

ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ВИРУЛЕНТНОСТИ И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ШТАММОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*



А.А. Самойлова¹, Л.А. Краева^{1,2}, Н.В. Михайлов^{1,3}, А.Т. Сaitова¹, Д.Е. Полев¹,
М.А. Вашукова⁴, С.А. Гордеева⁴, Е.В. Смирнова⁵, Л.И. Белятич⁶, А.С. Долгова¹,
А.В. Шабалина¹

¹ ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина, Санкт-Петербург, Россия

⁵ ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербурге, Санкт-Петербург, Россия

⁶ Городская больница № 14, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. В последние годы штаммы *Klebsiella pneumoniae* получили широкое распространение как при внебольничных инфекционных процессах, так и при нозокомиальных инфекциях. Выделяют два патотипа *K. pneumoniae*: классический (сКр) и гипервирулентный (hvКр). Представители любого патотипа склонны к приобретению и дальнейшей передаче генетических факторов антибиотикорезистентности и вирулентности, что может помочь при назначении адекватной терапии. Поскольку не существует универсально согласованного отдельного маркера гипервирулентности, нами предпринята попытка найти наиболее значимые комбинации генетических маркеров вирулентности и антибиотикорезистентности у штаммов *K. pneumoniae*. Цель исследования — выявление наиболее значимых комбинаций генетических маркеров вирулентности и антибиотикорезистентности для характеристики клинических изолятов *K. pneumoniae*. **Материалы и методы.** Исследовали 85 штаммов *K. pneumoniae*, выделенных из проб различного клинического материала от пациентов крупных стационаров Санкт-Петербурга. В работе использовали классические бактериологические методы, в том числе определение гипермукоидного типа с помощью «стринг-теста», масс-спектрометрический метод (MALDI-TOF MS) для идентификации бактерий, молекулярные методы для изучения маркеров вирулентности и антибиотикорезистентности (мультилокусное сиквенс-типирование, секвенирование генома штаммов *K. pneumoniae*). **Результаты.** Среди всех исследованных штаммов *K. pneumoniae* самыми распространенными генами карбапенемаз были гены OXA-48 (18,7%) и NDM-1 — 17,3% штаммов, в 6,7% штаммов гены NDM-1 и OXA-48 присутствовали одновременно. Доля штаммов с генами β-лактамаз CTX-M-15 составила 54,7%, OXA-1 — 17,3%, TEM-1D — 13,3% и в 17,3% случаев в штаммах одновременно присутствовали гены OXA-1 и TEM-1D. Гены резистентности к хинолонам встречались у 68,4% штаммов. Самыми распространенными генами были *qnrS1* (40% штаммов) и *qnrB1* (22,7%). Фенотипическая оценка чувствительности штаммов показала, что резистентностью к колистину обладали 23,5%, к карбапенемам — 64,7% штаммов. Гипермукоидным фенотипом обладали 32,9% изолятов *K. pneumoniae*, выделенные при флегмоне, пневмонии, сепсисе, перитоните. Наиболее распространенными сиквенс-типами оказались: ST395 (24,3%), ST23 (17,6%) и ST512 (9,5%).

Адрес для переписки:

Самойлова Анна Андреевна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 (812) 232-94-85.
E-mail: samoilova@pasteurorg.ru

Contacts:

Anna A. Samoilova
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 (812) 232-94-85.
E-mail: samoilova@pasteurorg.ru

Для цитирования:

Самойлова А.А., Краева Л.А., Михайлов Н.В., Сaitова А.Т., Полев Д.Е.,
Вашукова М.А., Гордеева С.А., Смирнова Е.В., Белятич Л.И.,
Долгова А.С., Шабалина А.В. Геномный анализ вирулентности
и антибиотикорезистентности штаммов *Klebsiella pneumoniae* //
Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 2. С. 339–350. doi: 10.15789/2220-
7619-GAO-15645

Citation:

Samoilova A.A., Kraeva L.A., Mikhailov N.V., Saitova A.T., Polev D.E.,
Vashukova M.A., Gordeeva S.A., Smirnova E.V., Beljatic L.I., Dolgova A.S.,
Shabalina A.V. Genomic analysis of *Klebsiella pneumoniae* strains virulence
and antibiotic resistance // Russian Journal of Infection and Immunity =
Infektsiya i immunitet, 2024, vol. 14, no. 2, pp. 339–350. doi: 10.15789/2220-
7619-GAO-15645

К капсульным типам K1 и K2 принадлежали 8% и 25,3% штаммов соответственно. Локус синтеза поликетидов *ybt*, характеризующий вирулентные штаммы, был выявлен у 69,3% изолятов, а локус *clb* присутствовал в 10,7% штаммов. У 73,3% и 14,7% штаммов были определены ассоциированные с плазмидой локусы вирулентности *iuc* и *iro* соответственно, которые кодируют биосинтез сидерофоров аэробактина и сальмохелина. Мы обнаружили 44 случая (58,7% штаммов) генотипической конвергенции вирулентности и антибиоткорезистентности, на что указывает одновременное наличие локуса аэробактина (*iuc*) и генов β-лактамаз или карбапенемаз. Таким образом, идентификация гипервирулентности может представлять ценную информацию для клинического ведения пациентов с hvKp-инфекциями. Поэтому очевидна необходимость разработки комплексного диагностического теста для одновременного скрининга множественно-устойчивых гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae*.

Ключевые слова: гипервирулентность, антибиоткорезистентность, полногеномное секвенирование, *Klebsiella pneumoniae*, hvKp, cKp.

GENOMIC ANALYSIS OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* STRAINS VIRULENCE AND ANTIBIOTIC RESISTANCE

Samoilova A.A.^a, Kraeva L.A.^{a,b}, Mikhailov N.V.^{a,c}, Saitova A.T.^a, Polev D.E.^a, Vashukova M.A.^d, Gordeeva S.A.^d, Smirnova E.V.^e, Beljatich L.I.^f, Dolgova A.S.^a, Shabalina A.V.^a

^a St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

^b Military Medical Academy named after S.M. Kirov, St. Petersburg, Russian Federation

^c V.A. Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russian Federation

^d Clinical Infectious Diseases Hospital named after S.P. Botkin, Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation

^e Hygiene and Epidemiology Centre in St. Petersburg of Rospotrebnadzor, St. Petersburg, Russian Federation

