

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 предпринятия 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 публикуемых 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 предоставлена: Ольга Николаевна Пинегина (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., Федина Л.В., Зайналабидова Х.Г., Агеев В.А., Сидоренко С.В., Авдеева А.А.  
**289** Инфекции, вызванные гипервирулентными изолятами *Klebsiella pneumoniae*: актуальность проблемы
- Арбузова Н.В., Шпилева 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., Солопова 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 биопенема 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., Курылев 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., Куцевалова О.Ю., Клясова Г.А.  
**359** Ванкомицинорезистентные *Enterococcus faecium* в гематологии: чувствительность к антимикробным препаратам и клональное разнообразие
- Гулятьева 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 *Chlamydia 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., Сеницын М.В., Елисеев П.И., Тюлькова 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.<sup>1,2</sup>, Нечаева О.В.<sup>1,2</sup>, Бембеева Б.О.<sup>1,3</sup>, Гордеев А.Б.<sup>1</sup>, Кузнецова В.А.<sup>1</sup>, Скоробогатый А.В.<sup>1</sup>, Изюмов Р.В.<sup>1</sup>

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

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

<sup>3</sup> 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 биоинформатический анализ полногеномных данных: сборка геномов, мультилокусное сиквенс-типирование (MLST), типирование штаммов по капсульным и липополисахаридным локусам, поиск генов резистентности и вирулентности. Штаммы, в геноме которых сочетались пять (*iucA*, *rmpA2*, *rmpA*, *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 клону 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

Pripitnevich T.V.<sup>1,2</sup>, Nechaeva O.V.<sup>1,2</sup>, Bembeeva B.O.<sup>1,3</sup>, Gordeev A.B.<sup>1</sup>, Kuznetsova V.A.<sup>1</sup>, Skorobogatiy A.V.<sup>1</sup>, Izyumov R.V.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Contacts:

Alexey B. Gordeev

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 иммунокомпрометированные 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 цефалоспорином 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, эндофтальмит, 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  $\beta$ -дефенсинам, лактоферрину), блокируя их проникновение к внешней мембране бактерий и подавляя бактерицидную активность, а также защищает клетки от факторов иммунной защиты макроорганизма.

Вязкость капсульной слизи у hvKp определяет ген *tagA*, а ген *wzu* 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 капсульных компонентов [13]. Однако в результате горизонтального переноса генов и высокой генетической вариабельности для

70% бактерий невозможно определить принадлежность к капсульному 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*, *wzu* или *wzc* локуса *cps* путем таргетного секвенирования или анализа полногеномных данных позволяют идентифицировать капсульные типы KL (К-локус) – генетический локус, кодирующий синтез капсульного 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*), иерсиниабактин (*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 hvKp 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 *terZABCDE*, обеспечивающего устойчивость к теллуриду [18].

С высокой частотой (78,8%) у штаммов hvKp обнаруживаются островки *pks*, 19 генов которых (*clbA-clbS*) 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 hvKp 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-hvKp) [24, 25]. В России MDR-hvKp впервые описаны в 2018 г. [26].

В научных публикациях последних лет все чаще встречаются сообщения о появлении hvKp 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-лактамов 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. pneu-*

*moniae*, 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 isolates бактерий определяли с использованием метода матрично-активированной лазерной десорбционно/ионизационной времяпролетной 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 биоинформатическим 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 P-103-A/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 библиотек 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 антимикробным 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-типирование 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, *rpoB* – 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.

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 наблюдались 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 критериям 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 *tagA*.

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>clbA</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-типирования 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-типирование гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae* (n = 18)

№ п/п	№ штамма	ST	<i>wzi</i> аллель	K	KL	O	Гипермукоидность
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	–

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	стриктуры восходящей ободочной кишки в исходе некротизирующего энтероколита
15	1447	женщина	отделяемое цервикального канала	мочевой перитонит
16	2031	женщина	жидкость перитонеальная	послеоперационный перитонит
17	1842	женщина	рана	послеоперационный перитонит
18	2015	женщина	кровь венозная	сепсис

