены в Таблице 3.1.

Таблица 3.1 – Чувствительность изолятов *A. baumannii* к АМП (n=17)

АМП	Чувствительный		Чувствительный при повышенной экспозиции		Резистентный	
	n	%	n	%	n	%
Меропенем	4	24	-	-	13	76
Имипенем	4	24	-	-	13	76
Колистин	13	76	-	-	4	24
Тобрамицин	5	29	-	-	12	71
Амикацин	2	12	-	-	15	88
Гентамицин	2	12	-	-	15	88
Триметоприм/сульфаметоксазол	5	29	2	12	10	59
Ципрофлоксацин	-	-	2	12	15	88
Левифлоксацин	-	-	2	12	15	88

Анализ антибиотикорезистентности изолятов *A. baumannii* к АМП показал довольно высокий процент устойчивости к аминогликозидам (до 88%), карбапенемам (76%) и фторхинолонам (88%). При этом карбапенемрезистентные *A. baumannii* чаще выделялись из С2 ($p = 0,02269$). К колистину были устойчивы 24% исследованных штаммов. Резистентность к триметоприм/сульфаметоксазолу проявили 59% изолятов (Таблица 3.1). МПК меропенема у изолятов *A. baumannii* представлены на Рисунке 3.4. Преобладали карбапенемрезистентные штаммы с МПК в диапазоне от 32 до 512 мг/л.



Примечания

- 1 – Ч – чувствительный;
- 2 – Р – резистентный;
- 3 – Ось абсцисс – МПК меропенема (мг/л);
- 4 – Ось ординат – число изолятов.

Рисунок 3.4 – Спектр МПК меропенема изолятов для *A. baumannii*

K. pneumoniae. Чувствительность к антимикробным препаратам изолятов *K. pneumoniae* представлена в Таблице 3.2.

Таблица 3.2 – Чувствительность *K. pneumoniae* к АМП (n=67)

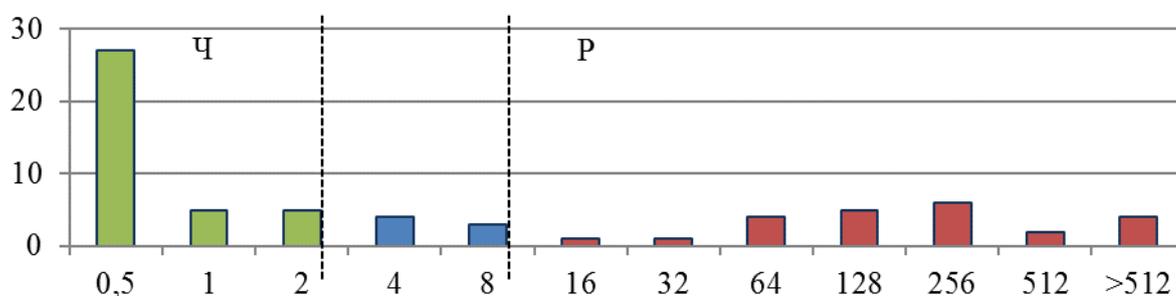
АМП	Чувствительный		Чувствительный при повышенной экспозиции		Резистентный	
	n	%	n	%	n	%
Меропенем	37	55	7	11	23	34
Имипенем	39	58	5	8	23	34
Колистин	46	69	-	-	21	31
Азтреонам	6	9	-	-	61	91
Тобрамицин	8	12	-	-	59	88
Амикацин	26	39	-	-	41	61
Гентамицин	16	24	-	-	51	76
Фосфомицин	37	55	-	-	30	45
Цефтазидим	5	7	-	-	62	93
Цефепим	4	6	6	9	57	85
Тикарциллин/клавуланат ¹	3	4,5	1	1,5	63	94
Пиперациллин/тазобактам ²	12	18	4	6	51	76
Триметоприм/сульфаметоксазол ³	17	25	-	-	50	75
Ципрофлоксацин	12	18	6	9	49	73

Примечания

- 1 – Для определения чувствительности используется фиксированная концентрация клавулановой кислоты – 2 мг/л;
- 2 – Для определения чувствительности используется фиксированная концентрация тазобактама – 4 мг/л;
- 3 – Триметоприм : сульфаметоксазол в соотношении 1:19. Контрольные точки выражаются в виде концентрации триметоприма.

Изоляты *K. pneumoniae*, выделенные из крови и ликвора, проявили высокий уровень устойчивости к АМП. По данным Таблицы 3.2. наибольшую резистентность изоляты *K. pneumoniae* проявляли к азтреонаму (91%), цефтазидиму (93%) и тикарциллин/клавуланату (94%). Наименьшая устойчивость была определена к карбапенемам (34%) и колистину (31%). К фосфомицину были резистентны 45% изолятов. К аминогликозидам были резистентны до 88% штаммов. К ципрофлоксацину и триметоприм/сульфаметоксазолу проявили устойчивость 73% и 75% изолятов, соответственно.

МПК меропенема у изолятов *K. pneumoniae* представлены на Рисунке 3.5.



Примечания

- 1 – Ч – чувствительный;
- 2 – Р – резистентный;
- 3 – Ось абсцисс – МПК меропенема (мг/л);
- 4 – Ось ординат – число изолятов.

Рисунок 3.5 – Спектр МПК меропенема изолятов для *K. pneumoniae*

Большая часть изолятов *K. pneumoniae* имела МПК меропенема 0,5 мг/л. Семь изолятов проявили чувствительность при повышенной экспозиции препарата, при этом МПК меропенема было от 4 до 8 мг/л. Среди изолятов, проявивших устойчивость к меропенему, большинство имели МПК 128 или 256 мг/л (Рисунок 3.5). Достоверные различия по чувствительности к антибиотикам между двумя стационарами были определены только для ципрофлоксацина. Изоляты *K. pneumoniae* из С1 были более чувствительны к ципрофлоксацину *in vitro*, чем изоляты из С2 ($p=0,0247$).

P. aeruginosa. Всего было исследовано 25 изолятов *P. aeruginosa*, выделенных из крови и ликвора у детей с различной патологией.

Чувствительность изолятов *P. aeruginosa* к АМП представлена в Таблице 3.3.

Таблица 3.3 – Чувствительность изолятов *P. aeruginosa* к АМП (n=25)

АМП	Чувствительный		Чувствительные при увеличенной экспозиции		Резистентный	
	n	%	n	%	n	%
Меропенем	5	20	-	-	20	80
Имипенем	-	-	5	20	20	80
Колистин	25	100	-	-	-	-
Амикацин	16	64	-	-	9	36
Тобрамицин	7	28	-	-	18	72
Пиперациллин/тазобактам ¹	-	-	12	48	13	52
Цефтазидим	-	-	5	20	20	80
Цефтазидим/авибактам ²	8	32	-	-	17	68
Цефтолозан/тазобактам ¹	5	20	-	-	20	80
Азтреонам	-	-	18	72	7	28
Ципрофлоксацин	-	-	6	24	19	76

Примечания

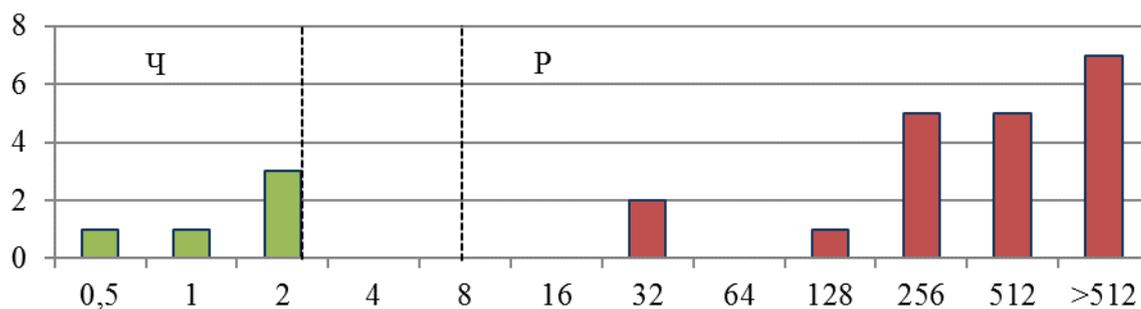
1 – Для определения чувствительности используется фиксированная концентрация тазобактама – 4 мг/л;

2 – Для определения чувствительности используется фиксированная концентрация авибактама – 4 мг/л.

Анализ антибиотикорезистентности изолятов *P. aeruginosa* к АМП показал довольно высокий процент устойчивости к карбапенемам (80%), аминогликозидам (до 72%), цефалоспорином (80%) и фторхинолонам (76%). Резистентность к защищенным цефалоспорином достигала 80% (Таблица 3.3). По отношению к азтреонаму было определено преобладание изолятов, проявляющих чувствительность при повышенной экспозиции препарата (72%). К ряду исследованных АМП в соответствии с критериями не было определено изолятов из категории чувствительных: имипенем, пиперациллин/тазобактам, цефтазидим,

азтреонам и ципрофлоксацин. К колистину были чувствительны все исследованные штаммы.

МПК меропенема у изолятов *P. aeruginosa* отображены на Рисунке 3.6. Основная масса изолятов *P. aeruginosa*, устойчивых к меропенему имела МПК 256 и более мг/л. Наиболее многочисленной была группа штаммов с МПК меропенема более 512 мг/л.



Примечания

- 1 – Ч – чувствительный;
- 2 – Р – резистентный;
- 3 – Ось абсцисс – МПК меропенема (мг/л);
- 4 – Ось ординат – число изолятов.

Рисунок 3.6 – Спектр МПК меропенема для изолятов *P. aeruginosa*

S. marcescens. Чувствительность к антимикробным препаратам изолятов *S. marcescens* представлена в Таблице 3.4.

Таблица 3.4 – Чувствительность *S. marcescens* к АМП (n=19)

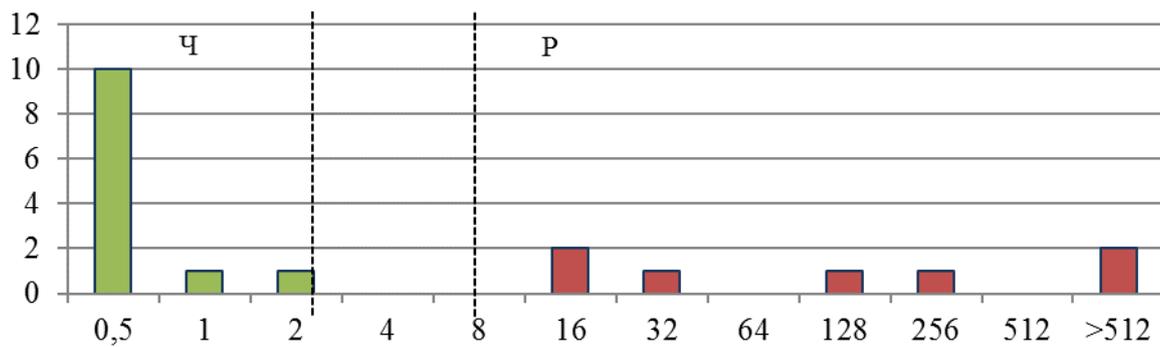
АМП	Чувствительный		Чувствительный при повышенной экспозиции		Резистентный	
	n	%	n	%	n	%
Меропенем	12	63	-	-	7	37
Имипенем	13	68	2	11	4	21
Азтреонам	9	47	-	-	10	53
Тобрамицин	5	26	-	-	14	74
Амикацин	8	42	-	-	11	58
Гентамицин	9	47	-	-	10	53
Фосфомицин	13	68	-	-	6	32
Цефтазидим	9	47	3	16	7	37
Цефепим	9	47	-	-	10	53
Тикарциллин/клавуланат ¹	6	32	-	-	13	68
Пиперациллин/тазобактам ²	9	47	1	6	9	47
Триметоприм/сульфаметоксазол ³	15	79	-	-	4	21
Ципрофлоксацин	8	42	3	16	8	42

Примечания

- 1 – Для определения чувствительности используется фиксированная концентрация клавулановой кислоты – 2 мг/л;
- 2 – Для определения чувствительности используется фиксированная концентрация тазобактама – 4 мг/л;
- 3 – Триметоприм : сульфаметоксазол в соотношении 1:19. Контрольные точки выражаются в виде концентрации триметоприма.

По данным Таблицы 3.4 можно сделать вывод, что наибольшую резистентность штаммы *S. marcescens* проявляли к аминогликозидам (до 74%), тикарциллин/клавуланату (68%), азтреонаму и цефепиму (53%). Наименьшая устойчивость определена к карбапенемам (до 37%), фосфомицину (32%) и триметоприм/сульфаметоксалолю (21%).

МПК меропенема у изолятов *S. marcescens* отображены на Рисунке 3.7. Большинство изолятов были устойчивы к меропенему и имели МПК 0,5 мг/л. Среди устойчивых к меропенему штаммов наиболее часто определялась МПК меропенема 16 мг/л и значения более 512 мг/л.



Примечания

- 1 – Ч – чувствительный;
- 2 – Р – резистентный;
- 3 – Ось абсцисс – МПК меропенема (мг/л);
- 4 – Ось ординат – число изолятов.

Рисунок 3.7 – Спектр МПК меропенема для изолятов *S. marcescens*

ГЛАВА 4. ACINETOBACTER BAUMANNII

4.1. Фенотипы, генотипы антибиотикорезистентности и вирулентности, популяционная структура *A. baumannii*

В нашем исследовании у штаммов *A. baumannii* (n=17) были выявлены гены карбапенемаз групп ОХА-23 и ОХА-40. Видоспецифическая карбапенемаза группы ОХА-51 была обнаружена у всех изученных изолятов. Карбапенемаза группы ОХА-58, комбинации карбапенемаз и МБЛ групп IMP, NDM, VIM у исследованных штаммов обнаружены не были. Для оценки частоты выявления карбапенемаз сравнивали два временных периода – с 2014 по 2017 годы и с 2018 по 2021 годы. Также продукция карбапенемаз сравнивалась между изолятами, выделенными в двух стационарах.

Карбапенемазы группы ОХА-23 были выявлены у 24% (n=4) штаммов. При этом в период с 2018 по 2021 годы (n=4) эта группа карбапенемаз выявлялась значительно чаще, чем с 2014 по 2017 годы (не были выявлены) ($p=0,0294$). Значимых различий между двумя стационарами по наличию у изолятов этой группы карбапенемаз выявлено не было. Карбапенемазы группы ОХА-40 были выявлены у 41% (n=7) штаммов. Значимых различий между более ранними и более поздними изученными периодами с 2014 по 2021 годы выявлено не было. В то же время в С1 (n=7) эта группа карбапенемаз выявлялась значительно чаще, чем в С2 (не были выявлены) ($p=0,02098$). У двух изолятов, резистентных к карбапенемам, не было выявлено карбапенемаз.

Для изолятов *A. baumannii* были определены фенотипы резистентности. Согласно рекомендациям German G.J. и соавт. [95] было выявлено девять (53%) МЛУ штаммов и четыре (23,5%) – ШЛУ. Четыре (23,5%) изолята имели благоприятный профиль чувствительности к АМП и относились к категории чувствительных. Фенотипы резистентности и наличие карбапенемаз отображено на Рисунке 4.1.

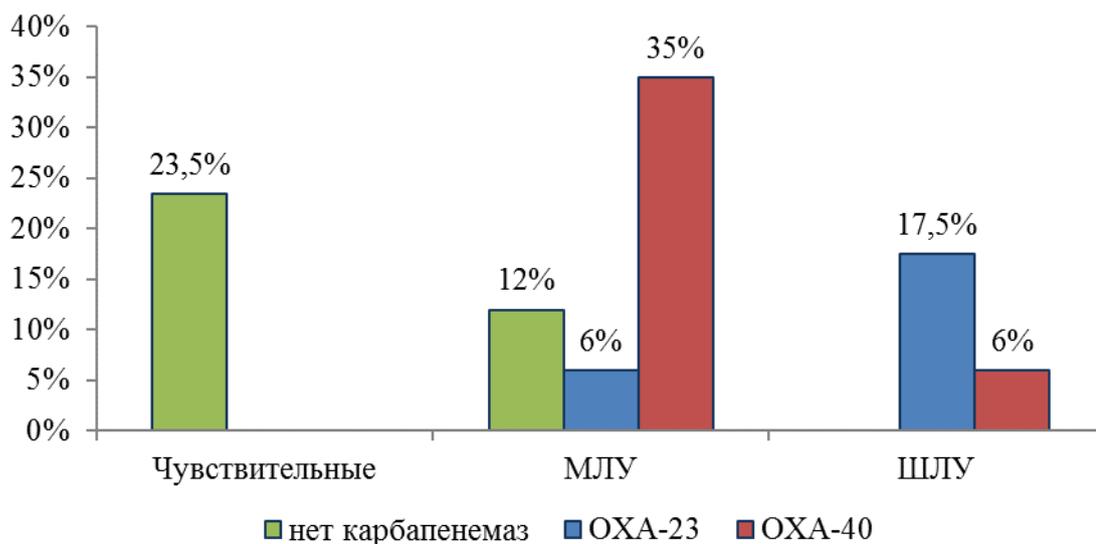


Рисунок 4.1 – Фенотипические группы и продукция ОХА-40 и ОХА-23 у *A. baumannii*

Рисунок 4.1. показывает, что карбапенемазы чаще всего определялись у изолятов *A. baumannii*, относящихся к фенотипам МЛУ и ШЛУ. При этом у МЛУ изолятов было выявлено преобладание продуцентов карбапенемазы группы ОХА-40, а у ШЛУ - продуцентов карбапенемазы группы ОХА-23.

Биопленкообразование и чувствительность *A. baumannii* в составе биопленок к меропенему

Изучение продукции биопленок показало, что изоляты *A. baumannii* проявляли способность к формированию биопленок различной интенсивности: слабые – 10 (59%), умеренные – 6 (35%) и сильные – 1 (6%).

Для биопленочных культур была определена чувствительность к меропенему. Результаты сравнения МПК меропенема планктонных и биопленочных культур отражены на Рисунке 4.2.



Примечания

- 1 – Для двух изолятов под номерами 15 и 16 МПК меропенема была определена более 512 мг/л;
- 2 – Ось абсцисс – порядковый номер изолята *A. baumannii*;
- 3 – Ось ординат – МПК меропенема (мг/л).

Рисунок 4.2 – Сравнение МПК меропенема для планктонных и биопленочных культур *A. baumannii*

На Рисунке 4.2 показано, что МПК меропенема для планктонных клеток распределялись от 0,5 до 512 мг/л. В то время как эти же микроорганизмы в биопленках имели МПК меропенема *in vitro* в концентрациях от 128 до 512 мг/л и выше. Было определено, что у изолятов, проявлявших способность к образованию слабых биопленок, МПК меропенема для бактериальных клеток в составе биопленок превышали МПК для планктонных клеток от двух до восьми раз. Для штаммов, способных к образованию умеренных и сильных биопленок, превышение МПК достигало 512 раз (0,5 мг/л для планктонных к 256 мг/л для клеток в составе биопленок).

Генетические детерминанты вирулентности и формирования биопленок

Для всех штаммов было проведено определение генов *bfmR*, *csuA/B*, *ompA*, *bar* и *katE*, ответственных за регуляцию биопленкообразования и вирулентности. Результаты представлены в Таблице 4.1.

Таблица 4.1 – Наличие генов вирулентности и биопленкообразования у штаммов *A. baumannii*

Интенсивность биопленки	Ген вирулентности				
	<i>bfmR</i>	<i>csuA/B</i>	<i>ompA</i>	<i>bar</i>	<i>katE</i>
Слабая (n=10)	10	9	9	10	10
Умеренная (n=6)	6	5	6	6	6
Сильная (n=1)	1	1	1	1	1

Согласно Таблице 4.1, все изоляты имели гены *bfmR*, *bar* и *katE*. Ген *ompA* был обнаружен у 94% (n=16) штаммов, а ген *csuA/B* – у 88% (n=15).

На основании полученных данных можно сделать вывод, об отсутствии связи между наличием генов вирулентности и интенсивностью биопленки.

Было изучено наличие генов эффекторов вирулентности и способности к формированию биопленок различной интенсивности у изолятов, резистентных к АМП (Таблица 4.2).

Факторы *bfmR*, *bar* и *katE* были определены у 100% изолятов, поэтому в Таблицу 4.2 не включены.

Таблица 4.2 – Вирулентность изолятов *A. baumannii*, устойчивых к АМП

Фактор вирулентности		Карбапенемаза n (%)		Количество резистентных изолятов n (%)						
		ОХА-40 n=7	ОХА-23 n=4	CAR n=13	COL n=4	ТОВ n=12	АМК n=15	GEN n=15	STX n=10	FQL n=15
Биопленка	Слабая (n=10)	6 (86)	2 (50)	10 (77)	3 (75)	10 (83)	10 (67)	10 (67)	8 (80)	10 (67)
	Умеренная (n=6)	1 (14)	2 (50)	3 (23)	1 (25)	2 (17)	5 (33)	5 (33)	2 (20)	5 (33)
	Сильная (n=1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ген вирулентности	<i>csuA/B</i> (n=15)	7 (100)	3 (75)	12 (92)	3 (75)	11 (92)	14 (93)	14 (93)	9 (90)	14 (93)
	<i>otrA</i> (n=16)	7 (100)	3 (75)	12 (92)	3 (75)	11 (92)	14 (93)	14 (93)	9 (90)	14 (93)

Примечания

- 1 – CAR – карбапенемы (меропенем и имипенем);
2 – COL – колистин;
3 – ТОВ – тобрамицин;
4 – АМК – амикацин;
5 – GEN – гентамицин;
6 – STX – тирметоприм/сульфаметоксазол;
7 – FQL – фторхинолоны (ципрофлоксацин и левофлоксацин).

При оценке вирулентных свойств изолятов *A. baumannii*, устойчивых к АМП, было выявлено, что большинство изолятов, формирующих слабые биопленки, проявляет устойчивость к карбапенемам, аминогликозидам, триметоприм/сульфаметоксазолу и фторхинолонам. А изоляты с умеренными биопленками часто устойчивы к аминогликозидам и фторхинолонам (Таблица 4.2).

Клональная структура штаммов *A. baumannii*

Популяционная структура изолятов *A. baumannii*, выделенных из крови и ликвора у детей, представлена девятью различными сиквенс-типами (Таблица 4.3).

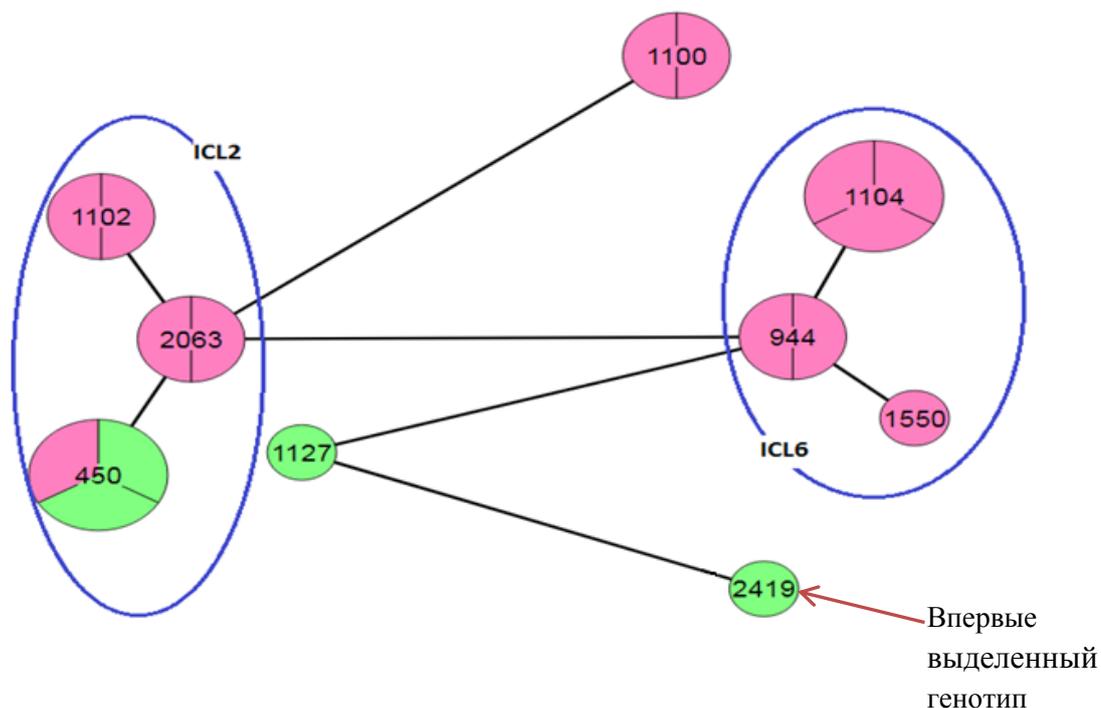
Таблица 4.3 – Данные BURST анализа *A. baumannii* [202]

Группа: 1			
ST	Частота	SLV	DLV
450	3	2	
1102	2	2	
2063	2	2	
Группа: 2			
944 ^a	2	2	
1104	3	1	1
1550	1	1	1
Синглетоны			
1100	2		
1127	1		
2419*	1		

Примечания

- 1 – Определение группы: 5 или более совпадений;
- 2 – DLV – двухлокусный вариант;
- 3 – SLV – однолокусный вариант;
- 4 – ^a – центральный ST;
- 5 – * – впервые выявленный ST.

Графически популяционная структура отображена на Рисунке 4.3.



Примечания

- 1 – Розовый цвет – изоляты, резистентные к карбапенемам;
- 2 – Зеленый – чувствительные;
- 3 – Секторами обозначено количество изолятов в генотипе;
- 4 – Овалами обведены клональные группы.

Рисунок 4.3 – Генотипическая структура изолятов *A. baumannii*, выделенных из крови и ликвора у детей

Сиквенс-типы $ST944^{Oxf}$, $ST1550^{Oxf}$ и $ST1104^{Oxf}$ входят в клональную группу $CC944^{Oxf}/CC78^{Pas}$ – международной клональной линии ICL6 (ICL – international clonal lineage). А сиквенс-типы $ST450^{Oxf}$, $ST2063^{Oxf}$ и $ST1102^{Oxf}$ – в клональную группу $CC92/CC208^{Oxf}/CC2^{Pas}$, относящуюся к международной клональной линии ICL2 (Рисунок 4.3).

Генотипы $ST944^{Oxf}$, $ST1127^{Oxf}$, $ST1104^{Oxf}$, $ST1550^{Oxf}$, $ST450^{Oxf}$, $ST2419^{Oxf}$ встречались только в С1. Генотип $ST2063^{Oxf}$ – только в С2. А генотипы $ST1100^{Oxf}$ и $ST1102^{Oxf}$ выделялись в обоих стационарах с одинаковой частотой.

Продуцентами карбапенемаз группы OXA-40 были все представители $ST944^{Oxf}$, $ST1104^{Oxf}$, $ST1550^{Oxf}$ (ICL6), а также карбапенем-резистентный

представитель ST450^{Oxf}. Карбапенемазы группы OXA-23 были выявлены у всех изолятов ST1102^{Oxf} и ST2063^{Oxf} (ICL2).

Способностью к образованию сильной биопленки обладал только изолят с новым генотипом ST2419^{Oxf}. Умеренные биопленки образовывали все изоляты ST450^{Oxf}, ST1102^{Oxf} и ST1127^{Oxf}. Все штаммы ST944^{Oxf}, ST1100^{Oxf}, ST1104^{Oxf}, ST1550^{Oxf} и ST2063^{Oxf} обладали слабой способностью к биопленкообразованию.

Гены, отвечающие за образование биопленок, встречались у представителей всех девяти генотипов. В трех случаях у изолятов отсутствовали некоторые из них: *csuA/B* отсутствовал у изолятов генотипов ST1127^{Oxf} и ST2063^{Oxf}, *ompA* отсутствовал у другого представителя ST2063^{Oxf}.

По итогам мультилокусного сиквенсового типирования *A. baumannii* среди изученных 17 штаммов стоит отметить четыре изолята, устойчивых ко всем тестируемым антибиотикам. Сводные данные по этим образцам представлены в Таблице 4.4.

Таблица 4.4 – Характеристика изолятов *A. baumannii*, резистентных ко всем исследованным АМП

Изолят	Стац онар	Возраст пациента	Патология	МПК MEM	МПК COL	Карба пенем аза	Био плен ка	ST
56-1520	C1	7 м	Хирургическая, АП + сепсис	512	8	OXA-40	L	944
99-738	C2	7 л 3 м	Хирургическая, ТСТ	64	8	OXA-23	L	2063
99-974	C2	11 л 8 м	Хирургическая, ТСТ + вентрикуломенингит	256	4	OXA-23	L	2063
99-1128	C2	2 г 8 м	Хирургическая, ТСТ	32	4	OXA-23	M	1102

Примечания

- 1 – MEM – меропенем;
- 2 – COL – колистин;
- 3 – АП – абдоминальная патология;
- 4 – ТСТ – тяжелая сочетанная травма;
- 5 – L – слабая биопленка;
- 6 – M – умеренная биопленка;
- 7 – ST – сиквенс-тип.

4.2. Клинические параметры при бактериемии и инфекции центральной нервной системы, ассоциированных с *A. baumannii*

По результатам оценки клинических данных определено, что изоляты *A. baumannii* были выделены от детей в возрасте от 5 суток до 17 лет. Медиана возраста – 11 месяцев (5м; 7л 3м). Пациенты были разделены на 4 возрастные группы: I (0-1 год) – 9 детей (53%), II (1-3 лет) – 2 ребенка (12%), III (3-7 лет) – 1 ребенок (6%), IV (7-17 лет) – 5 детей (29%). Характеристика изолятов, выделенных в разных возрастных группах, отображена в Таблице 4.5.

Таблица 4.5 – Характеристика изолятов *A. baumannii* в разных возрастных группах

Параметр		Возрастная группа			
		до 1 года (n=9)	от 1 до 3 лет (n=2)	от 3 до 7 лет (n=1)	от 7 до 17 лет (n=5)
Карбапенемаза	ОХА-23	-	2	-	2
	ОХА-40	5	-	-	2
Фенотип резистентности	Чувствительный	3	-	1	-
	МЛУ	5	1	-	3
	ШЛУ	1	1	-	2
Интенсивность биопленок	Слабая	5	-	-	5
	Умеренная	4	2	-	-
	Сильная	-	-	1	-
Генотип (ST ^{OxI})		450 (n=3) 944 (n=2) 1104 (n=2) 1100 1127	1102 (n=2)	2419	2063 (n=2) 1100 1104 1550

Возрастные группы I и IV были наиболее многочисленными. Вероятно, с этим связано то, что основная масса изолятов, устойчивых к АПМ, обладающих карбапенемазами и относящихся к международным генотипам высокого эпидемического риска, была определена в данных возрастных группах (Таблица 4.5). Возможно, при увеличении числа исследуемых изолятов, данная закономерность не сохранится.

Изученные штаммы *A. baumannii* были выделены от пациентов, наблюдающихся с различными состояниями. Подробно характеристика изолятов *A. baumannii*, полученных от пациентов с различной патологией, представлена в Таблице 4.6.

Таблица 4.6 – Характеристика изолятов *A. baumannii*, полученных от пациентов разных нозологических групп

Параметр		Хирургическая патология			Соматическая патология (n=3)
		ВПС (n=4)	АП (n=5)	ТСТ (n=5)	
Карбапенемаза	ОХА-23	-	1	3	-
	ОХА-40	2	2	1	2
Фенотип резистентности	Чувствительные	2	1	-	1
	МЛУ	2	3	2	2
	ШЛУ	-	1	3	-
Интенсивность биопленок	Слабая	1	3	4	2
	Умеренная	3	1	1	1
	Сильная	-	1	-	-
Генотипы (ST)		450 (n=2)	944	2063 (n=2)	450
		1104	1100	1100	944
		1127	1102	1102	1550
			1104	1104	
			2419		

Примечания

- 1 – ВПС – врожденный порок сердца;
- 2 – АП – абдоминальная патология;
- 3 – ТСТ – тяжелая сочетанная травма;
- 4 – МЛУ – множественно-лекарственно устойчивые;
- 5 – ШЛУ – широко-лекарственно устойчивые.

Изоляты *A. baumannii* были выделены от детей, которые наблюдались с хирургической патологией: врожденные пороки сердца – 4 (24)%, абдоминальная патология – 5 (29%), тяжелая сочетанная травма – 5 (29%) и с соматическими заболеваниями, сопровождающимися антибактериальной и/или глюкокортикостероидной терапией – 3 (18%). В целом, изоляты *A. baumannii* у пациентов различных нозологических групп очень схожи по профилю

устойчивости и интенсивности образования биопленок. Некоторые отличия имеются у штаммов *A. baumannii*, выделенных у хирургических пациентов с тяжелой сочетанной травмой, поскольку у этих изолятов чаще, чем у других определялось наличие карбапенемазы группы ОХА-23, также у изолятов, выделенных от этой группы пациентов, чаще был определен фенотип ШЛУ (Таблица 4.6). Стоит отметить, что данные отличия могут не сохраниться при увеличенной выборке.

Из 14 пациентов с положительной гемокультурой диагноз «Сепсис» был у четверых (29%), из них трое имели летальный исход (ЛИ).

В трех случаях положительные высевы *A. baumannii* были получены из образцов ликвора. При этом у 2 пациентов был диагноз «Вентрикуломенингит». Один из них имел ЛИ.

Микробиологическая и клиническая характеристика неблагоприятных исходов отображена в Таблице 4.7.

Таблица 4.7 – Характеристика случаев бактериемии и инфекции ЦНС, ассоциированных с *A. baumannii* и имеющих неблагоприятный исход

Изолят	Возраст пациента	Локус	Патология	Фенотип резистентности	Карбапенемаза	Биопленка	ST
46-3145	1 м	Кровь ЦВК	ВПС + сепсис	CAR, AMG, FQL, STX	OXA-40	L	1104
56-1520	7 м	Кровь ЦВК	АП + сепсис	CAR, AMG, FQL, STX, COL	OXA-40	L	944
79-784	17 л	Ликвор	ТСТ + вентрикуломенингит	CAR, AMG, FQL, STX	-	L	1100
87-190	8 м	Кровь	ВПС + сепсис	CAR, AMG, FQL	OXA-40	M	450

Примечания

- 1 – ВПС – врожденный порок сердца;
- 2 – АП – абдоминальная патология;
- 3 – ТСТ – тяжелая сочетанная травма;
- 4 – L – слабая биопленка;
- 5 – M – умеренная биопленка;
- 6 – CAR – карбапенемы;
- 7 – AMG – аминогликозиды;
- 8 – FQL – фторхинолоны;
- 9 – STX – триметоприм/сульфаметоксазол;
- 10 – COL – колистин;
- 11 – ST – сиквенс-тип.

