

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии
Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии
ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России

Учредители:
Синопальников А.И.; Пискунов Г.Г.;
Козлов Р.С.; Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ)

Главный редактор:
Синопальников А.И.

Адрес редакции:
214019, Смоленская обл.,
г. Смоленск, ул. Кирова, д. 46А

Эл. почта: info@cmac-journal.ru

Адрес для корреспонденции:
214019, г. Смоленск, а/я 5.

Тел./факс: +7(4812)45-06-02

Издатель МАКМАХ:

214019, г. Смоленск,
ул. Кирова 46А. www.iacmac.ru

Адрес типографии:
214020, Россия, г. Смоленск,
ул. Смольянинова, д. 1

Электронная версия журнала:
<https://cmac-journal.ru>

Подписка на сайте издателя:
<https://service.iacmac.ru>

Журнал зарегистрирован
Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор).

Запись в реестре зарегистрированных СМИ: ПИ № ФС 77 – 86269 от 27.11.2023

Не распространяется через предприятия связи

Тираж 3000 экз.

Свободная цена

Дата выхода – 00.00.2025

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук
Присланные в редакцию статьи проходят рецензирование

Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов публикующих материалов
Ответственность за достоверность рекламных публикаций несут рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал обязательна
Журнал является научным изданием для врачей, в связи с чем на него не распространяются требования Федерального закона от 29.12.2010 №436-ФЗ «О защите детей от информации, причиняющей вред их здоровью и развитию»

Иллюстрация для обложки представлена: Ольга Николаевна Пингегина (Микробиологическая лаборатория ЕКДЛ SmartLab АО «Группа компаний «МЕДСИ»)
© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2025.

Содержание

Болезни и возбудители

Козлова И.В., Носов Н.Ю., Юнакова И.В., Плахова К.И., Кубанов А.А.

- 268 Генетическое разнообразие *Chlamydia trachomatis* на территории России

Лебедева Е.О., Давтян Л.А., Кузнецова И.К., Шутов М.В., Рачина С.А.

- 275 Респираторно-синцитиальный вирус у взрослых: особенности течения и инновационные методы профилактики

Ларин Е.С., Рачина С.А., Фединя Л.В., Зайналабидова Х.Г., Агеевец В.А., Сидоренко С.В., Авдеева А.А.

- 289 Инфекции, вызванные гипервирулентными изолятами *Klebsiella pneumoniae*: актуальность проблем

Арбузова Н.В., Шпилевая М.В., Катунин Г.Л., Носов Н.Ю.

- 304 Протеомика *Treponema pallidum*: перспективы улучшения серологической диагностики сифилиса

Кожушная О.С., Воропаев А.Д., Левин П.А., Новичкова Г.А., Соловьева Г.Г.

- 309 Анализ мутаций резистентности цитомегаловируса и клинических особенностей течения ЦМВ-инфекции у иммунокомпрометированных детей

Антимикробные препараты

Тапальский Д.В., Карпова Е.В., Симончик М.В., Пыж А.Э., Голикова М.В.

- 317 Сравнительная активность меропенема и биапенема и их комбинаций с колистином в отношении грамотрицательных микроорганизмов-продуцентов карбапенемаз различных групп

Арепьева М.А., Кузьменков А.Ю., Старостенков А.А., Колбин А.С., Балыкина Ю.Е., Гомон Ю.М., Курьиев А.А., Козлов Р.С.

- 330 Интегрированная система мониторинга потребления антимикробных препаратов и прогнозирования резистентности на основе динамических моделей

Антибиотикорезистентность

Припутневич Т.В., Нечаева О.В., Бембеева Б.О., Гордеев А.Б., Кузнецова В.А., Скоробогатый А.В., Изюмов Р.В.

- 342 Изучение антибиотикорезистентности гипервирулентных штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных у пациентов перинатальных центров различных регионов Российской Федерации

Фёдорова А.В., Хрульнова С.А., Фролова И.Н., Ветохина А.В., Молчанова И.В., Кузевалова О.Ю., Клясова Г.А.

- 359 Банкомицинерезистентные *Enterococcus faecium* в гематологии: чувствительность к антимикробным препаратам и клональное разнообразие

Гульяева Н.А., Виноградова А.Г., Колесникова И.В., Рыжова К.А., Шелковникова О.В.

- 369 Опыт создания замкнутого цифрового контура для обеспечения непрерывного мониторинга антимикробной резистентности на основе валидированных результатов микробиологической диагностики

Опыт работы

Рачеева Ю.В., Эйдельштейн И.А., Пунин А.А., Ветлицына О.В., Ашакевич Т.П., Романов А.В., Козлов Р.С.

- 390 Распространенность *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydophila pneumoniae* у пациентов с обострением ХОБЛ в осенне-зимний период 2022–2023 гг. в Смоленской области Любимова Л.В., Павлова С.И., Любимов Е.А., Микишанина Е.А.

- 395 Динамика антибиотикорезистентности возбудителей перипротезной инфекции крупных суставов до и после пандемии COVID-19

Казюлина А.А., Грачева А.Н., Токаев Т.К., Синицын М.В., Елисеев П.И., Толькова Т.Е., Загоскин Ю.Д., Григорьев Т.Е., Васильева И.А.

- 406 Оценка бактерицидного действия объемных пористых композиционных материалов, импрегнированных серебром, на *Mycobacterium tuberculosis*

Данилов Д.И., Савочкина Ю.А., Эйдельштейн И.А., Адешкина Н.И., Олейник О.Н., Гордукова М.А., Шипулин Г.А.

- 417 Выявление устойчивых к макролидам *Mycoplasma pneumoniae* с помощью быстрых молекулярно-генетических методов: разработка и валидация диагностического ПЦР-теста

Изучение антибиотикорезистентности гипервирулентных штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных у пациентов перинатальных центров различных регионов Российской Федерации

Припутневич Т.В.^{1,2}, Нечаева О.В.^{1,2}, Бембеева Б.О.^{1,3}, Гордеев А.Б.¹, Кузнецова В.А.¹, Скоробогатый А.В.¹, Изюмов Р.В.¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия

² ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия

³ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия

Контактный адрес:
Алексей Борисович Гордеев
Эл. почта: a_gordeev@oparina4.ru

Ключевые слова: *Klebsiella pneumoniae*, антибиотикорезистентность, вирулентность, перинатальный центр, полногеномное секвенирование.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Внешнее финансирование: исследование проведено без внешнего финансирования.

Цель. Изучить генетические детерминанты резистентности и вирулентности штаммов *K. pneumoniae*, поступивших в референс-центр по предупреждению распространения биологических угроз ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

Материалы и методы. В исследование включены 153 штамма *Klebsiella pneumoniae*, выделенные из биологического материала беременных женщин и новорожденных детей, находящихся в Перинатальных центрах различных регионов Российской Федерации с инфекционно-воспалительными заболеваниями и поступившие в коллекцию условно-патогенных микроорганизмов референс-центра в 2023 г. Для всех штаммов определяли минимальную подавляющую концентрацию (МПК) к основным антимикробным препаратам (АМП) методом микроразведений в бульоне и получали полногеномные данные с помощью технологии высокопроизводительного секвенирования. Проведен биоинформационный анализ полногеномных данных: сборка геномов, мультилокусное сиквенс-тиปирование (MLST), типирование штаммов по капсульным и липополисахаридным локусам, поиск генов резистентности и вирулентности. Штаммы, в геноме которых сочетались пять (*iucA*, *trpA2*, *trpA*, *peg344*, *terB*) и более генов вирулентности, были условно отнесены к гипервирулентным. Гипермукоидный фенотип у гипервирулентных штаммов выявлялся с помощью стринг-теста.

Результаты. У всех 153 штаммов *K. pneumoniae* выполнен поиск генов вирулентности. Гены вирулентности, ассоциированные с гипервирулентным фенотипом, не были обнаружены у 30 штаммов (19,6%) *K. pneumoniae*. У 18 штаммов (11,8%) в геноме сочетались пять и более генов вирулентности, они отнесены к гипервирулентным. У остальных штаммов количество генов вирулентности варьировалось от 1 до 4. Определены сиквенс-типы штаммов с разными комбинациями генов вирулентности. Для гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae* проведено капсульное типирование, определен спектр устойчивости к основным АМП, выявлены гены резистентности к антимикробным препаратам десяти различных групп, у пяти штаммов выявлен гипермукоидный фенотип.

Выводы. Обнаружение у пациентов Перинатальных центров гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae* с множественной лекарственной устойчивостью, в большинстве своем относящихся к клонам высокого эпидемического риска, свидетельствует о нарастающей биологической угрозе, связанной прежде всего с горизонтальным переносом плазмид с детерминантами резистентности и вирулентности, что обуславливает сложность терапии заболеваний, вызванных такими бактериями.

Original Article

A study of antibiotic resistance of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from patients of perinatal centers in various regions of the Russian Federation

Priputnevich T.V.^{1,2}, Nечаева О.В.^{1,2}, Бембеева Б.О.^{1,3}, Гордеев А.Б.¹, Кузнецова В.А.¹, Скоробогатый А.В.¹, Изюмов Р.В.¹

¹ National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after academician V.I. Kulakov, Moscow, Russia

² Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russia

³ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Contacts:
Алексей Б. Гордеев
E-mail: a_gordeev@oparina4.ru

Objective. To study genetic determinants of resistance and virulence of *K. pneumoniae* strains received by the reference center for the prevention of the spread of biological threats of the National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation.

Припутневич Т.В. и соавт.

Key words: *Klebsiella pneumoniae*, antibiotic resistance, virulence, perinatal center, whole genome sequencing.

Conflicts of interest: all authors report no conflicts of interest relevant to this article.

External funding source: no external funding received.

Materials and methods. The study included 153 strains of *Klebsiella pneumoniae* isolated from the biological material of pregnant women and newborns in Perinatal centers in various regions of the Russian Federation with infectious and inflammatory diseases and included in the collection of opportunistic microorganisms of the reference center in 2023. For all strains, minimum inhibitory concentrations (MIC) to the main antimicrobials were determined by broth microdilution tests and whole-genome data were obtained using high-throughput sequencing technology. Bioinformatic analysis of whole-genome data, including genome assembly, multilocus sequence typing (MLST), strain typing by capsule and lipopolysaccharide loci, detection of the resistance and virulence genes, was performed. Strains with five (*iucA*, *rmpA2*, *rmpA*, *peg344*, *terB*) and more virulence genes combined in their genome were conditionally classified as hypervirulent. The hypermucoid phenotype in hypervirulent strains was detected using a string test.