^f St. Petersburg State Hospital No. 14, Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Recently, *Klebsiella pneumoniae* strains have become widespread both in community-acquired infectious processes and in nosocomial infections. There are two pathotypes of *K. pneumoniae*: classical (cKp) and hypervirulent (hvKp). Representatives of any pathotype are prone to acquire and further transmit genetic factors of antibiotic resistance and virulence. This combination accounts for severity of the infectious process. Therefore, information about whether the strain belongs to either pathotype can help in prescribing proper therapy. Since there is no consensus upon hypervirulence marker, we attempted to find the most significant combinations of genetic markers of virulence and antibiotic resistance in *K. pneumoniae* strains. The study was aimed to conduct a genomic analysis of virulence and antibiotic resistance of *K. pneumoniae* clinical isolates. **Materials and methods.** There were examined 85 strains of *K. pneumoniae* isolated from diverse clinical material samples from patients in large St. Petersburg hospitals. In our work, we used classical bacteriological methods, including determination of the hypermucoviscous type using the “string test”, the mass spectrometric method (MALDI-ToF MS) for identifying bacteria, molecular methods for studying markers of virulence and antibiotic resistance (multilocus sequence typing, genome sequencing of *K. pneumoniae* strains). **Results.** Among the studied *K. pneumoniae* strains, the most common carbapenemase genes were OXA-48 (18.7%) and NDM-1 genes — 17.3% of strains; in 6.7% of strains, NDM-1 and OXA-48 genes were found simultaneously. The percentage of strains with β-lactamase genes CTX-M-15 was 54.7%, OXA-1 — 17.3%, TEM-1D — 13.3%, and in 17.3% of cases the OXA-1 and TEM-1D genes were simultaneously present in bacterial strains. Quinolone resistance genes were found in 68.4% of strains. The most common genes were *qnrS1* (40% of strains) and *qnrB1* (22.7%). Phenotypic antimicrobial susceptibility testing showed that 23.5% and 64.7% strains were resistant to colistin and carbapenems, respectively. 32.9% *K. pneumoniae* strains, isolated in patients with phlegmon, pneumonia, sepsis, and peritonitis, had a hypermucoid phenotype. The most common sequence types were: ST395 (24.3%), ST23 (17.6%) and ST512 (9.5%). 8% and 25.3% of strains belonged to capsule types K1 and K2, respectively. The polyketide synthesis locus *ybt*, which characterizes virulent strains, was detected in 69.3% isolates, and the *clb* locus was present in 10.7% of strains. In 73.3% and 14.7% strains, the plasmid-associated virulence loci *iuc* and *iro* were identified, which encode the biosynthesis of the siderophores aerobactin and salmochelin. We described 44 cases (58.7% of strains) of genotypic convergence of virulence and antibiotic resistance, as shown by simultaneously detected the aerobactin (*iuc*) locus and β-lactamase or carbapenemase genes. Thus, identification of hypervirulence may provide valuable information for the clinical management of patients with hvKp infections. Therefore, it is obviously necessary to develop comprehensive diagnostic test for simultaneous screening of multidrug-resistant hypervirulent *K. pneumoniae* strains.

Key words: hypervirulence, antibiotic resistance, genome-wide sequencing, *Klebsiella pneumoniae*, hvKp, cKp.

Введение

В настоящее время одним из наиболее распространенных оппортунистических внутрибольничных патогенов является *Klebsiella pneumoniae*, которая вызывает около трети инфекций, обусловленных грамотрицательными бактериями [27]. Среди штаммов *K. pneumoniae* выделяют два патотипа: классический (classical *K. pneumoniae* — сКр) и гипервирулентный (hypervirulent *K. pneumoniae* — hvКр). Большинство клебсиеллезных инфекций вызывают классические штаммы, которые являются оппортунистическими патогенами с низким уровнем вирулентности [3].

Наиболее распространенными инфекциями, связанными с *K. pneumoniae*, являются респираторные воспалительные процессы, инфекции мочевыводящих путей и хирургических ран, ассоциированные с оказанием медицинской помощи [10]. Факторами риска классических *K. pneumoniae*-инфекций считаются критический возраст (младенческий или пожилой), врожденные или приобретенные формы иммунодефицита, алкоголизм, сахарный диабет, хронические сердечные, почечные, легочные и неопластические заболевания [40].

Гипервирулентные штаммы *K. pneumoniae* способны вызывать внебольничные инфекции, даже у здоровых людей. Впервые обнаруженные в Азии, изоляты hvКр описаны как ведущая причина гнойных абсцессов печени [28]. Гипервирулентная *K. pneumoniae*, выделенная из гнойных абсцессов печени способна метастазировать в отдаленные участки, приводя к менингиту, некротизирующему фасцииту и эндофтальмиту [38].

В качестве биомаркеров для дифференциации клинических изолятов hvКр от сКр могут быть использованы генетические детерминанты вирулентности, входящие в состав мобильных генетических элементов, в том числе плазмид. Детерминанты вирулентности hvКр включают: системы сидерофоров для приобретения железа, высокое содержание капсульных полисахаридов (гипермукоидность), принадлежность к капсульным типам K1 или K2 и токсин колибактин (табл. 1) [5].

Гипервирулентность *K. pneumoniae* можно определить как способность бактерий вызывать инвазивные инфекции после появления первичного очага инфекции у здоровых взрослых [8]. Инфекции, вызванные гипервирулентными штаммами *K. pneumoniae*, зачастую соотносятся с клинической картиной заболевания, поскольку пока не существует универсального маркера гипервирулентности [31]. Гипермукоидный фенотип часто определяют при помощи «стринг-теста» [35].

Понятия «гипермукоидный» и «гипервирулентный» часто используются в литературе как синонимы; однако не все штаммы *K. pneumoniae* с гипервирулентным фенотипом имеют гипермукоидные бактерии, и не все гипермукоидные изоляты приводят к инвазивному синдрому [8].

Первые штаммы hvКр обнаруживали преимущественно в Азии; они лишь изредка были устойчивы к антимикробным препаратам (АМП). Однако последние публикации указывают, что штаммы hvКр становятся более распространенными и чаще обладают множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) [14]. Появление изолятов *K. pneumoniae* с комбинированной гипервирулентностью и устойчивостью к резервным АМП, таким как карбапенемы, представляет серьезную опасность. При распространении устойчивости к АМП среди штаммов hvКр могут развиваться инфекции, трудно поддающиеся лечению, даже у здоровых взрослых. В случае если штаммы hvКр распространятся в медицинских учреждениях и будут вызывать инфекции у лиц с ослабленным иммунитетом, можно ожидать еще более высокую заболеваемость и смертность [14].

Поскольку обнаружение генов гипервирулентности не является частью процедур диагностической микробиологии, штаммы hvКр могут остаться незамеченными [14]. В то же время фенотипические тесты, такие как стринг-тест на гипермукоидность, имеют низкую чувствительность [29]. Клиническая диагностика и обнаружение hvКр являются сложной задачей и требуют молекулярного тестирования для надежной идентификации подобных штаммов [14].

Цель работы — выявление наиболее значимых комбинаций генетических маркеров вирулентности и антибиотикорезистентности для характеристики клинических изолятов *K. pneumoniae*.