По данным Таблицы 4.7. в трех эпизодах бактериемии с неблагоприятным исходом, ассоциированной с *A. baumannii*, пациенты были в возрасте до одного года, наблюдались с хирургической патологией и имели диагноз «Сепсис». Выделенные изоляты *A. baumannii* проявляли резистентность минимум к трем группам препаратов (карбапенемы, аминогликозиды и фторхинолоны) и обладали карбапенемазой группы OXA-40. Один из описанных штаммов проявлял устойчивость ко всем исследованным антимикробным препаратам (в том числе к колистину и триметоприм/сульфаметоксазолу). В 2 случаях микроорганизмы обладали слабой способностью к образованию биопленок, и в 1 – умеренной.

В одном случае при летальном исходе *A. baumannii* определялся из пробы ликвора у пациента 17 лет с хирургической патологией и диагнозом «Вентрикуломенингит». Выделенный при этом изолят проявлял устойчивость к карбапенемам, аминогликозидам, фторхинолонам и

триметоприм/сульфаметоксазолу, не имел карбапенемаз и обладал слабой способностью к биопленкообразованию. В случаях, имевших неблагоприятный исход, были определены разные сиквенс-типы *A. baumannii*: ST1104^{Oxf}, ST1100^{Oxf}, ST944^{Oxf}, ST450^{Oxf}.

В Таблице 4.8 приведена сравнительная характеристика изолятов *A. baumannii* при благоприятных и при ЛИ.

Таблица 4.8 – Характеристика изолятов *A. baumannii* при благоприятных и при летальных исходах

Параметр		Исход	
		Выписан (n=13)	Летальный (n=4)
Фенотип резистентности	Чувствительные	4	-
	МЛУ	6	3
	ШЛУ	3	1
Карбапенемаза	ОХА-23	4	-
	ОХА-40	4	3
Вирулентность	<i>bfmR</i>	13	4
	<i>ompA</i>	12	4
	<i>csuA/B</i>	11	4
	<i>bar</i>	13	4
	<i>katE</i>	13	4
Интенсивность биопленок	Слабая	7	3
	Умеренная	5	1
	Сильная	1	-
Генотипы (ST)		450 (n=2) 1102 (n=2) 2063 (n=2) 944, 1100, 1102, 1104, 1127, 1550, 2419	450, 944, 1100, 1104

Примечания

- 1 – МЛУ – множественно-лекарственноустойчивые;
2 – ШЛУ – широко-лекарственноустойчивые.

При анализе данных Таблицы 4.8 нами не было выявлено статистически значимых различий в частоте встречаемости того или иного фенотипического или генетического параметра *A. baumannii* при благоприятных и при ЛИ пациентов.

ГЛАВА 5. *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

5.1. Фенотипы, генотипы устойчивости к антибиотикам и вирулентности, клональное разнообразие *K. pneumoniae*

Из 67 изолятов *K. pneumoniae* ген, отвечающий за продукцию цефалоспориназы CTX-M, был обнаружен у 57 изолятов, что составило 85%. Основной детерминантой устойчивости к карбапенемам был ген OXA-48 – определен у 22 изолятов (33%). Ген МБЛ NDM обнаруживался значительно реже – у шести (9%) изолятов. Комбинацию карбапенемаз групп OXA-48 и NDM имели пять (7%) штаммов. Сочетание различных β -лактамаз представлено на Рисунке 5.1. Гены KPC, IMP и VIM найдены не были. Было определено, что NDM достоверно чаще определялся в период с 2018 по 2021 годы ($p=0,003$).

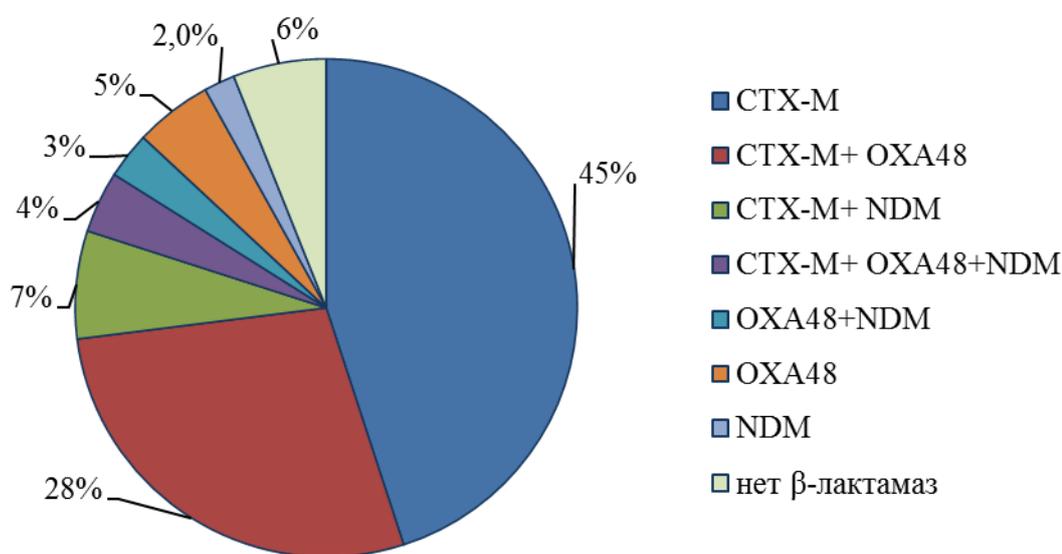
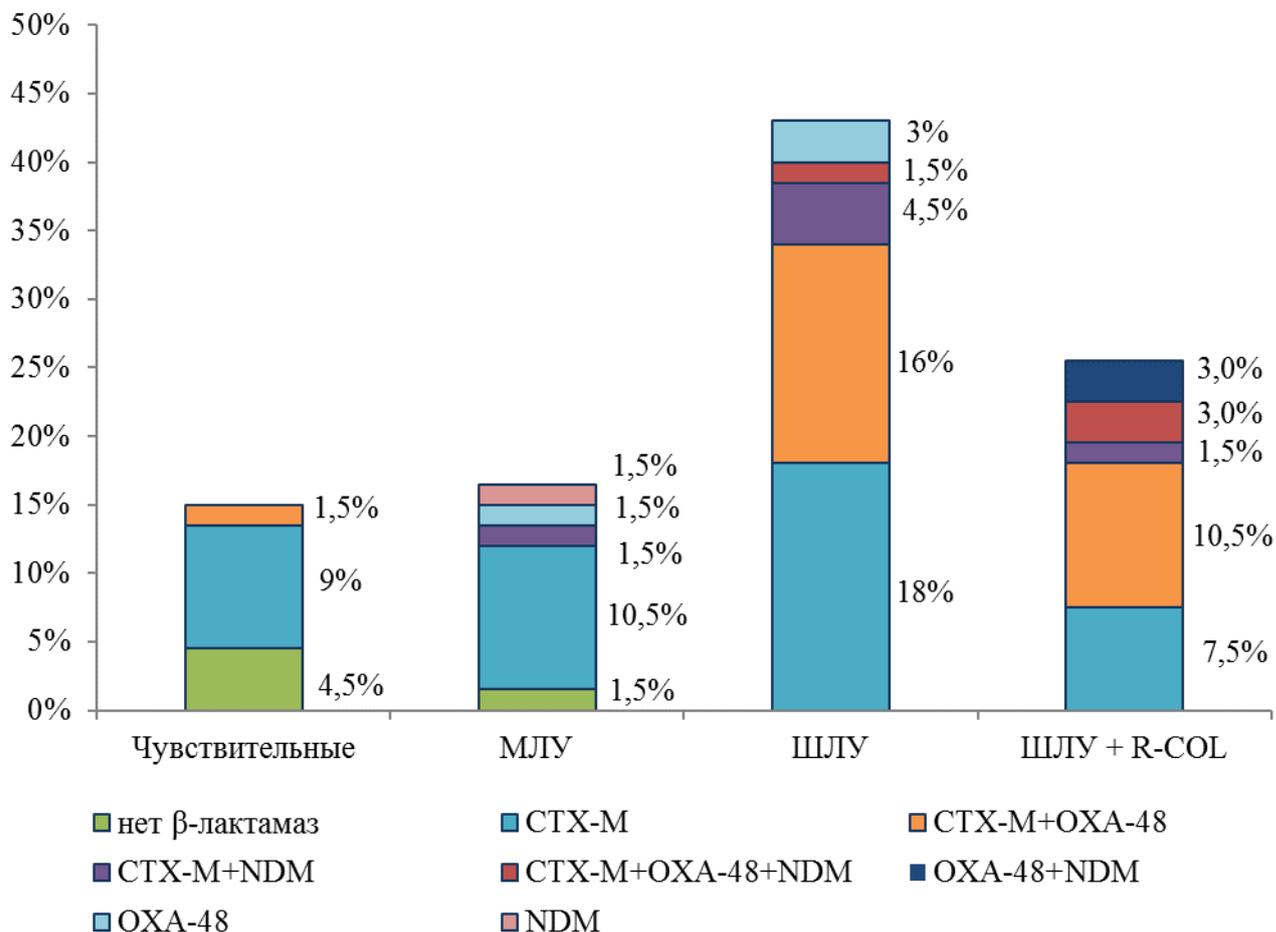


Рисунок 5.1 – Наличие β -лактамаз у изолятов *K. pneumoniae* (n=67)

В соответствии с рекомендациями German G.J. и соавт. были определены фенотипы резистентности [95]. Фенотип МЛУ проявили 11 (16%) изолятов, фенотип ШЛУ имели 29 (43%) штаммов. При этом ШЛУ в сочетании с устойчивостью к колистину была выявлена у 17 (25%) микроорганизмов.

Распространенность β -лактамаз среди изолятов *K. pneumoniae* в зависимости от их фенотипа резистентности представлена на Рисунке 5.2.



Примечание – ШЛУ + R-COL – широкая лекарственная устойчивость в сочетании с резистентностью к колистину.

Рисунок 5.2 – Фенотипические группы и продукция β -лактамаз у *K. pneumoniae*

Цефалоспориноаза СТХ-М определялась у всех изолятов *K. pneumoniae* независимо от фенотипической группы (Рисунок 5.2). Карбапенемазы и их комбинации чаще были выявлены у изолятов с фенотипом ШЛУ и ШЛУ в сочетании с устойчивостью к колистину. При этом и в той, и в другой фенотипической группе преобладали изоляты *K. pneumoniae* с комбинацией карбапенемазы группы ОХА-48 и цефалоспориноазы СТХ-М. Наличие сочетания карбапенемаз групп ОХА-48 и NDM определялось только у штаммов *K. pneumoniae*, имеющих фенотип ШЛУ в сочетании с устойчивостью к колистину.

Формирование биопленок

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

Генетические предикторы вирулентности

Все штаммы *K. pneumoniae* имели гены *entB* и *mrkD*. В значительной доле случаев определялся ген *ybtS* – 52 (78%). Ген аэробактина *iutA* был обнаружен у 12 (18%) штаммов. Способность к связыванию трехвалентного железа, кодируемая геном *kfu*, была характерна всего для двух изолятов (3%). Ген *wzi*, кодирующий капсульный серотип K2, был определен у семи (10%) изолятов *K. pneumoniae* (Рисунок 5.3).

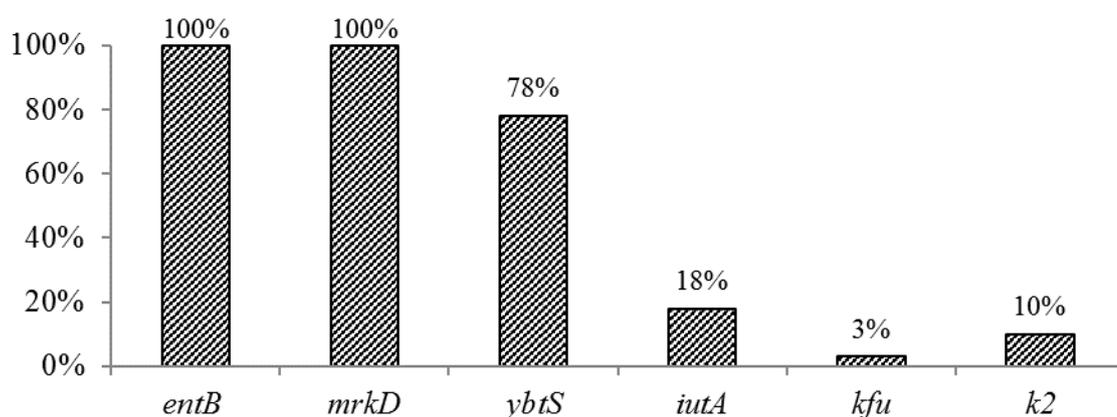


Рисунок 5.3 – Наличие генов вирулентности у изолятов *K. pneumoniae* (n=67)

Штаммы, относящиеся к гипервирулентному серотипу K1, в нашем исследовании не встречались. Гены *rmpA* и *allS* не определялись ни у одного из

изученных изолятов. Вирулентность изолятов, устойчивых к АМП, представлена в Таблице 5.1. Поскольку гены *entB* и *mrkD* определялись у 100% изолятов, в Таблице 5.1 не указаны.

Таблица 5.1 – Вирулентность изолятов *K. pneumoniae*, устойчивых к АМП

Фактор вирулентности		β-лактамаза n (%)			Количество резистентных изолятов n (%)													
		CTX-M (n= 57)	OXA-48 (n= 27)	NDM (n= 11)	MEM (n= 23)	IMI (n= 23)	COL (n= 21)	AZT (n= 61)	TOB (n= 59)	AMK (n= 41)	GEN (n= 51)	FOS (n= 30)	TAZ (n= 62)	FEP (n= 57)	TCC (n= 63)	PTZ (n= 51)	STX (n= 50)	CIP (n= 49)
Интенсивность биопленок	биопленка отсутствует n= 2	2 (4)	1 (4)	-	-	-	1 (5)	2 (3)	2 (3)	1 (2)	1 (2)	-	2 (3)	2 (4)	2 (3)	1 (2)	2 (4)	2 (4)
	слабая n=10	8 (14)	6 (22)	1 (9)	4 (17)	3 (13)	3 (14)	8 (13)	8 (14)	3 (7)	6 (12)	3 (10)	8 (13)	7 (12)	9 (14)	8 (16)	6 (12)	8 (16)
	умеренная n=41	34 (60)	14 (52)	9 (82)	14 (61)	15 (65)	12 (57)	38 (62)	36 (61)	27 (66)	32 (63)	21 (70)	38 (61)	35 (61)	38 (60)	30 (59)	31 (62)	27 (55)
	сильная n=14	13 (22)	6 (22)	1 (9)	5 (22)	5 (22)	5 (24)	13 (21)	13 (22)	10 (24)	12 (24)	6 (20)	14 (23)	13 (23)	14 (22)	12 (24)	11 (22)	12 (25)
Ген вирулентности	<i>ybtS</i> n=52	49 (86)	24 (89)	10 (91)	21 (91)	21 (91)	20 (95)	51 (84)	48 (81)	32 (78)	39 (76)	27 (90)	51 (82)	46 (81)	51 (81)	41 (80)	39 (78)	40 (82)
	<i>iutA</i> n=12	10 (19)	6 (22)	-	3 (13)	3 (13)	5 (24)	11 (18)	12 (20)	4 (10)	12 (24)	4 (13)	11 (18)	10 (18)	12 (19)	12 (24)	9 (18)	12 (24)
	<i>kfu</i> n=2	-	-	1 (9)	-	-	-	-	1 (2)	1 (2)	1 (2)	-	1 (2)	1 (2)	1 (2)	1 (2)	1 (2)	-
	<i>wzi</i> n=7	6 (11)	4 (15)	1 (9)	3 (13)	3 (13)	6 (29)	7 (11)	7 (12)	5 (12)	4 (8)	5 (17)	7 (11)	7 (12)	7 (11)	6 (12)	6 (12)	7 (14)

Примечания

- 1 – no – нет биопленки;
 2 – L – слабая биопленка;
 3 – M – умеренная биопленка;
 4 – S – сильная биопленка;
 5 – MEM – меропенем;
 6 – IMI – имипенем;

- 7 – AZT – азтреонам;
- 8 – TOB – тобрамицин;
- 9 – AMK – амикацин;
- 10 – GEN – гентамицин;
- 11 – FOS – фосфомицин;
- 12 – TAZ – цефтазидим;
- 13 – FER – цефепим;
- 14 – TCC – тикарциллин/клавуланат;
- 15 – PTZ – пиперациллин/тазобактам;
- 16 – STX – триметоприм/сульфаметоксазол;
- 17 – CIP – ципрофлоксацин.

Более 50% изолятов *K. pneumoniae*, формирующих биопленки сильной и умеренной интенсивности, были устойчивы к аминогликозидам, цефалоспорином, азтреонаму, защищенным пенициллинам и цефалоспорином, триметоприм/сульфаметоксазолу, ципрофлоксацину (Таблица 5.1).

Иерсиниабактин определялся у 76-95% резистентных изолятов. Более 75% изолятов, у которых был обнаружен ген аэробактина, проявляли устойчивость к тобрамицину, гентамицину, азтреонаму, цефалоспорином, защищенным пенициллинам и цефалоспорином, триметоприм/сульфаметоксазолу, ципрофлоксацину. Более 86% изолятов K2 серотипа были резистентны к колистину, азтреонаму, тобрамицину, цефалоспорином, защищенным пенициллинам и цефалоспорином, триметоприм/сульфаметоксазолу, ципрофлоксацину.

Популяционная структура изолятов *K. pneumoniae*

У изученных нами изолятов *K. pneumoniae* было обнаружено 27 различных генотипов (Таблица 5.2).

Таблица 5.2 – Данные BURST анализа *K. pneumoniae*

Группа: 1				
ST	Частота	SLV	DLV	SAT
17	1	1	1	
20	2	1		1
784	1		1	1
Группа: 2				
29	4	1		
985	1	1		
Группа: 3				
39	4	1		
667	1	1		
Группа: 4				
307	14	1		
2975	3	1		
Группа: 5				
881	1			
1079	1			

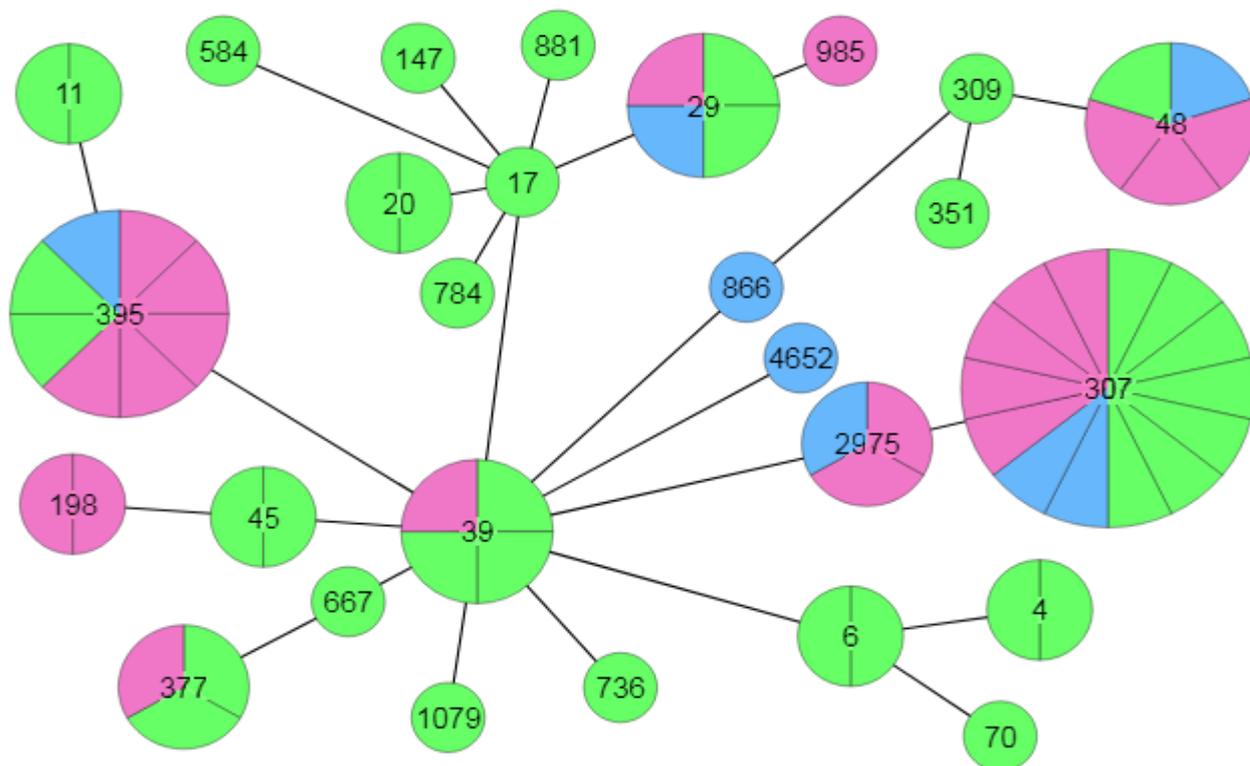
Продолжение Таблицы 5.2

ST	Частота	SLV	DLV	SAT
4652	1			
309	1		2	
351	1		1	1
866	1		1	1
Синглетоны				
4	2			
6	2			
11	2			
45	2			
48	5			
70	1			
147	1			
198	2			
377	3			
395	8			
584	1			
736	1			

Примечания

- 1 – Определение группы: 5 или более совпадений;
 2 – DLV – двухлокусный вариант;
 3 – SLV – однолокусный вариант;
 4 – SAT – сателлит, отдаленно связанный с группой.

Наиболее часто встречающимися были: ST307 – 14 (21%), ST395 – 8 (12%), ST48 – 5 (7%), ST39 – 4 (6%) и ST29 – 4 (6%) (Рисунок 5.4).

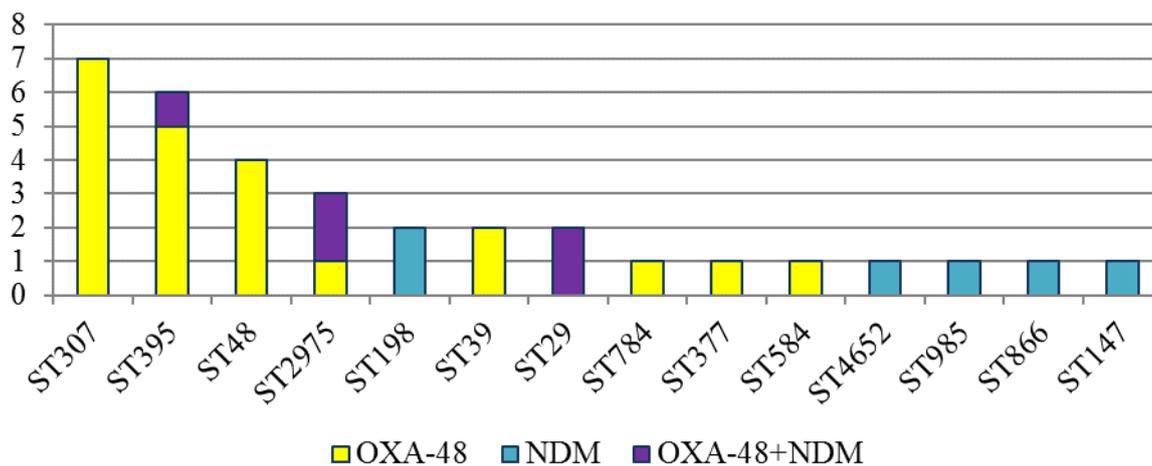


Примечания

- 1 – Розовый цвет – изоляты, резистентные к карбапенемам;
- 2 – Зеленый – чувствительные;
- 3 – Синий – чувствительные при повышенной экспозиции препарата;
- 4 – Секторами обозначено количество изолятов в генотипе.

Рисунок 5.4 – Генотиповой состав *K. pneumoniae* при бактериемии и инфекции ЦНС

Основная масса резистентных к карбапенемам изолятов принадлежала к генотипам: ST307, ST395, ST48, ST29, ST2975 и ST198 (Рисунок 5.4). Среди резистентных к колистину изолятов чаще всего встречались генотипы: ST395 (5), ST307 (5), ST2975 (3). На Рисунке 5.5. представлены генотипы изолятов, обладающих карбапенемазами.



Примечания

1 – Ось абсцисс – генотипы;

2 – Ось ординат – число изолятов.

Рисунок 5.5 – Распространенность карбапенемазы среди представителей различных генотипов *K. pneumoniae*

Было определено, что чаще всего карбапенемазы определялись у изолятов *K. pneumoniae*, являющихся представителями международных клонов высокого эпидемического риска, в частности ST307, ST395 и ST48 (Рисунок 5.5). Распределение детерминант вирулентности среди представителей различных генотипов отображено в Таблице 5.3.

Таблица 5.3 – Детерминанты вирулентности у представителей различных генотипов *K. pneumoniae*

Генотип (n)	n	K2 (<i>wzi</i>)	<i>ybtS</i>	<i>mrkD</i>	<i>entB</i>	<i>kfu</i>	<i>iutA</i>
ST307 (14)	10		+	+	+		+
	4		+	+	+		
ST395 (8)	5	+	+	+	+		
	1		+	+	+		
	1			+	+		
	1	+	+	+	+		+
ST48 (5)	5		+	+	+		
ST39 (4)	4		+	+	+		
ST29 (4)	4		+	+	+		
ST2975 (3)	3		+	+	+		
ST377 (3)	3			+	+		
ST45 (2)	2		+	+	+		
ST198 (2)	2		+	+	+		
ST4 (2)	2		+	+	+		
ST6 (2)	2		+	+	+		
ST20 (2)	2			+	+		
ST11 (2)	2			+	+		
ST784 (1)	1		+	+	+		
ST309 (1)	1		+	+	+		
ST866(1)	1		+	+	+		
ST667 (1)	1		+	+	+		
ST147 (1)	1		+	+	+		
ST70 (1)	1			+	+		
ST17 (1)	1			+	+		
ST351 (1)	1			+	+		
ST985 (1)	1		+	+	+		
ST1079(1)	1			+	+		
ST4652 (1)	1			+	+	+	
ST736 (1)	1			+	+	+	
ST881 (1)	1	+	+	+	+		
ST584(1)	1			+	+		+
Всего	67	7 (10%)	52 (78%)	67 (100%)	67 (100%)	2 (3%)	12 (18%)

Таблица 5.3. показывает, что факторы, отвечающие за гипервирулентность изолятов, наиболее распространены в определенных генотипах. Так сидерофор аэробактин (*iutA*) в 10/12 случаев определялся у представителей ST307 ($p < 0,05$) (Рисунок 5.6).

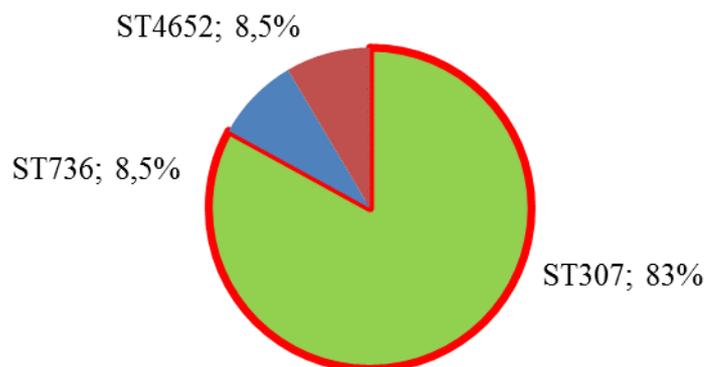


Рисунок 5.6 – Фактор гипервирулентности – *iutA*, ответственный за наличие сидерофора аэробактина (n=12)

Гипермукоидный, гипервирулентный капсульный K2 серотип в шести из семи случаев был определен у изолятов ST395 ($p < 0,05$) (Рисунок 5.7). Система утилизации Fe^{3+} *kfu* была определена у двух штаммов с ST736 и ST4652.

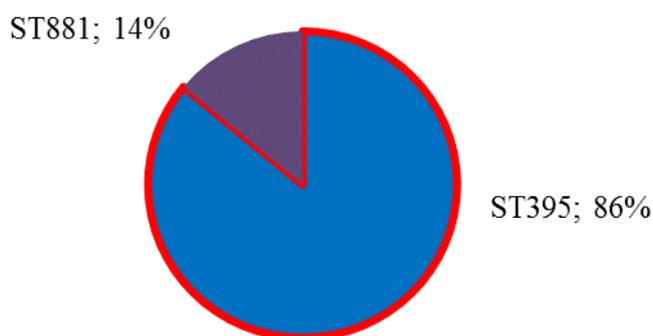


Рисунок 5.7 – Капсульный серотип K2 (n=7)

Представители ST307 были способны к формированию биопленок разной интенсивности: половина изолятов формировала умеренные биопленки, четыре изолята – сильные и три – слабые. Половина изолятов ST395 также формировала умеренные биопленки, три – слабые и один изолят не формировал биопленку. Изоляты ST48 имели сильные и умеренные биопленки. Два из трех изолятов ST2975 формировали умеренные биопленки и один – сильную. Все представители ST39, ST29, ST198, ST6, ST4 образовывали биопленки умеренной интенсивности. Оба изолята генотипа ST11 формировали сильные биопленки.

Популяционная структура *K. pneumoniae* в разных отделениях двух стационаров представлена в Таблице 5.4.

Таблица 5.4 – Генотипическое разнообразие *K. pneumoniae* в отделениях в разные годы

Год	ОРИТ С1	ОРИТ новорожденных С1	Соматическое отделение С1	ОРИТ С2
2014	ST11++ ST48++	ST48+ ST307++	-	ST70+
2015	ST17+ ST307+++	ST48++ ST351+	-	-
2016	ST307++++ ST4652+	-	-	ST395+
2017	ST307++ ST395+ ST784+ (DLV ST17) ST881+	-	ST4+	ST4+ ST45+ ST307++ ST377++
2018	ST6++ ST29+ ST307+ ST985+ (SLV ST29) ST2975+ (SLV ST307)	ST29++ ST39+ ST198++ ST309+ ST395+ ST2975++ (SLV ST307)	-	-
2019	ST29+ ST395+	ST395+	-	ST395+ ST377+
2020	-	ST20+ ST39+	ST866+ ST1079+	ST395+ ST584+ ST667+ (SLV ST39)
2021	ST45+	ST20+ ST395+ ST736+	-	ST39++ (SLV ST667) ST147+

Примечания

- 1 – SLV – однолокусный вариант;
 2 – DLV – двухлокусный вариант;
 3 – «+» – частота выделения.

В ОРИТ С1 в течение четырех лет с 2015 по 2018 гг. при бактериемии и инфекции ЦНС у детей часто выделялись *K. pneumoniae* с генотипом ST307. В 2018 году появился его однолокусный вариант ST2975 (Таблица 5.4). Изоляты ST395 выделялись в 2017 и 2019 гг. Генотип ST29 встречался с 2018 по 2019 гг.

Изоляты с генотипами ST6, ST11, ST17, ST784, ST881, ST985 и ST4652 встречались только в этом отделении.

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

Спорадические случаи бактериемии в двух соматических отделениях С1 в 2017 и 2020 гг. ассоциированы с *K. pneumoniae* разных генотипов, не входящих в число клонов высокого международного риска.

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

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

5.2. Клинические особенности *K. pneumoniae*-инфекции кровотока и инфекции центральной нервной системы

По результатам оценки клинических данных изоляты *K. pneumoniae* были выделены от 64 детей в возрасте от 5 суток до 17 лет. Медиана возраста – 4 месяца (1м; 12м). Пациенты были разделены на 4 возрастные группы: I (0-1 год) – 46 детей (71,8%), II (1-3 лет) – 3 ребенка (4,7%), III (3-7 лет) – 3 ребенка (4,7%), IV (7-17 лет) – 12 детей (18,8%).

Характеристика изолятов, выделенных от детей разных возрастных групп, отображена в Таблице 5.5. Наиболее многочисленной была группа детей в возрасте до 1 года. Значительная часть МЛУ и ШЛУ изолятов, продуцирующих карбапенемазы, была выделена от пациентов первой и четвертой групп. Генотип ST307 распространен у детей до 7 лет. А генотип ST395 – в группе детей до года и у пациентов старше 7 лет.

Таблица 5.5 – Характеристика изолятов *K. pneumoniae* в разных возрастных группах

Параметр		Возрастная группа			
		до 1 года (n=46)	от 1 до 3 лет (n=3)	от 3 до 7 лет (n=3)	от 7 до 17 лет 11 месяцев (n=12)
Карбапе немаза	ОХА-48	13	2	2	5
	NDM	5	-	-	1
	ОХА-48+NDM	4	-	-	1
Фенотип резистен тности	Чувствительные	8	-	-	1
	МЛУ	8	1	-	1
	ШЛУ	16	2	3	7
	ШЛУ+COL	14	-	-	3
Интенси вность био плен ок	Нет био пленки	-	-	-	2
	Слабая	6	2	-	2
	Умеренная	31	1	2	5
	Сильная	9	-	1	3
Генотипы (ST)		307 (n=10), 395 (n=6), 48 (n=5), 29 (n=3), 2975 (n=3), 11 (n=2), 20 (n=2), 39 (n=2), 198 (n=2), 4, 6, 45, 309, 351, 736, 784, 866, 881, 985, 4652	307 (n=2) 377 (n=1)	307 (n=2) 377 (n=1)	39 (n=2) 395 (n=2) 4, 29, 45, 70, 147, 584, 667, 1079

Примечания

1 – МЛУ – множественно-лекарственно устойчивые;

2 – ШЛУ – широко-лекарственно устойчивые;

3 – ШЛУ+ COL – широко-лекарственно устойчивые в сочетании с устойчивостью к колистину.

Штаммы *K. pneumoniae* были получены от детей, наблюдавшихся с хирургической патологией (врожденные пороки сердца – 18 (28%), абдоминальная патология – 25 (39%), тяжелая сочетанная травма – 8 (12%) и с соматическими заболеваниями, сопровождающимися антибактериальной и/или глюкокортикостероидной терапией – 10 (16%). По 3 пациентам нет данных о характере патологии.

Нами был проведен анализ характеристик изолятов *K. pneumoniae*, полученных от детей с разной патологией (Таблица 5.6).