Results. All 153 strains of *K. pneumoniae* were searched for virulence genes. Virulence genes associated with the hypervirulent phenotype were not detected in 30 strains (19.6%) of *K. pneumoniae*. In 18 strains (11.8%), five or more virulence genes were combined in the genome, they were classified as hypervirulent. The remaining strains had a number of virulence genes ranging from 1 to 4. Sequence types of strains with different combinations of virulence genes were determined. For hypervirulent strains of *K. pneumoniae* capsule typing was performed, the spectrum of resistance to the main antimicrobials was determined, resistance genes of ten different groups were identified, and hypermucoid phenotype was detected in five strains.

Conclusions. The detection of multidrug-resistant hypervirulent *K. pneumoniae* strains in patients of Perinatal Centers, most of which belong to clones of high epidemic risk, indicates an increasing biological threat associated primarily with the horizontal transfer of plasmids with determinants of resistance and virulence, which makes it difficult to treat diseases caused by such bacteria.

Введение

Klebsiella pneumoniae – условно-патогенные бактерии, относящиеся к группе ESKAPE-патогенов, клиническая значимость которых в последнее время неуклонно растет. *K. pneumoniae* могут вызывать инфекционные заболевания различной локализации: пневмонии, инфекции мочевыводящих путей и кровотока, инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), при этом группу риска составляют иммунокомпромитированные лица, длительно находящиеся в условиях стационара [1]. В возникновении ИСМП ведущая роль принадлежит классическому варианту *K. pneumoniae* (cKp), штаммы которого часто характеризуются множественной лекарственной устойчивостью (MDR-Kp) [2]. Особую озабоченность вызывает рост числа штаммов *K. pneumoniae*, вырабатывающих бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС) и карбапенемазы, что послужило основанием для включения их Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) в группу приоритетных патогенов [3–5]. Вместе с другими устойчивыми к карбапенемам и цефалоспоринам третьего поколения энтеробактериями *K. pneumoniae* занимают верхнюю строчку списка и относятся к группе критического риска, представляя наибольшую угрозу для здравоохранения из-за их высокой контагиозности, ограниченных возможностей лечения, высоких показателей смертности и заболеваемости и серьезного экономического ущерба, связанного с использованием более дорогостоящих антимикробных препаратов (АМП).

В настоящее время особую клиническую значимость приобрели штаммы гипервирулентной *K. pneumoniae*

(hvKp), с которыми ассоциированы инвазивные инфекции, как правило, возникающие у изначально здоровых людей любого возраста: абсцесс печени, эндофталмит, эмфизематозный гастрит, инфекции центральной нервной системы, при этом могут поражаться несколько органов, а летальность может достигать 55% [6–8].

На данный момент отсутствуют однозначные и общепринятые критерии, определяющие принадлежность штаммов *K. pneumoniae* к гипервирулентным, однако чаще всего hvKp ассоциированы с определенными генетическими маркерами плазмидной локализации [9, 10]. Так, гены *rmpA* и *rmpA2* детерминируют синтез полисахаридной капсулы, при этом у hvKp нередко встречается гипермукоидный фенотип, который определяется в стринг-тесте [11]. Капсула *K. pneumoniae* обеспечивает высокую вирулентность путем формирования устойчивости к антибактериальным пептидам (например, к β-дифенцинам, лактоферрину), блокируя их проникновение к внешней мембране бактерий и подавляя бактерицидную активность, а также защищает клетки от факторов иммунной защиты макроорганизма.

Вязкость капсулной слизи у hvKp определяет ген *magA*, а ген *wzy* детерминирует синтез поверхностного белка, который участвует в процессе сборки капсулы на наружной мембране клетки [12].

Традиционные методы серотипирования позволили выделить порядка 79 серотипов *K. pneumoniae*, отличающихся по химическому составу капсулных компонентов [13]. Однако в результате горизонтального переноса генов и высокой генетической вариабельности для

70% бактерий невозможно определить принадлежность к капсулному типу методом серотипирования [14]. В настоящее время разработаны новые способы классификации с применением молекулярно-биологических методов, в частности, технологий секвенирования, которые на основании определения нуклеотидной последовательности консервативных генов *wzi*, *wzy* или *wzc* локуса *cps* путем таргетного секвенирования или анализа полногеномных данных позволяют идентифицировать капсулные типы KL (К-локус) – генетический локус, кодирующий синтез капсулного полисахарида [15, 16]. С помощью методов сравнительной геномики выявлено 186 KL-типов, а типы локусов KL1–KL81 соответствуют типам K1–K81.

K. pneumoniae способна синтезировать несколько вариантов сидерофоров: энтеробактин (ген *iroA*), иерси-ниабактин (*fyuA*, *irp1*, *irp2*, *ybtA-ybtX*), сальмохелин (*iro*, *iroE*, *iroN*) и аэробактин (*iuc*), которые являются важными факторами вирулентности, поскольку стимулируют рост бактериальных клеток, повышают эффективность их колонизации и, соответственно, распространение по организму хозяина [17].

Одним из значимых маркеров hvKр является ген вирулентности, кодирующий метаболический переносчик *peg344*, который располагается на плазмиде и детерминирует транспорт факторов роста в клетки [18].

Еще одним геном вирулентности является *terB* (tellurium resistance membrane protein), который свидетельствует о наличии оперона *terZABCDEF*, обеспечивающего устойчивость к теллуриту [18].

С высокой частотой (78,8%) у штаммов hvKр обнаруживаются островки *rks*, 19 генов которых (*cibA-cibS*) кодируют ферменты синтеза колибактина – экзотоксина, характеризующегося генотоксическим действием и вызывающего двуцепочечные разрывы ДНК в лимфоцитах, что приводит к нарушению клеточного цикла и гибели клеток [19, 20].

Если еще несколько лет назад считалось, что hvKр сохраняют чувствительность к большинству противомикробных препаратов [21–23], то в последние годы появление гибридных плазмид, несущих гены, кодирующие факторы вирулентности и устойчивости к карбапенемам, привело к появлению гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae* с множественной лекарственной устойчивостью (MDR-hvKр) [24, 25]. В России MDR-hvKр впервые описаны в 2018 г. [26].

В научных публикациях последних лет все чаще встречаются сообщения о появлении hvKр с плазмидами, детерминирующими синтез двух карбапенемаз одновременно, например, KPC-2 и VIM-1, KPC-2 и NDM-1 или KPC-2 и NDM-5, которые требуют пристального внимания ввиду их высокой патогенности, устойчивости к большинству бета-лактамных антибиотиков и потенциальной возможности их более широкого распространения, что определяет важность динамического мониторинга [27–29].

Цель исследования – изучить генетические детерминанты резистентности и вирулентности штаммов *K. pneumoniae*, поступивших в референс-центр по предупреждению распространения биологических угроз ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

Материалы и методы

Объектом исследования явились 153 штамма *K. pneumoniae*, выделенные из биологического материала беременных женщин и новорожденных детей, находящихся в перинатальных центрах различных регионов России (Белгород, Екатеринбург, Санкт-Петербург, Москва и Якутск) с инфекционно-воспалительными заболеваниями. Данные штаммы включены в коллекцию условно-патогенных микроорганизмов референс-центра в 2023 г., поскольку характеризовались множественной лекарственной устойчивостью.

Таксономическую принадлежность полученных изолятов бактерий определяли с использованием метода матрично-активированной лазерной десорбционно/ионизационной времязадержкой масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS).

K. pneumoniae, в геноме которых сочетались пять и более генов вирулентности из набора *iucA*, *rmpA2*, *rmpA*, *iutA*, *peg344*, *terB*, *irp2*, условно относились к гипервирулентным [30].

Для всех штаммов определяли минимальную подавляющую концентрацию (МПК) основных АМП методом микроразведений в бульоне в соответствии с рекомендациями EUCAST-2023 (v. 13.0). Контроль качества исследований проводили при помощи контрольного штамма *Escherichia coli* ATCC 25922.

С целью детального изучения механизмов резистентности и детекции факторов вирулентности проводилось высокопроизводительное секвенирование с последующим биоинформационическим анализом.

Выделение ДНК для последующего секвенирования проводили из 500 мкл ресуспендированных после центрифугирования клеток культуры. Для этого проводили предварительную обработку образца раствором лизоцима: в каждую пробирку с материалом вносили по 15 мкл раствора лизоцима с концентрацией 5 мг/мл. Собственно, выделение ДНК проводили с помощью набора «ПРОБА-МЧ МАКС» (компания «ДНК-Технология», кат. номер Р-103-А/8) по протоколу производителя. Концентрацию выделенной ДНК определяли в растворе с помощью набора реагентов Qubit dsDNA BR Assay (Invitrogen, Inc., США) и флуориметра Qubit (Invitrogen, Inc., США) без построения калибровочного графика. Фрагментацию выделенной бактериальной ДНК проводили ферментативным методом с использованием набора MBU Транспозаза Tn5 (МБС-Технология, кат. номер Mtn-5) согласно протоколу фирмы-изготовителя.

Приготовление библиотек для секвенирования проводили по протоколу производителя (Illumina, США). После приготовления библиотек проводили контроль выполнения процедуры Size-select, а также качества и концентрации, с помощью детекции фрагментов нужной длины на приборе TapeStation 4200 (Agilent

Technologies, США) с использованием набора реагентов High Sensitivity DNA ScreenTape Analysis (Agilent Technologies, США) согласно протоколу производителя. При помощи данного этапа отбирали фрагменты библиотеки размером не менее 250 п.н.

Секвенирование приготовленных библиотек проводили на секвенаторе MiSeq (Illumina, США), с использованием стандартного набора реагентов для секвенирования MiSeq Reagent Kit v3. Сборку генома из отдельных фрагментов, получаемых в результате NGS (ридов), проводили с использованием программного пакета SPAdes 3.1.0 [31].