Материалы и методы

Бактериальные изоляты. В работе исследовали 85 клинических штаммов *K. pneumoniae*, выделенных из проб биоматериала от госпитализированных пациентов ряда клиник Санкт-Петербурга. Все изоляты были выделены из различных видов клинического материала: крови, мочи, мокроты, желчи, отделяемого из брюшной полости, содержимого абсцесса. Идентификацию изолятов до вида проводили методом времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-ассоциированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-ToF MS) с использованием спектрометра Microflex LRF и программным обеспечением «Biotyper RTC» (Bruker

Daltonik, Германия). Значения Score $\geq 2,0$ использовали в качестве критерия надежной видовой идентификации.

Гипермукоидный фенотип исследуемых штаммов определяли при постановке «стринг-теста» [35] с использованием суточной культуры возбудителя.

Оценка чувствительности штаммов *K. pneumoniae* к антимикробным препаратам. В работе оценивали чувствительность штаммов к 9-ти наиболее актуальным для этих микроорганизмов антимикробным препаратам (АМП): аминогликозидам (амикацин), карбапенемам (меропенем), ингибиторозащищенным пенициллинам (ампициллин/сульбактам, амоксициллин/клавуланат), сульфаниламидам (ко-тримоксазол), хинолонам (ципрофлоксацин), цефалоспорином (цефотаксим, цефепим). Резистентность к перечисленным АМП оценивали диско-диффузионным методом на агаре Мюллера–Хинтон (HiMedia, Индия)

с помощью дисков ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера в соответствии с рекомендациями EUCAST раздела «Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters» (версия 13.0) [15] и российскими клиническими рекомендациями «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам», версия 2018-03.

Определение чувствительности к колистину проводили методом серийных микроразведений согласно ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010 в бульоне Мюллера–Хинтон (HiMedia, Индия), приготовленного в соответствии с инструкцией производителя, в 96-ти луночных полистироловых планшетах (Медполимер, РФ). Для приготовления рабочего раствора колистина использовали субстанцию сульфата колистина (CAS Number 1264-72-8) в форме порошка (Sigma Aldrich, Германия). Колистин растворяли в стерильной дистиллированной

Таблица 1. Исследуемые гены биомаркеров для идентификации hvKp

Table 1. Biomarker genes for hvKp identification

Ген Gene	Функция Function	Размер ампликона, п.н. Amplicon size, bp	Ссылка Reference
<i>peg-344</i>	Предполагаемый транспортер метаболитов Putative metabolite transporter	411	36
<i>iroB</i>	Синтез сальмохелина Salmochelins synthesis	585	36
<i>iucA</i>	Синтез аэробактина Aerobactin synthesis	556	44
<i>rmpA</i>	Регулятор мукоидного фенотипа (<i>prmpA</i> — плазмидная локализация) Regulator of mucoid phenotype (<i>prmpA</i> — plasmid localization)	332	29
	<i>crmpA</i> — хромосомная локализация <i>crmpA</i> — chromosomal localization	588	29
<i>rmpA2</i>	Регулятор мукоидного фенотипа (<i>prmpA2</i> — плазмидная локализация) Regulator of mucoid phenotype (<i>prmpA2</i> — plasmid localization)	455	29
<i>uni-rmpA</i>	Праймер, нацеленный на гомологичную область всех зарегистрированных вариантов генов <i>rmpA</i> (<i>prmpA</i>, <i>prmpA2</i> и <i>crmpA</i>) Primer targeting the homologous region of all reported <i>rmpA</i> gene variants (<i>prmpA</i> , <i>prmpA2</i> and <i>crmpA</i>)	250	29
<i>terB</i>	Резистентность к теллуриду Resistance to tellurite	288	36
<i>peg-589</i>	Предполагаемая карбоксимуконолактон-декарбоксилаза Putative carboxymuconolactone decarboxylase	236	36
<i>entB</i>	Синтез энтеробактина Enterobactin synthesis	400	12
<i>irp2</i>	Синтез иерсиниабактина Yersiniabactin synthesis	230	36
<i>iutA</i>	Синтез аэробактина Aerobactin synthesis	920	12

воде до концентрации 12,8 мг/мл. Внесение раствора антибиотика в лунки планшетов осуществляли методом последовательных серийных двукратных разведений, при этом две последние лунки оставляли пустыми для положительного и отрицательного контролей. Результаты определения чувствительности интерпретировали в соответствии с рекомендациями EUCAST (версия 13.0) [15].

Секвенирование генома. Геномную бактериальную ДНК экстрагировали из клеточных колоний с использованием набора diaGene для выделения геномной ДНК из бактериальных клеток (Диаэм, Россия) и QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Хильден, Германия) в соответствии с инструкциями производителей. Для секвенирования геномов 75 изолятов *K. pneumoniae* брали по 500 нг ДНК бактерий и фрагментировали на приборе Covaris M220. Библиотеки ДНК готовили с помощью набора TruSeq DNA Nano (Illumina, США), с расчетом на средний размер вставки 550 п.н., по протоколу производителя. Секвенирование готовых библиотек осуществляли на приборе MiSeq с использованием набора MiSeq Reagent Kit v3. Чтение проводили с двух сторон по 300 п.н.

Прочтения подготовили к сборке с помощью Trim Galore (version 0.6.7), качество прочтений проверяли программой FastQC (version 0.11.9). Сборку геномов *de novo* производили в программе SPAdes (version 3.15.5) [33]. Качество сборки анализировали с помощью QUAST (version 5.2.0) [17].

Определение MLST-типов (multi-locus sequence typing) штаммов, выявление локусов вирулентности, ассоциированных с транспозоном ICEKp (*ybt*, *clb*, *iro*, *rmpA*), плазмидных локусов вирулентности (*iro*, *iuc*, *rmpA*, *rmpA2*) и генетических детерминант устойчивости к АМП (мутации, приобретенные гены и собственные β-лактамазы) осуществляли с помощью ПО Kleborate [22]. Предсказание К и О серотипов проводили с помощью программы Kaptive [21, 43]

Мультилокусное сиквенс-типирование (MLST-типирование). MLST-типирование изолятов проводили по схеме Diancourt и соавт. [13]. Семь генов домашнего хозяйства (*gapA*, *mdh*, *gpi*, *rpoB*, *inf*, *phoE* и *tonB*) сравнивали с последовательностями, доступными в базе данных MLST *K. pneumoniae* (<https://bigsd.b.pasteur.fr/klebsiella>).

Результаты

Характеристика гипермукоидных свойств бактериальных штаммов. Среди 85 клинических изолятов *K. pneumoniae* на основании «стринг-теста» выявлено 28 (32,9%) изолятов с гипермукоидным фенотипом и 57 (67,1%) изолятов с классическим фенотипом.