Таблица 5.6 – Характеристика изолятов *K. pneumoniae* у пациентов разных нозологических групп

Параметр изолята		Хирургическая патология			Соматическая патология (n=10)
		ВПС (n=18)	АП (n=25)	ТСТ (n=8)	
Карбапенемаза	ОХА-48	5	8	5	2
	NDM	1	3	1	1
	ОХА-48+ NDM	-	3	-	2
Фенотип резистентности	Чувствительные	2	4	-	3
	МЛУ	3	4	-	3
	ШЛУ	5	12	7	3
	ШЛУ+COL	8	5	1	1
Интенсивность биопленки	Нет биопленки	-	-	1	1
	Слабая	3	2	3	1
	Умеренная	9	18	4	6
	Сильная	6	5	-	2
Генотип (ST)		307 (n=9) 395 (n=2) 11 (n=2) 39, 784, 881, 985, 2975	48 (n=5) 395 (n=3) 29 (n=2) 39 (n=2) 198 (n=2) 307 (n=2) 2975 (n=2) 6, 20, 45, 309, 351, 667, 866	377 (n=2) 395 (n=2) 4, 147, 307, 584	29 (n=2) 307 (n=2) 4, 20, 45, 736, 1079, 4652

Примечания

- 1 – ВПС – врожденный порок сердца;
- 2 – АП – абдоминальная патология;
- 3 – ТСТ – тяжелая сочетанная травма;
- 4 – МЛУ – множественно-лекарственно устойчивые;
- 5 – ШЛУ – широко-лекарственно устойчивые;
- 6 – ШЛУ+ COL – широко-лекарственно устойчивые в сочетании с устойчивостью к колистину

Таблица 5.6 показывает, что при хирургической патологии чаще выделяются резистентные изоляты с карбапенемазами. У детей с врожденными пороками сердца чаще выделяются *K. pneumoniae* с ШЛУ, имеющие карбапенемазу группы ОХА-48, с умеренным и сильным биопленкообразованием. В этой группе наиболее распространен генотип ST307. По параметрам устойчивости и биопленкообразования *K. pneumoniae*, полученные от пациентов с хирургической абдоминальной патологией, довольно агрессивные, наиболее часто определяемыми генотипами являются ST48 и ST395.

В четырех случаях положительные высевы *K. pneumoniae* были получены из образцов ликвора. При этом двум пациентам был поставлен диагноз «Менингит». Из 60 пациентов с положительной гемокультурой диагноз «Сепсис» был у 19 (32%). ЛИ был в 16 эпизодах бактериемии. Микробиологическая характеристика неблагоприятных исходов отображена в Таблице 5.7.

Таблица 5.7 – Характеристика летальных случаев бактериемии, ассоциированной с *K. pneumoniae* (n=16)

Изолят	Возраст пациента	Локус	Патология	Фенотип резистентности	Карбапенемаз а	Интенсивность биопленки	ST
46-3010	20 дн	кровь ЦВК	ВПС	AZT, AMG, CEP, STX, FQL	-	Сильная	11
46-3088	7 дн	кровь ЦВК	ВПС	COL, AZT, AMG, FOS, CEP, STX, FQL	-	Сильная	11
48-685	1 м	кровь	АП	CAR, AZT, AMG, FOS, CEP, STX, FQL	OXA-48	Сильная	48
48-1775	1 м	кровь	ВПС	COL, AZT, AMG, CEP, FQL	-	Сильная	307
56-484	5 м	кровь ЦВК	ВПС	CAR, COL, AMG, FOS, CEP, STX, FQL,	OXA-48	Слабая	307
66-1207	3 г 2 м	кровь ЦВК	ВПС	AZT, AMG, CEP, STX, FQL	-	Сильная	307
76-413	16 дн	кровь ЦВК	ВПС	AZT, CEP, STX, FQL	OXA-48	Слабая	784
76-2384	15 дн	кровь	ВПС	COL, AZT, AMG, FOS, CEP, FQL	-	Умеренная	395
79-93	1 г	кровь	ТСТ	CAR, AZT, AMG, FOS, CEP, STX, FQL	OXA-48	Умеренная	307
79-95	11 л	кровь	АП	AZT, CEP, STX, FQL	-	Сильная	45
86-1045	2 м	кровь ЦВК	ВПС	CAR, COL, AZT, AMG, CEP, STX, FQL	OXA-48	Умеренная	2975
86-3209	6 м	кровь	ВПС	AZT, AMG, CEP, FQL	-	Умеренная	6
86-3165	1 м	кровь	ВПС	CAR, COL, AZT, AMG, FOS, CEP, STX, FQL	NDM	Умеренная	985
88-636	8 дн	кровь	ВПС	AZT, FOS, CEP, STX, FQL	-	Умеренная	39
96-857	7 л 10 м	кровь ЦВК	Соматическая	CAR, COL, AZT, AMG, FOS, CEP, STX, FQL	OXA-48 + NDM	Умеренная	29
98-882	1 м	кровь	АП	COL, AZT, AMG, FOS, CEP, STX, FQL	-	Умеренная	395

Примечания

- 1 – ВПС – врожденный порок сердца;
- 2 – АП – абдоминальная патология;
- 3 – ТСТ – тяжелая сочетанная травма;
- 4 – AZT – азтреонам;
- 5 – AMG – аминогликозиды;
- 6 – CEP – цефалоспорины;
- 7 – STX – триметоприм/сульфаметоксазол;
- 8 – FQL – фторхинолоны;
- 9 – FOS – фосфомицин;
- 10 – COL – колистин;
- 11 – CAR – карбапенемы.

По данным Таблицы 5.7 в 11 (69%) случаях ЛИ с *K. pneumoniae*-бактериемией был у пациентов, наблюдавшихся с врожденными пороками сердца. Преобладали дети в возрасте до года (медиана – 1 месяц). При ЛИ бактериемии были выделены изоляты *K. pneumoniae* с высоким уровнем устойчивости к АМП: карбапенемы – 38% (n=6); колистин/ фосфомицин – 50% (n=8); триметоприм/сульфаметоксазол/ аминогликозиды - 81% (n=13); азтреонам - 94% (n=15); цефалоспорины/ фторхинолоны – 100% (n=16).

Сравнительная характеристика свойств изолятов *K. pneumoniae* у выписанных пациентов и пациентов с ЛИ приведена в Таблице 5.8.

Таблица 5.8 – Характеристика изолятов *K. pneumoniae* при благоприятных и при летальных исходах

Параметр		Исход (n,%)	
		Выписан (n=48)	Летальный (n=16)
Фенотипическая группа	Чувствительный	5 (10%)	4 (25%)
	МЛУ	10 (21%)	-
	ШЛУ	24 (50%)	4 (25%)
	ШЛУ+COL	9 (19%)	8 (50%)
β-лактамаза	CTX-M	39 (81%)	16 (100%)
	OXA-48	17 (35%)	5 (31%)
	NDM	5 (10%)	1 (6%)
	OXA-48 + NDM	4 (8%)	1 (6%)
Ген вирулентности	<i>entB</i>	48 (100%)	16 (100%)
	<i>mrkD</i>	48 (100%)	16 (100%)
	<i>ybtS</i>	37 (77%)	14 (87,5%)
	<i>iutA</i>	8	4
	<i>wzi</i> (K2)	5	2
	<i>kfu</i>	2	-
Биопленка	Нет пленки	2	-
	Слабая	7	2
	Умеренная	31	8
	Сильная	8	6
Генотип (ST)		307 (n=10) 395 (n=6) 48 (n=4), 29 (n=3), 39 (n=3), 4 (n=2), 20 (n=2), 198 (n=2), 377 (n=2), 2975 (n=2), 45, 70, 147, 309, 351, 584, 667, 736, 866, 881, 1079, 4652	307 (n=4) 395 (n=2) 11 (n=2) 6, 29, 39, 45, 48, 784, 985,2975

При сравнении характеристик *K. pneumoniae*, полученных при бактериемиях с благоприятными и неблагоприятными исходами (Таблица 5.8), мы выявили, что достоверно чаще МЛУ изоляты были определены у пациентов с благоприятными исходами ($n=10$, $p=0.04318$). ШЛУ изоляты в сочетании с устойчивостью к колистину чаще определялись при бактериемиях с ЛИ ($n=8$, $p=0.02284$). Других статистически значимых различий характеристик изолятов *K. pneumoniae* в этих двух группах не выявлено.

При бактериемии и инфекции ЦНС с ЛИ, ассоциированной с *K. pneumoniae*, 12 пациентов были в возрасте до одного года, два пациента – от года до семи лет, два – от семи до 17 лет. При этом *K. pneumoniae* колонизировала от 1 до 9 локусов. В семи случаях ЛИ наступил в первые двое суток после выявления бактериемии. В четырех – от трех до восьми суток. В пяти – от 13 до 24 дней. 15 пациентов наблюдались с хирургической патологией, и один – с соматической. У 10 – был диагностирован сепсис.

У троих пациентов были изучены случаи повторного инфицирования кровотока/ЦНС *K. pneumoniae* (Таблица 5.9).

Таблица 5.9 – Характеристика повторных эпизодов инфицирования кровотока/ЦНС *K. pneumoniae*

Пациент	№ изолята	Источник	Дата выделения	Резистентность	Ген резистентности	Ген вирулентности	Интенсивность биопленки	Генотип
1	56-470	Кровь	14.04.2015	GEN, FOS, TCC, PTZ, STX	-	-	Умеренная	17
	56-484	Кровь ЦВК	16.04.2015	COL, TOB, GEN, FOS, TCC, PTZ, STX, CIP	CTX-M, OXA-48	<i>ybtS, iutA</i>	Слабая	307
2	79-689	Кровь	21.08.2017	AZT, TOB, GEN, AMK, CER, TCC, PTZ, STX, CIP	CTX-M	-	Слабая	377
	79-696	Ликвор	25.08.2017	AZT, TOB, GEN, AMK, CER, TCC, PTZ, STX, CIP	CTX-M	-	Умеренная	377
3	86-2001	Кровь	19.09.2018	AZT, TOB, GEN, AMK, FOS, CER, TCC, PTZ, STX, CIP	CTX-M, OXA-48, NDM	<i>ybtS</i>	Умеренная	29
	86-3209	Кровь	20.12.2018	AZT, TOB, CER	CTX-M	<i>ybtS</i>	Умеренная	6

Примечания

- 1 – GEN– гентамицин;
2 – FOS – фосфомицин;
3 – TCC – тикарциллин/клавуланат;
4 – PTZ – пиперациллин/тазобактам;
5 – STX – триметоприм/сульфаметоксазол;
6 – COL – колистин;
7 – TOB – тобрамицин;
8 – CIP – ципрофлоксацин;
9 – AZT – азтреонам;
10 – AMK – амикацин;
11 – CER – цефалоспорины.

В первом случае повторного выделения *K. pneumoniae* из крови одного пациента было определено, что в течение двух дней произошла замена относительно чувствительного микроорганизма без генов резистентности и вирулентности на изолят, принадлежащий к международному клону высокого риска с устойчивостью к колистину, β -лактамазами, генами иерсиниабактина и аэробактина. Не исключено, что в данном случае при повторном определении бактериемии изолят имел иное происхождение, поскольку был выделен из ЦВК (Таблица 5.9).

Во втором случае через трое суток после выявления бактериемии изолят того же генотипа и с идентичным профилем чувствительности к АМП был определен в пробе ликвора. Единственным отличием, которое мы зафиксировали, была более высокая способность к формированию биопленок у изолята из пробы ликвора.

В третьем случае эпизод повторного высева был зафиксирован спустя три месяца. При этом повторная бактериемия была ассоциирована с изолятом, имеющим благоприятный профиль чувствительности к АМП и не относящимся к международному клону высокого риска, что отличало его от изолята, полученного при первичном выделении.

ГЛАВА 6. *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

6.1. Фенотипы, генотипы антибиотикорезистентности и вирулентности, популяционное разнообразие *P. aeruginosa*

Согласно рекомендациям German G.J. и соавт. у изолятов *P. aeruginosa* (n=25) были определены фенотипы резистентности [95]. Было выявлено девять (36%) МЛУ штаммов и 11(44%) – ШЛУ. Пять (20%) изолятов имели благоприятный профиль чувствительности к АМП и относились к категории чувствительных.

Среди изолятов *P. aeruginosa* частота выявления МБЛ группы VIM составила 56%. Карбапенемазы групп NDM и IMP обнаружены не были. Сериновая карбапенемаза GES была определена у пяти изолятов (20%). Комбинации карбапенемаз не определялись. Практически все МЛУ изоляты обладали карбапенемазами: VIM – 7 (28%) и GES – 1 (4%). У одного МЛУ изолята *P. aeruginosa* карбапенемазы найдены не были. Все ШЛУ штаммы имели карбапенемазы: VIM – 7 (28%) и GES – 4 (16%), см. (Рисунок 6.1).

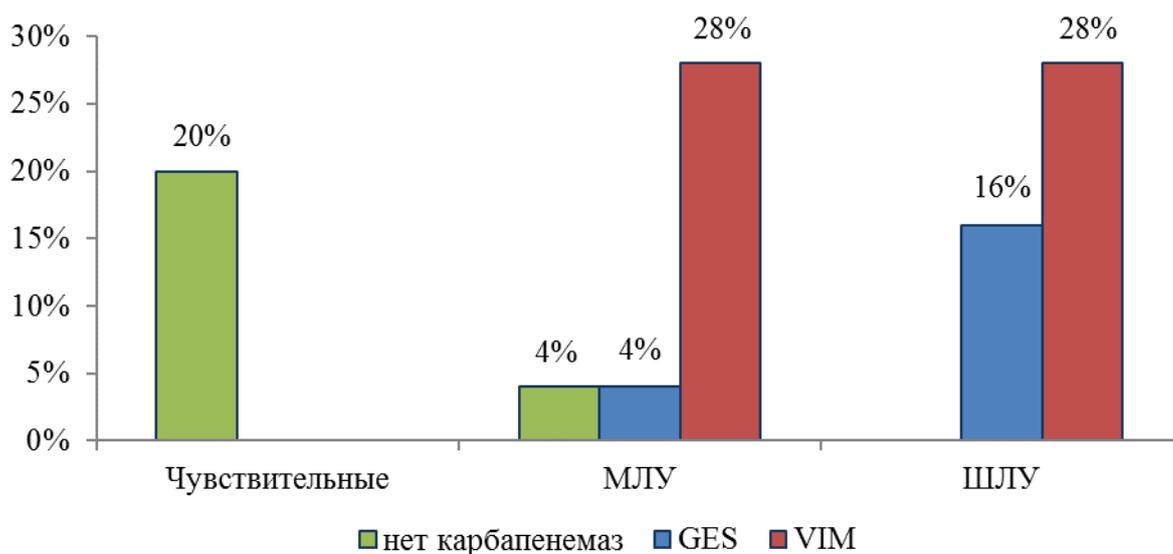
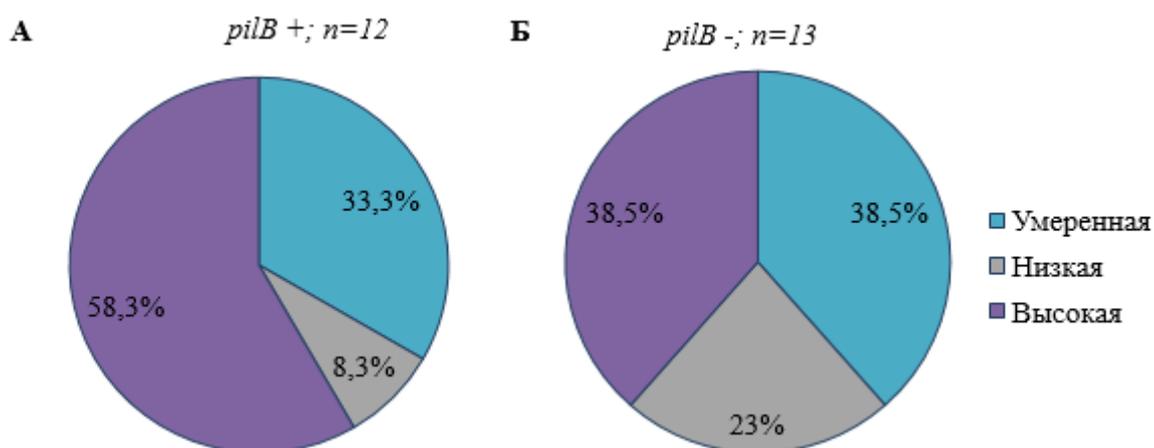


Рисунок 6.1 – Фенотипические группы и продукция VIM и GES у *P. aeruginosa*

Образование биопленок

Все изоляты *P. aeruginosa* (n=25) были способны к образованию биопленок на абиотической поверхности. По результатам измерения оптической плотности 12 (48%) штаммов формировали сильные биопленки, 9 (36%) – умеренные и четыре (16%) – слабые.

Изоляты, имеющие ген *pilA* (n=3), формировали сильные и умеренные биопленки. Изоляты с геном *pilB* (n=12) чаще формировали сильные биопленки, чем штаммы, у которых не было определено наличие этого гена (Рисунок 6.2).



Примечания

1 – А – Оптическая плотность биопленок у изолятов, имеющих ген *pilB*;

2 – Б – Оптическая плотность биопленок у изолятов, не имеющих ген *pilB*;

3 – Цветовая маркировка указана в соответствии с интенсивностью биопленок.

Рисунок 6.2 – Оптическая плотность биопленок, образованных изолятами *P. aeruginosa*, в зависимости от наличия/отсутствия гена *pilB*

Молекулярные механизмы вирулентности изолятов *P. aeruginosa*

Образцы ДНК изолятов *P. aeruginosa*, выделенных из гемокультур и образцов ликвора, были проанализированы на наличие 13 генов, ассоциированных с вирулентностью. Результаты анализа показали значительную вариабельность, как по наличию данных генов, так и по их сочетанию внутри штаммов рассматриваемой выборки (Рисунок 6.3).

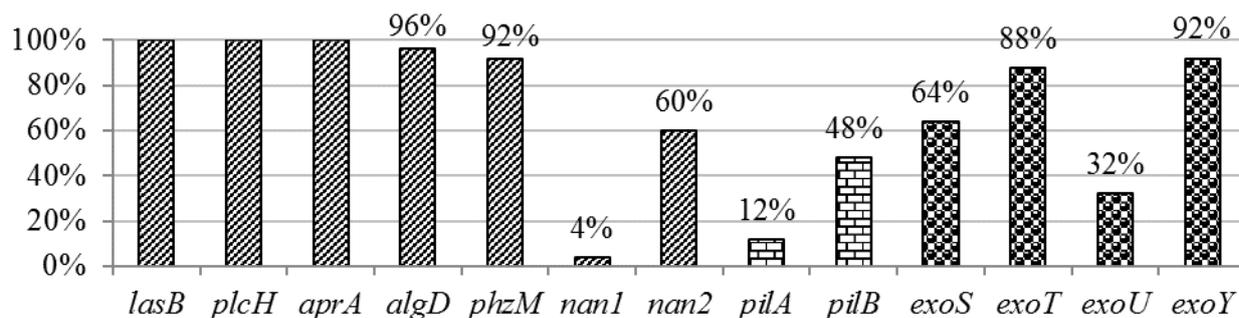


Рисунок 6.3 – Наличие генов вирулентности у изолятов *P. aeruginosa* (n=25)

В образцах ДНК у всех 25 изолятов были обнаружены гены, кодирующие эластазу (*lasB*), фосфолипазу C (*plcH*) и щелочную протеазу (алкалинпротеазу, *aprA*). Гены, регулирующие синтез альгината (*algD*) и пиоцианина (*phzM*), были выявлены у 24 (96%) и 23 (92%) изолятов, соответственно. Определены гены, кодирующие нейраминидазу: *nan1* – у одного штамма (4%) и *nan2* – у 15 (60%) штаммов. Гены, ответственные за продукцию пилей *pilA* и *pilB*, были выявлены у 3 (12%) и 12 (48%) штаммов, соответственно (Рисунок 6.3).

Гены эффекторы системы секреции III типа *exoS*, *exoT*, *exoU* и *exoY* были найдены у 16 (64%), 22 (88%), 8 (32%) и 23 (92%) изолятов, соответственно. Большинство изученных штаммов (20 из 25) имели различные комбинации трех описанных генов, отвечающих за синтез экзотоксинов системы секреции III типа. Наиболее частое сочетание трех генов, а именно *exoS*, *exoT* и *exoY*, было обнаружено у 15 штаммов (60%). У четырех изолятов (16%) было идентифицировано по 2 гена в различных комбинациях. Только один изолят ST3823 (SLV155) обладал единственным геном *exoS*.

Факторы вирулентности устойчивых к АМП изолятов *P. aeruginosa* отражены в Таблице 6.1.

Таблица 6.1 – Вирулентность изолятов *P. aeruginosa*, устойчивых к АМП

Фактор вирулентности		β-лактамаза n (%)		Количество резистентных изолятов n (%)								
		VIM n=14	GES n=5	CAR n=20	AMK n=9	TOB n=18	PTZ n=13	TAZ n=20	CZA n=17	CT n=20	AZT n=7	CIP n=19
Биопленка	Слабая (n=4)	2 (14)	2 (40)	4 (20)	2 (22)	2 (11)	2 (15)	4 (20)	4 (23)	4 (20)	2 (28,5)	3 (16)
	Умеренная (n=9)	4 (29)	2 (40)	7 (35)	4 (44)	6 (33)	4 (31)	7 (35)	5 (30)	7 (35)	2 (28,5)	7 (37)
	Сильная (n=12)	8 (57)	1 (20)	9 (45)	3 (33)	10 (56)	7 (54)	9 (45)	8 (47)	9 (45)	3 (43)	9 (47)
Система секреции III типа	<i>exoS</i> (n=16)	11 (79)	1 (20)	13 (65)	2 (22)	11 (61)	7 (54)	13 (65)	12 (71)	13 (65)	5 (71)	12 (63)
	<i>exoU</i> (n=8)	3 (21)	3 (60)	6 (30)	6 (67)	7 (39)	5 (38)	6 (30)	4 (23)	6 (30)	1 (14)	6 (32)
	<i>exoT</i> (n=22)	14 (100)	2 (40)	17 (85)	7 (78)	16 (89)	10 (77)	17 (85)	16 (94)	17 (85)	6 (86)	17 (89)
	<i>exoY</i> (n=23)	13 (93)	4 (80)	18 (90)	9 (100)	17 (94)	11 (85)	18 (90)	15 (88)	18 (90)	6 (86)	18 (95)
Пили	<i>pilA</i> (n=3)	1 (7)	-	1 (5)	-	1 (6)	2 (15)	2 (10)	1 (6)	2 (10)	1 (14)	1 (5)
	<i>pilB</i> (n=12)	11 (79)	1 (20)	12 (60)	3 (33)	12 (67)	6 (46)	12 (60)	12 (71)	12 (60)	4 (57)	12 (63)
Нейраминидаза	<i>nan2</i> (n=15)	8 (57)	2 (40)	11 (55)	5 (56)	9 (50)	7 (54)	11 (55)	10 (59)	11 (55)	4 (57)	10 (53)
Альгинат	<i>algD</i> (n=24)	13 (93)	5 (100)	19 (95)	8 (89)	17 (94)	13 (100)	19 (95)	16 (94)	19 (95)	7 (100)	18 (95)
Пиоционин	<i>phzM</i> (n=23)	12 (86)	5 (100)	18 (90)	9 (100)	16 (89)	12 (92)	18 (90)	15 (88)	18 (90)	6 (86)	17 (89)

Примечания

1 – CAR – карбапенемы (меропенем, имипенем);

2 – AMK – амикацин;

3 – TOB – тобрамицин;

4 – PTZ – пиперациллин/тазобактам;

5 – TAZ – цефтазидим;

6 – CZA – цефтазидим/авибактам;

7 – CT – цефтолозан/тазобактам;

8 – AZT – азтреонам;

9 – CIP – ципрофлоксацин.

Факторы вирулентности *lasB*, *plcH* и *aprA* не были включены в Таблицу 6.1, поскольку были обнаружены у 100% изолятов. Один из генов, отвечающих за продукцию нейраминидазы – *nan1*, был определен только у одного изолята, относившегося к категории чувствительных к АМП, и поэтому в Таблице 6.1 также не отображен.

По данным Таблицы 6.1 можно заключить, что более 50% изолятов *P. aeruginosa*, формирующих сильные биопленки, были резистентны к нескольким АМП и имели МБЛ группы VIM. Все изоляты, имеющие ген *pilB*, были устойчивы к карбапенемам, тобрамицину, цефтазидиму, цефтазидим/авибактаму, цефтолозан/тазобактаму и ципрофлоксацину.

Изоляты *exoU* + в большинстве своем были резистентны к карбапенемам, аминогликозидам, пиперациллин/тазобактаму, цефтазидиму, цефтолозан/тазобактаму и ципрофлоксацину.

Значительная часть штаммов, устойчивых к карбапанемам, цефалоспорином, тобрамицину и ципрофлоксацину, АМП имела гены *exoS* и *nan2*.

Клональная структура штаммов *P. aeruginosa*

Популяционная структура изолятов *P. aeruginosa* представлена 16 различными сиквенс-типами (Таблица 6.2).

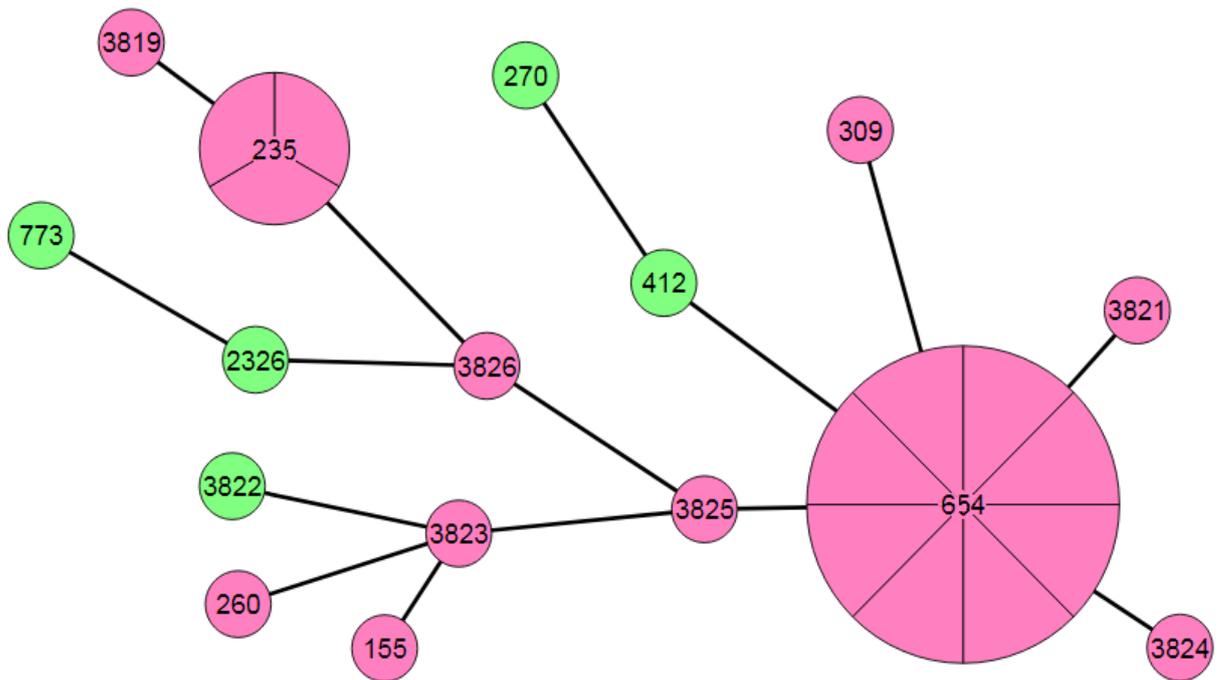
Таблица 6.2 – Данные BURST анализа *P. aeruginosa* [202]

Группа: 1			
ST	Частота	SLV	DLV
155	1	1	
3823*	1	1	
Группа: 2			
235	3	1	
3819*	1	1	
Группа: 3			
654 ^a	8	3	
3821*	1	1	2
3824*	1	2	1
3825*	1	2	1
Синглетоны			
260	1		
270	1		
309	1		
412	1		
773	1		
2326	1		
3822*	1		
3826*	1		

Примечания

- 1 – Определение группы: 5 или более совпадений;
 2 – DLV – двухлокусный вариант;
 3 – SLV – однолокусный вариант;
 4 – ^a – центральный ST;
 5 – * – впервые выявленные ST.

В структуре лидировали представители двух сиквенс-типов ST654 (32%) и ST235 (12%). Другие сиквенс-типы были представлены по одному изоляту. Впервые были описаны семь сиквенс-типов. ST3819 – новая аллель *mutL* (однолокусный вариант ST235). Однолокусные варианты ST654: с новой аллелью *ppsA* – ST3821 и с новыми аллелями *mutL* – сиквенс-типы 3824 и 3825. Однолокусный вариант ST155 – сиквенс-тип 3823 (новая аллель *mutL*). Также впервые описаны сиквенс-типы, представленные синглетоны: 3822, 3826 (Рисунок 6.4).



Примечания

- 1 – Розовый цвет – изоляты, резистентные к карбапенемам;
 2 – Зеленый – чувствительные.

Рисунок 6.4 – Популяционная структура *P. aeruginosa*

Результаты анализа наличия генов вирулентности и резистентности у изолятов *P. aeruginosa*, представленные в Таблице 6.3, показали, что носителями VIM были все изоляты ST654 и его однолокусные варианты, изолят ST309, а также два изолята ST235. Карбапенемаза GES (n=5) была обнаружена у одного из изолятов ST235 и его SLV, изолятов ST155 и его SLV, а также штамма ST3826. ST235 и его SLV составили 50% *exoU+* культур (n=8). Изоляты с *ExoS*-типом (n=16) относились к 10 различным ST, среди которых преобладал ST654 и его SLV. Самое большое количество факторов вирулентности (n=11) было определено у изолята с генотипом ST270 (Таблица 6.3).

Таблица 6.3 – Наличие генов вирулентности и резистентности у штаммов *P. aeruginosa* разных генотипов

Генотип	Изолят	<i>lasB</i>	<i>plcH</i>	<i>arpA</i>	<i>algD</i>	<i>phzM</i>	<i>nan1</i>	<i>nan2</i>	<i>pilA</i>	<i>pilB</i>	<i>exoS</i>	<i>exoT</i>	<i>exoU</i>	<i>exoY</i>	VIM	GES
654 (8)	56-140															
	79-621															
	76-1886 216-599	+	+	+	+	+		+		+	+	+		+	+	
3821 -SLV654	86-1713															
	86-1708	+	+	+	+	+				+	+	+		+	+	
	208-2956															
	216-2416	+	+	+	+					+	+	+		+	+	
3821 -SLV654	201-4115	+	+	+	+	+		+		+	+	+		+	+	
3824 -SLV654	209-12	+	+	+	+			+		+	+	+		+	+	
3825 -SLV654	209-530	+	+	+	+	+				+	+	+		+	+	
235(3)	46-891	+	+	+		+		+				+	+	+	+	
	57-213	+	+	+	+	+		+				+	+	+	+	
	206-3139	+	+	+	+	+							+	+		+
3819 -SLV235	209-952	+	+	+	+	+						+	+			+
155	76-2249	+	+	+	+	+		+			+		+			+
3823 -SLV155	76-2399	+	+	+	+	+		+			+					+
309	216-553	+	+	+	+	+			+			+	+		+	
3826	219-1	+	+	+	+	+				+		+	+	+		+
260	88-363	+	+	+	+	+		+			+	+		+		
412	78-2243	+	+	+	+	+		+			+	+		+		
3822	66-1705	+	+	+	+	+		+	+		+	+		+		
773	56-886	+	+	+	+	+		+				+	+	+		
2326	209-840	+	+	+	+	+						+	+	+		
270	99-860	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+		+		
Всего	25	25 (100%)	25 (100%)	25 (100%)	24 (96%)	23 (92%)	1 (4%)	15 (60%)	3 (12%)	12 (48%)	16 (64%)	22 (88%)	8 (32%)	23 (92%)	14 (56%)	5 (20%)

Примечание – SLV – однолокусный вариант.

6.2. Клинические характеристики случаев инфекции кровотока и инфекции центральной нервной системы, ассоциированных с *P. aeruginosa*

Была проведена оценка клинических и молекулярно-генетических характеристик случаев бактериемии и инфекции ЦНС, ассоциированных с *P. aeruginosa*. Медиана возраста пациентов составила 3 года 10 месяцев (6 м; 14л 1 м); минимальный возраст – 16 суток, максимальный – 17 лет 11 месяцев. Характеристика изолятов, выделенных у детей разных возрастных групп, отображена в Таблице 6.4.

Таблица 6.4 – Характеристика изолятов *P. aeruginosa* у пациентов разных возрастных групп

Параметр		Возрастная группа			
		до 1 года (n=10)	от 1 до 3 лет (n=1)	от 3 до 7 лет (n=6)	от 7 до 17 лет (n=8)
Карбапенемаза	VIM	7	1	4	2
	GES	-	-	1	4
Фенотип резистентности	Чувствительный	3	-	1	1
	МЛУ	4	1	2	2
	ШЛУ	3	-	3	5
Интенсивность биопленок	Слабая	2	-	1	1
	Умеренная	2	1	2	4
	Сильная	6	-	3	3
Генотип (ST)		654 (n=6) 773, 412, 260, 235	3825	654 (n=2) 3824, 270, 235, 155	3826, 3823, 3822, 3821, 3819, 2326, 309, 235

Примечания

1 – МЛУ – множественно-лекарственноустойчивые;

2 – ШЛУ – широко-лекарственноустойчивые.

По результатам анализа изолятов *P. aeruginosa*, полученных от пациентов разных возрастных групп, карбапенемаза группы VIM чаще определялась у детей младше семи лет, в группе старше семи лет – GES (Таблица 6.4). В возрастной группе старше семи лет преобладали ШЛУ изоляты. Изоляты, образующие биопленки разной степени интенсивности были распределены равномерно в

разных возрастных группах. У детей всех возрастов были обнаружены изоляты ST654 или его SLV. Чаще всего изоляты этого генотипа определялись у детей до года. Изоляты ST235 и его SLV чаще определялись у пациентов старше семи лет.

Кроме того, нами были изучены особенности изолятов *P. aeruginosa*, полученных от пациентов с разными патологическими состояниями (Таблица 6.5).