Оценку качества сборки проводили с использованием программного пакета QUAST 2.3 [30]. Уточнение видовой идентификации штаммов проводили с помощью веб-сервиса PubMLST (<https://pubmlst.org/>), опция Species ID > Identify species [33]. Определение сиквенс-типов, поиск генов вирулентности и генов, кодирующих эффлюксные белки, проводили с использованием ресурсов веб-платформы BIGSdb-Pasteur (<https://bigsdb.pasteur.fr/>), поиск генов устойчивости к анти-mикробным препаратам и мутаций в регуляторных генах и генах пориновых белков – при помощи веб-сервиса ResFinder 4.1 (<https://cge.food.dtu.dk/services/ResFinder/>) [34]. Поиск известных приобретенных мутаций в генах *gyrA* и *parC* проводили с использованием ресурса CARD (<https://card.mcmaster.ca/>) [35]. Типирование штаммов по капсульным и липополисахаридным локусам проводили с использованием программы Kaptive 2.0 [36].

Результаты

Базируясь на полногеномных данных, было проведено мультилокусное сиквенс-тиปирование штаммов *K. pneumoniae*, что позволило установить их принадлежность к следующим сиквенс-типам: ST4 (n = 1), ST11 (n = 1), ST15 (n = 5), ST20 (n = 1), ST23 (n = 9), ST25 (n = 1), ST29 (n = 7), ST35 (n = 3), ST37 (n = 6), ST45 (n = 16), ST48 (n = 1), ST76 (n = 1), ST101 (n = 4), ST147 (n = 4), ST197 (n = 1), ST198 (n = 22), ST200 (n = 1), ST258 (n = 2), ST280 (n = 1), ST307 (n = 10), ST309 (n = 1), ST377 (n = 6), ST395 (n = 13), ST495 (n = 1), ST512 (n = 22), ST636 (n = 2), ST874 (n = 1), ST919 (n = 1), ST1552 (n = 1), ST1832 (n = 2), ST2975 (n = 1), ST3660 (n = 1), ST6123 (n = 1). У трех штаммов обнаружен новый сиквенс-тип с уникальным аллельным профилем, отсутствующим в базах данных: *gapA* – 2, *infB* – 5, *mdh* – 2, *pgi* – 1, *phoE* – 189, *groB* – 4, *tonB* – 38.

У всех 153 штаммов *K. pneumoniae* выполнен поиск факторов вирулентности. Гены вирулентности, ассоциированные с гипервирулентным фенотипом, обнаружены не были у 30 штаммов (19,6%) *K. pneumoniae* различных сиквенс-типов: у семи штаммов ST29, у пяти штаммов ST37, у двух штаммов ST307 и ST636 и по одному штамму, относящимся к ST4, ST20, ST35, ST76, ST197, ST200, ST280, ST395, ST495, ST512, ST919, ST1552, ST6123 и к новому сиквенс-типу.

Припутневич Т.В. и соавт.

Антибиотикорезистентность гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae*

Гены, ответственные за синтез одного фактора вирулентности, выявлены у 61 штамма *K. pneumoniae* (39,9%). Ген *terB* присутствовал в геноме 24 штаммов и в большинстве случаев встречался у представителей ST512 (n = 20), а также ST1832 (n = 2), ST377 (n = 1) и ST3660 (n = 1). Ген *irp2* выявлен в геноме 36 штаммов и чаще всего обнаруживался у представителей ST198 (n = 22), а также у бактерий, относящихся к ST307 (n = 4), ST35 (n = 2), ST101 (n = 2), к новому сиквенс-типу (n = 2), ST15 (n = 1), ST25 (n = 1), ST37 (n = 1) и ST309 (n = 1).

Одновременное присутствие двух генов вирулентности установлено для 30 штаммов *K. pneumoniae* (19,6%), при этом наблюдалась следующие сочетания генов *terB* + *irp2* у 22 штаммов и *iucA* + *terB* у восьми. Доминирующим сиквенс-типом, в геноме которого сочетались гены *terB* + *irp2*, был ST45 (n = 16). Кроме того, присутствие данных генов выявлено у двух штаммов ST258 и по одному штамму ST307, ST395, ST512 и ST2975. Комплекс генов *iucA* + *terB* выявлен у двух сиквенс-типов: ST377 (n = 5) и ST307 (n = 3).

Одновременное присутствие трех генов вирулентности установлено для 12 штаммов *K. pneumoniae* (7,8%). Сочетание генов *iucA* + *terB* + *irp2* выявлено у 10 штаммов ST147 (n = 4), ST395 (n = 4), ST11 (n = 1), ST48 (n = 1). Для одного штамма, относящегося к ST395, установлено сочетание генов вирулентности *iucA* + *peg344* + *terB*, и для одного штамма ST101 – комплекс генов *rmpA* + *peg344* + *irp2*.

Сочетание четырех генов в комбинации *iucA* + *rmpA* + *terB* + *irp2* выявлено у 3 штаммов *K. pneumoniae* (2%), относящихся к ST23.

K. pneumoniae, в геноме которых сочетались пять и более генов вирулентности, были условно отнесены к гипервирулентным. Среди исследуемых штаммов данным критерием соответствовали 18 штаммов (11,8%) (Таблица 1).

Комплекс из пяти генов вирулентности *iucA* + *rmpA2* + *rmpA* + *peg344* + *terB* выявлен у 6 штаммов *K. pneumoniae* (3,9%), относящихся к ST395 (n = 4), ST15 (n = 1) и ST874 (n = 1).

Комплекс из шести генов вирулентности *iucA* + *rmpA2* + *rmpA* + *peg344* + *terB* + *irp2* выявлен у 10 штаммов *K. pneumoniae* (6,5%), относящихся к ST23 (n = 4), ST15 (n = 3), ST395 (n = 2) и ST101 (n = 1).

В геноме двух штаммов *K. pneumoniae* (1,3%), относящихся к ST23, обнаружено сочетание восьми генов вирулентности – *iucA* + *rmpA2* + *rmpA* + *peg344* + *terB* + *irp2* + *clbA* + *iroB*.

Кроме того, в геноме всех исследованных штаммов обнаружен ген *iutA*, кодирующий рецептор сидерофора аэробактина, в геноме двух штаммов, относящихся к ST23, присутствовал ген *magA*.

На основании нуклеотидной последовательности гена *wzi* установлена принадлежность гипервирулентных *K. pneumoniae* к определенному типу капсульного антигена (Таблица 2). Выявлено, что у большинства штаммов присутствовали аллели *wzi105* и *wzi77*, что позволило отнести их к типу K47 (KL108) (n = 4) и K57

Таблица 1. Факторы вирулентности, выявленные у гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae* (n = 18)

№ п/п	№ штамма	ST	Гены вирулентности								
			<i>iucA</i>	<i>rmpA2</i>	<i>rmpA</i>	<i>iutA</i>	<i>peg344</i>	<i>terB</i>	<i>irp2</i>	<i>cibA</i>	<i>iroB</i>
1	1892	395	+	+	+	+	+	+	-	-	-
2	1894	15	+	+	+	+	+	+	+	-	-
3	1895	15	+	+	+	+	+	+	+	-	-
4	1896	15	+	+	+	+	+	+	+	-	-
5	1897	395	+	+	+	+	+	+	-	-	-
6	1900	395	+	+	+	+	+	+	+	-	-
7	1901	395	+	+	+	+	+	+	+	-	-
8	5072	101	+	+	+	+	+	+	+	-	-
9	675	23	+	+	+	+	+	+	+	-	-
10	698	23	+	+	+	+	+	+	+	-	-
11	705	23	+	+	+	+	+	+	+	-	-
12	821	23	+	+	+	+	+	+	+	-	-
13	876	23	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	877	23	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15	1447	15	+	+	+	+	+	+	-	-	-
16	2031	395	+	+	+	+	+	+	-	-	-
17	1842	395	+	+	+	+	+	+	-	-	-
18	2015	874	+	+	+	+	+	+	-	-	-

(KL57) (n = 4) соответственно. Аллель *wzi24*, соответствующий K24 (KL24), обнаружен у трех штаммов, *wzi1*, соответствующий K1 (KL1) – у двух штаммов, *wzi151*, соответствующий K48 (KL48) – также у двух штаммов. По одному штамму *K. pneumoniae* имели аллели *wzi137*, *wzi19* и *wzi222*, которые соответствовали капсульным типам K17 (KL17), K19 (KL19) и KL45.

На основании О-типовирования исследуемые гипервирулентные *K. pneumoniae* относились к двум типам: O1ab (ST15, ST23, ST101, ST395 и ST874) и O2afg (ST23) (Таблица 2).

Среди исследованных штаммов *K. pneumoniae* гипермукоидный фенотип выявлен у пяти штаммов: №№ 1894, 1895, 1896, 5072, 1447, относящихся к ST15 (n = 4) и ST101 (n = 1), что было подтверждено результатами стринг-теста.

Анализ локализации гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae* показал, что с большей частотой они выделялись у женщин (n = 13) по сравнению с детьми (n = 5) (Таблица 3). У женщин возбудитель чаще всего обнаруживался в отделяемом цервикального канала (n = 6) и трахеобронхиальном аспирате (n = 4), у детей – в ректальном мазке (n = 3), по одному штамму выделено из крови женщины и ребенка.

Представляло интерес изучить спектр устойчивости гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae* к АМП.

Фенотипическая оценка чувствительности выявила высокую устойчивость исследуемых штаммов *K. pneu-*

Таблица 2. К- и О-типовирование гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae* (n = 18)

№ п/п	№ штамма	ST	<i>wzi</i> аллель	K	KL	O	Гипер- мукоид- ность
1	1892	395	105	K47	KL108	O1ab	-
2	1894	15	24	K24	KL24	O1ab	+
3	1895	15	24	K24	KL24	O1ab	+
4	1896	15	24	K24	KL24	O1ab	+
5	1897	395	105	K47	KL108	O1ab	-
6	1900	395	105	K47	KL108	O1ab	-
7	1901	395	105	K47	KL108	O1ab	-
8	5072	101	137	K17	KL17	O1ab	+
9	675	23	77	K57	KL57	O2afg	-
10	698	23	77	K57	KL57	O2afg	-
11	705	23	77	K57	KL57	O2afg	-
12	821	23	77	K57	KL57	O2afg	-
13	876	23	1	K1	KL1	O1ab	-
14	877	23	1	K1	KL1	O1ab	-
15	1447	15	19	K19	KL19	O1ab	+
16	2031	395	151	K48	KL48	O1ab	-
17	1842	395	151	K48	KL48	O1ab	-
18	2015	874	222	K45	KL45	O1ab	-

Припутневич Т.В. и соавт.