Оценка чувствительности штаммов *K. pneumoniae* к антимикробным препаратам. Среди 85 изолятов *K. pneumoniae* 10,6% оказались панрезистентными (pandrug-resistant — PDR), то есть устойчивыми ко всем исследуемым АМП, в том числе к колистину. Указанные штаммы принадлежали к следующим сиквенс-типам: ST395, ST512, ST307, ST11 и ST23. Широкая лекарственная устойчивость (extensively drug-resistant — XDR), то есть отсутствие чувствительности

Таблица 2. Частота встречаемости генов карбапенемазы и БЛРС у штаммов *K. pneumoniae*

Table 2. Prevalence of carbapenemase and ESBL genes in *K. pneumoniae* strains

Ген Gene	Частота встречаемости, % Prevalence, %
Приобретенные β-лактамазы Acquired β-lactamases	
OXA-1	17,3
OXA-1, TEM-1D	17,3
TEM-1D	13,3
OXA-9, TEM-1D	2,6
БЛРС ESBL	
CTX-M-15	54,7
CTX-M-3	1,3
CTX-M-55	1,3
ADC-11*, CTX-M-15, PER-1**	1,3
Карбапенемазы Carbapenemase	
NDM-1	17,3
NDM-1, OXA-48	6,7
NDM-5	4,0
NDM-5, OXA-48	1,3
OXA-48	18,7
OXA-66	1,3
OXA-232	1,3
KPC-3	5,3
KPC-3, NDM-1	4,0
KPC-2, OXA-48	1,3

Примечание. *ADC — Acinetobacter Derived Cephalosporinase, относятся к ферментам класса C, **PER — Pseudomonas Extended Resistant.

Note. *ADC — Acinetobacter Derived Cephalosporinase, belongs to class C enzymes, **PER — Pseudomonas Extended Resistant.

по крайней мере к одному агенту из всех категорий АМП, наблюдалась у 41,2% штаммов. Эти штаммы принадлежали к следующим сиквенс-типам: ST13, S15, ST23, ST39, ST86, ST147, ST307, ST395, ST512. Множественная устойчивость (MDR), то есть устойчивость микроорганизма

к АМП из трех различных групп, встречалась у 32,9% штаммов. Такие штаммы принадлежали к следующим сиквенс-типам: ST13, ST20, ST23, ST39, ST307, ST395, ST512, ST556, ST874 и др.

Детерминанты устойчивости к антимикробным препаратам на основании секвенирования

Таблица 3. Характеристика штаммов *K. pneumoniae* на основании принадлежности к сиквенс-типу и фенотипу гипермукоидности

Table 3. Characteristics of *K. pneumoniae* strains based on belonging to the sequence type and hypermucoid phenotype

Капсульный тип (N) Capsule type (N)	ST-тип ST type	N изолятов (%) N isolates (%)	
		Положительный стринг-тест Positive string test	Отрицательный стринг-тест Negative string test
K1 (6)	ST23	6 (8,1%)	0
K2 (19)	ST395	6 (8,1%)	6 (8,1%)
	ST86	2 (2,7%)	1 (1,35%)
	ST86-1LV	1 (1,35%)	0
	ST11	0	1 (1,35%)
	ST65	1 (1,35%)	0
	ST380	1 (1,35%)	0
K3 (3)	ST13	0	3 (4,1%)
K4 (1)	ST37	0	1 (1,35%)
K14 (1)	ST37	0	1 (1,35%)
K19 (4)	ST15	0	3 (4,1%)
	ST2237	0	1 (1,35%)
K20 (2)	ST147	1 (1,35%)	1 (1,35%)
K23 (4)	ST39	0	4 (5,4%)
K24 (4)	ST15	0	1 (1,35%)
	ST20	1 (1,35%)	0
	ST86	1 (1,35%)	0
	ST359	0	1 (1,35%)
K39 (4)	ST395	0	4 (5,4%)
K45 (2)	ST874	0	2 (2,7%)
K57 (7)	ST23	0	7 (9,45%)
K62 (2)	ST39	0	1 (1,35%)
	ST556	0	1 (1,35%)
K64 (2)	ST395	1 (1,35%)	1 (1,35%)
Другие типы Other types KL102, KL107 (13)	ST307	0	5 (6,75%)
	ST512	2 (2,7%)	5 (6,75%)
	ST15	0	1 (1,35%)
Всего 74 Total 74		23 (31,05%)	51 (68,95%)

Примечание. K, KL – капсульный тип, N – количество изолятов, ST – сиквенс-тип.

Note. K, KL – capsule type, N – number of isolates, ST – sequence type.

генома. По результатам полногеномного секвенирования 75 изолятов *K. pneumoniae* у 81,3% были обнаружены гены резистентности к аминогликозидам, у 68,4% — к фторхинолонам, у 43,4% — к макролидам. Гены резистентности к фениколам были обнаружены у 72,4% штаммов, а к сульфаниламидам у 65,8% изолятов. Ген резистентности к рифампицину (*arr-2*) был характерен для 11,8% изолятов, к тетрациклину (*tetA*) — 35,5%, а гены устойчивости к триметоприму — 71,1% изолятов.

С помощью программы Kleborate исследовали частоту встречаемости генов карбапенемаз и β-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) у штаммов *K. pneumoniae* (табл. 2).

На основании программы Kleborate оценивали индекс устойчивости (resistance score) исследованных штаммов к антимикробным препаратам:

0 — отсутствие БЛРС, отсутствие карбапенемаз (независимо от резистентности к колистину);

1 — наличие БЛРС, отсутствие карбапенемаз (независимо от резистентности к колистину);

2 — наличие карбапенемаз, отсутствие устойчивости к колистину (независимо от БЛРС или мутаций *OmpK*);

3 — наличие карбапенемаз и резистентности к колистину (независимо от БЛРС или мутаций *OmpK*).

Среди исследованных 75 штаммов *K. pneumoniae* индексом резистентности 3 обладали 5,3% штаммов, индексом 2 — 57,3%, индексом 1 — 18,7%, а индексом 0 — 18,7%.

Определение капсульных типов (K-типов). Гипервирулентные штаммы *K. pneumoniae* наиболее часто принадлежат к капсульным типам K1 и K2, которые обеспечивают вирулентные свойства клебсиелл в комбинации с другими детерминантами [1].

На основании данных полногеномного секвенирования были определены капсульные типы. Среди 75 исследованных изолятов 8% и 25,3% штаммов принадлежали к типу K1 и K2 соответственно. Были обнаружены другие капсульные типы hvKp: K20 — 2,6%, K57 — 9,2%, K64 — 2,6%. Остальные штаммы принадлежали к капсульным типам, характерным для классических клебсиелл (K3, K14, K15, K19, K23, K24, K39, K45, K62). В ходе исследования были обнаружены типы KL102, KL107, KL112, для которых соответствующие серологические типы капсул еще предстоит определить.