Таблица 6.5 – Характеристика изолятов *P. aeruginosa* в разных нозологических группах (n=25)

Параметр		Хирургическая патология			Соматическая патология (n=8)
		ВПС (n=4)	АП (n=8)	ТСТ (n=5)	
Карбапенемаза	VIM	3	5	2	4
	GES	-	2	2	1
Фенотип резистентности	Чувствительный	1	1	1	2
	МЛУ	3	2	2	2
	ШЛУ	-	5	2	4
Интенсивность биопленок	Слабая	1	2	-	1
	Умеренная	2	1	4	2
	Сильная	1	5	1	5
Генотип (ST)		654 (n=3) 260	654 (n=5) 155, 2326, 3823	270 3819, 3824, 3825, 3826	235 (n=3) 309, 412, 773, 3821, 3822

Примечания

- 1 – ВПС – врожденные пороки сердца;
- 2 – АП – абдоминальная патология;
- 3 – ТСТ – тяжелая сочетанная травма;
- 4 – МЛУ – множественно-лекарственноустойчивые;
- 5 – ШЛУ – широко-лекарственноустойчивые.

Таблица 6.5 показывает, что изоляты *P. aeruginosa*, полученные от пациентов разных нозологических групп, не имеют серьезных отличий. Есть некоторые различия в генотипическом разнообразии: при хирургической патологии у *P. aeruginosa* чаще всего определяется ST654 и его SLV. При соматической патологии – выявлено большее разнообразие генотипового состава, а наиболее часто встречающимся оказался ST235.

Ретроспективно были проанализированы клинические особенности и исходы: основная патология, колонизация различных клинических локусов и ее

продолжительность, а также клинические исходы бактериемии или инфекции ЦНС у детей. Результаты представлены в Таблице 6.6.

Таблица 6.6 – Клинические параметры при бактериемии и инфекции ЦНС, ассоциированной с *P. aeruginosa*

Изолят	Возраст пациента	Патология	Локус первичного высева	Локус, из которого был выделен м/о	Время, через которое возбудитель был обнаружен в крови/ликворе*	Диагноз «Сепсис/Вентрикулит»	Исход
46-891	5 м	Соматическая	Зев, анус	Нос, зев, анус, кровь	18 дней	-	В
56-140	2 м	Хирургическая. ВПС	Кровь ЦВК	Кровь ЦВК	-	-	В
56-886	11 м	Соматическая. МВ	Аспират	Аспират, кровь ЦВК	Более 6 месяцев	-	В
57-213	3 г 9 м	Соматическая	Кровь ЦВК	Кровь ЦВК	-	-	В
66-1705	14 л 2 м	Соматическая. БЭ	Анус	Зев, анус, рана, кровь ЦВК	14 дней	Сепсис	В
79-621	3 м	Хирургическая. АП	Зев	Зев, анус, аспират, кровь	32 дня	Сепсис	В
78-2243	1 м	Соматическая. БЭ	Зев	Зев, анус, кожа, кровь	Одновременно	-	В
76-1886	8 м	Хирургическая. ВПС	Анус	Зев, анус, аспират, кровь ЦВК	17 дней	-	ЛИ в 1 сут.**
76-2249	5 л	Хирургическая. АП	Кровь	Кровь	-	-	В
76-2399	14 л 8 м	Хирургическая. АП	Аспират	Зев, анус, аспират, кровь	3 дня	-	В
88-363	8 м	Хирургическая. ВПС	Кровь	Кровь, катетер	-	-	В
86-1713	0,5 м	Хирургическая. ВПС	Аспират	Зев, анус, аспират, кровь ЦВК	Одновременно	Сепсис	ЛИ в 1 сут.
86-1708	3 г 10 м	Хирургическая. АП	Рана	Зев, анус, рана, кровь ЦВК	7 дней	Сепсис	ЛИ ч/з 54 дня
99-860	4 г 10 м	Хирургическая. ТСТ	Аспират	Зев, анус, аспират, рана, дренаж, ликвор	48 дней	Сепсис, вентрикулит	В

Продолжение Таблицы 6.6

Изолят	Возраст пациента	Патология	Локус первичного высева	Локус, из которого был выделен м/о	Время, через которое возбудитель был обнаружен в крови/ликворе*	Диагноз «Сепсис/ Вентрикулит»	Исход
209-12	3 г 1 м	Хирургическая. ТСТ	Анус	Зев, анус, аспират, кровь	24 дня	Сепсис	В
209-530	2 г 1 м	Хирургическая. ТСТ	Зев, анус	Зев, анус, ликвор	Одновременно	Вентрикулит	В
201-4115	14 л	Соматическая	Кровь	Кровь, катетер	-	-	В
209-840	11 л 2 м	Хирургическая. АП	Кровь	Кровь, рана	-	-	В
206-3139	17 л 9 м	Соматическая	Анус	Зев, анус, кровь ЦВК	1 день	Сепсис	ЛИ в 1 сут.
208-2956	1,5 м	Хирургическая. АП	Аспират	Зев, анус, аспират, стома, брюшная полость, ликвор	10 дней	Вентрикулит	В
209-952	15 л	Хирургическая. ТСТ	Ликвор	Ликвор, зев, анус, аспират	-	Вентрикулит	В
219-1	15 л 7 м	Хирургическая. ТСТ	Ликвор	Ликвор	-	Вентрикулит	В
216-553	17 л 11 м	Соматическая	Анус	Зев, анус, мокрота, моча, дренаж, кровь	3 дня	Сепсис	ЛИ в 1 сут.
216-599	6 л 1 м	Хирургическая. АП	Анус	Зев, анус, кровь ЦВК	Одновременно	-	В
216-2416	5 м	Хирургическая. АП	Моча	Зев, анус, моча, катетер, кровь ЦВК	4 дня	-	В

Примечания

- 1 – * – с момента первичного высева;
2 – ** – с момента выявления бактериемии;
3 – *** – дней;
4 – Н/д – нет данных;
5 – ЛИ – летальный исход;
6 – В – выписан;
7 – МВ – муковисцидоз;

- 8 – БЭ – буллезный эпидермолиз;
- 9 – ТСТ – тяжелая сочетанная травма;
- 10 – ВПС – врожденный порок сердца;
- 11 – АП – абдоминальная патология;
- 12 – ЦВК – центральный венозный катетер.

По данным Таблицы 6.6 в выборке 17 (68%) пациентов наблюдались с хирургической патологией: ВПС – четыре (16%), абдоминальная патология – восемь (32%), ТСТ – пять пациентов (20%); восемь пациентов (32%) – с соматической нозологией.

У четырех пациентов *P. aeruginosa* выделялась только из образцов крови/ликвора. У двоих – из крови и ЦВК, вероятно, здесь имела место быть катетер-ассоциированная инфекция кровотока. В других случаях определялась колонизация *P. aeruginosa* от двух до семи различных локусов: как значимых (кровь/аспират/рана/ моча), так и локусов мониторинга (зев, анус). Чаще всего *P. aeruginosa* населяла четыре локуса (у 10 из 25 пациентов). Сроки выявления колонизации локусов до момента регистрации бактериемии/инфекции ЦНС значительно варьировали: от одновременного выделения (4 случая) до 48 дней. В одном случае бактериемия (*P. aeruginosa* – ST773, *exoU*+) была выявлена у пациента с муковисцидозом, который ранее был инфицирован *P. aeruginosa* более 6 месяцев (изолятом *P. aeruginosa* – ST244 *exoS*+).

Из 25 случаев бактериемии и инфекции ЦНС, связанных с *P. aeruginosa*, 20% (n=5) имели неблагоприятный исход. У этих пациентов были колонизированы от 3 до 6 различных локусов. В четырех случаях ЛИ наступил в течение первых суток после выявления бактериемии, у одного пациента – в отдаленном периоде (более 30 дней). Для исключения вероятности несвоевременного выявления бактериемии мы детально проанализировали все посевы крови на стерильность у пациентов, имевших ЛИ. На основании этого анализа мы определили, что во всех случаях проводились регулярные заборы крови на микробиологическое исследование, и до выявления изученных нами случаев *P. aeruginosa*-бактериемии были получены отрицательные результаты посевов. Что позволяет исключить вероятность несвоевременного выявления бактериемии и предположить, что в этих случаях ЛИ наступил в первые сутки бактериемии.

Характеристика летальных случаев *P. aeruginosa*-бактериемии и инфекции ЦНС отображена в Таблице 6.7. В трех эпизодах бактериемия с ЛИ была

ассоциирована с изолятами *P. aeruginosa* ST654, имеющими гены вирулентности *lasB*, *plcH*, *aprA*, *algD*, *phzM*, *pilB*, *exoS*, *exoT*, *exoY* и карбапенемазу группы VIM; у одного из них также определялся *nan2*. Один случай ЛИ сопровождался бактериемией, вызванной изолятом *P. aeruginosa* ST235 с генами: *lasB*, *plcH*, *aprA*, *algD*, *phzM*, *exoU*, *exoY* и карбапенемазой GES. В другом случае ЛИ при бактериемии выделена *P. aeruginosa* ST309 с генами: *lasB*, *plcH*, *aprA*, *algD*, *phzM*, *pilA*, *exoU*, *exoT* и карбапенемазой группы VIM. Все изоляты при ЛИ имели гены вирулентности *lasB*, *plcH*, *aprA*, *algD*, *phzM*. Факторы вирулентности, по наличию которых изоляты отличались, отражены в Таблице 6.7.

Таблица 6.7 – Характеристика случаев бактериемии и инфекции ЦНС, ассоциированных с *P. aeruginosa*, имеющих неблагоприятный исход

Изолят	Возраст пациента	Локус	Патология	Фенотип резистентности	Карбапенемаза	Вирулентность	Биопленка	ST
76-1886	8 м	Кровь ЦВК	Хирургическая, ВПС	CAR, TOB, CIP, TAZ, CT, CZA	VIM	<i>exoT, exoS, exoY, pilB, nan2</i>	S	654
86-1708	3 г 10 м	Кровь ЦВК	Хирургическая, АП + сепсис	CAR, TOB, CIP, TAZ, CT, CZA	VIM	<i>exoT, exoS, exoY, pilB</i>	S	654
86-1713	16 дн	Кровь ЦВК	Хирургическая, ВПС + сепсис	CAR, TOB, CIP, TAZ, CT, CZA	VIM	<i>exoT, exoS, exoY, pilB</i>	L	654
206-3139	17 л 9 м	Кровь ЦВК	Соматическая + сепсис	CAR, AMG, CIP, TAZ, CT, PTZ	GES	<i>exoU, exoY</i>	S	235
216-553	17 л 11 м	Кровь	Соматическая + сепсис	CAR, TOB, CIP, TAZ, CT, CZA, PTZ	VIM	<i>exoT, exoU, pilA</i>	S	309

Примечания

- 1 – ВПС – врожденный порок сердца;
- 2 – АП – абдоминальная патология;
- 3 – S – сильная биопленка;
- 4 – L – слабая биопленка;
- 5 – CAR – карбапенемы (меропенем, имипенем);
- 6 – AMG – аминогликозиды (амикацин, тобрамицин);
- 7 – TOB – тобрамицин;
- 8 – CIP – ципрофлоксацин;
- 9 – TAZ – цефтазидим;
- 10 – CT – цефтолозан/тазобактам;
- 11 – CZA – цефтазидим/авибактам;
- 12 – PTZ – пиперациллин/тазобактам;
- 13 – ST – сиквенс-тип.

Также мы сравнили характеристики изолятов *P. aeruginosa*, полученных от пациентов с благоприятными и неблагоприятными прогнозами (Таблица 6.8).

Таблица 6.8 – Характеристика изолятов *P. aeruginosa* при благоприятных и при летальных исходах

Параметр		Исход	
		Выписан (n=20)	Летальный (n=5)
Фенотип резистентности	Чувствительный	5	-
	МЛУ	6	3
	ШЛУ	9	2
Карбапенемаза	VIM	10	4
	GES	4	1
Ген вирулентности	<i>exoT</i>	18	4
	<i>exoS</i>	13	3
	<i>exoU</i>	6	2
	<i>exoY</i>	19	4
	<i>algD</i>	19	5
	<i>phzM</i>	18	5
	<i>pilB</i>	9	3
	<i>pilA</i>	2	1
	<i>nan1</i>	1	-
	<i>nan2</i>	14	1
Интенсивность биопленок	Слабая	3	1
	Умеренная	9	-
	Сильная	8	4
Генотип (ST)		654 (n=5) 235 (n=2) 155, 260, 270, 412, 773, 2326, 3819, 3822, 3823, 3821, 3824, 3825, 3826	654 (n=3) 235, 309

Примечания

- 1 – МЛУ – множественно-лекарственноустойчивые;
2 – ШЛУ – широко-лекарственноустойчивые.

Статистически значимых различий между изолятами *P. aeruginosa*, полученными от пациентов с разными исходами, выявлено не было.

ГЛАВА 7. *SERRATIA MARCESCENS*

7.1. Фенотипы и генотипы антибиотикорезистентности, биопленкообразование, популяционная структура *S. marcescens*

Для изученных *S. marcescens* (n=19) изолятов были определены фенотипы резистентности. Согласно рекомендациям German G.J. и соавт. [95] было выявлено пять (26%) МЛУ штаммов и четыре (21%) – ШЛУ. У большинства штаммов сохранялась чувствительность к триметоприм/сульфаметоксазолу и/или фосфомицину. Один изолят проявил устойчивость ко всем исследованным группам препаратов.

Цефалоспориноза СТХ-М была определена у 9 (47%) изолятов. Сериновая карбапенемаза группы ОХА-48 – у 2 (11%), МБЛ NDM – у 1 (5%) штамма. Наличие одновременно двух карбапенемаз групп ОХА-48 и NDM определялось наиболее часто – 3 (16%). При этом наблюдались различные комбинации наличия тех или иных β -лактамаз (Рисунок 7.1). Карбапенемазы групп КРС, VIM и IMP выявлены не были.

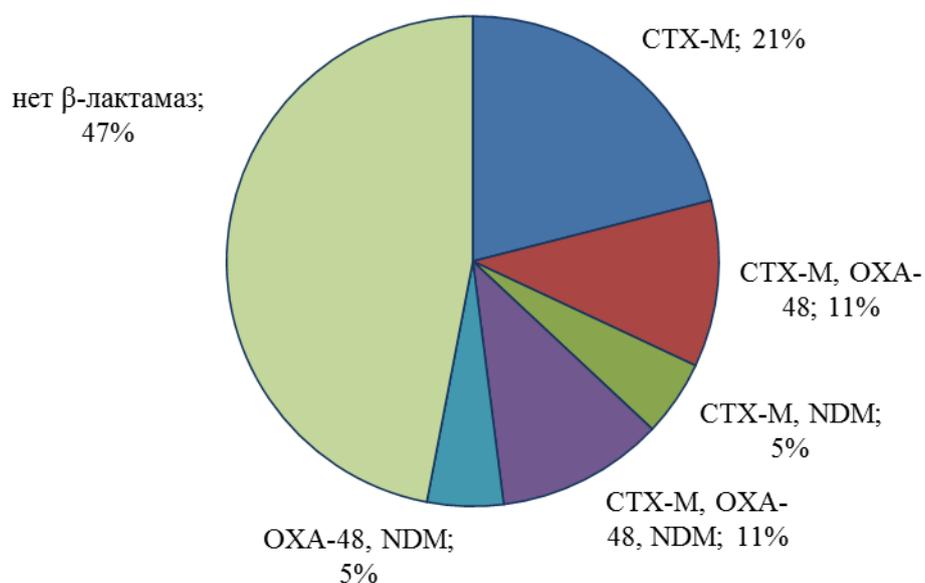


Рисунок 7.1 – Гены резистентности *S. marcescens* к β -лактамным АМП

Большая часть изолятов, имеющих гены β -лактамаз, относились к МЛУ и ШЛУ фенотипам (Рисунок 7.2).

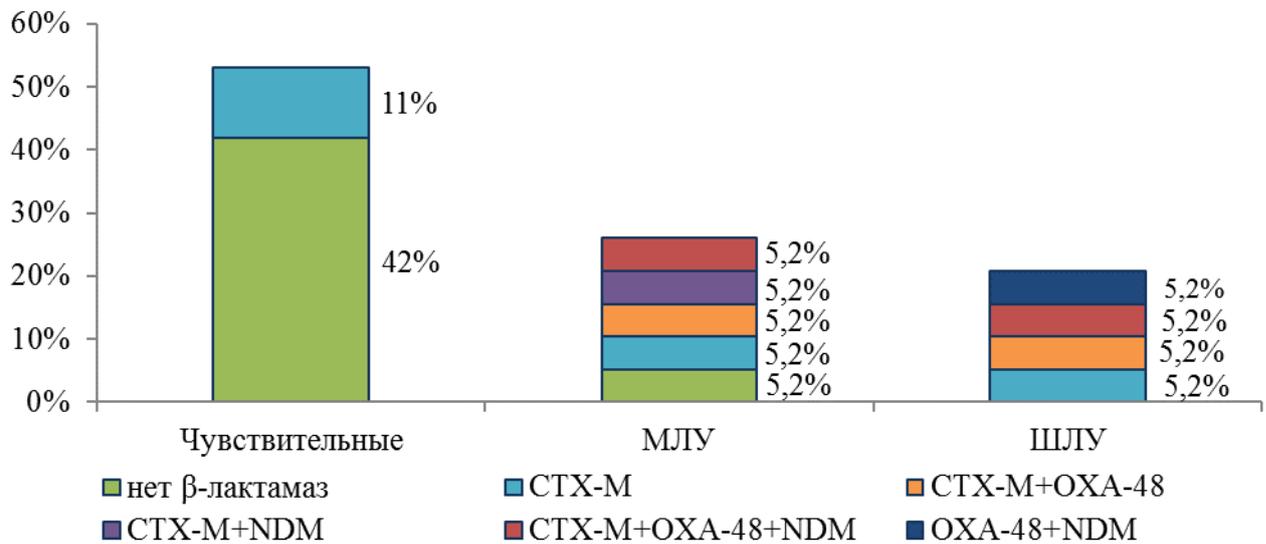


Рисунок 7.2 – Фенотипические группы и продукция β -лактамаз у *S. marcescens*

Нами было выявлено большое разнообразие комбинаций цефалоспоринов и карбапенемов у изолятов *S. marcescens* с фенотипами МЛУ и ШЛУ.

Формирование биопленок

При изучении образования биопленок на абиотических поверхностях у изолятов *S. marcescens* было обнаружено, что 13 (68%) образуют биопленки умеренной интенсивности, шесть (32%) – слабой. Изоляты, не образующие биопленок или образующие сильные биопленки, выявлены не были. Интенсивность формирования биопленок у изолятов *S. marcescens*, устойчивых к АМП, отражена в Таблице 7.1. Было определено, что изоляты, образующие биопленки умеренной интенсивности, более чувствительны к меропенему и имипенему относительно изолятов, образующих слабые биопленки ($p = 0,02$). Большинство изолятов с умеренной способностью к образованию биопленок

проявляли резистентность к тобрамицину, амикацину и защищенным цефалоспорином.

Таблица 7.1 – Формирование биопленок изолятами *S. marcescens*, устойчивыми к АМП

Интенсивность биопленки	В-лактамаза n (%)			Количество резистентных изолятов n (%)												
	СТХ-М n=9	ОХА-48 n=5	NDM n=4	MEM n=7	IMI n=4	AZT n=10	TOB n=14	AMK n=11	GEN n=10	FOS n=6	TAZ n=7	FEP n=10	TCC n=13	PTZ n=9	STX n=4	CIP n=8
Слабая n=6	3 (33)	4 (80)	3 (75)	4 (57)	3 (75)	4 (40)	6 (43)	4 (36)	5 (50)	3 (50)	4 (57)	4 (40)	4 (31)	4 (44)	1 (25)	4 (50)
Умеренная n=13	6 (67)	1 (20)	1 (25)	3 (43)	1 (25)	6 (60)	8 (57)	7 (64)	5 (50)	3 (50)	3 (43)	6 (60)	9 (69)	5 (56)	3 (75)	4 (50)

Примечания

- 1 – «n»– количество изолятов;
 2 – MEM – меропенем;
 3 – IMI – имипенем;
 4 – AZT – азтреонам;
 5 – TOB – тобрамицин;
 6 – AMK – амикацин;
 7 – GEN – гентамицин;
 8 – FOS – фосфомицин;
 9 – TAZ – цефтазидим;
 10 – FEP – цефепим;
 11 – TCC – тикарциллин/клавуланат;
 12 – PTZ – пиперациллин/тазобактам;
 13 – STX – триметоприм/сульфаметоксазол;
 14 – CIP – ципрофлоксацин.

Характеристика популяционного разнообразия изолятов *S. marcescens*

При изучении генотипического состава *S. marcescens*, выделенных из крови у детей, было выявлено шесть основных генотипических групп и три отдельных изолята, не входящих ни в одну из них (Таблица 7.2).

Таблица 7.2 – Популяционная структура и резистентность *S. marcescens*

Филогенетическое дерево	Изолят	Группа	Фенотип резистентности
	88-1709	I	CAR, AZT, AMG, FOS, CEP, PPEN, STX, FQL
	88-2499		CAR, AZT, AMG, CEP, PPEN, FQL
	88-2244		CAR, AZT, AMG, CEP, PPEN, FQL
	98-858		CAR, AZT, AMG, FOS, CEP, PPEN, FQL
	218-996		AZT, AMG, CEP, PPEN, FQL
	88-1531	*	CAR, AZT, AMG, FOS, CEP, PPEN, FQL
	46-3374	II	AMG
	216-1501		AZT, AMG, FOS, CEP, STX, FQL
	86-613	III	AMG
	206-3242		PPEN
	96-963		CAR, AZT, AMG, CEP, PPEN, STX, FQL
	217-13	*	-
	56-1005	IV	AZT, AMG, FOS, CEP
	56-1658		AZT, AMG, FOS, CEP
	46-3124	V	AMG
	47-207		AMG
	66-1142	*	AMG, PPEN
	209-870	VI	-
209-1008	CAR, AMG, PPEN, STX		

Примечания

- 1 – * – отдельные изоляты, не входящие в генотипические группы;
- 2 – CAR – карбапенемы;
- 3 – AZT – азтреонам;
- 4 – AMG – аминогликозиды;
- 5 – FOS – фосфомицин;
- 6 – CEP – цефалоспорины;
- 7 – PPEN – защищенные пенициллины;
- 8 – STX – триметоприм/сульфаметоксазол;
- 9 – FQL – фторхинолоны.

Филогения 19 штаммов *S. marcescens* была выполнена с использованием многолокусного анализа и рассчитана методом Neighbor-Joining [292]. Эволюционные расстояния рассчитаны методом Maximum Composite Likelihood [308] и выражены в единицах количества замен оснований на сайт.

По результатам анализа генотипического состава можно предположить, что изоляты, выделенные в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных, представляют собой генетически однородную группу – I и отдельный изолят 88-1531*(Таблица 7.2). Эта группа включает в себя основную часть изолятов, обладающих МЛУ и ШЛУ со схожими фенотипами резистентности, и несущих карбапенемазы. Два изолята, выделенных из отделения тяжелой сочетанной травмы, представлены отдельной группой VI. В этой группе изоляты имеют наибольшее количество замен нуклеотидов (63) в сравнении с остальными группами, что минимизирует вероятность генетического родства. Изоляты *S. marcescens*, выделенные в отделении реанимации и интенсивной терапии в разные годы (группы II-V и отдельный изолят 66-1142*(Таблица 7.2)), представлены генотипически и фенотипически разнородными штаммами. При этом внутри группы IV и группы V изоляты имеют схожие фенотипы резистентности, с учетом того, что эти изоляты были выявлены в один временной промежуток, можно предположить наличие единого источника. Изолят 217-13*(Таблица 7.2) выделен из отделения недоношенных детей. Он значительно отличается от других изолятов – имеет 47 уникальных замен нуклеотидов.

7.2. Клинические параметры при бактериемии и инфекции центральной нервной системы, ассоциированных с *S. marcescens*

При ретроспективной оценке клинических данных было выявлено, что в случаях бактериемии, ассоциированной с *S. marcescens*, возраст пациентов составил от 13 суток до 17 лет 7 месяцев, медиана равна 7 месяцам (1м; 2г). Пациенты были разделены на 4 возрастные группы: I (0-1 год) – 12 детей (63%), II (1-3 лет) – 3 детей (16%), III (3-7 лет) – 1 ребенок (5%), IV (7-17 лет 7 мес.) – 3 детей (16%). Характеристика изолятов, выделенных в разных возрастных группах, отображена в Таблице 7.3.

Таблица 7.3 – Характеристика изолятов *S. marcescens* в разных возрастных группах

Параметр		Возрастная группа			
		до 1 года (n=12)	от 1 до 3 лет (n=3)	от 3 до 7 лет (n=1)	от 7 до 17 лет 7 мес (n=3)
β-лактамаза	СТХ-М	9	-	-	-
	ОХА-48	2	-	-	-
	NDM	1	-	-	-
	ОХА-48 + NDM	2	-	1	-
Фенотип резистентности	Чувствительный	5	2	-	3
	МЛУ	4	1	-	-
	ШЛУ	3	-	1	-
Интенсивность био пленок	Слабая	5	-	1	-
	Умеренная	7	3	-	3
Генотипическая группа	I	4	-	1	-
	II	1	1	-	-
	III	2	-	-	1
	IV	2	-	-	-
	V	1	-	-	1
	VI	-	1	-	1
	*	2	1	-	-

Примечания

- 1 – МЛУ – множественно-лекарственноустойчивые;
- 2 – ШЛУ – широко-лекарственноустойчивые;
- 3 – * – отдельные изоляты, не входящие в генотипические группы.

Подавляющее большинство МЛУ и ШЛУ изолятов, обладающих генами β -лактамаз, были выделены от пациентов в возрасте до года, возможно, это связано с тем, что эта группа включала основную часть пациентов.

Большая часть пациентов с *S. marcescens*-инфекцией кровотока наблюдалась с хирургической патологией: абдоминальной – 11 (58%), врожденными пороками сердца – четыре (21%), тяжелой сочетанной травмой – один (5%). С соматической патологией, сопровождающейся приемом антибактериальных препаратов, наблюдались три пациента (16%).

Были изучены характеристики изолятов *S. marcescens*, выделенных от пациентов с разными патологиями (Таблица 7.4).

Таблица 7.4 – Характеристика изолятов *S. marcescens* у пациентов разных нозологических групп

Параметр		Хирургическая патология			Соматическая патология (n=3)
		ВПС (n=4)	АП (n=11)	ТСТ (n=1)	
В-лактамаза	ОХА-48	-	2	-	-
	NDM	-	1	-	-
	ОХА-48 + NDM	-	3	-	-
Фенотип резистентности	Чувствительный	4	4	-	2
	МЛУ	-	3	1	1
	ШЛУ	-	4	-	-
Интенсивность биопленок	Слабая	1	4	-	1
	Умеренная	3	7	1	2
Генотипическая группа	I	-	5	-	-
	II	-	1	-	2
	III	1	2	-	-
	IV	2	-	-	-
	V	-	-	-	2
	VI	-	1	1	-
	*	1	2	-	-

Примечания

- 1 – ВПС – врожденные пороки сердца;
- 2 – АП – абдоминальная патология;
- 3 – ТСТ – тяжелая сочетанная травма;
- 4 – МЛУ – множественно-лекарственноустойчивые;
- 5 – ШЛУ – широко-лекарственноустойчивые;
- 6 – * – отдельные изоляты, не входящие в генотипические группы.

В трех наблюдениях у пациентов был диагностирован сепсис, один из них имел неблагоприятный исход, при котором *S. marcescens* выделялась из крови, трахеи, зева, ануса и брюшной полости. Бактериемия возникла на третьи сутки после первичного выделения из трахеи. ЛИ наступил на 10-е сутки выявления бактериемии. *S. marcescens* в этом случае обладала множественной резистентностью и комбинацией генов резистентности (CTX-M, OXA-48, NDM), а также принадлежала к наиболее часто встречающейся в нашем исследовании генотипической группе I.

ГЛАВА 8. ПОЛНОГЕНОМНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ ИЗОЛЯТОВ, ИМЕЮЩИХ НАИБОЛЕЕ НЕБЛАГОПРИЯТНЫЕ ПРОФИЛИ УСТОЙЧИВОСТИ К АНТИБИОТИКАМ

Для анализа методом полногеномного секвенирования были отобраны 7 изолятов *K. pneumoniae*, проявляющих устойчивость к большинству исследованных АМП (Таблица 8.1).

Таблица 8.1 – Характеристика изолятов *K. pneumoniae*, включенных в полногеномное исследование

Пациент	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
Изолят	69-138	218-2174	76-815	88-1723	86-3165	96-857	207-262
Генотип (ST)	ST395	ST395	ST307	ST2975	ST985	ST29	ST866
Сублиния (SL)	SL395	SL395	SL307	SL307	SL29	SL29	SL1198
Клональная группа (CG)	CG395	CG395	CG307	CG307	CG985	CG29	CG119
KL тип	KL2	KL2	KL102*	KL102	KL39	KL19	KL46
О тип	O2afg	O1	O2afg	OL102	O1	O1	O3b
Чувствительность к АМП	PTZ	P	P	P	P	P	P
	TCC	P	P	P	P	P	P
	CEP	P	P	P	P	P	P
	CAR	P	P	P	P	P	У/P
	AZT	P	P	P	P	P	P
	COL	P	P	P	P	P	P
	AMG	P	P	P	P	P	P
	FOS	P	P	P	P	P	Ч
	STX	P	P	P	P	P	P
	CIP	P	P	P	P	P	У

Примечания

- 1 – PTZ – пиперациллин/тазобактам;
- 2 – TCC – тикарциллин/клавуланат;
- 3 – CEP – цефалоспорины;
- 4 – CAR – карбапенемы (меропинем/имипенем);
- 5 – AZT – азтреонам;
- 6 – COL – колистин;
- 7 – AMG – аминогликозиды;
- 8 – FOS – фосфомицин;
- 9 – KL – капсульный липополисахарид;
- 10 – STX – тиметоприм/сульфаметоксазол;
- 11 – CIP – ципрофлоксацин;
- 12 – P – резистентный;
- 13 – У – чувствительный при увеличенной экспозиции АМП;
- 14 – Ч – чувствительный.

Изученные изоляты относились к четырем сублиниям (SL – subline), из них SL395 и SL307 наиболее часто определяются у нозокомиальных штаммов *K. pneumoniae*. Три сублинии включали по одной клональной группе (CG). SL29 состояла из двух CG – CG29 и CG985 (Таблица 8.1).

Капсульный тип (KL – capsular lipopolysaccharide) был одинаковый у изолятов SL395 (KL2), но отличался у SL29 (KL39 и KL19). У штаммов SL307 был определен новый капсульный вариант KL102. При этом в геноме изолята ST307, в отличие от ST2975, отсутствовала часть генов оперона, участвующих в синтезе капсульного полисахарида, отвечающих за белки-каналы наружной мембраны и регуляторы полимеризации и транспорта полисахаридов капсулы (*wbaP*, *wzi*, *wza*, *wzb*, *wzc*).

Было определено четыре типа соматического O-антигена. У изолятов ST395 P2 и SL29 – O1 тип. Штаммы ST395 P1 и ST307 - O2afg. Штамм ST866 имел свой вариант - O3b. У изолята ST2975 был обнаружен новый O-антиген – OL102, названный по номеру капсульного антигена.

Все изученные изоляты были устойчивы к β -лактамам. В результате полногеномного секвенирования у них были найдены различные β -лактамазы (Таблица 8.2).

Таблица 8.2 – β -лактамазы *K. pneumoniae*, определенные в ходе полногеномного секвенирования

Класс β -лактамаз	Ген	ST395	ST395	ST307	ST2975	ST985	ST29	ST866
		P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
Класс А	CTX-M-15	+		+	+	+	+	
	CTX-M-3							+
	TEM-1	+	+	+	+	+	+	+
	SHV-11	+	+	+				+
	SHV-28				+			
	SHV-187					+	+	
Класс В	NDM-1		+		+	+	+	+
Класс С	CMY-6		+		+		+	+
Класс D	OXA-1	+		+		+		
	OXA-10						+	
	OXA-48	+	+	+	+			
	OXA-244						+	

Примечения

1 – ST – генотип;

2 – P – пациент.

У всех изолятов определялись β -лактамазы нескольких классов одновременно. β -лактамазы расширенного спектра действия CTX-M встречались у всех изолятов, кроме одного (ST395 P2), наиболее часто определялась CTX-M-15. Лактамазы класса А (TEM и SHV) определялись у всех штаммов (Таблица 8.2). Среди β -лактамаз SHV чаще определялась SHV-11. Цефалоспориноза класса С (CMY) определялась у четырех изолятов (ST395 P2, ST2975, ST29, ST866).

В геномах ST395 P1 и ST307 определялись карбапенемазы класса D – OXA-1 и OXA-48. У штамма ST866 –МБЛ NDM-1. Комбинация карбапенемаз класса D (OXA-48) и класса В (NDM-1) были найдены в геномах ST395 P2 и ST2975. Для изолята ST29 были характерны сериновые карбапенемазы OXA-10, OXA-244 и МБЛ NDM-1.

Кроме β -лактамаз были определены гены устойчивости к другим группам АМП (Таблица 8.3).

Таблица 8.3 – Гены резистентности *K. pneumoniae* к не β-лактамным АМП

Группа АМП	Ген	ST395	ST395	ST307	ST2975	ST985	ST29	ST866
		P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
Аминогликозиды	<i>armA</i>	+				+		
	<i>rmtC</i>		+		+		+	+
	<i>ant(2'')-Ia</i>	+			+	+		
	<i>strB</i>				+	+	+	
	<i>strA</i>			+	+		+	
	<i>aph(3')</i>		+	+				
	<i>aadA2</i>	+		+			+	+
	<i>aac(6')-Ib</i>	+	+	+		+	+	+
	<i>aac(3)-IIId</i>		+	+		+		+
Колистин	<i>PhoP_26Q</i>	+	+	+	+	+	+	+
Фторхинолоны	<i>ParC_80I</i>	+	+	+	+			
	<i>GyrA_83I</i>	+	+	+	+			
	<i>qnrS1</i>	+	+	+	+	+	+	
Хлорамфениколы	<i>cmlA5</i>						+	
	<i>CatI</i>	+	+					
	<i>CatB4</i>	+		+		+		
Сульфаниламиды	<i>sul2</i>			+	+	+		
	<i>sul1</i>	+	+		+	+	+	+
Триметоприм	<i>dfrA14,17</i>	+		+	+	+	+	
	<i>dfrA1</i>	+	+					

Примечания

1 – ST – генотип;

2 – P – пациент.

При определении детерминант устойчивости к другим антибиотикам было выявлено, что изолят ST866 обладал шестью генами устойчивости к трем группам не β-лактамных АМП: аминогликозиды, колистин и сульфаниламиды. Этот изолят в сравнении с остальными имел наименьшее количество детерминант резистентности к не β-лактамным АМП (Таблица 8.3).