Таблица 3. Локализация гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae* (n = 18)

№ п/п	№ штамма	Пациент	Локус	Диагноз
1	1892	женщина	отделяемое цервикального канала	хориоамнионит
2	1894	женщина	отделяемое цервикального канала	послеродовый эндометрит
3	1895	женщина	отделяемое цервикального канала	хориоамнионит
4	1896	ребенок	аспират трахеобронхиальный	врожденная пневмония
5	1897	женщина	отделяемое цервикального канала	хориоамнионит
6	1900	ребенок	аспират трахеобронхиальный	врожденная пневмония
7	1901	женщина	отделяемое цервикального канала	хориоамнионит
8	5072	ребенок	кровь венозная	врожденная пневмония
9	675	женщина	аспират трахеобронхиальный	сепсис
10	698	женщина	аспират трахеобронхиальный	сепсис
11	705	женщина	аспират трахеобронхиальный	сепсис
12	821	женщина	аспират трахеобронхиальный	сепсис
13	876	ребенок	кровь венозная	сепсис
14	877	ребенок	рана	структуры восходящей ободочной кишки в исходе некротизирующего энтероколита
15	1447	женщина	отделяемое цервикального канала	мочевой перитонит
16	2031	женщина	жидкость перitoneальная	послеоперационный перитонит
17	1842	женщина	рана	послеоперационный перитонит
18	2015	женщина	кровь венозная	сепсис

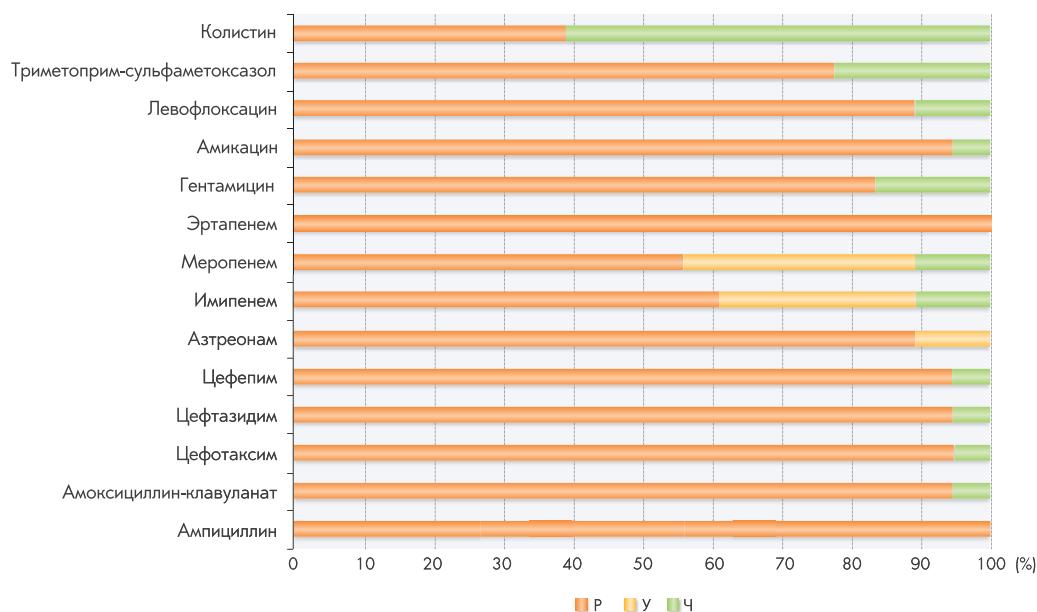
**Рисунок 1.** Антибиотикограмма гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae* (n = 18)

Таблица 4. Антибиотикорезистентность гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae* (n = 18)

Антибиотик/ № штамма	705	877	876	5072	675	2031	2015	1447	1842	1894	1892	1897	1896	1895	1894	1892	1901	1900	698	821	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Ампициллин	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	32	8
Амоксициллин- клавуланат	32/16	32/16	32/16	8/4	32/16	32/16	32/16	32/16	32/16	32/16	32/16	32/16	32/16	32/16	32/16	32/16	32/16	32/16	32/16	32/16	8/4
Цефотаксим	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	0,12
Цефтазидим	128	128	128	128	128	128	128	128	128	128	128	128	128	128	128	128	128	128	128	128	1
Цефепим	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	0,5
Азtreонам	16	4	8	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	4
Имипенем	4	8	16	0,25	0,25	16	8	8	8	8	4	16	16	16	16	16	16	16	16	16	0,25
Меропенем	8	16	16	16	16	16	16	16	16	16	8	16	16	16	16	16	16	16	16	16	0,06
Эртапенем	4	8	16	4	4	8	8	4	8	4	16	4	16	4	16	4	16	4	16	4	0,015
Гентамицин	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	1
Амикацин	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	64	32
Левофлоксацин	8	0,12	0,12	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	0,12
Триметоприм- сульфаметоксазол	2/38	0,5/9,5	0,5/9,5	4/76	4/76	4/76	4/76	4/76	4/76	4/76	4/76	4/76	4/76	4/76	4/76	4/76	4/76	4/76	4/76	4/76	0,5/9,5
Колистин	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	32	2	32	64	1	128	1	128	1	2	1

Ч – чувствительны;
У – устойчивы;
Р – резистентны.

K. pneumoniae к пенициллинам и цефалоспоринам I–IV поколения (Рисунок 1). Все исследуемые штаммы оказались устойчивы к ампициллину, чувствительность к цефотаксиму, цефепиму и цефтаzидиму установлена у 1 штамма (*K. pneumoniae* 821, 5,6%), к амоксициллину-клавуланату – у 1 штамма (*K. pneumoniae* 5072, 5,6%) (Таблица 4).

К другим бета-лактамным антибиотикам исследуемые штаммы *K. pneumoniae* также проявляли высокий уровень устойчивости. Так, к эртапенему устойчивыми оказались 100% штаммов, к меропенему – 55,6%, к имипенему – 61,1%, чувствительными при увеличенной экспозиции (У) к имипенему были 27,78% штаммов, к меропенему – 33,3%. Среди всех исследуемых штаммов к меропенему и имипенему были чувствительны только два – *K. pneumoniae* 5072 и *K. pneumoniae* 675. Чувствительность при увеличенной экспозиции (У) к азtreонаму была установлена только для двух штаммов – *K. pneumoniae* 877 и *K. pneumoniae* 821, остальные штаммы оказались к нему устойчивы.

Высокая степень устойчивости гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae* выявлена и в отношении аминогликозидов: устойчивость к гентамицину выявлена у 83,3% штаммов, к амикацину – у 94,4%. Из всех исследуемых штаммов к амикацину был чувствителен только 1 штамм – *K. pneumoniae* 1901, к гентамицину – 3 штамма *K. pneumoniae* 675, *K. pneumoniae* 1901 и *K. pneumoniae* 821.

Устойчивость к триметоприму-сульфаметоксазолу выявлена у 77,8% штаммов *K. pneumoniae*, к левофлоксации – у 88,9% штаммов, при этом чувствительность к нему установлена только у двух штаммов – 877 и 876.

Среди исследуемых штаммов 38,89% (n = 7) были устойчивы к колистину – *K. pneumoniae* 2031, 1447, 1842, 1897, 1892, 1901, 1900.

В ходе анализа генома гипервирулентных *K. pneumoniae* выявлены гены резистентности к АМП десяти различных групп.

У исследуемых штаммов *K. pneumoniae* обнаружено 10 разных генов резистентности к аминогликозидам – *armA*, *aac(6')-lb-cr*, *aph(3')-VI*, *aph(6')-Id*, *aph(3')-lb*, *aadA*, *rmtC*, *aac(3')-lld*, *aac(3')-lla*, *aph(3')-la*, которые встречались у бактерий в различных комбинациях (Таблица 5). Так, сочетание двух генов *armA* и *aac(6')-lb-cr* было характерно для штаммов *K. pneumoniae* 698 и 705, генов *armA* и *aph(3')-VI* – для штаммов 5072 и 1447, а генов *aph(3')-VI* и *aph(6')-Id* – для штамма 821. Комбинации трех генов выявлены для следующих штаммов *K. pneumoniae*: 1892, 1897, 1900 и 1901 – *armA* + *aac(6')-lb-cr* + *aph(3')-VI* и 675 – *aac(6')-lb-cr* + *aph(3')-VI* + *aph(6')-Id*, а сочетание четырех генов выявлено у штаммов 876 и 877 (*aac(6')-lb-cr* + *aph(3')-VI* + *rmtC* + *aac(3')-lld*). Наибольшее количество генов резистентности выявлено у штаммов 1894, 1895, 1896 (*armA* + *aph(3')-VI* + *aph(6')-Id* + *aph(3')-lb* + *aadA*), 2031, 1842 (*armA* + *aac(6')-lb-cr* + *aph(3')-VI* + *aadA* + *aac(3')-lld*) и 2025 (*armA* + *aac(6')-lb-cr* + *aph(3')-VI* + *aadA* + *aph(3')-la*).

Таблица 5. Гены резистентности гипервирулентных *K. pneumoniae*, обеспечивающие устойчивость к аминогликозидам (n = 18)

№ п/п	Штамм	<i>armA</i>	<i>aac(6')-Ib-cr</i>	<i>aph(3')-VI</i>	<i>aph(6)-Id</i>	<i>aph(3')'-Ib</i>	<i>aadA</i>	<i>rmtC</i>	<i>aac(3)-IId</i>	<i>aac(3)-IIa</i>	<i>aph(3')-Ia</i>
1	1892	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
2	1894	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-
3	1895	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-
4	1896	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-
5	1897	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
6	1900	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
7	1901	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
8	5072	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
9	675	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
10	698	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
11	705	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
12	821	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
13	876	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-
14	877	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-
15	1447	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-
16	2031	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-
17	1842	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-
18	2015	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+

Таблица 6. Гены резистентности гипервирулентных *K. pneumoniae*, обеспечивающие устойчивость к бета-лактамам (n = 18)

№ п/п	Штамм	<i>blasHV</i>	<i>blaTEM-1A</i>	<i>blaTEM-1B</i>	<i>blaOXA-1</i>	<i>blaOXA-10</i>	<i>blaLAP-2</i>	<i>blaCMY-6</i>	<i>blaCTX-M-14b</i>	<i>blaCTX-M-15</i>	<i>blaCTX-M-55</i>	<i>blaOXA-48</i>	<i>blaNDM-1</i>
1	1892	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+
2	1894	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+
3	1895	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+
4	1896	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+
5	1897	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-
6	1900	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-
7	1901	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-
8	5072	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
9	675	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-
10	698	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-
11	705	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-
12	821	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
13	876	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
14	877	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
15	1447	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
16	2031	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+
17	1842	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+
18	2015	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+