MLST-типирование. Гипервирулентные штаммы наиболее часто имеют следующие сиквенс-типы: ST23, ST57 (ассоциированы с капсульным типом K1), ST86, ST375 и ST380 (ассоциированы с капсульным типом K2) [37].

По результатам MLST-типирования идентифицировано 18 различных ST-типов для 74 исследованных изолятов, для одного изолята ST-тип определить не удалось (NA). Наиболее распространенные типы — ST395 (24,3%), ST23 (17,6%) и ST512 (9,5%). Также были обнаружены следующие типы: ST11 (1,4%), ST86 (6,8%, включая ST86–1LV, в котором один локус не соответствовал типу ST86), ST65 (1,4%), ST307 (6,8%).

Все штаммы *K. pneumoniae* капсульного типа K1 (n = 6) принадлежали к сиквенс-типу ST23. Для типа K2 12 изолятов принадлежали к ST395, 4 изолята — к ST86 (включая ST86–1LV), и по 1 штамму — к ST11, ST65 и ST380. Два штамма K20 принадлежали к ST147, семь изолятов K57 — к ST23 и два штамма K64 *K. pneumoniae* принадлежали к ST395 (табл. 3).

Локусы вирулентности. На основании наличия генов, кодирующих иерсиниабактин (*ybt*), колибактин (*clb*) и аэробактин (*iuc*), оценивали индекс вирулентности (virulence score). В соответствии с программой Kleborate [22] индекс вирулентности варьируется от 0 до 5:

0 — отсутствие перечисленных генов;

1 — наличие иерсиниабактина;

2 — наличие иерсиниабактина и колибактина (или только колибактина);

3 — наличие аэробактина (без иерсиниабактина или колибактина);

4 — наличие аэробактина и иерсиниабактина (без колибактина);

5 — наличие всех трех генов вирулентности.

Среди 75 исследованных штаммов индексом вирулентности 5 обладали 10,7% штаммов, индексом 4 — 37,3%, индексом 3 — 25,3% штаммов, индексом 2 — 0%, индексом 1 — 21,3%, индексом 0 — 5,3%.

Обсуждение

Фенотипическая оценка чувствительности 85 клинических изолятов *K. pneumoniae* в нашем исследовании показала следующие результаты: PDR — 10,6%, XDR — 41,2%, MDR — 32,9%. Среди них резистентностью к колистину обладали 23,5%, к карбапенемам — 64,7% штаммов. В работе по исследованию антибиотикорезистентности изолятов *K. pneumoniae*, выделенных из крови больных COVID-19 [4], чувствительными к АМП были только 4% изолятов.

Устойчивость к карбапенемам может быть опосредована продукцией карбапенемаз или сочетанием нарушения экспрессии порина на внешней мембране и продукции различных β-лактамаз [20]. Карбапенемазы могут придавать штаммам резистентность практически ко всем известным β-лактамам АМП. В исследовании продукции карбапенемаз нозоко-

миальными штаммами в Санкт-Петербурге [2] наиболее часто обнаруживали карбапенемазы NDM-1, реже OXA-48 и KPC-2. По результатам проведенной нами работы самыми распространенными генами карбапенемаз были гены OXA-48 (18,7%) и NDM-1 — 17,3% штаммов, а в 6,7% штаммов гены NDM-1 и OXA-48 присутствовали одновременно.

Доля штаммов с генами β -лактамаз CTX-M-15 в нашем исследовании составила 54,7%, OXA-1 — 17,3%, TEM-1D — 13,3%, и в 17,3% случаев в штаммах одновременно присутствовали гены OXA-1 и TEM-1D.

K. pneumoniae обладает всеми известными механизмами устойчивости грамотрицательных бактерий к хинолонам [34], включая модификацию гена-мишени, защиту мишени, активное выведение АМП (эффлюкс) и инактивацию ферментами. В проведенном нами исследовании гены резистентности к хинолонам встречались у 68,4% штаммов. Самыми распространенными генами были *qnrS1* (40% штаммов) и *qnrB1* (22,7%).

Гипервирулентность штамма часто ассоциирована с гипермукоидностью. Бактериальная слизь является прямым следствием того, что происходит сброс капсульного материала во внеклеточную среду, а значит, гипермукоидность штамма связана с уровнем продукции капсульных полисахаридов [5]. По результатам нашего исследования 32,9% изолятов *K. pneumoniae* обладали гипермукоидным фенотипом на основании стринг-теста. Данные штаммы вызывали следующие заболевания: флегмону, пневмонию, сепсис, перитонит. В статье Луо с соавт. 29% клинических изолятов, вызывающих первичный абсцесс печени, не проявляли гипермукоидного фенотипа, связанного с hvKp [26]. Данные результаты предполагают, что гипервирулентный фенотип не имеет прямой зависимости от гипермукоидности. Следовательно, гипервирулентность должна определяться не только фенотипом, но также генотипом и клиническими характеристиками инфекции. Другими словами, гипервирулентность выходит за рамки капсульного серотипа и положительного стринг-теста [26]. Однако стринг-тест является сигналом того, что клинический изолят может быть гипервирулентным. Таким образом, отсутствие гипермукоидности не исключает гипервирулентность штамма [8].

У *K. pneumoniae* существует большое внутривидовое разнообразие структуры геномов, для классификации которых используется многолокусное типирование последовательностей (MLST) [13]. Полученные в результате классификации типы последовательности (ST) являются клинически значимыми [11].

По результатам проведенной нами работы наиболее распространены следующие сиквенс-типы: ST395 (24,3%), ST23 (17,6%) и ST512 (9,5%). Также обнаружены следующие типы: ST11 (1,4%), ST86 (6,8%, включая ST86-1LV, в котором один локус не соответствовал типу ST86), ST65 (1,4%), ST307 (6,8%). Все штаммы, принадлежащие к ST23 K1 (8,1%), обладали положительным стринг-тестом, а все штаммы ST23 K57 (9,45%) обладали отрицательным тестом на гипермукоидность. Штаммы, относящиеся к капсульным типам K3, K4, K14, K19, K23, K39, K45, K57, K62 в 100% случаев демонстрировали отрицательный стринг-тест.

Среди штаммов с ST23 один был устойчив ко всем исследуемым АМП (пан-резистентный), три изолята были устойчивы ко всем АМП, за исключением одного (колистина или котримоксазола), и 6 штаммов проявляли множественную лекарственную устойчивость. PDR штамм ST23 принадлежал к капсульному типу K57 и обладал генами резистентности к аминогликозидам (*aac(6)-Ib*; *rmtF*), фторхинолонам (*qnrB1*), фениколам (*catA1*), рифампицину (*arr-2*), а также генами β -лактамаз OXA-48 и CTX-M-15.