Максимальное число генов резистентности было определено у ST395 P1 – 13. У других изолятов было найдено от 10 до 12 генов.

У двух изолятов ST395 P1 и ST985 определялось хотя бы по одному гену резистентности к каждой исследованной группе АМП.

В геномах всех штаммов определялись гены резистентности к аминогликозидам (от 4 до 5). Также у всех изолятов обнаруживались гены устойчивости к колестиину (*PhoP_26Q*) и сульфаниламидам (*sul2/sul1*).

Генов устойчивости к фторхинолонам и триметоприму не было определено только у ST866. Детерминанты устойчивости к хлорамфениколам определялись у всех изолятов кроме ST2975 и ST866.

При оценке резистентности изолятов, стоит рассмотреть наличие у них плазмид, поскольку в них чаще всего присутствуют гены устойчивости к АМП и вирулентности. Больше всего плазмид было обнаружено у изолята ST307 (7), наименьшее количество – у ST866(3) и ST985(1). При этом в геномах всех изолятов найдены те или иные плазмиды (Таблица 8.4).

Таблица 8.4 – Разнообразие плазмид у изолятов *K. pneumoniae*

Пламида	ST395	ST395	ST307	ST2975	ST985	ST29	ST866
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
repB(R1701)						+	
IncR	+	+					
IncQ1		+					
IncL/IncM2	+	+	+	+		+	+
IncHIB(pNDM-MAR)	+		+				
IncFII(K)			+	+			
IncFIB(pQil)			+	+			
IncFIB(pNDM-Mar)	+		+				
IncFIB(K)			+	+	+		
IncFIA(pBK30683)						+	
IncFIA(HI1)							+
IncC		+		+		+	+
Col440II	+		+	+			
Col440I						+	
Col(pHAD28)	+						
Col(IRGK)		+					

У изолятов *K. pneumoniae* были обнаружены гены вирулентности (Таблица 8.5). В геномах всех штаммов присутствовали гены, кодирующие фимбрии I типа (*fimA – fimK*), фимбрии III типа (*mrkA – mrkJ*), а также ген пилей IV типа (*pilW*).

Таблица 8.5 – Гены вирулентности *K. pneumoniae*, определенные при изучении полных геномов

Фактор вирулентности	Ген	ST395	ST395	ST307	ST2975	ST985	ST29	ST866
		P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
Фимбрии I типа	<i>fimA – fimK</i>	+	+	+	+	+	+	+
Фимбрии III типа	<i>mrkA-mrkJ</i>	+	+	+	+	+	+	+
Пили IV типа	<i>pilW</i>	+	+	+	+	+	+	+
Иерсиниабактин	<i>ybt</i>	14	16	10	10	16	14	18
Аэробактин	<i>iuc</i>	+						
Пермеаза	<i>peg-344</i>	+						

Также все изоляты имели ген сидерофора иерсиниабактина: *ybt10*, *ybt14*, *ybt16* и *ybt18*.

У изолята ST395 P1 был выявлен наиболее высокий уровень вирулентности, что выражалось наличием гена, кодирующего сидерофор аэробактин (*iuc*), и гена *peg-344*, ответственного за пермеазу транспортера лекарственных препаратов и метаболитов.

Гены, отвечающие за наличие сидерофоров колибактина (*clb*) и сальмохелина (*iro*), а также гены гипермукоидности (*rmpA*, *rmpA2*) в геномах исследованных штаммов выявлены не были.

Два изолята *K. pneumoniae*, содержащих по два гена карбапенемаз: OXA-48 и NDM-1, относились к международным клонам особого риска CG395 и CG307.

SL29 изоляты сходны только O-типом, имеют разные K-типы, оперон иерсиниабактина, плазмидный профиль и спектр генов резистентности. Стоит отметить, что единственная плазида изолята ST985 (IncFIB(K)) содержит большой перечень генов, определяющих вместе с генами хромосомы ШЛУ изолята.

Изоляты ST866 – наименее резистентные, тем не менее, являются МЛУ и имеют плазмиды резистентности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Инфекция кровотока – одно из самых опасных осложнений для пациентов в ОРИТ. Оно имеет далеко идущие последствия, приводя к увеличению продолжительности пребывания на больничной койке, увеличению расходов и, во многих случаях, к гибели людей. [84, 242]. На долю инфекций кровотока приходится около 15% всех внутрибольничных инфекций [84].

Бактериальными причинами инфекции кровотока, наиболее распространенными среди грамположительных организмов, являются *S. aureus*, КНС и *E. faecalis*. Наиболее распространенными среди *Enterobacterales* являются *E. coli*, *K. pneumoniae* и *Serratia spp*, а среди неферментирующих грамотрицательных бактерий – *Pseudomonas spp.* и *A. baumannii* [61, 242].

В нашем исследовании среди грамотрицательных микроорганизмов, выделенных из проб крови и ликвора, преобладала *K. pneumoniae* – 9,6%. Другие представители порядка *Enterobacterales*, такие как *E. coli*, *E. cloacae* и *S. marcescens* были выделены из положительных образцов с частотой – 2,3%, 1,9% и 2,7%, соответственно. Среди НГОБ преобладала *P. aeruginosa* – 3,6%. *S. maltophilia* и *A. baumannii* составили 2,7% и 2,4%, соответственно. Бактерии рода *Acinetobacter* и *Achromobacter* выделялись практически с одинаковой частотой – 1,6% и 1,4% случаев.

A. baumannii

Результаты этого исследования отражают серьезную проблему, которую представляют собой инфекции кровотока и ЦНС, вызванные множественно-резистентными изолятами *A. baumannii*. Более половины исследованных нами штаммов *A. baumannii* проявили резистентность к трем и более классов антибиотиков, около четверти изолятов проявили резистентность ко всем исследованным антибиотикам, в том числе к колистину [48]. Эта тенденция не может не вызывать опасений по поводу дальнейших перспектив в лечении

инфекций, вызванных нозокомиальными штаммами *A. baumannii* [48]. Наши данные по резистентности в отношении большинства групп препаратов совпадают с результатами многоцентрового исследования турецких ученых, у которых резистентность к этим же группам препаратов составила около 90% [59]. Резистентность к карбапенемным антибиотикам в нашем исследовании сопоставима с данными многоцентрового исследования МАРАФОН 2015-2016 и составила более 70% [35, 48].

Резистентность к карбапенемам была связана с наличием карбапенемаз группы D (ОХА-23 подобные и ОХА-40 подобные). В отличие от результатов китайских [281] и немецких исследователей [230], в нашей работе преобладают ОХА-40 подобные карбапенемазы (41%), ОХА-23 подобных обнаружено только 24%. При этом полученные нами данные по распространенности карбапенемаз согласуются с результатами исследователей из Польши [244], Испании [155] и России [35].

Среди множества факторов вирулентности способность к образованию биопленок одна из основных, определяющих патогенность *A. baumannii* [106]. Все изоляты *A. baumannii*, выделенные из крови и ликвора, в нашем исследовании способны к образованию биопленок разной интенсивности, что соотносится с данными Jalal D. и соавт. [48, 128].

Обычно клинические штаммы *A. baumannii* образуют сильные биопленки [280, 334]. Для изученных нами изолятов более характерным было образование биопленок с низкой оптической плотностью [44, 48]. Однако, даже при преобладании изолятов со слабой интенсивностью биопленок, МПК меропенема для биопленочных культур значительно превышало таковые для планктонных форм тех же микроорганизмов. Описывается, что наличие генов, ответственных за продукцию биопленок, коррелирует с интенсивностью биопленкообразования [126, 226]. В нашем исследовании, несмотря на наличие практически у всех штаммов четырех генов, отвечающих за биопленкообразование (*bfpR*, *csuA/B*, *ompA*, *bar*), менее половины изолятов оказались способны к образованию сильных и умеренных биопленок [44, 48]. Возможно, это связано со снижением

экспрессии генов биопленкообразования у изолятов *A. baumannii*, попавших в кровотоки [171, 181].

При оценке вирулентных свойств изолятов *A. baumannii*, устойчивых к АМП, было выявлено, что большинство изолятов формирующих слабые биопленки, проявляет устойчивость к карбапенемам, аминогликозидам, триметоприм/сульфаметоксазолу и фторхинолонам. А изоляты с умеренными биопленками часто устойчивы к аминогликозидам и фторхинолонам [24].

Основная масса генотипов *A. baumannii*, полученных в нашем исследовании, относится к двум международным клональным линиям высокого риска ICL2 и ICL6 [48]. Это согласуется с предыдущими исследованиями российских коллег [35]. По данным базы МЛСТ генотипический состав *A. baumannii*, выделенных из крови и ликвора в нашем исследовании, значительно отличается от такового в Китае, Японии [202], Дании [199].

Описывается, что штаммы международной клональной группы CC92/CC208^{Oxf}/CC2^{Pas} (ICL2) наиболее способны вызывать бактериемию у пациентов [232]. В нашем исследовании к клональной линии ICL2 относились 7 изолятов (41%) [46, 48].

В случаях *A. baumannii* инфекции кровотока/ЦНС пациенты наблюдались с хирургической патологией – 53%, с тяжелыми сочетанными травмами – 29%, а также с соматическими заболеваниями, сопровождающимися длительной антибактериальной и/или глюкокортикостероидной терапией – 18% [17]. Это согласуется с данными о состояниях, при которых чаще всего наблюдаются *A. baumannii* инфекции кровотока/ЦНС [111, 235, 286].

Сообщается, что уровень смертности при инфекциях кровотока, ассоциированных *A. baumannii*, колеблется от 28 до 43% [154]. В то же время данные некоторых исследователей еще более тревожны: свыше 60% в Израиле [326] и Бразилии [92]. В нашем исследовании около четверти случаев бактериемии и инфекции ЦНС, вызванных *A. baumannii*, имели неблагоприятный исход [48].

Таким образом, *A. baumannii* в нашем исследовании представлены МЛУ и ШЛУ изолятами. Популяционная структура изолятов *A. baumannii* включает девять ST. Продуцентами карбапенемаз группы ОХА-40 были изоляты ST944^{Oxf}, ST1104^{Oxf}, ST1550^{Oxf}, ST450^{Oxf}. Карбапенемазы группы ОХА-23 были выявлены у изолятов ST1102^{Oxf} и ST2063^{Oxf}. У изолятов *A. baumannii* был определен широкий спектр факторов вирулентности. Все изоляты формировали биопленки различной интенсивности. При этом МПК меропенема для биопленочных форм культур значимо выше, чем МПК меропенема для планктонных форм тех же штаммов. Большинство изолятов *A. baumannii*, формирующих биопленки умеренной интенсивности, устойчивы к аминогликозидам и фторхинолонам. При инфекции кровотока и ЦНС, вызванной *A. baumannii*, 24% случаев были с летальными исходами.

K. pneumoniae

Результаты данного исследования подтверждают общую негативную тенденцию последних лет – возрастание уровня резистентности у изолятов *K. pneumoniae* [6]. Инфекции кровотока и ЦНС, ассоциированные с карбапенемрезистентными *K. pneumoniae*, распространены среди пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии [110].

При изучении молекулярно-генетических характеристик штаммов *K. pneumoniae*, выделенных из образцов крови и ликвора у детей, нами был обнаружен высокий уровень устойчивости штаммов к антимикробным препаратам. МЛУ и ШЛУ штаммы составляли 16% и 43%, соответственно. Около четверти изолятов проявляли ШЛУ, в том числе к колистину, который является последней линией терапии [6]. В исследованиях китайских коллег распространенность МЛУ *K. pneumoniae* при инфекциях кровотока варьируется от 18% до 61% [89]. В нашем исследовании *K. pneumoniae* проявляла устойчивость к аминогликозидам до 88%, к цефепиму – 85%, азтреонаму – 91%. К карбапенемам и колистину были нечувствительны 34% и 31% штаммов, соответственно. К

триметоприм/сульфаметоксазолу оказались устойчивы 75% изолятов [6]. Полученные результаты во многом отличаются от резистентности *K. pneumoniae* при инфекциях кровотока в США, где к аминогликозидам резистентны около 17%, к цефепиму – 9%, к азтреонаму – 16%, к меропенему – 9% и к триметоприм/сульфаметоксазолу – 33% [169]. При этом коллеги отмечают значительную роль МЛУ изолятов *K. pneumoniae* при инфекциях кровотока [169].

Основной причиной резистентности к карбапенемам изолятов *K. pneumoniae* из кровотока и ликвора была продукция карбапенемаз, в частности ОХА-48 [6, 28, 42]. Она распространена во многих странах: Турции, Бельгии, Франции, Греции, Испании [196], а также в России [13].

Ранее считалось, что бактерии, имеющие множественную резистентность, не способны проявлять гипервирулентность. В последние годы появляется много сообщений о выделении одновременно гипервирулентных и МЛУ штаммов *K. pneumoniae* [6, 182, 184]. Эти штаммы могут представлять особую опасность для пациентов, поскольку способны вызывать тяжелые инфекции и длительно персистировать в организме пациента и в больничной среде. При изучении факторов вирулентности нами было обнаружено, что сидерофор энтеробактин определялся в геноме всех клебсиелл, как и во многих других исследованиях [6]. Сидерофор иерсиниабактин (*ybtS*), по результатам зарубежных работ, наиболее часто ассоциирован с инфекциями респираторного тракта, а у изолятов, выделенных из крови, встречается редко [211]. При этом в нашей работе 78% изолятов имели ген иерсиниабактина [6]. Сидерофор аэробактин является одним из маркеров гипервирулентности [251]. Встречаемость гена аэробактина (*iutA*) по некоторым данным достигает 56,8% у пациентов с менингитом [231]. При пиогенных абсцессах печени встречаемость этого фактора достигает 85,3% [115]. В исследованных нами изолятов аэробактин был выделен у 18%, при этом 10 из 12 изолятов относились к ST307 [22, 50]. Изоляты с этим фактором вирулентности в основном имели цефалоспориноазу СТХ-М, проявляли резистентность к цефалоспорином, азтреонаму, защищенным пенициллинам и цефалоспорином, тобрамицину, гентамицину, триметоприм/сульфаметоксазолу и

ципрофлоксацину [6]. Ген *mrkD*, кодирующий фимбрии 3 типа, отвечающие за биопленкообразование, встречался у всех изученных нами изолятов, это соотносится с данными других исследований [115]. Считается, что *K. pneumoniae*, относящиеся к K1/K2 серотипам, более вирулентные, чем представители других капсульных серотипов [251]. Мы не выявили изолятов K1 серотипа, а серотип K2 имели 10% изолятов. Стоит отметить, что шесть из семи изолятов K2 серотипа имели генотип ST395 [6, 22]. Эти данные согласуются с результатами отечественного исследования, в котором капсульный серотип K2 обнаруживался у 15,7% штаммов и ассоциировался с ST395 [137]. Основная масса изолятов этого капсульного серотипа имела цефалоспориноазу CTX-M, проявляла резистентность к колистину, цефалоспорином, азтреонаму, защищенным пенициллинам и цефалоспорином, тобрамицину, триметоприм/сульфаметоксазолу и ципрофлоксацину. Ген *kfi*, отвечающий за обмен железа, встречается редко. У изученных нами изолятов – всего в 3%, аналогичные данные получены российскими и зарубежными учеными [6, 28, 143, 191].

У нозокомиальных изолятов *K. pneumoniae* чаще всего наблюдается продукция умеренных и сильных биопленок [88]. Наши результаты соответствуют этим данным – 61% изолятов образовывали умеренные биопленки и 21% – сильные [39]. Штаммы с умеренными и сильными биопленками в большинстве своем были устойчивы к азтреонаму, аминогликозидам, цефалоспорином, защищенным пенициллинам и цефалоспорином, триметоприм/сульфаметоксазолу и ципрофлоксацину [6].

Представители *K. pneumoniae* генотипа ST307, выделенные из кровотока, часто имеют множественную лекарственную устойчивость и гипервирулентность [169], они способны вызывать внутрибольничные вспышки [228]. ST307 в этом исследовании был самым распространенным (21%). Изоляты этого генотипа чаще остальных обладали карбапенемазами и факторами гипервирулентности [50]. Этот генотип был характерен для обоих стационаров и в некоторых отделениях выявлялся на протяжении нескольких лет [6].

Факторами риска для возникновения *K. pneumoniae* ассоциированных инфекций кровотока и ЦНС являются хирургические вмешательства, травмы, наличие внутрисосудистого катетера, интубация трахеи, госпитализация в отделение реанимации, предшествующая антибиотикотерапия [287]. В нашей работе большая часть пациентов наблюдалась с хирургической патологией (81%). У 14% пациентов до выявления бактериемии или инфекции ЦНС проводились курсы антибиотикотерапии и/или применялись глюкокортикостероиды [6].

В исследовании Girometti N. и соавт. отмечено, что *K. pneumoniae*-инфекции кровотока связаны с более высокой смертностью, чем инфекции других локализаций [208]. Наши данные соотносятся с этим утверждением, уровень летальности по данным проведенного исследования составил 25% [6]. Высокая смертность, возможно, ассоциирована с вирулентностью микроорганизмов (формирование биопленок, сидерофоры, система секреции VI типа) [323]. В нашем исследовании у изолятов, выделенных при неблагоприятных исходах, определялось множество факторов вирулентности, в частности иерсиниабактин – 88%, аэробактин – 25% и K2 капсульный серотип – 13% [6].

Проведенное полногеномное исследование семи изолятов выявило большое разнообразие генов резистентности и вирулентности у *K. pneumoniae* с ШЛУ и МЛУ, выделенных из ликвора и крови. Эти изоляты были представлены ST395 (2), ST307, ST2975, ST985 и ST866. Инфицирование ШЛУ *K. pneumoniae* ST29 и ST985 привело к летальным исходам [10].

В шести случаях инфекция являлась системной, поскольку была выявлена в кровотоке и в других локусах. В случае *K. pneumoniae* ST395 P1 инфекция обнаружена только в ликворе и была вызвана наиболее вирулентным изолятом. По показателям резистентности и вирулентности изолят ST395 P1 соответствует характеристикам конвергентного патотипа ST395 [10, 167]. Изучение плазмид этого штамма подтверждает перенос факторов резистентности и вирулентности именно этими мобильными генетическими элементами.

Сравнение геномов изолятов SL395 показывает возможные свидетельства рекомбинаций в «горячих точках», охарактеризованных Shaidullina и соавт. [167].

У изолятов различаются области О-антигена и оперона иерсиниабактина. Изолят ST395 P2 имеет ген *ybt16*, превалирующий в CG305 [10, 167]. У изолята ST395 P1 выявлен вариант *ybt14*, редкий по данным [167]. Оба этих изолята имеют гены устойчивости к разным группам препаратов.

Отличия в наборе генов штаммов SL307 резистентности связаны с разным плазмидным профилем. В хромосоме изоляты имеют одинаковые области оперона иерсиниабактина (*ybt10*), но существенные отличия в главной «горячей точке» рекомбинации – К и О-локусах [10].

Таким образом, *K. pneumoniae*, в сравнении с другими грамотрицательными микроорганизмами наиболее часто определялась из крови и ликвора у детей. Наибольшее количество изолятов проявили фенотип ШЛУ и ШЛУ в сочетании с устойчивостью к колистину. В геноме изолятов *K. pneumoniae* было обнаружено большое разнообразие генов вирулентности. Более 50% изолятов *K. pneumoniae*, формирующих биопленки сильной и умеренной интенсивности относились к ШЛУ фенотипу. Среди изолятов *K. pneumoniae* обнаружено 27 ST. Наиболее часто встречающимися были: ST307, ST395, ST48, ST39 и ST29 [39]. Карбапенемаза ОХА-48 – основная детерминанта устойчивости к карбапенемам. Летальный исход наступил в 25% случаев *K. pneumoniae*-бактериемии.

P. aeruginosa

P. aeruginosa – один из основных микроорганизмов, вызывающих нозокомиальные инфекции, является третьим наиболее часто выделяемым патогеном при посеве крови среди грамотрицательных палочек и седьмым среди всех микробных агентов [243]. В нашем исследовании синегнойная палочка составляет 3,6 % от всех выделенных изолятов [40]. Среди инфекций различной локализации, этиологическим фактором которых выступает *P. aeruginosa*, инфекции кровотока и ЦНС являются одними из самых опасных и часто ассоциированных с жизнеугрожающими состояниями [285].

Способность *P. aeruginosa* вызывать внутрибольничные инфекции связана с их устойчивостью к АМП и вирулентностью [73].

По данным исследования «МАРАФОН» 2015–2016 гг., изоляты *P. aeruginosa* имели высокий уровень устойчивости к АМП. В особенности – к антисинегнойным цефалоспорином, азтреонаму, карбапенемам. Полимиксины проявляли максимальную активность *in vitro* [36]. В другом исследовании был отмечен значительный рост количества изолятов *P. aeruginosa*, резистентных к пиперациллину/тазобактаму и амикацину. В работе российских коллег обнаружена высокая устойчивость *P. aeruginosa* (около 70%) ко всем анализируемым классам антибиотиков, кроме полимиксинов (1,7%) [34]. В нашем исследовании резистентность *P. aeruginosa* к цефалоспорином и карбапенемам составила 80%. Устойчивость к аминогликозидам и фторхинолоном превышала 70%. Изолятов *P. aeruginosa*, резистентных к колистину выявлено не было [40].

Продукция карбапенемаз является одной из главных причин устойчивости изолятов к карбапенемам [200]. В нашем исследовании у 56% изолятов *P. aeruginosa* был идентифицирован ген МБЛ VIM [40, 46]. Схожие результаты получили и Silveira M.C. и соавт. (2021), обнаружившие, что продукция МБЛ VIM была характерна для изолятов *P. aeruginosa* при инфекциях кровотока [165]. В нашем исследовании ген лактамазы – GES был обнаружен у 20% изолятов, похожие данные (16,3%) были опубликованы бразильскими исследователями [139].

Большинство факторов вирулентности синегнойной палочки имеет хромосомное происхождение, большое влияние на процесс их распространения в микробной популяции оказывает геномная пластичность *P. aeruginosa* [312]. Ранее предполагалось, что гипервирулентность не характерна для изолятов, обладающих МЛУ. К настоящему времени появляются работы, демонстрирующие обратную картину [70]. Недавние исследования показали, что определенные механизмы устойчивости к антибиотикам у значительной части изолятов сочетаются с наличием генов вирулентности, в частности, с цитотоксичными белками семейства Exo [131]. В нашем исследовании изученные

изоляты, в том числе МЛУ и ШЛУ, имели высокий уровень наличия генов вирулентности [37].

Цитотоксичность, связанная с системой секреции III типа (T3SS), является основным фактором, определяющим вирулентность *P. aeruginosa* [276]. Синегнойная палочка использует систему секреции III типа для взаимодействия со специфическими мишенями хозяина и развития инфекции [179]. При инфекции, вызванной *P. aeruginosa* с *exoU*, увеличивается тяжесть заболевания [275]. В одном из исследований факторов вирулентности *P. aeruginosa* при бактериемии было показано, что все штаммы обладали либо геном *exoU*, либо *exoS*. Доля штаммов с *exoU* составила 31,5%, и была выше, чем сообщалось ранее в исследовании Hirakata Y и соавт. – 10,8% [217]. Данные коллег указывают, что гены *exoU* и *exoS* практически исключают друг друга. В отделениях интенсивной терапии ген эффектор *exoS* был обнаружен у 36,2% пациентов, *exoU* – у 63,8% [133]. Resio R. и соавт. у изолятов *P. aeruginosa* из кровотока обнаружили следующую частоту встречаемости генов семейства *exo*: *exoY* – 93%, *exoT* – 97%, *exoS* – 76%, *exoU* – 21%. В своей работе они определили генотип *exoU*+ фактором риска повышенной смертности независимо от других переменных, в том числе включая МЛУ [262]. В других исследованиях наиболее частыми детерминантами вирулентности описаны *lasB* (98,7%) и *exoS* (98,7%) [337]. Результаты нашего анализа показывают, что ген эффектор *exoU* был обнаружен у 32% изолятов. Большинство из них проявляли ШЛУ. Ген *exoS* был выявлен у 64%. Комбинации генов эффекторов выявлено не было, что соответствует общемировым данным [40]. В случаях с неблагоприятным исходом был определен *ExoS*-тип, хотя в литературе описывается большая токсичность изолятов *ExoU*-типа. Гены *exoY* и *exoT* доминировали и были обнаружены в 92% и 88% случаев, соответственно.

Щелочная протеаза А (алкалинпротеаза, AprA) и эластаза В (LasB) являются основными протеазами, секретируемыми синегнойной палочкой [227]. В геноме всех изолятов, проанализированных в нашей работе, был идентифицирован ген *aprA*. Польские коллеги в своей работе, посвященной *P. aeruginosa* при

инфекциях кровотока, обнаружили данный ген у меньшего (88,7%) количества изолятов [129].

Эластаза В, цинк-зависимая металлопротеаза, разрушает структурные белки соединительной ткани, например, коллаген, эластин [98]. Также как и алкалинпротеаза, эластаза способна к деградации иммуноглобулинов и факторов системы комплемента [114]. В нашей выборке гены эластазы *lasB* были выявлены у всех изученных изолятов. Следует отметить, что у 10 из 25 пациентов определялась сопутствующая синегнойная колонизация нижних дыхательных путей.

Ген фосфолипазы *plcH* также был обнаружен у всех проанализированных изолятов, что полностью коррелирует с результатами, полученными Bogiel T. и др. в 2022 г. [129]. Ген фосфолипазы достаточно часто (у 82% изолятов) идентифицировали у синегнойной палочки и в работах с иной локализацией инфекции [69].

Ген *phzM* регулирует в бактериальной клетке продукцию пиоцинина. Свыше 90% исследованных нами изолятов были *phzM*-позитивными. Bogiel и др. обнаружили этот ген у 78% изолятов *P. aeruginosa*, выделенных из кровотока [129].

Фермент, задействованный в биосинтезе альгината и кодируемый *algD*, является одним из важнейших компонентов биопленок *P. aeruginosa*. Ряд авторов отмечает, что подавляющее большинство клинических изолятов синегнойной палочки (свыше 90%) обладает данным геном [267]. В изученной нами выборке доля *algD*⁺ изолятов также была высока и составила 96% [37].

Структурные протеины пилей (Type IV pili) кодируются генами *pilA* и *pilB*. Интересно заметить, что частота встречаемости данных генов невысока и составляет 16-19% для гена *pilA* и 5-8% для гена *pilB* [267, 268]. Полученные нами результаты отличались от приведенных выше: ген *pilA* был идентифицирован у 12% изолятов, в то время как около половины штаммов (48%) имели последовательность гена *pilB* [37].

Формирование биопленок является одним из основных вирулентных свойств синегнойной палочки. Их образование значительно затрудняет эрадикацию возбудителя из ниш обитания в организме хозяина и из окружающей среды, включая госпитальные условия. Все изученные нами изоляты были способны к формированию биопленок различной интенсивности. При этом регистрировали явное доминирование изолятов с высокой (48%) и умеренной (36%) оптической плотностью формируемых биопленок [24].

Особое внимание следует уделить тому факту, что проанализированные в настоящей работе изоляты, несущие ген *pilB*, образовывали биопленки с большей оптической плотностью в сравнении с таковыми, его не имеющими. По нашим сведениям, такая ассоциация ранее не была опубликована. Возможно, при изучении выборок большего размера данная корреляция не сохранится, но дальнейшие исследования в установлении или отсутствии такой корреляции представляются перспективными. Стоит отметить и тот факт, что для функционально близкого гена *pilA* подобной статистически значимой зависимости между плотностью образуемых биопленок и наличием указанного гена в нашей выборке не наблюдалось.

В синтезе нейраминидазы задействованы гены *nan1* и *nan2*. Имеются данные о высокой частоте встречаемости гена *nan1* у *P. aeruginosa*, выделенной из аспиратов и крови, в то время как *nan2* чаще выделяется у *P. aeruginosa* из раневого отделяемого и крови [98]. Частота встречаемости *nan1* среди *P. aeruginosa* из образцов крови по некоторым данным составляет 63% [223]. В нашей работе этот ген был идентифицирован только у одного изолята (4%). В свою очередь, ген *nan2* был выявлен у 60% изолятов *P. aeruginosa* [37]. В некоторых других работах этот ген определялся в 100% изолятов *P. aeruginosa* из крови [129].

В нашей работе вирулентность и устойчивость к АМП нередко была обнаружена у одних и тех же изолятов. Так *P. aeruginosa*, формирующая биопленки высокой интенсивности, в большинстве случаев проявляла устойчивость к карбапенемам, тобрамицину, пиперациллин/тазобактаму,

цефалоспорином (в т.ч. защищенным), фторхинолоном. У изолятов с геном *exoS* была аналогичная картина устойчивости к АПМ. Изоляты *pilB+* и *nan2+* в подавляющем большинстве были устойчивы к тем же препаратам, за исключением пиперациллин/тазобактама. *P. aeruginosa* *exoU+* более, чем в 50% сочетала в себе устойчивость к карбапенемам, аминогликозидам, цефалоспорином, цефтолозан/тазобактаму, фторхинолоном.

В нашем исследовании популяция *P. aeruginosa* представлена 16 сиквенс-типами. Значительная часть изолятов принадлежала к генотипам ST654 и его SLV (32%; 12%), ST235 и его SLV (12%; 4%), что суммарно составляет 60% [40, 46]. Наши результаты несколько отличаются от данных международных исследователей, согласно которым распространение ST654 ниже по сравнению с клоном ST235 [132]. Тем не менее, оба этих генотипа относятся к широко распространенным по всему миру клоном высокого риска, поскольку они ассоциированы с глобальным распространением изолятов с МЛУ и высокой вирулентностью, а инфекции, ими вызванные, приводят к значительному увеличению уровня смертности пациентов [132].

По данным отечественных коллег [302], более 95% изолятов, обладающих МБЛ, представлены ST235, однако по данным нашей работы МБЛ+ изоляты относились к ST654.

В нашем исследовании для всех изолятов генотипа ST654 и его SLV было характерным наличие гена карбапенемазы группы VIM и генов вирулентности *lasB*, *plcH*, *aprA*, *alg*, *pilB*, *exoS*, *exoT* и *exoY*. Больше половины изолятов этой группы обладали генами *phzM* и *nan2*. Это коррелирует с результатами, полученными Del Barrio-Tofiño E. и соавт. по данным которых, генотип ST654 распространен на территории Южной Америки, Европы и Азии, и ассоциирован с наличием генов *exoS* и VIM [132]. В той же работе авторы указывают, что генотип ST235 распространен на всех континентах мира, имеет более широкий спектр продуцируемых карбапенемаз, в том числе VIM и GES. Из токсинов системы секреции III типа для этого генотипа более характерно наличие ExoU [132]. По нашим данным, все изученные представители ST235 и его SLV имели гены *lasB*,

plcH, *aprA*, *phzM*, *exoU* и *exoY*. Кроме того, некоторые из этих штаммов несли гены *algD*, *nan2* и *exoT*. Изоляты генотипа ST235 и его SLV продуцировали карбапенемазы VIM и GES [40].

У всех изолятов, принадлежащих к другим генотипам, были обнаружены гены *lasB*, *plcH*, *aprA*, *alg* и *phzM*. Наличие других генов вирулентности в привязке к распределению по генотипам сильно варьировало. Стоит акцентировать внимание на некоторых отдельных наблюдениях: так, ген нейраминидазы *nan1* определялся только у изолята генотипа ST270, ген *pilA* – у ST 270, ST390 и ST3822. Ген экзотоксина *exoU*, помимо изолятов ST235 и его SLV, был найден еще у изолятов ST309, ST773, ST2326 и ST3826.

Колонизация пациентов нозокомиальными штаммами *P. aeruginosa* является сложной и многофакторной проблемой. До 90% пациентов с инфекциями кровотока, ассоциированными с *P. aeruginosa*, имеют тяжелое основное заболевание, чаще это злокачественные новообразования, или хронические заболевания, обширные оперативные вмешательства или снижение иммунного статуса [269]. В нашей работе 68% пациентов с *P. aeruginosa*-инфекцией наблюдались с хирургической патологией и 32% – пациенты соматического профиля [40].

На способность и сроки колонизации бактерией тканей пациента влияет множество факторов. Кроме вирулентности патогена, важно учитывать особенности нозологии, ее тяжести и состояние пациента [180]. По результатам нашей работы было определено, что у четырех пациентов *P. aeruginosa* выделялась только из образцов крови/ликвора. У двоих – из крови и ЦВК, вероятно, здесь имела место быть катетер-ассоциированная инфекция кровотока. В других случаях определялась колонизация *P. aeruginosa* от двух до семи различных локусов: как значимых (кровь/аспират/рана/ моча), так и локусов мониторинга (зев, анус). Чаще всего *P. aeruginosa* населяла четыре локуса (у 10 из 25 пациентов). Сроки выявления колонизации локусов до момента регистрации бактериемии/инфекции ЦНС значительно варьировали: от одновременного выделения (4 случая) до 48 дней. В одном случае бактериемия (*P. aeruginosa* –

ST773, *exoU+*) была выявлена у пациента с муковисцидозом, который ранее был инфицирован *P. aeruginosa* более 6 месяцев (изолятом *P. aeruginosa* – ST244 *exoS+*) [51].

Важным фактором риска возникновения *P. aeruginosa*-бактериемии является иммуносупрессия [173], отклонения в составе кишечной микробиоты, применения в терапии инструментальных процедур (венозных катетеров, механической вентиляции) [270]. При назначении эмпирической терапии должны учитываться такие факторы как возраст и аллергоanamнез пациента, сопутствующая патология, первичный очаг инфекции и предшествующая антибактериальная терапия [183]. По данным нашей работы у пяти умерших пациентов синегнойной палочкой были колонизированы от 3 до 6 различных локусов. В четырех случаях летальный исход наступил в течение первых суток после выявления бактериемии, у одного пациента – в отдаленном периоде (более 30 дней) [51].

Инфекции кровотока, вызванные *P. aeruginosa*, ассоциируются с высоким уровнем смертности [40]. По некоторым данным в педиатрической практике общая летальность среди пациентов с инфекциями кровотока составляет около 37% [272]. В нашем исследовании из всех случаев бактериемии и инфекции ЦНС, связанных с *P. aeruginosa*, пять (20%) имели неблагоприятный исход [40]. Сепсис или септический шок во время бактериемии *P. aeruginosa* являются факторами риска смертности [313]. В нашей выборке сепсис был диагностирован в 80% случаев летальных исходов. Некоторые исследователи показали, что хирургические вмешательства, сопровождающиеся бактериемией, нередко имеют плохой прогноз [315]. В нашем исследовании инфекции кровотока/ЦНС в 68% наблюдались у пациентов после обширных операций. При этом в 3/17 случаев были ЛИ [40]. В работах иностранных авторов описано что, *P. aeruginosa*-инфекции кровотока встречается в основном у детей со сниженным иммунитетом [151].