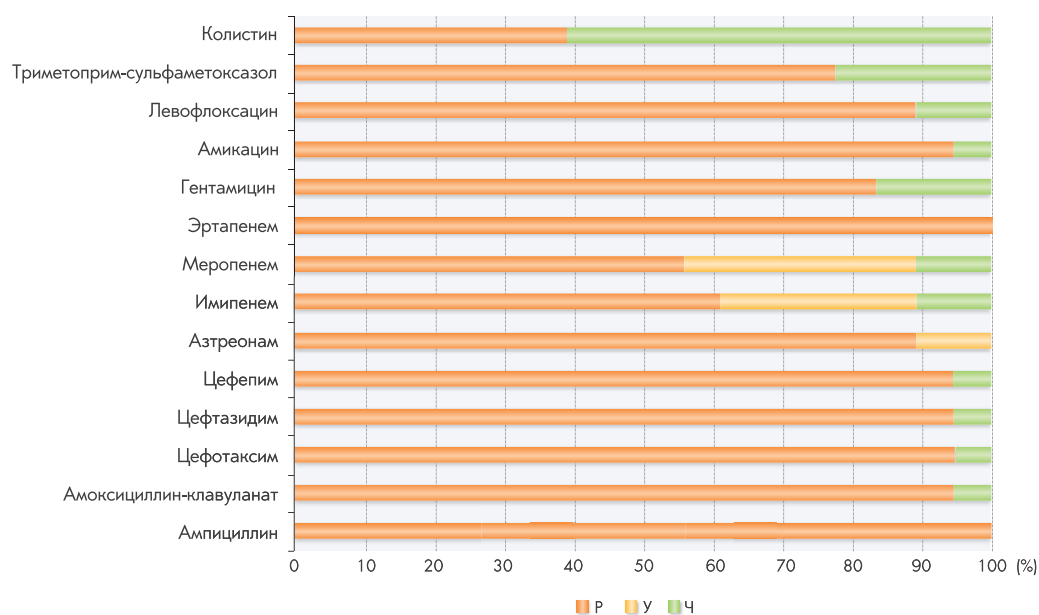
Рисунок 1. Антибиотикограмма гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae* (n = 18)

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

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

Ч

У

Р

*moniae* к пенициллинам и цефалоспорином I–IV поколения (Рисунок 1). Все исследуемые штаммы оказались устойчивы к ампициллину, чувствительность к цефотаксиму, цефепиму и цефтазидиму 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-лактамам 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 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 азтреонаму 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 левофлоксацину – 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')-Ib-cr*, *aph(3')-VI*, *aph(6)-Id*, *aph(3')-Ib*, *aadA*, *rmtC*, *aac(3)-IId*, *aac(3)-IIa*, *aph(3')-Ia*, которые встречались у бактерий в различных комбинациях (Таблица 5). Так, сочетание двух генов *armA* и *aac(6')-Ib-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')-Ib-cr* + *aph(3')-VI* и 675 – *aac(6')-Ib-cr* + *aph(3')-VI* + *aph(6)-Id*, а сочетание четырех генов выявлено у штаммов 876 и 877 (*aac(6')-Ib-cr* + *aph(3')-VI* + *rmtC* + *aac(3)-IId*). Наибольшее количество генов резистентности выявлено у штаммов 1894, 1895, 1896 (*armA* + *aph(3')-VI* + *aph(6)-Id* + *aph(3')-Ib* + *aadA*), 2031, 1842 (*armA* + *aac(6')-Ib-cr* + *aph(3')-VI* + *aadA* + *aac(3)-IId*) и 2025 (*armA* + *aac(6')-Ib-cr* + *aph(3')-VI* + *aadA* + *aph(3')-Ia*).



**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>bla<sub>SHV</sub></i>	<i>bla<sub>TEM-1A</sub></i>	<i>bla<sub>TEM-1B</sub></i>	<i>bla<sub>OXA-1</sub></i>	<i>bla<sub>OXA-10</sub></i>	<i>bla<sub>LAP-2</sub></i>	<i>bla<sub>CMY-6</sub></i>	<i>bla<sub>CTX-M-14b</sub></i>	<i>bla<sub>CTX-M-15</sub></i>	<i>bla<sub>CTX-M-55</sub></i>	<i>bla<sub>OXA-48</sub></i>	<i>bla<sub>NDM-1</sub></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	<i>sul1</i>	<i>sul2</i>	<i>dfrA</i>	<i>qnrS</i>	<i>fosA</i>	<i>catA</i>	<i>catB</i>	<i>mphA</i>	<i>mphE</i>	<i>msrE</i>	<i>arr3</i>	<i>gyrA</i> (мутации)	<i>parC</i> (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<sub>SHV</sub>*, *bla<sub>CTX-M-14b</sub>*, *bla<sub>CTX-M-15</sub>*, *bla<sub>CTX-M-55</sub>*, *bla<sub>TEM-1A</sub>*, *bla<sub>TEM-1B</sub>*, *bla<sub>OXA-1</sub>*, *bla<sub>OXA-10</sub>*, *bla<sub>OXA-48</sub>*, *bla<sub>NDM-1</sub>*, *bla<sub>LAP-2</sub>* и *bla<sub>CMY-6</sub>* (Таблица 6).