Другой идентификатор hvKp — тип капсулы (K). В результате полногеномного секвенирования нами были определены капсульные типы клинических изолятов *K. pneumoniae*. Среди 75 исследованных штаммов 8% и 25,3% штаммов принадлежали к типу K1 и K2 соответственно. Были обнаружены другие капсульные типы hvKp: K20 — 2,6%, K57 — 9,2%, K64 — 2,6%. Остальные штаммы принадлежали к капсульным типам, характерным для классических клебсиелл (K3, K14, K15, K19, K23, K24, K39, K45, K62). В ходе исследования были обнаружены типы KL102, KL107, KL112, для которых соответствующие серологические типы капсул еще предстоит определить.

Хорошо охарактеризованные детерминанты вирулентности у *K. pneumoniae* включают локусы синтеза поликетидов *ybt* и *clb* (также известные как *pks*), кодирующие сидерофоры иерсиниабактин и генотоксин колибактин соответственно. Эти локусы расположены в мобильном генетическом элементе ICEKp, который является наиболее распространенным генетическим элементом, связанным с вирулентностью *K. pneumoniae* [22]. В исследовании, посвященном генетическому разнообразию мобильного элемента ICEKp [22], локус *ybt* был обнаружен в 40% геномов *K. pneumoniae* среди штаммов, связанных с инвазивными инфекциями. Локус *clb* присутствовал в 14% всех геномов *K. pneumoniae* (38,4% геномов *ybt+*).

В проведенном нами исследовании локус *ybt* был характерен для 69,3% изолятов и был

ассоциирован с 7 различными интегративными мобильными элементами ICEKp и одной плазмидой, а локус *clb* присутствовал в 10,7% штаммов. Самыми распространенными мобильными элементами были ICEKp4 ($n = 10$) и ICEKp10 ($n = 8$). Мобильный элемент ICEKp10 также несет локус генотоксина колибактина (*clb*) и вероятно связан с гипервирулентными штаммами. Таким образом, мобильные генетические элементы, несущие *ybt* и *clb*, свободно циркулируют в популяции *K. pneumoniae*, в том числе среди штаммов с множественной лекарственной устойчивостью. Данные локусы следует рассматривать как мишень для геномного надзора вместе с детерминантами антибиотикорезистентности [22].

Другие важные кластеры генов вирулентности кодируют биосинтез сидерофоров аэробактерии (*iuc*) и сальмохелина (*iro*), связаны с инвазивными заболеваниями и распространены среди гипервирулентных клонов *K. pneumoniae*, вызывающих тяжелые внебольничные инфекции, такие как абсцесс печени и пневмония [24]. В ходе работы были определены ассоциированные с плазмидой локусы *iuc* (73,3%) и *iro* (14,7%). Линия *iuc1* была наиболее распространенным вариантом локуса *iuc* ($n = 54$). Данный локус обычно располагается на плазмиде вирулентности KpVP-1 (pLVPK и pK2044-подобные плазмиды) [24]. Другая линия *iuc2* связана с плазмидой KpVP-2 (Kp52.145pII-подобный) [24] и была обнаружена в одном штамме (ST380, K2).

Гены *rmpA* и *rmpA2* связаны с гипермукоидным фенотипом, который является признаком вирулентности, часто наблюдаемым у гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae*. Недавняя работа [41] показала, что *rmpA* служит регулятором транскрипции для генов *rmpD* и *rmpC*, и вместе эти гены составляют локус *rmpADC*. Ген *rmpC* участвует в усилении экспрессии капсулы, в то время как *rmpD* связан с гипермукоидностью. По результатам работы ген *rmpA* был характерен для 49,3% изолятов, а ген *rmpA2* — для 58,7%.

Мы обнаружили 44 случая (58,7% штаммов) генотипической конвергенции вирулентности и антибиотикорезистентности, на что указывает одновременное наличие локуса аэробактерии (*iuc*) и генов β -лактамаз или карбапенемаз. Среди них встречались как штаммы, принадлежащие к гипервирулентным сиквенс-типам (ST11, ST23, ST86), которые приобрели генетические детерминанты антибиотикорезистентности, так и множественно-резистентные штаммы с приобретенными плазмидами вирулентности. По литературным данным штаммы *K. pneumoniae* с множественной лекарственной устойчивостью принадлежат к ST17, ST101,

ST258, ST307 [19, 32]. По результатам секвенирования нами были обнаружены клинические изоляты ($n = 5$), принадлежащие к ST307, с приобретенным интегративным мобильным элементом ICEKp4. Данные штаммы обладали также генами карбапенемаз (NDM-1, OXA-48) и β -лактамаз (CTX-M-15).

Среди конвергентных штаммов с сиквенс-типами hvKp два штамма были устойчивы ко всем исследуемым антибиотикам, шесть штаммов проявляли экстремальную лекарственную устойчивость (5 из них сохраняли чувствительность к колистину и 1 — к котримоксазолу) и шесть штаммов являлись множественно-устойчивыми.

Детерминанты устойчивости к АМП и детерминанты вирулентности обычно мобилизуются на плазмидах, поэтому их конвергенция внутри отдельных штаммов не является неожиданной. Мозаичная природа плазмид *K. pneumoniae* создает риск конвергенции детерминант резистентности и вирулентности в пределах одной плазмиды. Такие векторы hv-АБР могут распространяться среди клинических штаммов и придавать им способность вызывать серьезные инфекции у здоровых людей с очень ограниченными вариантами лечения [23].

Идентификация hvKp как инфекционного агента имеет большое значение. Если инфекция вызвана hvKp, это может указывать лечащему врачу на необходимость проведения дополнительных исследований (компьютерная томография (КТ) или магнитно-резонансная томография (МРТ)) с целью обнаружения трудно диагностируемых очагов инфекции [30]. Идентификация некоторых скрытых очагов инфекции (эндофтальмита, абсцесса головного мозга, предстательной железы, менингита) важна, поскольку режим дозирования АМП специфичен для каждого очага. Необходимы адекватные концентрации препарата для достижения оптимального результата лечения [25].

Гипермукоидный фенотип hvKp может вызывать затруднения при лечении абсцессов. Повышенная вязкость изолятов может препятствовать чрескожному дренированию и увеличивать вероятность закупорки катетера [32, 39]. Инфекция hvKp может быть связана с рецидивами [9, 16, 18, 42]. Когда hvKp идентифицируется как инфекционный агент, может потребоваться более длительный курс лечения, чтобы максимизировать показатели излечения и свести к минимуму рецидивы.

Таким образом, идентификация гипервирулентности может представлять ценную информацию для клинического ведения пациентов с hvKp-инфекциями.

Выводы

1. В результате геномного анализа вирулентности и антибиотикорезистентности клинических изолятов *K. pneumoniae* установлено, что 54,7% штаммов имели гены β-лактамаз СТХ-М-15, а 68,4% — гены резистентности к хинолонам.