Таблица 7. Гены резистентности и приобретенные мутации, обеспечивающие устойчивость к сульфаниламидам, фторхинолонам, макролидам и/или линкозамидам, хлорамфениколу, фосфомицину и рифампицину ($n = 18$)

№ п/п	Штамм	sul1	sul2	dfrA	qnrS	fosA	catA	catB	mphA	mphE	msrE	arr3	gyrA (мутации)	parC (мутации)
1	1892	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	S83I	S80I
2	1894	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	S83F	S80I
3	1895	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	S83F	S80I
4	1896	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	S83F	S80I
5	1897	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	S83I	S80I
6	1900	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	S83I	S80I
7	1901	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	S83I	S80I
8	5072	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	D87N	S80I
9	675	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	S83I	S80I
10	698	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	S83I	S80I
11	705	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	S83I	S80I
12	821	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	S83I	S80I
13	876	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
14	877	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
15	1447	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	S83F	S80I
16	2031	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	S83I	S80I
17	1842	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	S83I	S80I
18	2015	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	D87N	S80I

Устойчивость к бета-лактамам была обусловлена комбинацией 12 генов – bla_{SHV} , $bla_{CTX\text{-}M\text{-}14b}$, $bla_{CTX\text{-}M\text{-}15}$, $bla_{CTX\text{-}M\text{-}55}$, $bla_{TEM\text{-}1A}$, $bla_{TEM\text{-}1B}$, $bla_{OXA\text{-}1}$, $bla_{OXA\text{-}10}$, $bla_{OXA\text{-}48}$, $bla_{NDM\text{-}1}$, $bla_{LAP\text{-}2}$ и $bla_{CMY\text{-}6}$ (Таблица 6).

Сочетание трех генов резистентности bla_{SHV} , $bla_{CTX\text{-}M\text{-}15}$ и $bla_{LAP\text{-}2}$ выявлено у штамма *K. pneumoniae* 821, генов bla_{SHV} , $bla_{NDM\text{-}1}$ и $bla_{CMY\text{-}6}$ – у штаммов 876 и 877, bla_{SHV} , $bla_{CTX\text{-}M\text{-}15}$ и $bla_{TEM\text{-}1A}$ – у штамма 5072, bla_{SHV} , $bla_{CTX\text{-}M\text{-}15}$ и $bla_{NDM\text{-}1}$ – у штамма 1447. Сочетание четырех генов было характерно для штаммов 1897, 1900, 1901 ($bla_{SHV} + bla_{CTX\text{-}M\text{-}15} + bla_{OXA\text{-}1} + bla_{OXA\text{-}48}$), 675 ($bla_{SHV} + bla_{OXA\text{-}1} + bla_{LAP\text{-}2} + bla_{CTX\text{-}M\text{-}55}$), 2015 ($bla_{SHV} + bla_{CTX\text{-}M\text{-}15} + bla_{OXA\text{-}1} + bla_{NDM\text{-}1}$). Сочетание пяти вариантов генов установлено для штаммов 1894, 1995, 1896 ($bla_{SHV} + bla_{CTX\text{-}M\text{-}15} + bla_{OXA\text{-}48} + bla_{NDM\text{-}1} + bla_{CTX\text{-}M\text{-}14b}$) и 1892 ($bla_{SHV} + bla_{CTX\text{-}M\text{-}15} + bla_{OXA\text{-}1} + bla_{OXA\text{-}48} + bla_{NDM\text{-}1}$). В геноме двух штаммов (698 и 705) обнаружено сочетание шести генов резистентности – $bla_{SHV} + bla_{OXA\text{-}1} + bla_{OXA\text{-}48} + bla_{LAP\text{-}2} + bla_{CTX\text{-}M\text{-}55} + bla_{TEM\text{-}1B}$. Однако наибольшее количество генов выявлено у штаммов 2031 и 1842, в геноме которых присутствовали восемь детерминант резистентности – $bla_{SHV} + bla_{CTX\text{-}M\text{-}15} + bla_{OXA\text{-}1} + bla_{OXA\text{-}48} + bla_{NDM\text{-}1} + bla_{LAP\text{-}2} + bla_{TEM\text{-}1B} + bla_{OXA\text{-}10}$.

Устойчивость к сульфаниламидам была обусловлена комбинацией трех генов – $sul1$, $sul2$ и $dfrA$, однако установлена не для всех гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae* (Таблица 7). Сочетание всех детерминант

резистентности обнаружено для штаммов 1892, 1894, 1895, 1896, 1897, 1900, 1901, 5072, 1447, 2031, 1842 и 2015. Ген $sul1$ присутствовал в геноме штаммов 876 и 877, а ген $sul2$ – у штаммов 675 и 821. Гены резистентности к сульфаниламидам отсутствовали у штаммов *K. pneumoniae* 698 и 705.

Устойчивость к фторхинолонам детерминирована геном $qnrS$, который обнаружен у 16 штаммов *K. pneumoniae*. Кроме того, был проведен анализ известных приобретенных мутаций в генах: $gyrA$, кодирующем субъединицу А ДНК-гиразы, и $parC$, кодирующем топоизомеразу IV. По данным литературы, приобретенные точечные мутации в этих генах вносят наибольший вклад в развитие резистентности к фторхинолонам у *K. pneumoniae* [37]. Выявлены три мутации в гене $gyrA$, ассоциированные с резистентностью к фторхинолонам, приводящие к заменам в 83 положении серина на изолейцин (10 штаммов) или фенилаланин (4 штамма), а также к замене в 87 положении аспарагиновой кислоты на аспарагин (2 штамма). В гене $parC$ выявлена единственная мутация, приводящая к замене серина на изолейцин в 80 положении. Мутация обнаружена в 16 штаммах. При этом все штаммы с выявленными мутациями устойчивы к фторхинолонам. Два штамма, у которых не выявлены мутации в генах $gyrA$ и $parC$, а также отсутствует ген $qnrS$, чувствительны к фторхинолонам.

Таблица 8. Мутации в хромосомных генах пориновых белков и регуляторных генов (n = 18)

№ п/п	Штамм	Пориновые белки			Регуляторные гены		№ п/п	Штамм	Пориновые белки			Регуляторные гены		
		ompK35	ompK36	ompK37	ramR	acrR			ompK35	ompK36	ompK37	ramR	acrR	
1	1892	-	N49S L59V G189T F198Y F207Y A217S T222L D223G Q227S L228K E232R N304E	I70M I128M N230G M233Q	-	P161R G164A F172S R173G L195V F197I K201M	6	1900	-	N49S L59V G189T F198Y F207Y A217S T222L D223G Q227S L228K E232R N304E	I70M I128M N230G M233Q	-	P161R G164A F172S R173G L195V F197I K201M	
2	1894	-	N49S L59V G189T F198Y F207Y A217S T222L D223G Q227S L228K E232R N304E	I70M I128M	A19V	P161R G164A F172S R173G L195V F197I K201M	7	1901	-	N49S L59V G189T F198Y F207Y A217S T222L D223G Q227S L228K E232R N304E	I70M I128M N230G M233Q	-	P161R G164A F172S R173G L195V F197I K201M	
3	1895	-	N49S L59V G189T F198Y F207Y A217S T222L D223G Q227S L228K E232R N304E	I70M I128M	A19V	P161R G164A F172S R173G L195V F197I K201M	8	5072	-	N49S L59V A190W L191S F207W A217S N218H D224E Q227S L228V E232R T254S N304E	I70M I128M	-	-	-
4	1896	-	N49S L59V G189T F198Y F207Y A217S T222L D223G Q227S L228K E232R N304E	I70M I128M	A19V	P161R G164A F172S R173G L195V F197I K201M	9	675	-	N49S L59V G189T F198Y F207Y A217S T222L D223G Q227S L228K E232R N304E	I70M I128M	-	P161R G164A F172S R173G L195V F197I K201M	
5	1897	-	N49S L59V G189T F198Y F207Y A217S T222L D223G Q227S L228K E232R N304E	I70M I128M N230G M233Q	-	P161R G164A F172S R173G L195V F197I K201M	10	698	-	N49S L59V G189T F198Y F207Y A217S T222L D223G Q227S L228K	I70M I128M	-	P161R G164A F172S R173G L195V F197I K201M	

Припутневич Т.В. и соавт.

Окончание таблицы 8

№ п/п	Штамм	Пориновые белки			Регуляторные гены	
		ompK35	ompK36	ompK37	ramR	acrR
		E232R N304E				
11	705	-	N49S L59V G189T F198Y F207Y A217S T222L D223G Q227S L228K E232R N304E	I70M I128M	-	P161R G164A F172S R173G L195V F197I K201M
12	821	-	N49S L59V G189T F198Y F207Y A217S T222L D223G Q227S L228K E232R N304E	I70M I128M	-	P161R G164A F172S R173G L195V F197I K201M
13	876	-	N49S L59V A190W L191S F207W A217S N218H D224E Q227S L228V E232R T254S N304E	I70M I128M	-	P161R G164A F172S R173G L195V F197I K201M
14	877	-	N49S L59V A190W L191S F207W A217S N218H D224E Q227S L228V E232R T254S N304E	I70M I128M	-	P161R G164A F172S R173G L195V F197I K201M
15	1447	-	N49S L59V G189T F198Y F207Y A217S T222L	I70M I128M	A19V	P161R G164A F172S R173G L195V F197I K201M

№ п/п	Штамм	Пориновые белки			Регуляторные гены	
		ompK35	ompK36	ompK37	ramR	acrR
		D223G Q227S L228K E232R N304E				
16	2031	-	N49S L59V G189T F198Y F207Y A217S T222L D223G Q227S L228K E232R N304E	I70M I128M N230G M233Q	-	P161R G164A F172S R173G L195V F197I K201M
17	1842	-	N49S L59V G189T F198Y F207Y A217S T222L D223G Q227S L228K E232R T254S N304E	I70M I128M N230G M233Q	-	P161R G164A F172S R173G L195V F197I K201M
18	2015	-	N49S L59V A190W L191S F207W A217S N218H D224E Q227S L228V E232R T254S N304E	I70M I128M N230G M233Q	-	-

Также в геноме гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae* обнаружены гены устойчивости к макролидам и/или линкозамидам – *mphA*, *mphE* и *msrE*, которые присутствовали у большинства исследуемых бактерий ($n = 11$). У штаммов 5072, 698 и 705 установлено сочетание *mphE* и *msrE*, а в геноме штаммов 675, 821, 876 и 877 гены резистентности не выявлены.