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

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	
		<i>ompK35</i>	<i>ompK36</i>	<i>ompK37</i>	<i>ramR</i>	<i>acrR</i>
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
2	1894	-	N49S L59V G189T F198Y F207Y A217S T222L D223G Q227S L228K E232R N304E	I70M I128M	A19V	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
4	1896	-	N49S L59V G189T F198Y F207Y A217S T222L D223G Q227S L228K E232R N304E	I70M I128M	A19V	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
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
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
8	5072	-	N49S L59V A190W L191S F207W A217S N218H D224E Q227S L228V E232R T254S N304E	I70M I128M	-	-
9	675	-	N49S L59V G189T F198Y F207Y A217S T222L D223G Q227S L228K E232R N304E	I70M I128M	-	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

Окончание таблицы 8

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

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

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.

Припутневич Т.В. и соавт.

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 эффлюксные белки: AcrABCDZr, MdtABC, EefABC, OqxAB, гены эффлюксных белков семейств MATE, SMR, MFS.

*K. pneumoniae* продуцирует три пориновых белки: 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 цефалоспорином. 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, продуцирующие 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, продуцирующие аэробактин, 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 *tmpA2*, *tmpA*, *peg344*, *terB*, а также ген рецептора сидерофора аэробактерина *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 капсульными 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 *tmpA* и *tmpA2* связан мукоидный фенотип *K. pneumoniae*, обусловленный гиперпродукцией капсульных 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*, кодирующей тирозинкиназу, которая определяет уровень секреции и длину цепи капсульного полисахарида, способствует гиперпродукции капсулы и формированию гипермукоидного фенотипа [40].

Если ранее гипервирулентность *K. pneumoniae* связывали с фенотипическими проявлениями, такими как гипермукоидный 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 гипермукоидный 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 капсульных полисахаридов гипермукоидных *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 *tmpA* (*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 иерсиниабактерина, колибактина и аэробактерина в соответствии с кли-

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

0 – отсутствие вышеперечисленных генов вирулентности;

1 – наличие генов иерсиниабактерина;

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

3 – наличие генов аэробактерина (при отсутствии генов колибактина или иерсиниабактерина);

4 – наличие генов аэробактерина и иерсиниабактерина (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 осложняет 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 колистину (*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 колистину. 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-лактамам антибиотикам была обусловлена присутствием разнообразных генов. Однако особую настороженность вызывают штаммы, продуцирующие 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*<sub>CTX-M</sub>, 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 продуцировали карбапенемазы, детерминированные генами *bla*<sub>OXA-48</sub> и *bla*<sub>NDM-1</sub>, кодирующими сериновую протеазу и металло-бета-лактамазу соответственно, однако гены группы *bla*<sub>KPC</sub> 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-лактамов 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 перинальных 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

1. 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
2. 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
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
4. 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<sub>NDM</sub>* and *bla<sub>KPC</sub>* in plasmids. Microbiol Spectr. 2022;10(6):e0253922. DOI: 10.1128/spectrum.02539-22
5. 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
6. 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
7. 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
8. 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., Samoylova 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., Янющкина 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. *Klinicheskaa mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya*. 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/смас.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., Berrios-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<sub>KPC</sub> and bla<sub>NDM</sub>: 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., Cattoir V., et al. ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes. *J Antimicrob Chemother.* 2020;75(12):3491-3500. DOI: 10.1093/jac/ckaa345
  35. Alcock B.P., Huynh W., Chalil R., Smith K.W., Rapheya A.R., Wlodarski M.A., et al. CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistance 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., Hernández-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., Бруснигина 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., Pariseau 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  $\beta$ -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 Infecc Microbiol Clin.* 2025;43(2):102-109. DOI: 10.1016/j.eimce.2024.12.008
  44. Lan P., Lu Y., Fu Y., Yu 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 I.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., Сaitова 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