2. Фенотипическая оценка чувствительности к антибиотикам показала, что резистентностью к карбапенемам обладали 64,7% штаммов, а гипермукоидным фенотип характерен для 32,9% изолятов *K. pneumoniae*.

3. У 58,7% штаммов обнаружена генотипическая конвергенция вирулентности и анти-

биотикорезистентности, на что указывает одновременное наличие локуса аэробактина (*iuc*) и генов β-лактамаз или карбапенемаз.

Заключение

Таким образом, идентификация гипервирулентности может представлять ценную информацию для клинического ведения пациентов с hνKp-инфекциями. Поэтому очевидна необходимость разработки комплексного диагностического теста для одновременного скрининга множественно-устойчивых гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae*.

Список литературы/References

1. Агеевец В.А., Агеевец И.В., Сидоренко С.В. Конвергенция множественной резистентности и гипервирулентности у *Klebsiella pneumoniae* // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 3. С. 450–460. [Ageevets V.A., Ageevets I.V., Sidorenko S.V. Convergence of multiple resistance and hypervirulence in *Klebsiella pneumoniae*. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2022, vol. 12, no. 3, pp. 450–460. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-COM-1825
2. Баранцевич Е.П., Баранцевич Н.Е., Шляхто Е.В. Продукция карбапенемаз нозокомиальными штаммами *K. pneumoniae* в Санкт-Петербурге // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2016. Т. 18, № 3. С. 196–200. [Barantsevich E.P., Barantsevich N.E., Shlyakhto E.V. Production of Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* Isolated in Saint-Petersburg. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2016, vol. 18, no. 3, pp. 196–200. (In Russ.)]
3. Комисарова Е.В., Воложанцев Н.В. Гипервирулентная *Klebsiella pneumoniae* – новая инфекционная угроза // Инфекционные болезни. 2019. Т. 17, № 3. С. 81–89. [Komisarova E.V., Volozhantsev N.V. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: a new infectious threat. *Infektsionnye bolezni = Infectious Diseases*, 2019, vol. 17, no. 3, pp. 81–89. (In Russ.)] doi: 10.20953/1729-9225-2019-3-81-89
4. Малыгин А.С., Андреев С.С., Царенко С.В., Петрушин М.А. Антибиотикорезистентность изолятов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из крови больных COVID-19 // Медицина. 2021. Т. 9, № 2. С. 63–74. [Malygin A.S., Andreev S.S., Tsarenko S.V., Petrushin M.A. Antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from the blood of patients with COVID-19. *Meditina = Medicine*, 2021, vol. 9, no. 2, pp. 63–74. (In Russ.)] doi: 10.29234/2308-9113-2021-9-2-63-74
5. Чеботарь И.В., Бочарова Ю.А., Подопривога И.В., Шагин Д.А. Почему *Klebsiella pneumoniae* становится лидирующим оппортунистическим патогеном // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2020. Т. 22, № 1. С. 4–19. Chebotar I.V., Bocharova Yu.A., Podoprivoga I.V., Shagin D.A. The reasons why *Klebsiella pneumoniae* becomes a leading opportunistic pathogen. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2020, vol. 22, no. 1, pp. 4–19. (In Russ.) doi: 10.36488/cmasc.2020.1.4-19
6. Bodena D., Teklemariam Z., Balakrishnan S., Tesfa T. Bacterial contamination of mobile phones of health professionals in Eastern Ethiopia: antimicrobial susceptibility and associated factors. *Trop. Med. Health*, 2019, vol. 47, no. 15: 47. doi: 10.1186/s41182-019-0144-y
7. Bulger J., MacDonald U., Olson R., Beanan J., Russo T.A. Metabolite transporter PEG344 is required for full virulence of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* strain hνKPI after pulmonary but not subcutaneous challenge. *Infect. Immun.*, 2017, vol. 85, no. 10, e00093-17. doi: 10.1128/IAI.00093-17
8. Catalan-Najera J.C., Garza-Ramos U., Barrios-Camacho H. Hypervirulence and hypermucoviscosity: two different but complementary *Klebsiella* spp. phenotypes. *Virulence*, 2017, vol. 8, no. 7, pp. 1111–1123. doi: 10.1080/21505594.2017.1317412
9. Chang C.M., Ko W.C., Lee H.C., Chen Y.M., Chuang Y.C. *Klebsiella pneumoniae* psoas abscess: predominance in diabetic patients and grave prognosis in gas-forming cases. *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, 2001, vol. 34, no. 3, pp. 201–206.
10. Chaudhary P., Bhandari D., Thapa K., Thapa P., Shrestha D., Chaudhary H.K., Shrestha A., Parajuli H., Gupta, B.P. Prevalence of extended spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from urinary tract infected patients. *Journal of Nepal Health Research Council*, 2016, vol. 14, no. 33, pp. 111–115.
11. Choby J.E., Howard-Anderson J., Weiss D.S. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* — clinical and molecular perspectives. *J. Intern. Med.*, 2020, vol. 287, no. 3, pp. 283–300. doi: 10.1111/joim.13007
12. Compain F., Babosan A., Brisse S., Genel N., Ailloud F., Kassis-Chikhani N., Arlet G., Decré D., Doern G.V. Multiplex PCR for detection of seven virulence factors and K1/K2 capsular serotypes of *Klebsiella pneumoniae*. *J. Clin. Microbiol.*, 2014, vol. 52, no. 12, pp. 4377–4380. doi: 10.1128/JCM.02316-14
13. Diancourt L., Passet V., Verhoef J., Grimont P.A., Brisse S. Multilocus sequence typing of *Klebsiella pneumoniae* nosocomial isolates. *J. Clin. Microbiol.*, 2005, vol. 43, no. 8, pp. 4178–4182. doi: 10.1128/JCM.43.8.4178-4182.2005
14. European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* ST23 carrying carbapenemase genes in EU/EEA countries. 17 March 2021. ECDC: Stockholm; 2021.
15. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters (2023). URL: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints (11.02.2023)