В геноме большинства штаммов *K. pneumoniae* выявлены гены *catA* и *catB*, обуславливающие устойчивость к хлорамфениколу. В геноме штамма 821 обнаружен только ген *catA*, а у штаммов 1894, 1895, 1896, 5072, 876, 877 и 1447 детерминанты резистентности не установлены.

Все исследуемые штаммы *K. pneumoniae*, за исключением 1882, несли ген *fosA*, обеспечивающий устойчивость к фосфомицину.

Ген *arr3*, детерминирующий устойчивость к рифампицину, обнаружен в геноме двух штаммов *K. pneumoniae* 2031 и 1842.

В геномах всех 18 штаммов клебсиелл присутствуют гены, кодирующие различные эфлюксные белки: *AcrABCDZR*, *MdtABC*, *EefABC*, *OqxAB*, гены эфлюксных белков семейств MATE, SMR, MFS.

K. pneumoniae продуцирует три пориновых белка: *OmpK35*, *OmpK36* и *OmpK37* [38]. Мутации в генах пориновых белков *ompK35*, *ompK36*, *ompK37* могут приводить к изменению проницаемости пориновых каналов, тем самым формируя устойчивость штаммов к карбапенемам и цефалоспоринам. У всех исследуемых штаммов обнаружены такие мутации (Таблица 8). В гене *ompK36* мутации выявлены в каждом штамме, но спектр мутаций разный: во всех геномах встречаются мутации, приводящие к заменам аминокислот в белках N49S, L59V, A217S, Q227S, E232R; в 17 геномах – N304E; в 14 геномах – G189T, F198Y, F207Y, D223G, L228K; в 5 геномах – T254S; в 4 геномах – A190W, L191S, F207W, N218H, T222L, D224E, L228V. Приобретенных мутаций в гене *ompK37* выявлено существенно меньше: две мутации, приводящие к заменам аминокислот I70M и I128M, были обнаружены у всех штаммов, 7 штаммов дополнительно имели мутации, приводящие к заменам N230G, M233Q. Значащих мутаций в гене *ompK35* выявлено не было.

Анализ нуклеотидных последовательностей регуляторных генов, мутации в которых могут привести к появлению устойчивости к АМП, выявил мутации, сопровождающиеся аминокислотными заменами в генах *ramR* (A19V у 4 штаммов) и *acrR* (у 16 штаммов обнаружено одновременно 7 замен: P161R, G164A, F172S, R173G, L195V, F197I, K201M), что согласуется с результатами других исследований, в которых были обнаружены те же мутации [35].

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о множественной лекарственной устойчивости большинства гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae*, поступивших в коллекцию условно-патогенных микроорганизмов референс-центра из перинатальных центров различных регионов России.

Обсуждение

K. pneumoniae является одной из наиболее распространенных условно-патогенных бактерий, которые приводят к возникновению ИСМП. До настоящего времени особое внимание привлекали *K. pneumoniae* с множественной лекарственной устойчивостью и панрезистентностью, что значительно осложняло выбор адекватной терапии. Так, с 2012 г. в России появились карбапенеморезистентные штаммы *K. pneumoniae*, в геноме которых присутствовали гены бета-лактамаз NDM, OXA-48 и KPC, при этом частота их выделения в отделениях ре-

анимации и интенсивной терапии на сегодняшний день достигла 50% [26, 40].

В 2018 г. в России впервые были выделены штаммы гипервирулентных *K. pneumoniae*, чувствительные к большинству АМП. Однако публикации последних лет свидетельствуют о росте во всем мире доли гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae* с множественной резистентностью [12, 17, 24, 25, 41].

По данным отечественной и зарубежной литературы, маркерными генами, с которыми наиболее часто связывают гипервирулентный фенотип *K. pneumoniae*, являются *iucA*, *rmpA2*, *rmpA*, *peg344*, *terB*, *irp2*, *clbA* и *iroB* [30].

Анализ генетических маркеров вирулентности 153 исследуемых штаммов *K. pneumoniae* позволил отнести к гипервирулентным 18 штаммов, в геноме которых одновременно присутствовали шесть и более генов вирулентности. Доминирующими сиквенс-типами среди них были ST15, ST23 и ST395, которые согласно данным литературы наиболее часто циркулируют в неазиатских странах [42]. Гипервирулентные штаммы *K. pneumoniae* выделялись в 2,6 раза чаще у женщин по сравнению с детьми.

Сидерофоры – одни из наиболее часто встречающихся факторов вирулентности бактерий порядка Enterobacterales, представляющие собой низкомолекулярные соединения, которые конкурентно связывают трехвалентное железо в организме человека. Они имеют решающее значение для реализации вирулентности *K. pneumoniae*, обеспечивая их эффективное взаимодействие с макроорганизмом [43]. Для гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae* характерен синтез трех видов сидерофоров: сальмохелина, аэробактина и иерсиниабактина. Сальмохелин позволяет обходить защитные механизмы прежде всего врожденного иммунитета и повышает способность бактерий колонизировать ткани хозяина, что способствует повышению их вирулентности и инфицировать их. Штаммы клебсиелл, производящие иерсиниабактин, легко колонизируют слизистую оболочку респираторного тракта и вызывают поражение дыхательных путей и системные инфекции. Аэробактерин тесно связан с высоковирулентным фенотипом клебсиелл, поскольку 93–100% гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae* синтезируют его [18]. Кроме того, штаммы, производящие аэробактерин, вызывают инфекционные заболевания нижних дыхательных путей и мягких тканей и эффективно колонизируют кишечник. Таким образом, сидерофоры *K. pneumoniae* способствуют нарушению метаболизма клеток, вплоть до их гибели, и обуславливают распространение возбудителя как в организме иммунокомпетентных, так и иммунокомпрометированных лиц.

В геноме всех штаммов *K. pneumoniae*, отнесенных нами к гипервирулентным, присутствовал ген *iucA*, детерминирующий синтез аэробактина, у двенадцати штаммов обнаружен ген иерсиниабактина (*irp2*) и у двух штаммов – ген сальмохелина (*iroB*).

Помимо гена *iucA* в геноме всех исследуемых штам-

мов выявлены гены *rmpA2*, *rmpA*, *peg344*, *terB*, а также ген рецептора сидерофора аэробактина *iutA*, которые детерминируют синтез широкого спектра факторов вирулентности: синтез полисахаридной капсулы, белков транспортных систем и устойчивость к теллуриту.

Капсула является одним из важнейших факторов вирулентности *K. pneumoniae*, поскольку нарушает процесс фагоцитоза и активации системы комплемента, блокирует действие антимикробных пептидов на микробные клетки и приводит к развитию воспалительных реакций в организме человека.

Хотя в литературе представлены данные, что наиболее распространенными капсулыми типами гипервирулентных *K. pneumoniae* являются K1 и K2, полученные нами результаты позволили определить помимо K1 типы K17, K19, K24, K45, K48, а среди исследуемых штаммов доминирующими являлись K47 и K57.

С генами *rmpA* и *rmpA2* связан мукопищевидный фенотип *K. pneumoniae*, обусловленный гиперпродукцией капсулых полисахаридов, при этом хотя бы один из двух генов присутствует в геноме 55–100% гипервирулентных штаммов [39]. Согласно данным литературы, возникновение миссенс-мутации в гене *wzc*, кодирующем тирозинкиназу, которая определяет уровень секреции и длину цепи капсулного полисахарида, способствует гиперпродукции капсулы и формированию гипермукопищевидного фенотипа [40].

Если ранее гипервирулентность *K. pneumoniae* связывали с фенотипическими проявлениями, такими как гипермукопищевидный фенотип, определяемый с помощью стринг-теста, в настоящее время установлено, что подобной зависимости не существует [46]. Хотя оба эти гена присутствовали в геноме всех анализируемых нами гипервирулентных штаммов, однако на основании стринг-теста гипермукопищевидный фенотип был выявлен только у пяти из них: у всех штаммов, относящихся к ST15 ($n=4$), а также у единственного представителя ST101.

С высокой вязкостью капсулых полисахаридов гипермукопищевидных *K. pneumoniae* связывают сложность терапии абсцессов, трансдермального дренирования и повышенной вероятности закупорки катетера, а также длительный курс лечения и высокую частоту рецидивов заболеваний [47].

В настоящее время нет четких критериев, которые позволяли бы однозначно определить гипервирулентность *K. pneumoniae* на основании набора определенных генетических детерминант. В работе Russo T. и соавт. [18] в качестве наиболее точных биомаркеров гипервирулентности приводятся гены *peg344*, *iroB*, *iucA* и плазмидный ген *rmpA* (*prmpA*). При этом наибольшее значение отводится метаболическому переносчику *peg344*, а комбинация генов *peg344* и *iucA* повышала диагностическую точность определения признака гипервирулентности. Согласно этим критериям, все проанализированные нами 18 штаммов *K. pneumoniae* могут быть отнесены к гипервирулентным.

Lam M. и соавт. [30] оценивали гены иерсиниабактина, колибактина и аэробактина в соответствии с кли-

ническим риском, что позволило рассчитать для гипервирулентных *K. pneumoniae* индекс вирулентности:

0 – отсутствие вышеперечисленных генов вирулентности;

1 – наличие генов иерсиниабактина;

2 – наличие генов колибактина и иерсиниабактина (или только колибактина);

3 – наличие генов аэробактина (при отсутствии генов колибактина или иерсиниабактина);

4 – наличие генов аэробактина и иерсиниабактина (при отсутствии генов колибактина);

5 – наличие всех перечисленных генов вирулентности.

Согласно данному подходу, шесть штаммов *K. pneumoniae* (1447, 1842, 1892, 1897, 2015 и 2031) соответствовали индексу вирулентности 3, десять штаммов (675, 698, 705, 821, 1894, 1895, 1896, 1900, 1901, 5072) – индексу вирулентности 4 и два штамма (876, 877) – индексу вирулентности 5.

В последние несколько лет наблюдается значительный рост числа гипервирулентных *K. pneumoniae* с множественной лекарственной устойчивостью, что усложняет терапию вызываемых ими заболеваний [48]. Появление штаммов, устойчивых к большинству или ко всем клинически доступным антибиотикам, в основном связано с приобретением генов резистентности, локализованных в мобильных генетических элементах, обеспечивающих их быстрый горизонтальный перенос в популяции бактерий. Например, плазмиды, кодирующие продукцию БЛРС и карбапенемаз (KPC, NDM и OXA-48), а также гены устойчивости к колиистину (*mcr*) [49].