Синегнойная палочка с МЛУ является независимым предиктором смертности при инфекциях кровотока [187]. В нашем исследовании во всех

случаях неблагоприятного исхода были выделены изоляты *P. aeruginosa*, обладающие МЛУ и ШЛУ [40].

Считается, что представители ST235, имеющие ген *exoU*, ассоциированы с высоким уровнем смертности при *P. aeruginosa*-инфекции кровотока [192]. В нашем случае ситуация была несколько иной: при ЛИ чаще выделялись изоляты генотипа ST654, имеющие ген *exoS*. Возможно, это связано или с некими иными, не рассмотренными здесь характеристиками микроорганизмов, или, например, с особенностями нозологии: тяжестью течения инфекции или типом основного заболевания. Также при учете полученных данных стоит учитывать малый размер выборки.

На основании вышеизложенного можно заключить, что *P. aeruginosa* при инфекциях кровотока и ЦНС имеет широкий спектр факторов резистентности и вирулентности. Среди изолятов преобладали МЛУ и ШЛУ штаммы. Популяционная структура изолятов *P. aeruginosa* представлена 16 ST. В структуре лидировали представители ST654 – 32% и ST235 – 12%. Частота выявления VIM составила 56%, GES – 20%. Более 50% изолятов *P. aeruginosa*, формирующих сильные биопленки, были резистентны к нескольким АМП и имели МБЛ VIM. Все изоляты были способны к образованию биопленок на абиотической поверхности (большинство образовывали сильные биопленки). 20% случаев бактериемии и инфекции ЦНС, связанных с *P. aeruginosa*, имели неблагоприятный исход.

S. marcescens

Появление МЛУ у изолятов *S. marcescens*, считавшейся ранее сапрофитным микроорганизмом, вызывает некоторые опасения. По результатам нашей работы около половины изученных штаммов относятся к МЛУ или к ШЛУ [41]. Ученые из Испании также наблюдали множественную резистентность у представителей энтеробактерий, в том числе *S. marcescens* [136]. Особое значение имеет резистентность нозокомиальных микроорганизмов к цефалоспорином и

карбапенемам. В нашей работе резистентность к цефалоспорином III – IV поколения и азтреонаму составила 53%, а к карбапенемам – 37%, что гораздо меньше, чем в схожем исследовании, где уровень резистентности к карбапенемам составил 82% [23, 41, 100].

По данным отечественного исследования МАРАФОН карбапенемазы группы OXA-48 были выявлены у *S. marcescens* в 15% случаев, а МБЛ NDM – 2%. Другие карбапенемазы или их комбинации не встречались [33]. В нашей работе в 11% встречались только карбапенемазы группы OXA-48, в 5% – только NDM, комбинация карбапенемаз была выявлена у 15% изолятов [41, 42]. Для российской популяции не характерно наличие карбапенемазы KPC у *S. marcescens*, в отличие от китайских и бразильских исследований, в которых этот тип карбапенемаз превалирует [100, 145].

По данным корейских ученых смертность при инфекции кровотока, ассоциированной *S. marcescens* составляет 22% [289], в Бразилии этот показатель достигает 63% [100]. В нашем исследовании летальность при бактериемии, вызванной *S. marcescens*, составила 5% [41].

Выделение *S. marcescens* при инфекциях кровотока нередко бывает результатом распространения генетически схожих изолятов с множественной резистентностью [53, 100], что является серьезной проблемой практического здравоохранения, особенно для пациентов педиатрического профиля. По нашим данным большая доля изолятов, обладающих множественной резистентностью, по данным МЛСА входила в одну группу. Все штаммы были выделены в один год из одного отделения, что позволяет предположить наличие единого источника инфекции [41].

Исходя из представленных данных, можно заключить, что *S. marcescens* помимо природной устойчивости к ампициллину, амоксициллин-клавуланату, полимиксинам и некоторым цефалоспорином, обладает способностью приобретать устойчивость к другим группам антибиотиков. Нами было выявлено преобладание МЛУ и ШЛУ штаммов. При изучении генотипического состава *S. marcescens* было выявлено 6 основных генотипических групп. У

карбапенемрезистентных изолятов наиболее часто определялось наличие одновременно двух карбапенемаз групп OXA-48 и NDM. Основная масса изолятов *S. marcescens* образовывала биопленки умеренной интенсивности, при этом значительная часть этих штаммов была устойчива к аминогликозидам и защищенным цефалоспорином [23]. Уровень летальности при бактериемии, вызванной *S. marcescens*, составил 5%.

ВЫВОДЫ

1. В спектре микроорганизмов, выделенных из крови и ликвора у детей, среди грамотрицательных бактерий преобладали *K. pneumoniae* 9,6% и *P. aeruginosa* – 3,6%.

2. Большинство изученных изолятов бактерий показали высокий уровень резистентности к антибиотикам различных групп, в том числе к карбапенемам и полимиксидам. При этом преобладали штаммы с фенотипами множественной и широкой лекарственной устойчивости. Широкая лекарственная устойчивость сочеталась с устойчивостью к колистину у 25% изолятов *K. pneumoniae*. Среди *A. baumannii* было определено 24% колистин-резистентных изолятов.

3. Популяционная структура изолятов *A. baumannii* включала 9 сиквенс-типов (ST). Продуцентами карбапенемаз группы OXA-40 были представители ST944^{Oxf}, ST1104^{Oxf}, ST1550^{Oxf}, ST450^{Oxf}, а группы OXA-23 – ST1102^{Oxf} и ST2063^{Oxf}. Среди изолятов *K. pneumoniae* было обнаружено 27 сиквенс-типов. Наиболее часто встречающимися были: ST307, ST395. Основной детерминантой устойчивости к карбапенемам была карбапенемаза OXA-48. Популяционная структура изолятов *P. aeruginosa* представлена 16 сиквенс-типами, среди которых лидировали ST654 и ST235. Металло-бета лактамаза VIM была определена у 56%. При изучении генотипического состава *S. marcescens* было выявлено 6 основных генотипических групп. Наиболее часто определялось сочетание двух карбапенемаз OXA-48 и NDM.

4. Все изоляты *A. baumannii* имели гены вирулентности *bfmR*, *bar* и *katE*. Ген *ompA* был обнаружен у 94%. Все штаммы *K. pneumoniae* имели гены *entB* и *mrkD*, ген *ybtS* – 78%, аэробактин *iutA* – у 18%. Капсульный серотип K2 определен у 10%. Все изоляты *P. aeruginosa* имели гены *lasB*, *plcH* и *aprA*. Гены *exoS* и *exoU* были определены у 64% и 32%. Гены *nan2* и *pilB* были выявлены у 60% и 48% штаммов. Изоляты *K. pneumoniae iutA+* в 75% проявляли устойчивость к пяти и

более антибиотикам. Изоляты K2 серотипа в 80% были резистентны к восьми антимикробным препаратам. Изоляты *P. aeruginosa* *exoU*⁺ в основном проявляли широкую лекарственную устойчивость. Значительная часть лекарственно-устойчивых штаммов имела гены *exoS* и *nan2*.

5. Изоляты *A. baumannii* формировали преимущественно биопленки слабой интенсивности, *P. aeruginosa* – сильной, *K. pneumoniae* и *S. marcescens* – умеренной. МПК меропенема для биопленочных форм *A. baumannii* значимо выше, чем МПК меропенема для планктонных форм ($p < 0,05$). Значительная часть изолятов *A. baumannii* с умеренными биопленками были устойчивы к аминогликозидам и фторхинолонам. Более 50% изолятов *K. pneumoniae*, формирующих биопленки сильной и умеренной интенсивности, обладали широкой лекарственной устойчивостью. Изоляты *S. marcescens*, образующие умеренные биопленки, были устойчивы к аминогликозидам и защищенным цефалоспорином.

6. Летальный исход при инфекциях кровотока и ЦНС, ассоциированных с *A. baumannii* и *K. pneumoniae*, был констатирован в 24% и 25% случаев, соответственно; при инфекциях, связанных с *P. aeruginosa*, – 20% и 1 случай при *S. marcescens*-инфекции.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В целях обеспечения своевременной и адекватной антибактериальной терапии рекомендуется регулярное проведение мониторинга распространения микроорганизмов и определение устойчивости к различным АМП для наиболее распространенных патогенов.
2. Для выявления детерминант резистентности к карбапенемам у грамотрицательных изолятов бактерий, выделенных из образцов крови и ликвора, рекомендовано использование ПЦР.
3. Проведение мультилокусного сиквенс-типирования и сиквенсового анализа рекомендуется для анализа распространения генотипов, ассоциированных с генами резистентности и гипервирулентности.
4. В качестве маркера устойчивости *K. pneumoniae* к колистину может использоваться ген *PhoP_26Q*.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

1. Продолжение мониторинга микроорганизмов, выделяемых из проб крови и ликвора в педиатрических стационарах с использованием методов молекулярной эпидемиологии.
2. Продолжение исследования распространения резистентности среди грамотрицательных изолятов, выделенных из крови и ликвора.
3. Продолжение определения роли β -лактамаз и формирования биопленок в развитии устойчивости к карбапенемам грамотрицательных изолятов.
4. Исследование альтернативных механизмов устойчивости к различным АМП, в том числе к карбапенемам и полимиксинам.
5. Продолжение исследования вирулентных свойств основных грамотрицательных изолятов, выделенных из крови и ликвора, определение их роли в патогенезе бактериемии/инфекции ЦНС и возможных способов ее снижения.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АМП – антимикробный препарат
- АП – абдоминальная патология
- БЛРС – β -лактамаза расширенного спектра действия
- БЭ – буллезный эпидермолиз
- ВОЗ – всемирная организация здравоохранения
- ВПС – врожденный порок сердца
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- КНС – коагулазо-негативный стафилокок
- ЛИ – летальный исход
- ЛПС – липополисахарид
- МБЛ – металло- β -лактамаза
- МВ – муковисцидоз
- МЛСА – мультилокусный сиквенсовый анализ
- МЛСТ – мультилокусное сиквенс-типирование
- МЛУ – множественная лекарственная устойчивость
- МПК – минимальная подавляющая концентрация
- НГОБ – неферментирующая грамотрицательная бактерия
- ОРИТ – отделение реанимации и интенсивной терапии
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- ТСТ – тяжелая сочетанная травма
- ЦВК – центральный венозный катетер
- ЦНС – центральная нервная система
- ШЛУ – широкая лекарственная устойчивость
- АМГ – aminoglycosides, аминогликозидные антибиотики
- АМК – amikacin, амикацин
- AZT – aztreonam, азтреонам
- ВНВ – brain heart broth, сердечно-мозговой бульон

BV-BRC – bacterial and viral bioinformatics resource center, ресурсный центр бактериальной и вирусной биоинформатики

CAR – carbapenems, карбапенемные антибиотики

CARD – comprehensive antibiotic resistance database, обширная база данных устойчивости к антибиотикам

CDC – center for disease control and prevention, центр по контролю и профилактике заболеваний

CER – cephalosporins, цефалоспориновые антибиотики

CG – clonal group, клональная группа

cgMLST – core genome multilocus sequence typing, типирование мультилокусных последовательностей основного генома

CIP – ciprofloxacin, ципрофлоксацин

COL – colistin, колистин

CT – ceftalozan/tazobactam, цефтолозан/тазобактам

CTAB – cetyltrimethylammonium bromide, бромид цетилтриметиламмония

CZA – ceftazidime/avibactam, цефтазидим/авибактам

DLV – duo-locus variant, двухлокусный вариант

EUCAST – European committee on antibiotic susceptibility testing, Европейский комитет по тестированию чувствительности к антибиотикам

FEP – cefepime, цефепим

FOS – fosfomicin, фосфомицин

FQL – fluoroquinolones, фторхинолоновые антибиотики

GEN – gentamicin, гентамицин

ICL – international clonal lineage, международная клональная линия

IMI – imipenem, имипенем

KL – capsular lipopolysaccharide, капсульный липополисахарид

MEM – meropenem, меропенем

PATRIC – pathosystems resource integration center, центр интеграции ресурсов патосистемы

PFGE – pulsed-field gel electrophoresis, гель-электрофорез в импульсном поле

PGAP – prokaryotic genome annotation pipeline, конвейер аннотации генома прокариот

PPEN – protected penicillins, защищенные пенициллины

PTZ – piperacillin/tazobactam, пиперациллин/тазобактам

RAST – rapid annotations subsystems technology, технология подсистем быстрых аннотаций

SAT – satellite, сателлит

SL – subline, сублиния

SLV – single locus variant, однолокусный вариант

ST – sequence type, сиквенс-тип

STX – trimethoprim/sulfamethoxazole, триметоприм/сульфаметоксазол

TAZ – ceftazidime, цефтазидим

TCC – ticarcillin/clavulanate, тикарциллин/клавуланат

TCS – two-component signal transduction system, двухкомпонентная система передачи сигналов

TOB – tobramycin, тобрамицин

VFDB – virulence factor database, база данных факторов вирулентности

WGS – whole genome sequencing, полногеномное секвенирование

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алгоритм выбора препаратов для таргетной антимикробной терапии на основе результатов молекулярно-биологических исследований положительных культур крови / А.В. Дехнич, А.Ю. Кузьменков, Д.А. Попов [и др.] // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2023. – Т.20, – №2. – С. 96-107.
2. Анализ генетических детерминант резистентности и вирулентности бактерий, выделенных у пациенток перинатального центра / С.С. Смирнова, Ю.В. Михайлова, С.Р. Беломестнов [и др.] – Текст : непосредственный // Молекулярная диагностика и биобезопасность - 2023: сборник тезисов Конгресса с международным участием, Москва, 27–28 апреля 2023 года. – Москва: Федеральное бюджетное учреждение науки "Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии" Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, – 2023. – С. 201-202.
3. Анализ случаев бактериемии у детей первого года жизни, больных врожденными пороками сердца с осложненным течением послеоперационного периода / Л.М. Самойлова, Ю.Н. Горбатов, С.Н. Прохоров [и др.] // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2011. – №4. – С. 11-16.
4. Анализ структуры бактериемий и чувствительности к антибиотикам микроорганизмов, выделенных в отделениях реанимации и интенсивной терапии в скорпомощном стационаре в период с 2003 по 2021 г.: ретроспективное наблюдательное исследование / А.О. Быков, М.П. Суворова, Д.Н. Проценко [и др.] // Вестник интенсивной терапии имени А.И. Салтанова. – 2023. – №2. – С. 55-65.
5. Антибиотикорезистентность и вирулентность карбапенем-устойчивых штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных у детей в реанимационных и хирургических отделениях / И.Е. Новикова, З.З. Садеева, Н.М. Алябьева, Е.А. Самойлова, О.В. Карасева, О.Г. Янюшкина, А.В. Лазарева // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2023. – Т.100. – №4. – С. 321-332.

6. Бактериемии и инфекции ЦНС у детей, ассоциированные с *Klebsiella pneumoniae*: молекулярно-генетическая характеристика и клинические особенности / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, А.В. Лазарева [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2023. – Т. 13, – № 6. – С. 1117-1128.
7. Белякова, Н.В. Особенности видового состава возбудителей бактериемии у детей / Н.В. Белякова, Г.М. Паршикова, Е.Ф. Мельникова // Ученые записки Орловского государственного университета. Серия: Естественные, технические и медицинские науки. – 2014. – Т.2, – №7. – С. 137-138.
8. Боронина, Л.Г. Расширение возможностей в диагностике бактериемии и сепсиса у детей многопрофильного стационара / Л.Г. Боронина, Е.В. Саматова, М.Е. Пруткин // Клиническая лабораторная диагностика. – 2019. – Т.64, – №10. – С. 613-619.
9. Влияние цитофлавина на этиологическую структуру и частоту развития бактериемии у пострадавших с тяжелой сочетанной травмой / Д.Ш. Саъдулаев, О.Е. Гурская, И.В. Фатеев [и др.] // Забайкальский медицинский вестник. – 2023. – №2. – С. 110-118.
10. Геномные особенности резистентных изолятов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из кровяного русла и ликвора пациентов детского стационара / О.Л. Воронина, М.С. Кунда, Н.Н. Рыжова, Е.И. Аксенова, З.З. Садеева, И.Е. Новикова, А.В. Лазарева, О.В. Карасева, А.П. Фисенко, А.Л. Гинцбург // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2023. – Т. 100, – № 6. – С. 399-409.
11. Ермоленко, К.Ю. Прогнозирование исходов тяжелых инфекций центральной нервной системы у детей / К.Ю. Ермоленко, К.В. Пшениснов, Ю.С. Александрович // Анестезиология и реаниматология (Медиа Сфера). – 2023. – №4. – С. 27-34.
12. Интенсивная бактериемия при сепсисе у ВИЧ-инфицированной пациентки, выявленная при микроскопии мазка периферической крови / Д.Ю.

Соснин, В.В. Базарный, А.П. Щекотова, Н.И. Насибуллина // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2023. – Т.15, – №1. – С. 67-70.

13. Использование полимеразной цепной реакции для детекции генов резистентности у грамотрицательных бактерий в рутинной практике педиатрического стационара / И.Е. Новикова, З.З. Садеева, Р.А. Шакирзянова, Н.М. Алябьева, А.В. Лазарева, О.В. Карасева, М.Г. Вершинина, А.П. Фисенко // Клиническая лабораторная диагностика. – 2022. – Т.67, – №3. – С. 180-185.

14. Истинная и ложная бактериемия: пути решения проблемы / Н.С. Багирова, И.А. Ключникова, А.В. Сытов [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2023. – Т.68, – №1. – С. 47-55.

15. Квашнина, Д.В. Комплексная клинико-этиологическая и эпидемиологическая характеристика катетер-ассоциированных инфекций кровотока / Д.В. Квашнина, О.В. Ковалишена, Н.А. Беянина // Медицинский альманах. – 2017. – Т.4, – №49. – С. 41-45.

16. Кирилочев, О.К. Возможности использования оценочной шкалы pSOFA для диагностики сепсиса у новорожденных / О.К. Кирилочев, А.С. Эйберман, Л.Г. Бочкова // Лечащий врач. – 2022. – №1. – С. 8-13.

17. Клинико-микробиологическая характеристика бактериемии у детей, вызванной *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii* / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, Т.М. Комягина, Н.М. Алябьева, Р.А. Шакирзянова, А.В. Лазарева, М.Г. Вершинина // Российский педиатрический журнал. – 2021. – Т. 24. – № S. – С. 54.

18. Крыжановская, О.А. Чувствительность к антибиотикам и механизмы устойчивости к карбапенемам *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Klebsiella pneumoniae*, выделенных у детей в отделениях реанимации и интенсивной терапии : дис. ... канд. мед. наук : 03.02.03 / Крыжановская Ольга Андреевна ; Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Минздрава России. – Москва, 2016. – 119 с.

19. Кумирова, Э.В. ЦВК-ассоциированные инфекции кровотока / Э.В. Кумирова // Вестник интенсивной терапии. – 2013. – №3. – С. 37-43.

20. Лазарева, А.В. Микробиологическая характеристика, механизмы устойчивости к антибиотикам и молекулярная эпидемиология резистентных форм респираторных патогенов и госпитальных грамотрицательных бактерий : дис. ... д-ра мед. наук: 03.02.03 / Лазарева Анна Валерьевна ; Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова. – Москва, 2019. – 233 с.

21. Методические рекомендации Российской некоммерческой общественной организации «Ассоциация анестезиологов-реаниматологов», Межрегиональной общественной организации «Альянс клинических химиотерапевтов и микробиологов», Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ), общественной организации «Российский Сепсис Форум» «Диагностика и антимикробная терапия инфекций, вызванных полирезистентными штаммами микроорганизмов» (обновление 2022 г.) / В.Б. Белобородов, О.В. Голощапов, В.Г. Гусаров [и др.] // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2022. – Т.19, – №2. – С.84-114.

22. Молекулярно-генетическая характеристика вирулентных свойств штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из крови и ликвора у детей / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, О.В. Карасева, М.С. Мелков, А.В. Лазарева // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2021. – Т. 23. – № S1. – С. 37.

23. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Serratia marcescens*, выделенных из крови и ликвора у детей в отделениях реанимации / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, Н.М. Алябьева, А.В. Лазарева, М.Г. Вершинина. – Текст : непосредственный // Материалы научно-практических конференций в рамках VIII Российского конгресса лабораторной медицины (РКЛМ 2022). Сборник тезисов. – Москва: У Никитских ворот, 2022. – С. 77-78.

24. Образование биопленок, фенотипическая и генотипическая характеристика *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*, выделенных из крови и ликвора у детей в отделениях реанимации / З.З. Садеева, И.Е. Новикова,

Н.М. Алябьева, А.В. Лазарева // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2022. – Т. 24. – № S1. – С. 32-33.

25. Оценка возможности повышения качества результатов ускоренной идентификации микроорганизмов из положительных гемокультур / А.В. Халиулин, А.В. Лямин, О.А. Гусякова [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2023. – Т.13, – №2. – С. 369-375.

26. Перспективы оценки вирулентности штаммов бактерий методами *in vitro* / Т.С. Антонова, Т.П. Шмелькова, Н.А. Осина, Т.А. Малюкова, М.В. Гордеева – Текст : непосредственный // Молекулярная диагностика и биобезопасность - 2023: сборник тезисов Конгресса с международным участием, Москва, 27–28 апреля 2023 года. – Москва: Федеральное бюджетное учреждение науки "Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии" Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2023. – С. 39-40.

27. Применение MALDI-TOF масс-спектрометрии для идентификации микроорганизмов в гемокультурах пациентов с подозрением на сепсис / Г.Г. Ломинадзе, Е.А. Семенова, О.В. Мотузова, А.Н. Калакуцкая, А.В. Лазарева, О.А. Крыжановская, Л.К. Катосова, Н.А. Маянский // Вопросы диагностики в педиатрии. – 2013. – №2. – С. 28-32.

28. Распространённость генов резистентности у штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из крови и ликвора у детей / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, Н.М. Алябьева, А.В. Лазарева. – Текст : непосредственный // Молекулярная диагностика и биобезопасность-2022. Сборник материалов конгресса с международным участием. – Москва: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, 2022. – С. 181.

29. Роль условно - патогенных микроорганизмов в этиологии инфекций центральной нервной системы и мониторинг антибиотикорезистентности их возбудителей / Э.М. Агаева, Г.М. Сеидова, С.Ф. Гурбанова [и др.] // Медицинские новости. – 2023. – Т.6, – №345. – С. 61-63.

30. Сепсис. ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России / А.М. Карсанов, В.П. Сажин, С.С. Маскин [и др.] // Владикавказ: ИПЦ ИП Цопанова А.Ю. – 2017. – 196 с. – ISBN 978-5000081-157-3. – Текст : непосредственный.
31. Сергиенко, Е.Н. Спектр возбудителей бактериемий у детей / Е.Н. Сергиенко, О.Н. Романова // Медицинский журнал. – 2022. – Т.2, – №80. – С. 114-118.
32. Старовойтова, В.О. Виды бактерий, выделенных из крови пациентов стационара Ростова-на-Дону, и их антибиотикорезистентность / В.О. Старовойтова. – Текст : непосредственный // Мечниковские чтения-2023: Сборник материалов конференции. 96-я Всероссийская научно-практическая конференция студенческого научного общества с международным участием, Санкт-Петербург, 26–27 апреля 2023 года. – Санкт-Петербург: Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова. – 2023. – С. 335.
33. Устойчивость к антибиотикам внутрибольничных штаммов *Enterobacterales* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН 2015–2016» / М.В. Сухорукова, М.В. Эйдельштейн, Н.В. Иванчик [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2019. – Т.21, – №2. – С. 147-159.
34. Устойчивость к антибиотикам грамотрицательных возбудителей внутрибольничной пневмонии у больных реанимации / С.А. Первухин, И.А. Стаценко, Э.Ю. Иванова [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2019. Т.21, – №1. – С. 62-68.
35. Устойчивость к антибиотикам, образование карбапенемаз и генотипы внутрибольничных штаммов *Acinetobacter spp.* в больницах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН 2015-2016» / Е.А. Шек, М.В. Сухорукова, М.В. Эйдельштейн [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2019. – Т.21, – №2. – С. 171-180.
36. Устойчивость к антибиотикам, продукция карбапенемаз и генотипы внутрибольничных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в российских больницах:

результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН 2015–2016» / М.В. Эйдельштейн, Е.А. Сухорукова, Е.Ю. Склеенова [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2019. – Т.21, – №2. – С. 160-170.

37. Факторы вирулентности и устойчивость к антибиотикам *Pseudomonas aeruginosa*, выделенной из крови и ликвора у детей в отделениях реанимации / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, Е.А. Самойлова, Н.М. Алябьева, А.В. Лазарева // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2023. – Т. 25. – № S1. – С. 50.

38. Факторы риска развития инфекций кровотока у больных после первой трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток / М.И. Ахмедов, Г.А. Клясова, Е.Н. Паровичникова [и др.] // Клеточная терапия и трансплантация. – 2021. – Т.10, – №3. – С. 65-67.

39. Характеристика *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из крови и ликвора у детей / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, Е.А. Самойлова, Н.М. Алябьева, А.В. Лазарева. – Текст : непосредственный // 4-й Российский микробиологический конгресс. 24-29 сентября 2023. – Томск: ТГУ, 2023. – С. 210.

40. Характеристика *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных из положительных проб гемокультур и ликвора у детей / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, Н.М. Алябьева, А.В. Лазарева, О.В. Карасева, А.П. Фисенко // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2022. – Т. 99, – № 3. – С. 309-321.

41. Характеристика и свойства *Serratia marcescens*, выделенной при бактериемии у детей / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, Н.М. Алябьева, А.В. Лазарева, Е.А. Самойлова, О.В. Карасева, О.Г. Янушкина, М.Г. Вершинина, А.П. Фисенко // Российский педиатрический журнал. – 2023. – Т. 26, – № 2. – С. 118-124.

42. Характеристика карбапенемаз грамотрицательных микроорганизмов, выделенных из крови и ликвора у детей в ОРИТ / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, А.С. Тряпочкина, Р.А. Шакирзянова, Н.М. Алябьева, А.В. Лазарева, М.Г. Вершинина. – Текст : непосредственный // Контроль и профилактика инфекций,

связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП-2021). Сборник тезисов IX конгресса с международным участием. – Москва: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, 2021. – С. 96.

43. Чижкова, А.П. Механизмы устойчивости к антибиотикам у бактерии *Serratia marcescens* / А.П. Чижкова // Форум молодых ученых. – 2018. – Т.12-4, – №28. – С. 503-505.

44. Чувствительность *Acinetobacter baumannii* к антимикробным препаратам в планктонной форме и в составе биоплёнок / З.З. Садеева, Н.М. Алябьева, И.Е. Новикова, А.С. Тряпочкина, А.В. Лазарева. – Текст : непосредственный // Контроль и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП-2022). Сборник тезисов X Конгресса с международным участием. – Москва: Федеральное бюджетное учреждение науки "Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии" Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2022. – С. 93-94.

45. Шамина, О.В. Молекулярная характеристика и механизмы устойчивости к колистину карбапенемрезистентных *Klebsiella pneumoniae*: дис. ... канд. мед. наук: 03.02.03 / Шамина Ольга Вячеславовна ; Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). – Москва, 2021. – 119 с.

46. Эпидемиология и молекулярно-генетическая характеристика *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*, выделенных из крови и ликвора у детей / З.З. Садеева, Т.М. Комягина, Н.М. Алябьева, И.Е. Новикова, Р.А. Шакирзянова, А.В. Лазарева, М.Г. Вершинина. – Текст : непосредственный // 3-й Российский микробиологический конгресс (2021). Материалы конгресса. – Псков: Псковский государственный университет, 2021. – С.115-116.

47. Этиологическая структура бактериемий у детей с онкогематологическими заболеваниями и депрессиями кроветворения в

многопрофильной больнице "университетского" типа / М.В. Панина, Г.А. Клясова, Г.А. Новичкова [и др.] // Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2014. – Т.13, – №3. – С. 49-56.

48. *Acinetobacter baumannii* при инфекциях кровотока и центральной нервной системы у детей в отделениях реанимации и интенсивной терапии: молекулярно-генетическая характеристика и клиническая значимость / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, Н.М. Алябьева, А.В. Лазарева, Т.М. Комягина, О.В. Карасева, М.Г. Вершинина, А.П. Фисенко // Инфекция и иммунитет. – 2023. – Т. 13, – № 2. – С. 289-301.

49. *K. pneumoniae* при бактериемии и инфекции ЦНС: колонизация и оценка клинических исходов / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, Н.М. Алябьева, А.В. Лазарева, М.Г. Вершинина. – Текст : непосредственный // Материалы научно-практических конференций в рамках IX Российского конгресса лабораторной медицины (РКЛМ 2023). Сборник тезисов. – Москва: Общество с ограниченной ответственностью "Издательско-полиграфическое объединение "У Никитских ворот", 2023. – С. 93-94.

50. *Klebsiella pneumoniae* из крови и ликвора у детей: молекулярно-генетическая характеристика резистентности, вирулентности и генотипического состава штаммов / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, Н.М. Алябьева, О.А. Крыжановская, А.В. Лазарева, М.Г. Вершинина. – Текст : непосредственный // Научные лабораторные технологии для клинической медицины. Материалы XXVIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Москва: Блок-Принт, 2023. – С. 165-166.

51. *Pseudomonas aeruginosa*: колонизация и оценка клинических исходов при бактериемии / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, А.С. Тряпочкина, Н.М. Алябьева // Российский педиатрический журнал. – 2022. – Т. 25. – № 6. – С. 432.

52. *Pseudomonas aeruginosa*: патогенность, патогенез и патология / А.В. Лазарева, И.В. Чеботарь, О.А. Крыжановская [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2015. – Т.17, – №3. – С. 170-186.

53. *Serratia marcescens*: микробиологическая характеристика, резистентные свойства, вирулентность и клиническая значимость / З.З. Садеева, И.Е. Новикова, Н.М. Алябьева, А.В. Лазарева // Российский педиатрический журнал. – 2023. – Т. 26, – № 3. – С. 222-226.

54. A comparison of predictors for mortality and bacteraemia in patients suspected of infection / S. Andreassen, J.K. Møller, N. Eliakim-Raz, [et al.] // BMC infectious diseases. – 2021. – Vol. 21. – №1. – P. 864.

55. A comprehensive update on the problem of blood culture contamination and adiscussion of methods for addressing the problem / G.V. Doern, K.C. Carroll, D.J. Diekema, [et al.] // Clinical microbiology reviews. – 2019. – Vol. 33. – №1. – P. e00009-(14).

56. A genomic surveillance framework and genotyping tool for *Klebsiella pneumoniae* and its related species complex / M.M.C. Lam, R.R. Wick, S.C. Watts, [et al.] // Nature communications. – 2021. – Vol. 12. – №1. – P. 4188.

57. A novel plasmid-encoded mcr-4.3 gene in a colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical strain / N. Martins-Sorenson, E. Snesrud, D.E. Xavier, [et al.] // The Journal of antimicrobial chemotherapy. – 2020. – Vol. 75. – №1. – P. 60-64.

58. A possible outbreak by *Serratia marcescens*: genetic relatedness between clinical and environmental strains / G. Caggiano, F. Triggiano, G. Diella, [et al.] // International journal of environmental research and public health. – 2021. – Vol. 18. – №18. – P. 9814.

59. A prospective multicenter study on the evaluation of antimicrobial resistance and molecular epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in intensive care units with clinical and environmental features / B. Boral, Ö. Unaldi, A. Ergin, [et al.] // Annals of clinical microbiology and antimicrobials. – 2019. – Vol. 18. – №1. – P. 19.

60. A *Serratia marcescens* OxyR homolog mediates surface attachment and biofilm formation / R.M.Q. Shanks, N.A. Stella, E.J. Kalivoda, [et al.] // Journal of bacteriology. – 2007. – Vol. 189. – №20. – P. 7262-7272.

61. A ten-year analysis of multi-drug resistant blood stream infections caused by *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary care hospital / S. Datta, C. Wattal, N. Goel, [et al.] // The Indian journal of medical research. – 2012. – Vol. 135. – №6. – P. 907-912.

62. *Acinetobacter baumannii* bacteraemia in patients with haematological malignancy: a multicentre retrospective study from the Infection Working Party of Jiangsu Society of Hematology / X. Wang, L. Zhang, A. Sun, [et al.] // European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. – 2017. – Vol. 36. – №7. – P. 1073-1081.

63. Actividad comparativa de doripenem, meropenem e imipenem en aislados recientes obtenidos durante el estudio de vigilancia epidemiológica COMPACT-España (Comparative activity of doripenem, meropenem, and imipenem in recent clinical isolates obtained during the COMPACT-Spain epidemiological surveillance study) [article in Spanish] / C. Gimeno, R. Cantón, A. García, [et al.] // Revista española de quimioterapia : publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia. – 2010. – Vol. 23. – №3. – P. 144-152.

64. An outbreak of *Serratia marcescens* infection in a special-care baby unit of a community hospital in United Arab Emirates: the importance of the air conditioner duct as a nosocomial reservoir / S.A. Uduman, A.S. Farrukh, K.N.R. Nath, [et al.] // The Journal of hospital infection. – 2002. – Vol. 52. – №3. – P. 175-180.

65. An outbreak of *Serratia marcescens* septicaemia in neonatal intensive care unit in Gaza city, Palestine / A.M. Al Jarousha, A. El Qouqa, A.H. El Jadba, [et al.] // The Journal of hospital infection. – 2008. – Vol. 70. – №119. – P. 126.

66. Analysis of the molecular characteristics of a *bla*_{KPC-2}-harbouring untypeable plasmid in *Serratia marcescens* / X. Wang, W. Xiao, L. Li, [et al.] // International microbiology : the official journal of the Spanish Society for Microbiology. – 2021. – Vol. 25. – №2. – P. 237-244.

67. Angerer, A. Iron transport systems of *Serratia marcescens* / A. Angerer, B. Klupp, V. Braun // Journal of bacteriology. – 1992. – Vol. 174. – P. 1378-1387.

68. Antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens / D.M.P. De Oliveira, B.M. Forde, T.J. Kidd, [et al.] // *Clinical microbiology reviews*. – 2020. – Vol. 33. – №3. – P. e00181-19.
69. Antimicrobial resistance, virulence factors, and genotypes of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Gorgan, northern Iran / F.N. Shahri, A. Izanloo, M.A.S.B. Goharrizi, [et al.] // *International microbiology: the official journal of the Spanish Society for Microbiology*. – 2022. – Vol. 25. – №4. – P. 709-721.
70. Antimicrobial susceptibility and virulence genes of clinical and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa* / S.M. Liew, G. Rajasekaram, S.A. Puthuchery, [et al.] // *PeerJ*. – 2019. – Vol. 7. – P. e6217.
71. Antimicrobial treatment of *Pseudomonas aeruginosa* severe sepsis / J. Zakhour, S.L. Sharara, J.R. Hindy, [et al.] // *Antibiotics (Basel, Switzerland)*. – 2022. – Vol. 11. – №10. – P. 1432.
72. Application progress of polymyxin in bloodstream infection of drug-resistant *Acinetobacter baumannii* / S. Zhang, L. Sun, L. Sun, [et al.] // *Zhonghua wei zhong bing ji jiu yi xue*. – 2021. – Vol. 33. – №11. – P. 1401-1404.
73. Association between *Pseudomonas aeruginosa* type III secretion, antibiotic resistance, and clinical outcome: a review / T. Sawa, M. Shimizu, K. Moriyama, [et al.] // *Critical Care*. Springer Science and Business Media LLC. – 2014. – Vol. 18. – №6.
74. Association of *bla*_{NDM-1} with *bla*_{KPC-2} and aminoglycosidemodifying enzyme genes among *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* and *Serratia marcescens* clinical isolates in Brazil / E.F. Firmo, E.M.B. Beltrão, F.R.F.d. Silva, [et al.] // *Journal of global antimicrobial resistance*. – 2020. – Vol. 21. – P. 255-261.
75. Ayoub, M.C. Insights into *Acinetobacter baumannii*: a review of microbiological, virulence, and resistance traits in a threatening nosocomial pathogen / M.C. Ayoub, H.D. Hammoudi // *Antibiotics (Basel)*. – 2020. – Vol. 9. – №3. – P.119.
76. Bacteraemia due to extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* sequence type 235 high-risk clone: facing the perfect storm / R. Recio, J. Villa, E. Viedma, [et al.] // *International journal of antimicrobial agents*. – 2018. – Vol. 52. – №2. – P. 172-179.

77. Bacteremia after orthodontic miniscrew insertion / M. Feizbakhsh, P. Daneshkazemi, S. Mobasherizade, [et al.] // *Frontiers in dentistry*. – 2022. – Vol. 19. – P. 7.
78. Bacterial and viral bioinformatics resource center : сайт. - URL: <https://www.bv-brc.org> (дата обращения: 21.11.2023).
79. Bacterial biofilm: its composition, formation and role in human infections / M. Jamal, U. Tasneem, T. Hussain, [et al.] // *Research & Reviews: Journal of Microbiology and Biotechnology*. – 2015. – Vol. 4. – P. 1-15.
80. Bacterial lipopolysaccharide-induced endothelial activation and dysfunction: a new predictive and therapeutic paradigm for sepsis / M. Wang, J. Feng, D. Zhou, [et al.] // *European journal of medical research*. – 2023. – Vol. 28. – №1. – P. 339.
81. Bacteriophages of *Klebsiella spp.*, their diversity and potential therapeutic uses / W.P. Herridge, P. Shibu, J. O'Shea, [et al.] // *Journal of medical microbiology*. – 2020. – Vol. 69. – №2. – P. 176-194.
82. Bard, D.J. Diagnosis of bloodstream infections in children / D.J. Bard, E. TeKippe McElvania // *Journal of clinical microbiology*. – 2016. – Vol. 54. – P. 1418-1424.
83. Besler, K.R. Diversity of *Serratia marcescens* strains associated with cucurbit yellow vine disease in Georgia / K.R. Besler, E.L. Little // *Plant disease*. – 2017. – Vol. 101. – № 1. – P. 129-136.
84. Beyond the bundle- journey of a tertiary care medical intensive care unit to zero central line-associated bloodstream infections / M.C. Exline, N.A. Ali, N. Zikri, [et al.] // *Critical care (London, England)*. – 2013. – Vol. 17. – №2. – P. 41.
85. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*: genotype-phenotype correlation / C.H. Yang, P.W. Su, S.H. Moi, [et al.] // *Molecules (Basel, Switzerland)*. – 2019. – Vol. 24. – №10. – P. 1849.
86. Biofilm formation of panresistant *Klebsiella pneumoniae* / G. Tuncer, Z. Aktas, S. Basaran, [et al.] // *Future microbiology*. – 2022. – Vol. 17. – P. 723-735.

87. Biofilm formation on three different endotracheal tubes: a prospective clinical trial / H.R. Thorarinsdottir, T. Kander, A. Holmberg, [et al.] // *Critical care* (London, England). – 2020. – Vol. 24. – №1. – P. 382.
88. Biotyping, virulotyping and biofilm formation ability of ESBL-*Klebsiella pneumoniae* isolates from nosocomial infections / H.A. Ahmed, E.H.S. Ibrahim, E. Abdelhaliem, [et al.] // *Journal of applied microbiology*. – 2022. – Vol. 132. – №6. – P. 4555-4568.
89. Bloodstream infections caused by *Klebsiella pneumoniae*: prevalence of *bla*_{KPC}, virulence factors and their impacts on clinical outcome / M. Xu, Y. Fu, H. Kong, [et al.] // *BMC infectious diseases*. – 2018. – Vol. 18. – P. 358.
90. Bloodstream infections in adult patients with malignancy, epidemiology, microbiology, and risk factors associated with mortality and multi-drug resistance / A. Amanati, S. Sajedianfard, S. Khajeh, [et al.] // *BMC infectious diseases*. – 2021. – Vol. 21. – №1. – P. 636.
91. Botelho, J. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* –mechanisms, epidemiology and evolution / J. Botelho, F. Grosso, L. Peixe // *Drug resistance updates : reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy*. – 2019. – Vol. 44. – P. 100640.
92. Brazilian SCOPE study group. nosocomial bloodstream infections in Brazilian hospitals: analysis of 2,563 cases from a prospective nationwide surveillance study / A.R. Marra, L.F. Camargo., A.C. Pignatari, [et al.] // *Journal of clinical microbiology*. – 2011. – Vol. 49. – №5. – P. 1866-1871.
93. Breaking the gingival barrier in periodontitis / L. Vitkov, J. Singh, C. Schauer, [et al.] // *International journal of molecular sciences*. – 2023. – Vol. 24. – №5. – P. 4544.
94. Bundy, L.M. Neonatal meningitis / L.M. Bundy, M. Rajnik, A. Noor. – Текст : электронный. // In StatPearls. StatPearls Publishing. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532264/>. – Дата публикации: 06.07.2023.
95. Canadian recommendations for laboratory interpretation of multiple or extensive drug resistance in clinical isolates of *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter*

species and *Pseudomonas aeruginosa* / G.J. German, M. Gilmour, G. Tipples, [et al.] // Canada communicable disease report. Releve des maladies transmissibles au Canada. – 2018. – Vol. 44. – №1. – P. 29-34.

96. Capsule production and glucose metabolism dictate fitness during *Serratia marcescens* bacteremia / M.T. Anderson, L.A. Mitchell, L. Zhao, [et al.] // mBio. – 2017. – Vol. 8. – P. e00740-17.

97. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: a challenge in the intensive care unit / Y. Jiang, Y. Ding, Y. Wei, [et al.] // Frontiers in microbiology. – 2022. – Vol. 13. – P. 1045206.

98. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains-distribution of the essential enzymatic virulence factors genes / T. Bogiel, M. Praz'yn'ska, J. Kwiecin'ska-Piróg, [et al.] // Antibiotics. – 2020. – Vol. 10. – №1. – P. 8.

99. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: association with virulence genes and biofilm formation / I. Rossi Gonçalves, R.C.C. Dantas, M.L. Ferreira, [et al.] // Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]. – 2017. – Vol. 48. – №2. – P. 211-217.

100. Carbapenem-resistant *Serratia marcescens* bloodstream infection in hematopoietic stem cell transplantation patients: will it be the next challenge? / G.V.B. do Prado, E.T. Mendes, R.C.R. Martins, [et al.] // Transplant infectious disease: an official journal of the Transplantation Society. – 2021. – Vol. 23. – №4. – P. e13630.

101. CARD (Comprehensive Antibiotic Resistance Database) : сайт. - URL: <https://card.mcmaster.ca/> (дата обращения: 21.08.2023).

102. CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the comprehensive antibiotic resistance database / B.P. Alcock, W. Huynh, R. Chalil, [et al.] // Nucleic acids research. – 2023. – Vol.51. – №D1. – P. D690-D699.

103. Case report: a domestic sponge brush used to clean a milk feeding bottle: the source of neonatal meningitis caused by *Pseudomonas aeruginosa* / S. Mizuno, S. Matsuzaki, K. Yokoyama, [et al.] // Frontiers in pediatrics. – 2021. – Vol. 9. – P. 725940.

104. Ceftolozane-tazobactam combination therapy compared to ceftolozane-tazobactam monotherapy for the treatment of severe infections: a systematic review and meta-analysis / M. Fiore, A. Corrente, M.C. Pace, [et al.] // *Antibiotics* (Basel, Switzerland). – 2021. – Vol. 10. – №1. – P. 79.

105. Cellular effects of pyocyanin, a secreted virulence factor of *Pseudomonas aeruginosa* / S. Hall, C. McDermott, S. Anoopkumar-Dukie, [et al.] // *Toxins*. – 2016. – Vol. 8. – №8. – P. 236.

106. Cerebrospinal fluid (CSF) augments metabolism and virulence expression factors in *Acinetobacter baumannii* / J. Martinez, C. Razo-Gutierrez, C. Le, R. Courville, [et al.] // *Scientific reports*. – 2021. – Vol. 11. – №1. – P. 4737.

107. CGView Server : сайт. - URL: http://stothard.afns.ualberta.ca/cgview_server/ (дата обращения: 21.08.2023).

108. Chakraborty, R.K. Systemic inflammatory response syndrome / R.K. Chakraborty, B. Burns. – Текст : электронный // *In StatPearls*. StatPearls Publishing. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547669/>. – Дата публикации: 29.05.2023.

109. Clegg, S. Epidemiology and virulence of *Klebsiella pneumoniae* / S. Clegg, C.N. Murphy // *Microbiology spectrum*. – 2016. – Vol. 4. – №1.

110. Clinical and molecular characteristics, risk factors and outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections in the intensive care unit / X. Zheng, J.F. Wang, W.L. Xu, [et al.] // *Antimicrobial resistance and infection control*. – 2017. – Vol. 6. – №1. – P. 102.

111. Clinical and pathophysiological overview of *Acinetobacter* infections: a century of challenges / D. Wong, T.B. Nielsen, R.A. Bonomo, [et al.] // *Clinical microbiology reviews*. – 2017. – Vol. 30. – №1. – P. 409-447.

112. Clinical characteristics and associated factors for mortality in patients with carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* bloodstream infection / J.Y. Ahn, S.M. Ahn, J.H. Kim, [et al.] // *Microorganisms*. – 2023. – Vol. 11. – № 5. – P. 1121.

113. Clinical features of poor-prognosis patients with adult bacterial meningitis / T. Shimohata, K. Yanagawa, K. Tanaka, [et al.] // *Rinsho shinkeigaku = Clinical neurology*. – 2010. – Vol. 50. – №3. – P. 137-140.

114. Clinical outcome from hematopoietic cell transplant patients with bloodstream infection caused by carbapenem-resistant *P. aeruginosa* and the impact of antimicrobial combination in vitro / J.F. Ramos, G. Leite, R.C.R. Martins, [et al.] // *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. – 2022. – Vol. 41. – №2. P. 313-317.

115. Clinical, microbiological, and molecular epidemiological characteristics of *Klebsiella pneumoniae*-induced pyogenic liver abscess in southeastern China / S. Zhang, X. Zhang, Q. Wu, [et al.] // *Antimicrobial resistance and infection control*. – 2019. – Vol. 8. – P. 166.

116. Colistin as a salvage therapy for nosocomial infections caused by multidrug-resistant bacteria in the ICU / H. Kallel, M. Bahloul, L. Hergafi, [et al.] // *International journal of antimicrobial agents*. – 2006. – Vol. 28. – №4. – P. 366-369.

117. Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies / Y. Cai, D. Chai, R. Wang, [et al.] // *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. – 2012. – Vol. 67. – P. 1607-1615.

118. Colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection: old drug, bad bug / E. Ben-Chetrit, P. Mc Gann, R. Maybank, [et al.] // *Archives of microbiology*. – 2021. – Vol. 203. – №6. – P. 2999-3006.

119. Community-acquired bloodstream infections caused by *Acinetobacter baumannii*: a matched case-control study / C.T. Chen, Y.C. Wang, S.C. Kuo, [et al.] // *Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi*. – 2018. – Vol. 51. – P. 629-635.

120. Community-acquired in name only: a cluster of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a burn intensive care unit and beyond / E.S. Shenoy, V.M. Pierce, M.R.A. Sater, [et al.] // *Infection control and hospital epidemiology*. – 2020. – Vol. 41. – №5. – P. 531-538.

121. Community-acquired *Pseudomonas aeruginosa* meningitis / C. Gallaher, J. Norman, A. Singh, [et al.] // BMJ case reports. – 2017. – P. bcr2017221839.
122. Community-acquired *Pseudomonas aeruginosa* meningitis in a pediatric patient / A. Cotran-Lenrow, L.S. Tefera, M. Douglas-Vail, [et al.] // Cureus. – 2023. – Vol. 15. – №7. – P. e42376.
123. Comparative genomic analysis of hypervirulence carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* from inpatients with infection and gut colonization, China / W. He, C. Wu, G. Chen, [et al.] // Infection and drug resistance. – 2023. – Vol. 16. – P. 5251-5261.
124. Comprehensive pan-genomic, resistome and virulome analysis of clinical OXA-48 producing carbapenem-resistant *Serratia marcescens* strains / N. Bolourchi, N. Noori Goodarzi, C.G. Giske, [et al.] // Gene. – 2022. – Vol. 822. – P. 146355.
125. Contaminated feeding bottles: the source of an outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* infections in a neonatal intensive care unit / C. Sánchez-Carrillo, B. Padilla, M. Marín, [et al.] // American journal of infection control. – 2009. – Vol. 37. – №2. – P. 150-154.
126. Correlation between ability of biofilm formation with their responsible genes and MDR patterns in clinical and environmental *Acinetobacter baumannii* isolates / A.M. Bardbari, M.R. Arabestani, M. Karami, [et al.] // Microbial pathogenesis. – 2017. – Vol. 108. – P. 122-128.
127. Cristina, M.L. *Serratia marcescens* infections in neonatal intensive care units (NICUs) / M.L. Cristina, M. Sartini, A.M. Spagnolo // International journal of environmental research and public health. – 2019. – Vol.16. – №4. – P. 610.
128. Deciphering multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* from a pediatric cancer hospital in Egypt / D. Jalal, M.G. Elzayat, A.A. Diab, [et al.] // mSphere. – 2021. – Vol. 6. – №6. – P. e0072521.
129. Decoding genetic features and antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from bloodstream infections / T. Bogiel, D. Depka, M. Rzepka, [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2022. – Vol. 23. – №16. – P. 9208.

130. Defining chaperone-usher fimbriae repertoire in *Serratia marcescens* / M.A. González-Montalvo, F. Tavares-Carreón, G.M. González, [et al.] // Microbial pathogenesis. – 2021. – Vol. 154. – P.104857.

131. Dehbashi, S. Association between beta-lactam antibiotic resistance and virulence factors in *ampC* producing clinical strains of *P. aeruginosa* / S. Dehbashi, H. Tahmasebi, M.R. Arabestani // Osong public health and research perspectives. – 2018. – Vol. 9. – №6. – P. 325-333.

132. Del Barrio-Tofiño, E. *Pseudomonas aeruginosa* epidemic high-risk clones and their association with horizontally-acquired β -lactamases: 2020 update / E. Del Barrio-Tofiño, C. López-Causapé, A. Oliver // International journal of antimicrobial agents. – 2020. – Vol. 56. – № 6. – P. 106196.

133. Detection of virulence factors and antibiotic resistance pattern of clinical and intensive care unit environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa* / O. Zarei, H. Mahmoudi, A.M. Bardbari, [et al.] // Infectious disorders drug targets. – 2020. – Vol. 20. – №5. – P. 758-762.

134. Development of a multilocus sequence typing scheme for characterization of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* / S.G. Bartual, H. Seifert, C. Hippler, [et al.] // [published correction appears in Journal of clinical microbiology. – 2007. – Vol. 45. – №6. – P. 2101]. Journal of clinical microbiology. – 2005. – Vol. 43. №9. – P. 4382-4390.

135. Development of a multilocus sequence typing scheme for the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa* / B. Curran, D. Jonas, H. Grundmann, [et al.] // Journal of clinical microbiology. – 2004. – Vol. 42. – № 12. – P. 5644-5649.

136. Dihydropyrimidinones against multiresistant bacteria / M. Castro Jara, A.C.A. Silva, M. Ritter, [et al.] // Frontiers in microbiology. – 2022. – Vol. 13. – P. 743213.

137. Distribution of virulence genes and capsule types in *Klebsiella pneumoniae* among bloodstream isolates from patients with hematological malignancies / S. Khrulnova, A. Fedorova, I. Frolova, [et al.] // Diagnostic microbiology and infectious disease. – 2022. – Vol. 104. – №1. – P. 115744.

138. Diversity of amino acid substitutions in PmrCAB associated with colistin resistance in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* / S. Gerson, K. Lucaßen, J. Wille, [et al.] // International journal of antimicrobial agents. – 2020. – Vol. 55. – P. 105862.

139. Diversity of beta-lactamases produced by ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates causing bloodstream infections in Brazil / R.C. Picão, L. Poirel, A.C. Gales, [et al.] // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2009. – Vol. 53. – №9. – P. 3908-3913.

140. Donelli, G. Biofilm-based infections in long-term care facilities / G. Donelli, C. Vuotto // Future microbiology. – 2014. – Vol. 9. – №2. – P. 175-188.

141. Efficacy of a fosfomycin-containing regimen for treatment of severe pneumonia caused by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: a prospective, observational study / A. Russo, M. Bassetti, V. Bellelli, [et al.] // Infectious diseases and therapy. – 2021. – Vol. 10. – №1. – P. 187-200.

142. Emergence of carbapenem-resistant non-baumannii species of *Acinetobacter* harboring a *bla*_{OXA-51-like} gene that is intrinsic to *A. baumannii* / Y.T. Lee, S.C. Kuo, M.C. Chiang., [et al.] // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2012. – Vol. 56. – №2. – P. 1124-1127.

143. Emergence of five genetic lines ST395NDM-1, ST13OXA-48, ST3346OXA-48, ST39CTX-M-14, and novel ST3551OXA-48 of multidrug-resistant clinical *Klebsiella pneumoniae* in Russia / N.K. Fursova, E.I. Astashkin, N.I. Gabrielyan, [et al.] // Microbial drug resistance. – 2020. – Vol. 26. – №8. – P. 924-933.

144. Emergence of K1 ST23 and K2 ST65 hypervirulent *klebsiella pneumoniae* as true pathogens with specific virulence genes in cryptogenic pyogenic liver abscesses Shiraz Iran / M. Sohrabi, M. Alizade Naini, A. Rasekhi, [et al.] // Frontiers in cellular and infection microbiology. – 2022. – Vol. 12. – P. 964290.

145. Emergence of *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Escherichia coli* isolates possessing the plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase *KPC-2* in intensive care units of a Chinese hospital / J.C. Cai, H.W.

Zhou, R. Zhang, [et al.] // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2008. – Vol. 52. – №6. – P. 2014-2018.

146. Endogenous bacteremia caused by intestinal colonization of carbapenem-resistant enterobacteriaceae (CRE) in immunocompromised children / A.N. Tehrani, L. Azimi, S. Armin, [et al.] // *Tropical medicine and infectious disease*. – 2023. – Vol. 8. – №8. – P. 402.

147. Environmental reservoirs for *exoS*⁺ and *exoU*⁺ strains of *Pseudomonas aeruginosa* / V. Rutherford, K. Yom, E.A. Ozer, [et al.] // *Environmental microbiology reports*. – 2018. – Vol. 10. – №4. – P. 485-492.

148. Epidemiological typing of *Serratia marcescens* isolates by whole-genome multilocus sequence typing / J.W.A. Rossen, J. Dombrecht, D. Vanfleteren, [et al.] // *Journal of clinical microbiology*. – 2019. – Vol. 57. – №4. – P. e01652-18.

149. Epidemiology and clinical characteristics of infection/ colonization due to carbapenemase-producing *Enterobacteriales* in neonatal patients / J. Wang, Y. Lv, W. Yang, [et al.] // *BMC microbiology*. – 2022. – Vol. 22. – №1. – P. 177.

150. Epidemiology and microbiology of gram-positive bloodstream infections in a tertiary-care hospital in Beijing, China: a 6-year retrospective study / Q. Zhu, Y. Yue, L. Zhu, [et al.] // *Antimicrobial resistance and infection control*. – 2018. – Vol. 7. – P. 107.

151. Epidemiology and risk factors associated with mortality in consecutive patients with bacterial bloodstream infection: impact of MDR and XDR bacteria / A. Santoro, E. Franceschini, M. Meschiari, [et al.] // *Open forum infectious diseases*. – 2020. – Vol. 7. – №11. – P. ofaa461.

152. Epidemiology and risk factors of neurosurgical bacterial meningitis/encephalitis induced by carbapenem resistant *Enterobacteriaceae* / Z. Guanghui, L. Jing, Z. Guojun, [et al.] // *Journal of infection and chemotherapy : official journal of the Japan Society of Chemotherapy*. – 2020. – Vol. 26. – №1. – P. 101-106.

153. Epidemiology of biofilm producing *Acinetobacter baumannii* nosocomial isolates from a tertiary care hospital in Egypt: a cross-sectional study / A.M. Asaad, S.

Ansari, S.E. Ajlan, [et al.] // *Infection and drug resistance*. – 2021. – Vol. 14. – P. 709-717.

154. Epidemiology of bloodstream infections caused by *Acinetobacter baumannii* and impact of drug resistance to both carbapenems and ampicillin-sulbactam on clinical outcomes / T. Chopra, D. Marchaim, R.A. Awali, [et al.] // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2013. – Vol. 57. – №12. – P. 6270-6275.

155. Epidemiology of the *Acinetobacter*-derived cephalosporinase, carbapenem-hydrolysing oxacillinase and metallo- β -lactamase genes, and of common insertion sequences, in epidemic clones of *Acinetobacter baumannii* from Spain / P. Villalón, S. Valdezate, M.J. Medina-Pascual, [et al.] // *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. – 2013. – Vol. 68. – №3. – P. 550-553.

156. EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, version 10.0. 2020: 10-20 : сайт. – URL: https://www.eucast.org/expert_rules_and_expected_phenotypes (дата обращения: 25.09.2021).

157. European Centre for Disease Prevention and Control. Healthcare-associated infections acquired in intensive care units / In: ECDC. Annual epidemiological report for 2017 : сайт. – URL: https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/AER_for_2017-HAI.pdf (дата обращения: 18.07.2022).

158. Evolutionarily stable gene clusters shed light on the common grounds of pathogenicity in the *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex / B. Djahanschiri, G. Di Venanzio, J.S. Distel, [et al.] // *PLoS genetics*. – 2022. – Vol. 18. – №6. – P. e1010020.

159. Eze, E.C. *Acinetobacter baumannii* biofilms: effects of physicochemical factors, virulence, antibiotic resistance determinants, gene regulation, and future antimicrobial treatments. / E.C. Eze, H.Y. Chenia, M.E. El Zowalaty // *Infection and drug resistance*. – 2018. – Vol. 11. – P. 2277-2299.

160. Fekrirad, Z. Quorum sensing-regulated functions of *Serratia marcescens* are reduced by eugenol / Z. Fekrirad, B. Gattali, N. Kashef // Iranian journal of microbiology. – 2020. – Vol. 12. – № 5. – P. 451-459.

161. Fontana, L. *Pseudomonas aeruginosa* ExoU-associated virulence in HCT recipients and patients with hematologic malignancies / L. Fontana, L. Strasfeld, M. Hakki // Blood advances. – 2023. – Vol. 7. – №15. – P. 4035-4038.

162. Fournier, P.E. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities / P.E. Fournier, H. Richet // Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America. – 2006. – Vol. 42. – №5. – P. 692-699.

163. García-Rodríguez, J.F. The factors associated with the trend in incidence of bacteraemia and associated mortality over 30 years / J.F. García-Rodríguez, A. Mariño-Callejo // BMC infectious diseases. – 2023. – Vol. 23. – №1. – P. 69.

164. GBD 2019 Meningitis Antimicrobial Resistance Collaborators. Global, regional, and national burden of meningitis and its aetiologies, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019/ GBD 2019 Meningitis Antimicrobial Resistance Collaborators // The Lancet. Neurology. – 2023. – Vol. 22. – №8. – P. 685-711.

165. Genetic basis of antimicrobial resistant gram-negative bacteria isolated from bloodstream in Brazil / M.C. Silveira, C.M. Rocha-de-Souza, de I.C. Oliveira Santos, [et al.] // Frontiers in medicine. – 2021. – Vol. 8. – P. 635206.

166. Genomic analysis of prophages from *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates / A.T. Marques, L. Tanoeiro, A. Duarte, [et al.] // Microorganisms. – 2021. – Vol. 9. – P. 2252.

167. Genomic analysis of the international high-risk clonal lineage *Klebsiella pneumoniae* sequence type 395/ E.R. Shaidullina, M. Schwabe, T. Rohde, [et al.] // Genome medicine. – 2023. – Vol. 15. – №1. – P. 9.

168. Genomic surveillance for hypervirulence and multi-drug resistance in invasive *Klebsiella pneumoniae* from South and Southeast Asia / K.L. Wyres, T.N.T. Nguyen, M.M.C. Lam, [et al.] // Genome medicine. – 2020. – Vol. 12. – №1. – P. 11.

169. Genomic surveillance for multidrug-resistant or hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* among United States bloodstream isolates / T.J. Kochan, S.H. Nozick, R.L. Medernach, [et al.] // BMC infectious diseases. – 2022. – Vol. 22. – №1. – P. 603.
170. Glen, K.A. β -Lactam resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: current status, future prospects / K.A. Glen, I.L. Lamont // Pathogens. – 2021. – Vol. 10. – №12. – P. 1638.
171. Global gene expression profile of *Acinetobacter baumannii* during bacteremia / G.L. Murray, K. Tsyganov, X.P. Kostoulis, [et al.] // The Journal of infectious diseases. – 2017. – Vol. 215. – P. S52-S57.
172. Goto, M. Over all burden of bloodstream infection and nosocomial bloodstream infection in North American and Europe / M. Goto, M.N. AI-Hasan // Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. – 2013. – Vol. 19. – №6. – P. 501-507.
173. Gram-negative bacteremia in solid organ transplant recipients: clinical characteristics and outcomes as compared to immunocompetent non-transplant recipients / E.M. Eichenberger, J. Troy, F. Ruffin, [et al.] // Transplant infectious disease: an official journal of the Transplantation Society. – 2022. – Vol. 24. – №6. – P. e13969.
174. Gram-negative ESKAPE bacteria bloodstream infections in patients during the COVID-19 pandemic / M.D Alcántar-Curiel, M. Huerta-Cedeño, M.D. Jarillo-Quijada, [et al.] // PeerJ. – 2023. – Vol. 11. – P. e15007.
175. Grant, J.R. The CGView server: a comparative genomics tool for circular genomes / J.R. Grant, P. Stothard // Nucleic acids research. – 2008. – Vol. 36. – 36. – P. W181-W184.
176. Gupte, A. High pyocyanin production and non-motility of *Pseudomonas aeruginosa* isolates are correlated with septic shock or death in bacteremic patients / A. Gupte, J. Jyot, M. Ravi // PLoS ONE. – 2021. – Vol. 16. – №6. – P. e0253259.
177. Hamidian, M. Emergence, molecular mechanisms and global spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* / M. Hamidian, S.J. Nigro // Microbial genomics. – 2019. – Vol. 5. – №10. – P. e000306.

178. Hanberger, H. When and how to cover for resistant gram-negative bacilli in severe sepsis and septic shock / H. Hanberger, C.G. Giske, H. Giamarellou // Current infectious disease reports. – 2011. – Vol. 13. – №5. – P. 416-425.

179. Hauser, A.R. The type III secretion system of *Pseudomonas aeruginosa*: infection by injection / A.R. Hauser // Nature reviews. Microbiology. – 2009. – Vol. 7. – №9. – P. 654-665.

180. Herrera, S. Predictors of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* involvement in bloodstream infections / S. Herrera, M. Bodro, A. Soriano // Current opinion in infectious diseases. – 2021. – Vol. 34. – №6. – P. 686-692.

181. Human serum albumin alters specific genes that can play a role in survival and persistence in *Acinetobacter baumannii* / B. Quinn, N. Rodman, E. Jara, [et al.] // Scientific reports. – 2018. – Vol. 8. – №1. – P. 14741.

182. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* is emerging as an increasingly prevalent *K. pneumoniae* pathotype responsible for nosocomial and healthcare-associated infections in Beijing, China / C. Liu, P. Du, N. Xiao, [et al.] // Virulence. – 2020. – Vol. 11. – P. 1215-1224.

183. Ibrahim, D. Current choices of antibiotic treatment for *Pseudomonas aeruginosa* infections / D. Ibrahim, J.F. Jabbour, S.S. Kanj // Current opinion in infectious diseases. – 2020. – Vol. 33. – №6. – P. 464-473.

184. Identification of a carbapenemase-producing hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* isolate in the United States / M. Karlsson, R.A. Stanton, U. Ansari, [et al.] // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2019. – Vol. 63. – №7. – P. e00519-19.

185. Identification of BfmR, a response regulator involved in biofilm development, as a target for a 2-aminoimidazole-based antibiofilm agent / R.J. Thompson, B.G. Bobay, S.D. Stowe, [et al.] // Biochemistry. – 2012. – Vol. 51. – №49. – P. 9776-9778.

186. Identification of essential genes associated with prodigiosin production in *Serratia marcescens* FZSF02 / X. Jia, F. Liu, K. Zhao, [et al.] // Frontiers in microbiology. – 2021. – Vol. 12. – P. 705853.

187. Impact of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia on patient outcomes / V.H. Tam, C.A. Rogers, K.T. Chang, [et al.] // American Society for Microbiology. – 2010. – Vol. 54. – №9. – P. 3717-3722.

188. Importance of site of infection and antibiotic selection in the treatment of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* sepsis / N.S. Britt, D.J. Ritchie, M.H. Kollef, [et al.] // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2018. – Vol. 62. – №4. – P. e02400-17.

189. In silico detection and typing of plasmids using PlasmidFinder and plasmid multilocus sequence typing / A. Carattoli, E. Zankari, A. García-Fernández, [et al.] // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2014. – Vol. 58. – №7. – P. 3895-903.

190. In vitro antifungal activity of three synthetic peptides against *Candida auris* and other *Candida* species of medical importance / R. Torres, A. Barreto-Santamaría, G. Arévalo-Pinzón, [et al.] // Antibiotics (Basel, Switzerland). – 2023. – Vol. 12. – №8. – P. 1234.

191. Infections caused by carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: microbiological characteristics and risk factors / H. Pan, Y. Lou, L. Zeng, [et al.] // Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.). – 2019. – Vol. 25. – №2. – P. 287-296.

192. Influence of virulence genotype and resistance profile in the mortality of *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections / C. Peña, G. Cabot, S. Gómez-Zorrilla, [et al.] // Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America. – 2015. – Vol. 60. – №4. – P. 539-548.

193. Insights into the global molecular epidemiology of carbapenem non-susceptible clones of *Acinetobacter baumannii* / N. Karah, A. Sundsfjord, K. Towner, [et al.] // Drug resistance updates: reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy. – 2012. – Vol. 15. – №4. – P. 237-247.

194. Institut Pasteur *Klebsiella pneumoniae* species complex» : сайт. - URL: <https://bigsd.b.pasteur.fr/klebsiella/> (дата обращения: 31.08.22).

195. Interactions of the effector ExoU from *Pseudomonas aeruginosa* with short-chain phosphatidylinositides provide insights into ExoU targeting to host

membranes / T.I. Springer, T.E. Reid, S.L. Gies, [et al.] // The Journal of biological chemistry. – 2019. – Vol. 294. – №50. – P. 19012-19021.

196. Intercontinental spread of OXA48 beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* over a 11-year period, 2001 to 2011 / A. Potron, L. Poirel, E. Rondinaud, [et al.] // Euro surveillance: bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin. – 2013. – Vol. 18. – №31. – P. 20549.

197. Intravascular catheterrelated infections in an Indian tertiary care hospital / R. Parameswaran, J.B. Sherchan, V.D. Muralidhar, [et al.] // Journal of infection in developing countries. – 2010. – Vol. 5. – №6. – P. 452-458.

198. Introducing the bacterial and viral bioinformatics resource center (BV-BRC): a resource combining PATRIC, IRD and ViPR / R.D. Olson, R. Assaf, T. Brettin, [et al.] // Nucleic acids research. – 2023. – Vol. 51. – №D1. – P. D678-D689.

199. Investigation of a possible outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Odense, Denmark using PFGE, MLST and whole-genome-based SNPs / A.M. Hammerum., F. Hansen, M.N. Skov, [et al.] // The Journal of antimicrobial chemotherapy. – 2015. – Vol. 70. – №7. – P. 1965-1968.

200. Jean, S.S. Global threat of carbapenem-resistant gram-negative bacteria / S.S. Jean, D. Harnod, P.R. Hsueh // Frontiers in cellular and infection microbiology. – 2022. – Vol. 12. – P. 823684.

201. Jolley, K.A. BIGSdb: scalable analysis of bacterial genome variation at the population level / K.A. Jolley, M.C. Maiden // BMC bioinformatics. – 2010. – Vol. 11. – P. 595.

202. Jolley, K.A. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications / K.A. Jolley, J.E. Bray, M.C.J. Maiden // Wellcome open research. – 2018. – Vol. 3. – P. 124.

203. Jurado-Martin, I. *Pseudomonas aeruginosa*: an audacious pathogen with an adaptable arsenal of virulence factors / I. Jurado-Martin, M. Sainz-Mejias, S. McClean // International journal of molecular sciences. – 2021 – Vol. 22. – №6. – P. 3128.