Анализ антибиотикорезистентности гипервирулентных штаммов ($n=18$) *K. pneumoniae* показал, что 27,8% ($n=5$) оказались панрезистентными, поскольку обладали устойчивостью ко всем исследуемым АМП, в том числе к колиистину. Данные штаммы (1842, 1892, 1897, 1900, 2031) относились к ST395. Все исследуемые штаммы гипервирулентных *K. pneumoniae* характеризовались множественной лекарственной устойчивостью, поскольку обладали резистентностью к трем и более группам АМП.

Устойчивость гипервирулентных *K. pneumoniae* к бета-лактамным антибиотикам была обусловлена присутствием разнообразных генов. Однако особую насторожженность вызывают штаммы, производящие БЛРС, что исключает использование цефалоспоринов III–IV поколения для лечения инфекционных заболеваний, вызванных такими возбудителями. Фенотип БЛРС установлен у 83,3% штаммов гипервирулентных *K. pneumoniae*, обусловленный генами группы *bla_{CTX-M}*, только у трех исследуемых штаммов эти гены отсутствовали.

Все чаще среди гипервирулентных *K. pneumoniae* встречаются штаммы с устойчивостью к резервным АМП, например, к карбапенемам [50]. 88,9% исследуемых штаммов производили карбапенемазы, детерминированные генами *bla_{OXA-48}* и *bla_{NDM-1}*, кодирующими сериновую протеазу и металло-бета-лактамазу соответственно, однако гены группы *bla_{KPC}* обнаружены не были.

Среди исследованных нами гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae* большинство относилось к клонам высокого эпидемического риска – ST15 ($n=4$), ST23 ($n=6$), ST101 ($n=1$) и ST395 ($n=6$), которые широко распространены по всему миру, чаще всего вызывают внутрибольничные вспышки и характеризуются множественной лекарственной устойчивостью за счет продукции БЛРС, карбапенемаз и других детерминант резистентности, в том числе обеспечивающих устойчивость к колистину [49, 51]. На основании результатов фенотипического теста устойчивость к колистину была выявлена только у штаммов, относящихся к ST395.

В работе Lam M. и соавт. [30] предложено определение для *K. pneumoniae* индекса резистентности к АМП, который соответствует 0 – при отсутствии БЛРС и карбапенемаз (независимо от резистентности к колистину), 1 – при наличии БЛРС и отсутствии карбапенемаз (независимо от резистентности к колистину), 2 – при наличии карбапенемаз и отсутствии устойчивости к колистину (независимо от БЛРС или мутаций в генах *ompK*), 3 – при наличии карбапенемаз и резистентности к колистину (независимо от БЛРС или мутаций в генах *ompK*).

Согласно данной классификации, индекс резистентности 1 соответствовал штамму 5072, индекс резистентности 2 – штаммам 1894, 1895, 1896, 675, 698, 705, 2015, а индекс резистентности 3 – штаммам 1892, 1897, 1900, 1901, 1447, 2031, 1842.

Помимо бета-лактамных антибиотиков, у гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae* отмечался высокий уровень устойчивости к аминогликозидам, сульфаниламидам и фторхинолонам, установленный как фенотипическими методами, так и выявлением широкого спектра генетических детерминант резистентности.

Заключение

Таким образом, обнаружение у пациентов перинатальных центров гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae* с множественной лекарственной устойчивостью, в большинстве своем относящихся к клонам высокого эпидемического риска, свидетельствует о нарастающей биологической угрозе, связанной прежде всего с горизонтальным переносом плазмид с детерминантами резистентности и вирулентности, что обуславливает сложность терапии заболеваний, вызванных такими бактериями.

Исследование финансировалось за счет государственного задания Минздрава России «Изучение механизмов возникновения резистентности у клинически значимых микроорганизмов к антимикробным препаратам с формированием коллекции штаммов микроорганизмов и разработкой тест-системы, содержащей молекулярные маркеры новых механизмов резистентности условно-патогенных микроорганизмов» (121111000032-4).

Литература

- Wang X., Xie Y., Li G., Liu J., Li X., Tian L., et al. Whole-Genome-Sequencing characterization of bloodstream infection-causing hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* of capsular serotype K2 and ST374. *Virulence*. 2018;9(1):510-521. DOI: 10.1080/21505594.2017.1421894
- Manesh A., Shankar C., George M.M., Jasrotia D.S., Lal B., George B., et al. Clinical and genomic evolution of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections over two time periods at a tertiary care hospital in South India: a prospective cohort study. *Infect Dis Ther*. 2023;12(5):1319-1335. DOI: 10.1007/s40121-023-00803-3
- Jin X., Chen Q., Shen F., Jiang Y., Wu X., Hua X., et al. Resistance evolution of hypervirulent carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST11 during treatment with tigecycline and polymyxin. *Emerg Microbes Infect*. 2021;10(1):1129-1136. DOI: 10.1080/22221751.2021.1937327
- Huang J., Yi M., Yuan Y., Xia P., Yang B., Liao J., et al. Emergence of a fatal ST11-KL64 tigecycline-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* clone co-carrying *bla*_{NDM} and *bla*_{KPC} in plasmids. *Microbiol Spectr*. 2022;10(6):e0253922. DOI: 10.1128/spectrum.02539-22
- Sati H., Carrara E., Savoldi A., Hansen P., Garlasco J., Campagnaro E., et al. The WHO Bacterial Priority Pathogens List 2024: a prioritisation study to guide research, development, and public health strategies against antimicrobial resistance. *Lancet Infect Dis*. 2025;S1473-3099(25)00118-5. DOI: 10.1016/S1473-3099(25)00118-5
- Arena F., Menchinelli G., Di Pilato V., Torelli R., Antonelli A., Henrici De Angelis L., et al. Resistance and virulence features of hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* from bloodstream infections: results of a nationwide Italian surveillance study. *Front Microbiol*. 2022;13:983294. DOI: 10.3389/fmicb.2022.983294
- Saeki N., Takei K., Katsuta K., Nakasato A., Baba H., Oshima K., et al. Emphysematous gastritis due to hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Lancet Infect Dis*. 2022;22(11):1648. DOI: 10.1016/S1473-3099(22)00545-X
- Kong H., Yu F., Zhang W., Li X. Clinical and microbiological

- characteristics of pyogenic liver abscess in a tertiary hospital in East China. Medicine (Baltimore). 2017;96(37):e8050. DOI: 10.1097/MD.00000000000008050
9. Sergevnin V.I., Kudryavtseva L.G., Pegushina O.G. Frequency of isolation of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in cardiac surgical hospital patients. Epidemiologiya i infektsionnye bolezni. 2024;29(2):114-120. Russian. (Сергевнин В.П., Кудрявцева Л.Г., Пегушина О.Г. Частота выделения гипервирулентной *Klebsiella pneumoniae* у пациентов кардиохирургического стационара. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2024;29(2):114-120.) DOI: 10.51620/3034-1981-2024-29-2-114-120)
 10. Lei T.Y., Liao B.B., Yang L.R., Wang Y., Chen X.B. Hypervirulent and carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: a global public health threat. Microbiol Res. 2024;288:127839. DOI: 10.1016/j.micres.2024.127839
 11. Fang C.T., Chuang Y.P., Shun C.T., Chang S.C., Wang J.T. A novel virulence gene in *Klebsiella pneumoniae* strains causing primary liver abscess and septic metastatic complications. J Exp Med. 2004;199(5):697-705. DOI: 10.1084/jem.20030857
 12. Novikova I.E., Sadeeva Z.Z., Alyabyeva N.M., Samoilova E.A., Karaseva O.V., Yanyushkina O.G., et al. Antimicrobial resistance and virulence of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from children in intensive care and surgical units. Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology. 2023;100(4):321-332. Russian. (Новикова И.Е., Садеева З.З., Алябьева Н.М., Самойлова Е.А., Карасева О.В., Янюшкина О.Г. и соавт. Антибиотикорезистентность и вирулентность карбапенем-устойчивых штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных у детей в реанимационных и хирургических отделениях. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2023;100(4):321-332.) DOI: 10.36233/0372-9311-373
 13. Pan Y.J., Lin T.L., Chen C.T., Chen Y.Y., Hsieh P.F., Hsu C.R., et al. Genetic analysis of capsular polysaccharide synthesis gene clusters in 79 capsular types of *Klebsiella* spp. Sci Rep. 2015;5:15573. DOI: 10.1038/srep15573
 14. Haudiquet M., Buffet A., Rendueles O., Rocha E.P.C. Interplay between the cell envelope and mobile genetic elements shapes gene flow in populations of the nosocomial pathogen *Klebsiella pneumoniae*. PLoS Biol. 2021;19(7):e3001276. DOI: 10.1371/journal.pbio.3001276
 15. Patro L.P.P., Sudhakar K.U., Rathinavelan T. K-PAM: a unified platform to distinguish *Klebsiella* species K- and O-antigen types, model antigen structures and identify hypervirulent strains. Sci Rep. 2020;10(1):16732. DOI: 10.1038/s41598-020-73360-1
 16. Wyres K.L., Lam M.M.C., Holt K.E. Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. Nat Rev Microbiol. 2020;18(6):344-359. DOI: 10.1038/s41579-019-0315-1
 17. Han Y.L., Wen X.H., Zhao W., Cao X.S., Wen J.X., Wang J.R., et al. Epidemiological characteristics and molecular evolution mechanisms of carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. Front Microbiol. 2022;13:1003783. DOI: 10.3389/fmicb.2022.1003783
 18. Russo T.A., Olson R., Fang C.T., Stoesser N., Miller M., MacDonald U., et al. Identification of biomarkers for differentiation of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from classical *K. pneumoniae*. J Clin Microbiol. 2018;56(9):e00776-18. DOI: 10.1128/JCM.00776-18
 19. Chebotar I.V., Bocharova Yu.A., Podoprigora I.V., Shagin D.A. The reasons why *Klebsiella pneumoniae* becomes a leading opportunistic pathogen. Kliniceskaa mikrobiologija i antimikrobnaa himioterapiia. 2023;22(1):4-19. Russian. (Чеботарь И.В., Бочарова Ю.А., Подопригора И.В., Шагин Д.А. Почему *Klebsiella pneumoniae* становится лидирующим оппортунистическим патогеном. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2020;22(1):4-19.) DOI: 10.36488/cmac.2020.1.4-19
 20. Chen Y.T., Lai Y.C., Tan M.C., Hsieh L.Y., Wang J.T., Shiao Y.R., et al. Prevalence and characteristics of pks genotoxin gene cluster-positive clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates in Taiwan. Sci Rep. 2017;7:43120. DOI: 10.1038/srep43120
 21. Shon A.S., Bajwa R.P., Russo T.A. Hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*: a new and dangerous breed. Virulence. 2013;4(2):107-118. DOI: 10.4161/viru.22718
 22. Russo T.A., Marr C.M. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. Clin Microbiol Rev. 2019;32(3):e00001-19. DOI: 10.1128/CMR.00001-19
 23. Zhu J., Wang T., Chen L., Du H. Virulence factors in hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. Front Microbiol. 2021;12:642484. DOI: 10.3389/fmicb.2021.642484
 24. Luo R., Ma G., Yu Q., Tian Z., Man Q., Shu X., et al. Multidrug-resistant ST11-KL64 hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* with multiple bla- genes isolated from children's blood. Front Pediatr. 2025;12:1450201. DOI: 10.3389/fped.2024.1450201
 25. Zhou Q., Wu C., Zhou P., Zhang J., Xiong Z., Zhou Y., et al. Characterization of hypervirulent and carbapenem-resistant *K. pneumoniae* isolated from neurological patients. Infect Drug Resist. 2023;16:403-411. DOI: 10.2147/IDR.S392947
 26. Ageevets V.A., Ageevets I.V., Sidorenko S.V. Convergence of multiple resistance and hypervirulence in *Klebsiella pneumoniae*. Russian journal of infection and immunity. 2022;12(3):450-460. Russian. (Агеевец В.А., Агеевец И.В., Сидоренко С.В. Конвергенция множественной резистентности и гипервирулентности у *Klebsiella pneumoniae*. Инфекция и иммунитет. 2022;12(3):450-460.) DOI: 10.15789/2220-7619-COM-1825
 27. Gálvez-Silva M., Arros P., Berriós-Pastén C., Villamil A., Rodas P.I., Araya I., et al. Carbapenem-resistant hypervirulent ST23 *Klebsiella pneumoniae* with a highly

- transmissible dual-carbapenemase plasmid in Chile. *Biol Res.* 2024;57(1):7. DOI: 10.1186/s40659-024-00485-2
28. Wang Q., Liu Y., Chen R., Zhang M., Si Z., Wang Y., et al. Genomic insights into the evolution and mechanisms of carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* co-harboring bla_{KPC} and bla_{NDM}: implications for public health threat mitigation. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2024;23(1):27. DOI: 10.1186/s12941-024-00686-3
 29. Zhou Y., Wu X., Wu C., Zhou P., Yang Y., Wang B., et al. Emergence of KPC-2 and NDM-5-coproducing hypervirulent carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* with high-risk sequence types ST11 and ST15. *mSphere.* 2024;9(1):e0061223. DOI: 10.1128/mSphere.00612-23
 30. Lam M.M.C., Wick R.R., Watts S.C., Cerdeira L.T., Wyres K.L., Holt K.E. A genomic surveillance framework and genotyping tool for *Klebsiella pneumoniae* and its related species complex. *Nat Commun.* 2021;12:4188. DOI: 10.1038/s41467-021-24448-3
 31. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J Comput Biol.* 2012;19(5):455-477. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021
 32. Gurevich A., Saveliev V., Vyahhi N., Tesler G. QUAST: quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics.* 2013;29(8):1072-1075. DOI: 10.1093/bioinformatics/btt086
 33. Jolley K.A., Bray J.E., Maiden M.C.J. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. *Wellcome Open Res.* 2018;3:124. DOI: 10.12688/wellcomeopenres.14826.1
 34. Bortolaia V., Kaas R.S., Ruppe E., Roberts M.C., Schwarz S., Cattoor V., et al. ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes. *J Antimicrob Chemother.* 2020;75(12):3491-3500. DOI: 10.1093/jac/dkaa345
 35. Alcock B.P., Huynh W., Chalil R., Smith K.W., Rapheanya A.R., Włodarski M.A., et al. CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Nucleic Acids Res.* 2023;51(D1):D690-D699. DOI: 10.1093/nar/gkac920
 36. Lam M.M.C., Wick R.R., Judd L.M., Holt K.E., Wyres K.L. Kaptive 2.0: updated capsule and lipopolysaccharide locus typing for the *Klebsiella pneumoniae* species complex. *Microb Genom.* 2022;8(3):000800. DOI: 10.1099/mgen.0.000800
 37. Zhan Q., Xu Y., Wang B., Jingyi Yu., Xiaofei S., Li L., et al. Distribution of fluoroquinolone resistance determinants in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates associated with bloodstream infections in China. *BMC Microbiol.* 2021;21:164. DOI: 10.1186/s12866-021-02238-7
 38. Doménech-Sánchez A., Martínez-Martínez L., Hernán-dez-Allés S., Conejo M.C., Pascual Á., Tomás J.M., et al. Role of *Klebsiella pneumoniae* OmpK35 porin in antimicrobial resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47(10):3332-3335. DOI: 10.1128/aac.47.10.3332-3335.2003
 39. Alekseeva A.E., Brusnigina N.F., Gordinskaya N.A., Makhova M.A., Kolesnikova E.A. Molecular genetic characteristics of resistome and virulome of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical strains. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2022;67(3):186-192. Russian. (Алексеева А.Е., Бруслнигина Н.Ф., Гординская Н.А., Махова М.А. Молекулярно-генетическая характеристика резистома и вирулома карбапенем-устойчивых клинических штаммов *Klebsiella pneumoniae*. Клиническая лабораторная диагностика. 2022;67(3):186-192.) DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-3-186-192
 40. Khadka S., Ring B.E., Walker R.S., Krzeminski L.R., Parisseau D.A., Hathaway M., et al. Urine-mediated suppression of *Klebsiella pneumoniae* mucoidy is counteracted by spontaneous Wzc variants altering capsule chain length. *mSphere.* 2023;8(5):e0028823. DOI: 10.1128/msphere.00288-23
 41. Dubodelov D.V., Lubasovskaya L.A., Shubina E.S., Mukosey I.S., Korostin D.O., Kochetkova T.O., et al. Genetic determinants of resistance of hospital-associated strains of *Klebsiella pneumoniae* to β-lactam antibiotics isolated in neonates. *Russ J Genet.* 2016;52(9):993-998. DOI: 10.1134/S1022795416090040
 42. Samoilova A.A., Kraeva L.A., Likhachev I.V., Mikhailov N.V., Svetlov D.D. Evaluation of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* strains in a biological model. *Bacteriology.* 2024;9(2):21-28. Russian. (Самойлова А.А., Краева Л.А., Лихачев И.В., Михайлов Н.В., Светлов Д.Д. Изучение гипервирулентных штаммов *Klebsiella pneumoniae* на биологической модели. Бактериология. 2024;9(2):21-28.) DOI: 10.20953/2500-1027-2024-2-21-28
 43. García-Cobos S., Oteo-Iglesias J., Pérez-Vázquez M. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology outside Asian countries, antibiotic resistance association, methods of detection and clinical management. *Enferm Infect Microbiol Clin.* 2025;43(2):102-109. DOI: 10.1016/j.eimce.2024.12.008
 44. Lan P., Lu Y., Fu Y., Zhou J. Siderophores and beyond: a comprehensive review of iron acquisition in *Klebsiella pneumoniae*. *Virulence.* 2025;16(1):2550621. DOI: 10.1080/21505594.2025.2550621
 45. Hsu C.R., Lin T.L., Chen Y.C., Chou H.C., Wang J.T. The role of *Klebsiella pneumoniae* rmpA in capsular polysaccharide synthesis and virulence revisited. *Microbiology (Reading).* 2011;157(Pt. 12):3446-3457. DOI: 10.1099/mic.0.050336-0
 46. Catalan-Najera J.C., Garza-Ramos U., Barrios-Camacho H. Hypervirulence and hypermucoviscosity: two different but complementary *Klebsiella* spp. phenotypes. *Virulence.* 2017;8(7):1111-1123. DOI: 10.1080/21505594.2017.1317412

47. Popa L.I., Gheorghe I., Barbu I.C., Surleac M., Paraschiv S., Măruțescu L., et al. Multidrug resistant *Klebsiella pneumoniae* ST101 clone survival chain from inpatients to hospital effluent after chlorine treatment. *Front Microbiol.* 2021;11:610296. DOI: 10.3389/fmicb.2020.610296
48. Heiden S.E., Hübner N.-O., Bohnert J.A., Heidecke C.-D., Kramer A., Balau V., et al. A *Klebsiella pneumoniae* ST307 outbreak clone from Germany demonstrates features of extensive drug resistance, hypermucoviscosity, and enhanced iron acquisition. *Genome Med.* 2020;12:113. DOI: 10.1186/s13073-020-00814-6
49. Du F.-L., Huang Q.-S., Wei D.-D., Mei Y.-F., Long D., Liao W.-J., et al. Prevalence of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* co-harboring blaKPC-carrying plasmid and pLVPK-like virulence plasmid in bloodstream infections. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:556654. DOI: 10.3389/fcimb.2020.556654
50. Samoilova A.A., Kraeva L.A., Mikhailov N.V., Saitova A.T., Polev D.E., Vashukova M.A., et al. Genomic analysis of *Klebsiella pneumoniae* strains virulence and antibiotic resistance. *Russian journal of infection and immunity.* 2024;14(2):339-350. Russian. (Самойлова А.А., Краева Л.А., Михайлов Н.В., Сайтова А.Т., Полев Д.Е., Вашукова М.А. и соавт. Геномный анализ вирулентности и антибиотикорезистентности штаммов *Klebsiella pneumoniae*. Инфекция и иммунитет. 2024;14(2):339-350.) DOI: 10.15789/2220-7619-GAO-15645
51. Shaidullina E.R., Schwabe M., Rohde T., Shapovalova V.V., Dyachkova M.S., Matsvay A.D., et al. Genomic analysis of the international high-risk clonal lineage *Klebsiella pneumoniae* sequence type 395. *Genome Med.* 2023;15(1):9. DOI: 10.1186/s13073-023-01159-6