204. Kaptive 2.0: updated capsule and lipopolysaccharide locus typing for the *Klebsiella pneumoniae* species complex / M.M.C. Lam, R.R. Wick, L.M. Judd, [et al.] // Microbial genomics. – 2022. – Vol. 8. – №3. – P. 000800.
205. Karakonstantis, S. Treatment options for *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* and *A. baumannii* co-resistant to carbapenems, aminoglycosides, polymyxins and tigecycline: an approach based on the mechanisms of resistance to carbapenems / S. Karakonstantis, E.I. Kritsotakis, A. Gikas // Infection. – 2020. – Vol. 48. – №6. – P. 835-851.
206. Karampatakis, T. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: virulence factors, molecular epidemiology and latest updates in treatment options / T. Karampatakis, K. Tsergouli, P. Behzadi // Antibiotics (Basel, Switzerland). – 2023. – Vol. 12. – №2. – P. 234.
207. *Klebsiella* invasive liver abscess syndrome presenting with a central nervous system manifestation secondary to latent cholecystitis: a case report / O. Kinoshita, T. Okamoto, T. Ota, [et al.] // Journal of medical case reports. – 2022. – Vol. 16. – №1. – P. 234.
208. *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection: epidemiology and impact of inappropriate empirical therapy / N. Girometti, R.E. Lewis, M. Giannella, [et al.] // Medicine (Baltimore). – 2014. – Vol. 93. – №17. – P. 298-309.
209. *Klebsiella pneumoniae* causes bacteremia using factors that mediate tissue-specific fitness and resistance to oxidative stress / C.L. Holmes, A.E. Wilcox, V. Forsyth, [et al.] // PLoS pathogens. – 2023. – Vol. 19. – №7. – P e1011233.
210. *Klebsiella pneumoniae* siderophores induce inflammation, bacterial dissemination, and HIF-1a stabilization during pneumonia / V.I. Holden, P. Breen, S. Houle, [et al.] // mBio. – 2016. – Vol. 7. – №5. – P. e01397-16.
211. *Klebsiella pneumoniae* yersiniabactin promotes respiratory tract infection through evasion of lipocalin 2 / M.A. Bachman, J.E. Oyler, S.H. Burns, [et al.] // Infection and immunity. – 2011. – Vol. 79. – №8. – P. 3309-3316.
212. *Klebsiella pneumoniae*-related brain abscess and meningitis in adults: case report / J. Zhao, T. Huo, X. Luo, [et al.] // Medicine. – 2022. – Vol. 101. – P. e28415.

213. *Klebsiella pneumoniae*-related invasive liver abscess syndrome complicated by purulent meningitis: a review of the literature and description of three cases / R. Sun, H. Zhang, Y. Xu, [et al.] // BMC infectious diseases. – 2021. – Vol. 21. – №1. – P. 15.

214. Korte, A.K.M. Ecthyma gangrenosum / A.K.M. Korte, J.M. Vos. // The New England journal of medicine. – 2017. – Vol. 377. – №23. – P. e32.

215. Law, S.K.K. The role of quorum sensing, biofilm formation, and iron acquisition as key virulence mechanisms in *Acinetobacter baumannii* and the corresponding anti-virulence strategies / S.K.K. Law, H.S. Tan // Microbiological research. – 2022. – Vol. 260. – P. 127032.

216. Lipocalin-2 is an essential component of the innate immune response to *Acinetobacter baumannii* infection / J.R. Sheldon, L.E. Himmel, D.E. Kunkle, [et al.] // PLoS pathogens. – 2022. – Vol. 18. – №9. – P. e1010809.

217. Lomholt, J.A. Epidemic population structure of *Pseudomonas aeruginosa*: evidence for a clone that is pathogenic to the eye and that has a distinct combination of virulence factors / J.A. Lomholt, K. Poulsen, M. Kilian // Infection and immunity. – 2001. – Vol. 69. – №10. – P. 6284-95.

218. Longo, F. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii* / F. Longo, C. Vuotto, G. Donelli // The new microbiologica. – 2014. – Vol. 37. – №2. – P. 119-127.

219. Low-concentration iron promotes *Klebsiella pneumoniae* biofilm formation by suppressing succinic acid / K. Liu, S. Tan, W. Ye, [et al.] // BMC microbiology. – 2022. – Vol. 22. – №1. – P. 95.

220. Mea, H.J. An overview of *Acinetobacter baumannii* pathogenesis: motility, adherence and biofilm formation / H.J. Mea, P.V.C. Yong, E.H. Wong // Microbiological research. – 2021. – Vol. 247. – P. 126722.

221. Microbial biofilm: a matter of grave concern for human health and food industry / M.A. Rather, K. Gupta, P. Bardhan, [et al.] // Journal of basic microbiology. – 2021. – Vol. 61. – №5. – P. 380-395.

222. Microbiology and prognostic prediction model of bloodstream infection in patients with hematological malignancies / J. Wang, M. Wang, A. Zhao, [et al.] // *Frontiers in cellular and infection microbiology*. – 2023. – Vol. 13. – P. 1167638.

223. Mitov, I. Prevalence of virulence genes among bulgarian nosocomial and cystic fibrosis isolates of *Pseudomonas aeruginosa* / I. Mitov, T. Strateva, B. Markova // *Brazilian journal of microbiology: [publication of the Brazilian Society for Microbiology]*. – 2010. – Vol. 41. – № 3. – P. 588-595.

224. Mohd, S.L.S. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections: current evidence on treatment options and the role of pharmacokinetics/pharmacodynamics in dose optimization / S.L.S. Mohd, F.B. Sime, J.A. Roberts // *International journal of antimicrobial agents*. – 2019. – Vol. 53. – №6. – P. 726-745.

225. Mokhtari, A. Genotyping of *Pseudomonas aeruginosa* strains as a multidrug resistant (MDR) bacterium and evaluating the prevalence of esbls and some virulence factors encoding genes by PFGE and ERIC-PCR methods / A. Mokhtari, K. Amini // *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*. – 2019. – Vol. 18. – №3. – P. 1580-1594.

226. Molecular analysis and expression of *bap* gene in biofilm-forming multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* / O. Azizi, F. Shahcheraghi, H. Salimizand, [et al.] // *Reports of biochemistry & molecular biology*. – 2016. – Vol. 5. – №1. – P. 62-72.

227. Molecular analysis of the contribution of alkaline protease A and elastase B to the virulence of *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections / M. Mateu-Borra's, L. Zamorano, A. Gonza' lez-Alsina, [et al.] // *Frontiers in cellular and infection microbiology*. – 2022. – Vol. 11. – P. 816356.

228. Molecular characterization of carbapenem-resistant and virulent plasmids in *Klebsiella pneumoniae* from patients with bloodstream infections in China / Y. Yang, Y. Yang, G. Chen, [et al.] // *Emerging microbes & infections*. – 2021. – Vol. 10. – №1. – P. 700-709.

229. Molecular characterization of carbapenem-resistant *Serratia marcescens* clinical isolates in a tertiary hospital in Hangzhou, China / Q. Xu, Y. Fu, F. Zhao, [et al.] // Infection and drug resistance. – 2020. – Vol. 13. – P. 999-1008.

230. Molecular epidemiology of *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter nosocomialis* in Germany over a 5-year period (2005-2009) / X. Schleicher, P.G. Higgins., H. Wisplinghoff, [et al.] // Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. – 2013. – Vol. 19. – №8. – P. 737-742.

231. Molecular epidemiology of hypervirulent carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* / D. Hu, Y. Li, P. Ren, [et al.] // Frontiers in cellular and infection microbiology. – 2021. – Vol. 11. – P. 661218.

232. Molecular epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a tertiary care hospital in Naples, Italy, shows the emergence of a novel epidemic clone / M. Giannouli, S. Cuccurullo, V. Crivaro, [et al.] // Journal of clinical microbiology. – 2010. – Vol. 48. – №4. – P. 1223-1230.

233. Molecular epidemiology, resistance, and virulence properties of *Pseudomonas aeruginosa* cross-colonization clonal isolates in the non-outbreak setting / P. Hu, J. Chen, Y. Chen, [et al.] // Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases. – 2017. – Vol. 55. – P. 288-296.

234. Molecular investigation of antibiotic resistant bacterial strains isolated from wastewater streams in Pakistan / S. Saima, M. Fiaz, M. Manzoor, [et al.] //3 Biotech. – 2020. – Vol. 10. – №9. – P. 378.

235. Multicenter study of the risk factors and outcomes of bloodstream infections caused by carbapenem-non-susceptible *Acinetobacter baumannii* in Indonesia / D. Anggraini, D. Santosaningsih, P.D. Endraswari, [et al.] // Tropical medicine and infectious disease. – 2022. – Vol. 7. – №8. – P. 161.

236. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*: a 15-year trend analysis / D.L. Russell, D.Z. Uslan, Z.A. Rubin, [et al.] // Infection control and hospital epidemiology. – 2018. – Vol. 39. – №5. – P. 608-611.

237. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*: resistance by any other name would still be hard to treat / D.A. Butler, M. Biagi, X. Tan, [et al.] // Current infectious disease reports. – 2019. – Vol. 21. – №12. – P. 46.
238. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* as an emerging concern in hospitals / S. Ibrahim, N. Al-Saryi, I.M.S. Al-Kadmy, [et al.] // Molecular biology reports. – 2021. – Vol. 48. – №10. – P. 6987–6998.
239. Multilocus sequence typing of *Klebsiella pneumoniae* nosocomial isolates / L. Diancourt, V. Passet, J. Verhoef, [et al.] // Journal of clinical microbiology. – 2005. – Vol. 43. – №8. – P. 4178-4182.
240. Multiplex PCR for detection of seven virulence factors and K1/K2 capsular serotypes of *Klebsiella pneumoniae* / F. Compain, A. Babosan, S. Brisse, [et al.] // Journal of clinical microbiology. – 2014. – Vol. 52. – №12. – P. 4377-4380.
241. Nasr, P. Genetics, epidemiology, and clinical manifestations of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* / P. Nasr // The Journal of hospital infection. – 2020. – Vol. 104. – №1. – P. 4-11.
242. Nosocomial bloodstream infection and clinical sepsis / S. Hugonnet, H. Sax, P. Eggimann, [et al.] // Emerging infectious diseases. – 2004. – Vol. 10. – №1. – P. 76-81.
243. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study / H. Wisplinghoff, T. Bischoff, S.M. Tallent, [et al.] // Clinical Infectious Diseases. Oxford University Press (OUP). – 2004. – Vol. 39. – №3. – P. 309-317.
244. Nowak, P. Co-occurrence of carbapenem and aminoglycoside resistance genes among multidrug-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* from Cracow, Poland / P. Nowak, P.M. Paluchowska, A. Budak // Medical science monitor basic research. – 2014. – Vol. 20. – P. 9-14.
245. O'Donnell, J.N. Treatment of patients with serious infections due to carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: how viable are the current options? / J.N. O'Donnell, V. Putra, T.P. Lodise // Pharmacotherapy. – 2021. – Vol. 41. – №9. – P. 762-780.

246. Outbreak of bloodstream infections because of *Serratia marcescens* in a pediatric department / E. Iosifidis, E. Farmaki, N. Nedelkopoulou, [et al.] // American journal of infection control. – 2012. – Vol. 40. – №1. – P. 11-15.

247. Outbreak of NDM-1+CTX-M-15+DHA-1-producing *Klebsiella pneumoniae* high-risk clone in Spain owing to an undetectable colonised patient from Pakistan / M. Hernández-García, B. Pérez-Viso, R. León-Sampedro, [et al.] // International journal of antimicrobial agents. – 2019. – Vol. 54. – №2. – P. 233-239.

248. Outbreaks in neonatal intensive care units - they are not like others / P. Gastmeier, A. Loui, S. Stamm-Balderjahn, [et al.] // International journal of medical microbiology : IJMM. – 2007. – Vol. 35. – №3. – P. 172-176.

249. Outer membrane vesicles-transmitted virulence genes mediate the emergence of new antimicrobial-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* / Y. Hua, J. Wang, M. Huang, [et al.] // Emerging microbes & infections. – 2022. – Vol. 11. – №1. – P. 1281-1292.

250. OXA-48-producing *Enterobacterales* in different ecological niches in Algeria: clonal expansion, plasmid characteristics and virulence traits / A. Mairi, A. Pantel, F. Ousalem, [et al.] // The Journal of antimicrobial chemotherapy. – 2019. – Vol. 74. – №7. – P. 1848-1855.

251. Paczosa, M.K. *Klebsiella pneumoniae*: going on the offense with a strong defense / M.K. Paczosa, J. Mecsas // Microbiology and molecular biology reviews : MMBR. – 2016. – Vol. 80. – №3. – P. 629-661.

252. Paterson, D.L. Multidrug-resistant gram-negative pathogens: the urgent need for 'old' polymyxins / D.L. Paterson, R.A. Bonomo // Advances in experimental medicine and biology. – 2019. – Vol. 1145. – P. 9-13.

253. Pathogenesis of gram-negative bacteremia / C.L. Holmes, M.T. Anderson, H.L.T. Mobley, [et al.] // Clinical microbiology reviews. – 2021. – Vol. 34. – №2. – P. e00234-20.

254. Pathogenic factors of *Pseudomonas aeruginosa* – the role of biofilm in pathogenicity and as a target for phage therapy / F. Al-Wrafiy, E. Brzozowska, S.

Górska, [et al.] // Postępy higieny i medycyny doświadczalnej (Online). – 2017. – Vol. 71. – №0. – P. 78-91.

255. Pathogenwatch v21.0.0 : сайт. - URL: <https://pathogen.watch/> (дата обращения: 06.08.2023).

256. Perspectives on the *Pseudomonas aeruginosa* type III secretion system effector *exoU* and its subversion of the host innate immune response to infection / K.S. Hardy, M.H. Tessmer, D.W. Frank, [et al.] // Toxins (Basel). – 2021. – Vol. 3. – №12. – P. 880.

257. PlasmidFinder 2.1 : сайт. - URL: <https://cge.food.dtu.dk/services/PlasmidFinder/> (дата обращения: 26.08.2023).

258. Plasmid-mediated *mcr-1* gene in *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*: first report from Pakistan / F. Hameed, M.A. Khan, H. Muhammad, [et al.] // Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. – 2019. – Vol. 52. – P. e20190237.

259. Polymyxin resistance among XDR ST1 carbapenem-resistant clone expanding in a teaching hospital / L.D.D.M. Carrasco, A.N.G. Dabul, C. M.D.S. Boralli, [et al.] // Frontiers in microbiology. – 2021. – Vol. 12. – P. 622704.

260. Population structure of *Klebsiella pneumoniae* causing bloodstream infections at a New York City tertiary care hospital: diversification of multidrug-resistant isolates / A. Gomez-Simmonds, M. Greenman, S.B. Sullivan, [et al.] // Journal of clinical microbiology. – 2015. – Vol. 53. – №7. – P. 2060-2067.

261. Post-neurosurgical meningitis; gram negative bacilli vs. gram positive cocci / M. Zeinalizadeh, R. Yazdani, M.M. Feizabadi, [et al.] // Caspian journal of internal medicine. – 2022. – Vol. 13. – №3. – P. 469-474.

262. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* and impact of antimicrobial resistance and bacterial virulence / R. Recio, M. Mancheño, E. Viedma, [et al.] // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2020. – Vol. 64. – №2. – P. e01759-19.

263. Predictors of mortality in early neonatal sepsis: a single-center experience / M. Jovičić, M.N. Milosavljević, M. Folić, [et al.] // *Medicina (Kaunas, Lithuania)*. – 2023. – Vol. 59. – №3. – P. 604.
264. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* and impact of appropriate antimicrobial treatment / O. Zarkotou, S. Pournaras, P. Tselioti, [et al.] // *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. – 2011. – Vol. 17. – №12. – P. 1798-1803.
265. Predominance of international clone 2 OXA-23-producing-*Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Greece, 2015: results of a nationwide study / S. Pournaras, K. Dafopoulou, M. Del Franco, [et al.] // *International journal of antimicrobial agents*. – 2017. – Vol. 49. – №6. – P. 749-753.
266. Prescott, H.C. Enhancing recovery from sepsis: a review / H.C. Prescott, D.C. Angus // *JAMA*. – 2018. – Vol. 319. – №1. – P. 62-75.
267. Prevalence of the genes associated with biofilm and toxins synthesis amongst the *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains / T. Bogiel, D. Depka, M. Rzepka, [et al.] // *Antibiotics*. – 2021. – Vol. 10. – P. 241.
268. Prevalence of β -lactamase genes, class 1 integrons, major virulence factors and clonal relationships of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from hospitalized patients in Southeast of Iran / H. Sharifi, G. Pouladfar, M.R. Shakibaie, [et al.] // *Iranian journal of basic medical sciences*. – 2019. – Vol. 22. – №7. – P. 806-812.
269. Prognostic role of time to positivity of blood culture in children with *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia / H. Xu, J. Cheng, Q. Yu, [et al.] // *BMC infectious diseases*. – 2020. – Vol. 20. – №1. – P. 665.
270. *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infection, resistance, and mortality: do solid organ transplant recipients do Better or Worse? / S. Herrera, L. Morata, A. Sempere, [et al.] // *Antibiotics (Basel, Switzerland)*. – 2023. – Vol. 12. – №2. – P. 380.
271. *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infection: importance of appropriate initial antimicrobial treatment / S.T. Micek, A.E. Lloyd, D.J. Ritchie, [et al.] // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2005. – Vol. 49. – №4. – P. 1306-1311.

272. *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections in children: a 9-year retrospective study/ B. Pilmis, F. Alby-Laurent, M.L. Fasola, [et al.] // European journal of pediatrics. – 2020. – Vol. 179. – №8. – P. 1247-1254.

273. *Pseudomonas aeruginosa lasB* subverts alveolar macrophage activity by interfering with bacterial killing through downregulation of innate immune defense, reactive oxygen species generation, and complement activation / F. Bastaert, S. Kheir, V. Saint-Criq, [et al.] // Frontiers in immunology. – 2018. – Vol. 9. – P. 1675.

274. *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial meningitis in neurosurgical patients with intraventricular catheters: Therapeutic approach and review of the literature / C. Rodríguez-Lucas, J. Fernández, M. Martínez-Sela, [et al.] // Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica (English ed.). – 2020. – Vol. 38. – №2. – P. 54-58.

275. *Pseudomonas aeruginosa* toxin exoU as a therapeutic target in the treatment of bacterial infections / D.M. Foulkes, K. McLean, A.S. Haneef, [et al.] // Microorganisms. – 2019. – Vol. 7. – №12. – P. 707.

276. *Pseudomonas aeruginosa* type III secretory toxin exoU and its predicted homologs / T. Sawa, S. Hamaoka, M. Kinoshita, [et al.] // Toxins (Basel). – 2016. – Vol. 8. – №11. – P. 307.

277. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci / S. Stepanović, D. Vuković, V. Hola, [et al.] // APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica. – 2007. – Vol. 115. – №8. – P. 891-899.

278. Quorum-sensing regulation of adhesion in *Serratia marcescens* MG1 is surface dependent / M. Labbate, H. Zhu, L. Thung, [et al.] // Journal of bacteriology. – 2007. – Vol. 189. – №7. – P. 2702-2711.

279. Ramirez, M.S. Carbapenemases: transforming *Acinetobacter baumannii* into a yet more dangerous menace / M.S. Ramirez, R.A. Bonomo, M.E. Tolmasky // Biomolecules. – 2020. – Vol. 10. – №5. – P. 720.

280. Ranjbar, R. Study of genetic diversity, biofilm formation, and detection of carbapenemase, MBL, ESBL, and tetracycline resistance genes in multidrug-resistant

Acinetobacter baumannii isolated from burn wound infections in Iran / R. Ranjbar, A. Farahani // Antimicrobial resistance and infection control. – 2019. – Vol. 8. – P. 172.

281. Rapid detection of *Acinetobacter baumannii* and molecular epidemiology of carbapenem-resistant *A. baumannii* in two comprehensive hospitals of Beijing, China / P. Li, W. Niu, H. Li, [et al.] // Frontiers in microbiology. – 2015. – Vol. 6. – P. 997.

282. RASTtk: a modular and extensible implementation of the RAST algorithm for building custom annotation pipelines and annotating batches of genomes / T. Brettin, J.J. Davis, T. Disz, [et al.] // Scientific reports. – 2015. – Vol. 10. – №5. – P. 8365.

283. RefSeq: expanding the prokaryotic genome annotation pipeline reach with protein family model curation / W. Li, K.R. O'Neill, D.H. Haft, [et al.] // Nucleic acids research. – 2021. – Vol. 49. – №D1. – P. D1020-D1028.

284. Ren, X. *Acinetobacter* metabolism in infection and antimicrobial resistance / X. Ren, L.D. Palmer // Infection and immunity. – 2023. – Vol. 91. – №6. – P. e0043322.

285. Reynolds, D. The epidemiology and pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections: an update / D. Reynolds, M. Kollef // Drugs. – 2021. – Vol. 81. – №18. – P. 2117-2131.

286. Risk factors and resistance patterns of invasive *Acinetobacter baumannii* infection in children [article in chinese] / Y.L. Ge, Q.W. Shan, Y. Qiu, [et al.] // Zhonghua er ke za zhi = Chinese journal of pediatrics. – 2022. – Vol. 60. – №8. – P. 762-768.

287. Risk factors for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections and outcomes / Y. Yuan, J. Wang, Z. Yao, [et al.] // Infection and drug resistance. – 2020. – Vol. 13. – P. 207-215.

288. Risk factors for colonization and infection with multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit: protocol for a systematic review and meta-analysis / S. Eyebe, H.C. Nana-Djeunga, M. Guewo-Fokeng, [et al.] // Systematic reviews. – 2022. – Vol. 11. – №1. – P. 270.

289. Risk factors for mortality in patients with *Serratia marcescens* bacteremia / S.B. Kim, Y.D. Jeon, J.H. Kim, [et al.] // Yonsei medical journal. – 2015. – Vol. 56. – №2. – P. 348-354.
290. Ruhai, R. Biofilm patterns in gram-positive and gram-negative bacteria / R. Ruhai, R. Kataria // Microbiological research. – 2021. – Vol. 251. – P. 126829.
291. Russo, T.A. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* / T.A. Russo, C.M. Marr // Clinical microbiology reviews. – 2019. – Vol. 32. – №3. – P. e00001-19.
292. Saitou, N. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees / N. Saitou, M. Nei // Molecular Biology and Evolution. – 1987. – Vol. 4. – №4. – P. 406-425.
293. *Serratia* infection epidemiology among very preterm infants in the neonatal intensive care unit / S.A. Coggins, E.M. Edwards, D.D. Flannery, [et al.] // The Pediatric infectious disease journal. – 2023. – Vol. 42. – №2. – P. 152-158.
294. *Serratia marcescens* colonization in a neonatal intensive care unit has multiple sources, with sink drains as a major reservoir / T. Bourdin, M.È. Benoit, A. Monnier, [et al.] // Applied and environmental microbiology. – 2023. – Vol. 89. – №5. – P. e0010523.
295. *Serratia marcescens* endocarditis: a case report and literature review / A.I. Ferreira, F. Oliveira E Silva, J. Reis, [et al.] // Acta medica portuguesa. – 2022. – Vol. 35. – №12. – P. 908-912.
296. *Serratia marcescens* infections and outbreaks in neonatal intensive care units / A. Dessì, M. Puddu, M. Testa, [et al.] // Journal of chemotherapy (Florence, Italy). – 2009. – Vol. 21. – №5 – P. 493-499.
297. *Serratia marcescens* outbreak in a neonatal intensive care unit and the potential of whole-genome sequencing / A. Muyldermans, F. Crombé, P. Bosmans, [et al.] // The Journal of hospital infection. – 2021. – Vol. 111. – P. 148-154.
298. *Serratia marcescens* outbreak in a neonatal intensive care unit associated with contaminated donor milk / L. Bechmann, R. Böttger, C. Baier, [et al.] // Infection control and hospital epidemiology. – 2023. – Vol. 44. – №6. – P. 891-897.

299. Serum resistance of *Acinetobacter baumannii* through the binding of factor H to outer membrane proteins / S.W. Kim, C.H. Choi, D.C. Moon, [et al.] // FEMS microbiology letters. – 2009. – Vol. 301. – №2. – P. 224-231.

300. Slauch, J. M. How does the oxidative burst of macrophages kill bacteria? Still an open question / J.M. Slauch // Molecular microbiology. – 2011. – Vol. 80. – №3. – P. 580-583.

301. Spontaneous gram-negative bacillary meningitis in adult patients: characteristics and outcome / V. Pomar, N. Benito, J. López-Contreras, [et al.] // BMC infectious diseases. – 2013. – Vol. 13. – P. 451.

302. Spread of extensively resistant VIM-2-positive ST235 *Pseudomonas aeruginosa* in Belarus, Kazakhstan, and Russia: a longitudinal epidemiological and clinical study / M.V. Edelstein, E.N. Skleenova, O.V. Shevchenko, [et al.] // The Lancet Infectious Diseases. Elsevier BV. – 2013. – Vol. 13. – №10. – P. 867-876.

303. St. Petersburg genome assembler, Russia : сайт. - URL: <http://cab.spbu.ru/software/spades/> (дата обращения: 29.08.23).

304. Strong correlation between the rates of intrinsically antibiotic-resistant species and the rates of acquired resistance in Gram-negative species causing bacteraemia, EU/EEA, 2016 / V. Jarlier, L. Diaz Högberg, O.E. Heuer, [et al.] // Euro surveillance : bulletin European sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin. – 2019. – Vol. 24. – №33. – P. 1800538.

305. Structural basis for *Acinetobacter baumannii* biofilm formation / N. Pakharukova, M. Tuittila, S. Paavilainen, [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2018. – Vol. 115. – №21. – P. 5558-5563.

306. Successful control of *Serratia marcescens* outbreak in a neonatal unit of a tertiary-care hospital in Spain / M.I. Millán-Lou, C. López, J. Bueno, [et al.] // Enfermedades infecciosas y microbiología clinica (English ed.). – 2022. – Vol. 40. – №5. – P. 248-254.

307. Tamura, K. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11 / K. Tamura, G. Stecher, S. Kumar // Molecular biology and evolution. – 2021. – Vol. 38. – №7. – P. 3022-3027.

308. Tamura, K. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method / K. Tamura, M. Nei, S. Kumar // Proceedings of the National Academy of Sciences (USA). – 2004. – Vol. 101. – P. 11030-11035.

309. Teelucksingh, K. Clinical characteristics, appropriateness of empiric antibiotic therapy, and outcome of *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia across multiple community hospitals / K. Teelucksingh, E. Shaw // European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology. – 2022. – Vol. 41. – №1. – P. 53-62.

310. The arginine finger domain of ExoT contributes to actin cytoskeleton disruption and inhibition of internalization of *Pseudomonas aeruginosa* by epithelial cells and macrophages / L. Garrity-Ryan, B. Kazmierczak, R. Kowal, [et al.] // Infection and immunity. – 2000. – Vol. 68. – P. 7100-7113.

311. The characteristic of virulence, biofilm and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* / G. Wang, G. Zhao, X. Chao, [et al.] // International journal of environmental research and public health. – 2020. – Vol. 17. – №17. – P. 6278.

312. The evolution of virulence in *Pseudomonas aeruginosa* during chronic wound infection / J. Vanderwoude, D. Fleming, S. Azimi, [et al.] // Proceedings. Biological sciences. – 2020. – Vol. 287. – №1937. – P. 20202272.

313. The genomic basis of rapid adaptation to antibiotic combination therapy in *Pseudomonas aeruginosa* / C. Barbosa, N. Mahrt, J. Bunk, [et al.] // Molecular biology and evolution. – 2021. – Vol. 38. – № 2. – P. 449-464.

314. The global prevalence of multidrug-resistance among *Acinetobacter baumannii* causing hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia and its associated mortality: a systematic review and meta-analysis / S.L.S. Mohd, A.A. Zainal, S.M. Liew, [et al.] // The Journal of infection. – 2019. – Vol. 79. – №6. – P. 593-600.

315. The impact of infectious diseases consultation on the management and outcomes of *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia in adults: a retrospective cohort

study / F. Chiong, M.S. Wasef, K.C. Liew, [et al.] // BMC infectious diseases. – 2021. – Vol. 21. – №1. – P. 671.

316. The impact of primer sets on detection of the gene encoding biofilm-associated protein (Bap) in *Acinetobacter baumannii*: in silico and in vitro analysis / M. Kodori, M. Douraghi, M. Yaseri, [et al.] // Letters in applied microbiology. – 2017. – Vol. 64. – №4. P. 304-308.

317. The lytic transglycosylase MltB connects membrane homeostasis and in vivo fitness of *Acinetobacter baumannii* / S. Crépin, E.N. Ottosen, K. Peters, [et al.] // Molecular microbiology. – 2018. – Vol. 109. – P. 745-762.

318. The microbiology of bloodstream infection: 20-year trends from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program / D.J. Diekema, P.R. Hsueh, R.E. Mendes, [et al.] // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2019. – Vol. 63. – №7. – P. e00355-19.

319. The population structure of *Acinetobacter baumannii*: expanding multiresistant clones from an ancestral susceptible genetic pool / L. Diancourt, V. Passet, A. Nemeč, [et al.] // PLoS one. – 2010. – Vol. 5. – №4. – P. e10034.

320. The relationship between blood sample volume and diagnostic sensitivity of blood culture for typhoid and paratyphoid fever: a systematic review and meta-analysis / M. Antillon, N.J. Saad, S. Baker, [et al.] // The Journal of infectious diseases. – 2018. – Vol. 218. – № suppl_4. – P. S255-S267.

321. The role of ExoS in dissemination of *Pseudomonas aeruginosa* during pneumonia / S.M. Rangel, M.H. Diaz, C.A. Knoten, [et al.] // PLoS pathogens. – 2015. – Vol. 11. – №6. – P. e1004945.

322. The role of *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors in cytoskeletal dysregulation and lung barrier dysfunction / B.M. Wagener, R. Hu, S. Wu, [et al.] // Toxins (Basel). – 2021. – Vol. 13. – №11. – P. 776.

323. The role of the two-component qseBC signaling system in biofilm formation and virulence of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* ATCC43816 / J. Lv, J. Zhu, T. Wang, [et al.] // Frontiers in microbiology. – 2022. – Vol. 13. – P. 817494.

324. The role of virulence factors in neonatal sepsis caused by *Enterobacteriales*: a systematic review / L. Barcellini, G. Ricci, I. Bresesti, [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2022. – Vol.23. – №19. – P. 11930.

325. The *Serratia marcescens* siderophore serratiochelin is necessary for full virulence during bloodstream infection / D.R. Weakland, S.N. Smith, B. Bell, [et al.] // Infection and immunity. – 2020. – Vol. 88. – №8. – P. e00117-20.

326. The significance of *Acinetobacter baumannii* bacteraemia compared with *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia: risk factors and outcomes / E. Robenshtok, M. Paul, L. Leibovici, [et al.] // The Journal of hospital infection. – 2006. – Vol. 64. – №3. – P. 282-287.

327. The significance of clinical indicators of different Gram-stained bacteria resulted in secondary intracranial infection after craniocerebral operation / X.Y. Wang, J. Zhang, L. Liu, [et al.] // Zhonghua Yi Xue Za Zhi. – 2018. – Vol. 98. – №20. – P. 1588-1592.

328. VE-cadherin cleavage by LasB protease from *Pseudomonas aeruginosa* facilitates type III secretion system toxicity in endothelial cells / G. Golovkine, E. Faudry, S. Bouillot, [et al.] // PLoS pathogens. – 2014. – Vol. 10. – №3. – P. e1003939.

329. Vertical transmission of gut microbiome and antimicrobial resistance genes in infants exposed to antibiotics at birth / W. Li, T. Tapiainen, L. Brinkac, [et al.] // The Journal of infectious diseases. – 2021. – Vol. 224. – №7. – P. 1236-1246.

330. VFDB: a reference database for bacterial virulence factors / L. Chen, J. Yang, J. Yu, [et al.] // Nucleic acids research. – 2005. – Vol. 33. – № (Issue suppl. 1). – P. D325-328.

331. VFDB (virulence factor database) : сайт. - URL: <http://www.mgc.ac.cn/VFs/> (дата обращения: 24.08.2023).

332. Vijayakumar, K. 5-Hydroxymethylfurfural inhibits *Acinetobacter baumannii* biofilms: an in vitro study / K. Vijayakumar, R. Thirunanasambandham // Archives of microbiology. – 2021. – Vol. 203. – №2. – P. 673-682.

333. Virulence characteristics of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates vary with the expression levels of omps / Y. Sato, Y. Unno, S. Kawakami, [et al.] // Journal of medical microbiology. – 2017. – Vol. 66. – №2. – P. 203-212.

334. Virulence characteristics of multidrug resistant biofilm forming *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care unit patients / H. Zeighami, F. Valadkhani, R. Shapouri, [et al.] // BMC infectious diseases. – 2019. – Vol. 19. – №1. – P. 629.

335. Virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* and antivirulence strategies to combat its drug resistance / C. Liao, X. Huang, Q. Wang, [et al.] // Frontiers in cellular and infection microbiology. – 2022. – Vol. 12. – P. 926758.

336. Virulence factors of the human opportunistic pathogen *Serratia marcescens* identified by in vivo screening / C.L. Kurz, S. Chauvet, M. Aurouze, [et al.] // The EMBO journal. – 2003. – Vol. 22. – №7. – P. 1451-1460.

337. Virulence genes and antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients in the Northwestern of Morocco / C. Elmouaden, A. Laglaoui, L. Ennanej, [et al.] // Journal of infection in developing countries. – 2019. – Vol. 13. – №10. – P. 892-898.

338. Wattal, C. Pediatric blood cultures and antibiotic resistance: an overview / C. Wattal, N. Goel // Indian journal of pediatrics. – 2020. – Vol. 87. – №6. – P. 486.

339. Weighting the impact of virulence on the outcome of *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections / I. Sánchez-Diener, L. Zamorano, C. Peña, [et al.] // Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. – 2020. – Vol. 26. – №3. – P. 351-357.

340. WHO. 2017. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed : сайт. - URL: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed> (дата обращения: 17.06.2022).

341. Wilson, K. Current protocols in molecular biology. Unit 2.4 preparation of genomic DNA from bacteria / K. Wilson // Wiley Online Library. Current protocols in

molecular biology, Chapter 2. - URL: <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb0204s56>.

Дата публикации: 15.11.2001.

342. Wyres, K.L. *Klebsiella pneumoniae* population genomics and antimicrobial-resistant clones / K.L. Wyres, K.E. Holt // Trends in microbiology. – 2016. – Vol. 24. – №12. – P. 944-956.