16. Fierer J., Walls L., Chu P. Recurring *Klebsiella pneumoniae* pyogenic liver abscesses in a resident of San Diego, California, due to a K1 strain carrying the virulence plasmid. *J. Clin. Microbiol.*, 2011, vol. 49, no. 12, pp. 4371–4373. doi: 10.1128/JCM.05658-11
17. Gurevich A., Saveliev V., Vyahhi N., Tesler G., QUASt: quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics*, 2013, vol. 29, no. 8, pp. 1072–1075. doi: 10.1093/bioinformatics/btt086
18. Harada S., Tateda K., Mitsui H., Hattori Y., Okubo M., Kimura S., Sekigawa K., Kobayashi K., Hashimoto N., Itoyama S., Nakai T., Suzuki T., Ishii Y., Yamaguchi K. Familial spread of a virulent clone of *Klebsiella pneumoniae* causing primary liver abscess. *J. Clin. Microbiol.*, 2011, vol. 49, no. 6, pp. 2354–2356. doi: 10.1128/JCM.00034-11
19. Hetland M.A.K., Hawkey J., Bernhoff E., Bakksjø R.J., Kaspersen H., Rettedal S.I., Sundsfjord A., Holt K.E., Löhr I.H. Within-patient and global evolutionary dynamics of *Klebsiella pneumoniae* ST17. *bioRxiv*, 2022, vol. 11, no. 1: 514664. doi: 10.1101/2022.11.01.514664
20. Huang T.S., Lee S.S.J., Lee C.C., Chang F.C. Detection of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* on the basis of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry by using supervised machine learning approach. *PLoS One*, 2020, vol. 15, no. 2, e0228459. doi: 10.1371/journal.pone.0228459
21. 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. *Microbial Genomics*, 2022, vol. 8, no. 3: 000800. doi: 10.1099/mgen.0.000800
22. Lam M.M.C., Wick R.R., Wyres K.L., Gorrie C.L., Judd L.M., Jenney A.W.J., Brisse S., Holt K.E. Genetic diversity, mobilisation and spread of the yersiniabactin-encoding mobile element ICEKp in *Klebsiella pneumoniae* populations. *Microb. Genom.*, 2018, vol. 4, no. 9: e000196. doi: 10.1099/mgen.0.000196
23. Lam M.M.C., Wyres K.L., Wick R.R., Judd L.M., Fostervold A., Holt K.E., Lohr I.H. Convergence of virulence and MDR in a single plasmid vector in MDR *Klebsiella pneumoniae* ST15. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2019, vol. 74, no. 5, pp. 1218–1222. doi: 10.1093/jac/dkz028
24. Lam M.M.C., Wyres K.L., Judd L.M., Wick R.R., Jenney A., Brisse S., Holt K.E. Tracking key virulence loci encoding aerobactin and salmochelin siderophore synthesis in *Klebsiella pneumoniae*. *Genome Med.*, 2018, vol. 10, no. 1: 77. doi: 10.1186/s13073-018-0587-5
25. Liu Y.C., Cheng D.L., Lin C.L. *Klebsiella pneumoniae* liver abscess associated with septic endophthalmitis. *Arch. Intern. Med.*, 1986, vol. 146, no. 10, pp. 1913–1916. doi: 10.1001/archinte.1986.00360220057011
26. Luo Y., Wang Y., Ye L., Yang J. Molecular epidemiology and virulence factors of pyogenic liver abscess causing *Klebsiella pneumoniae* in China. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2014, vol. 20, no. 11: 0818–24. doi: 10.1111/1469-0691.12664
27. Navon-Venezia S., Kondratyeva K., Carattoli A. *Klebsiella pneumoniae*: a major worldwide source and shuttle for antibiotic resistance. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2017, vol. 41, no. 3, pp. 252–275. doi: 10.1093/femsre/fux013
28. Paczosa M.K., Meccas J. *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2016, vol. 80, no. 3, pp. 629–661. doi: 10.1128/MMBR.00078-15
29. Parrott A.M., Shi J., Aaron J., Green D.A., Whittier S., Wu F. Detection of multiple hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* strains in a New York City hospital through screening of virulence genes. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2021, vol. 27, no. 4, pp. 583–589. doi: 10.1016/j.cmi.2020.05.012
30. Patel P.K., Russo T.A., Karchmer A.W. Brief report on hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Open Forum Infect. Dis.*, 2014, vol. 1, no. 1, ofu028. doi: 10.1093/ofid/ofu028
31. Pomakova D.K., Hsiao C.B., Beanan J.M., Olson R., Macdonald U., Keynan Y., Russo T.A. Clinical and phenotypic differences between classic and hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: an emerging and under-recognized pathogenic variant. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2012, vol. 31, no. 6, pp. 981–989. doi: 10.1007/s10096-011-1396-6
32. Popa L.I., Gheorghe I., Barbu I.C., Surleac M., Paraschiv S., Măruțescu L., Popa M., Pircălăbioru G.G., Talapan D., Niță M., Streinu-Cercel A., Streinu-Cercel A., Oțelea D., Chifiriuc M.C. Multidrug Resistant *Klebsiella pneumoniae* ST101 Clone Survival Chain From Inpatients to Hospital Effluent After Chlorine Treatment. *Front. Microbiol.*, 2021, vol. 11, 610296. doi: 10.3389/fmicb.2020.610296
33. Prjibelski A., Antipov D., Meleshko D., Lapidus A., Korobeynikov A. Using SPAdes de novo assembler. *Curr. Protoc. Bioinformatics*, 2020, vol. 70: e102. doi: 10.1002/cpbi.102
34. Redgrave L.S., Sutton S.B., Webber M.A., Piddock L.J. Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success. *Trends Microbiol.*, 2014, vol. 22, no. 8, pp. 438–445. doi: 10.1016/j.tim.2014.04.007
35. Regueiro V., Campos M.A., Pons J., Alberti S., Bengoechea J.A. The uptake of a *Klebsiella pneumoniae* capsule polysaccharide mutant triggers an inflammatory response by human airway epithelial cells. *Microbiology*, 2006, vol. 152, no. 2, pp. 555–566. doi: 10.1099/mic.0.28285-0
36. Russo T.A., Olson R., Fang C.T., Stoesser N., Miller M., MacDonald U., Hutson A., Barker J.H., La Hoz R.M., Johnson J.R. Identification of Biomarkers for Differentiation of Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from Classical *K. pneumoniae*. *J. Clin. Microbiol.*, 2018, vol. 56, no. 9: e00776-18. doi: 10.1128/JCM.00776-18
37. Shon A.S., Bajwa R.P., Russo T.A. Hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*: a new and dangerous breed. *Virulence*, 2013, vol. 4, no. 2, pp. 107–118. doi: 10.4161/viru.22718
38. Siu L.K., Yeh K.M., Lin J.C., Fung C.P., Chang F.Y. *Klebsiella pneumoniae* liver abscess: a new invasive syndrome. *Lancet Infect. Dis.*, 2012, vol. 12, no. 11, pp. 881–887. doi: 10.1016/S1473-3099(12)70205-0
39. Tan Y.M., Chung A.Y., Chow P.K., Cheow P.C., Wong W.K., Ooi L.L., Soo K.C. An appraisal of surgical and percutaneous drainage for pyogenic liver abscesses larger than 5 cm. *Ann. Surg.*, 2005, vol. 241, no. 3, pp. 485–490. doi: 10.1097/01.sla.0000154265.14006.47
40. Tsay R.W., Siu L.K., Fung C.P., Chang F.Y. Characteristics of bacteremia between community-acquired and nosocomial *Klebsiella pneumoniae* infection: risk factor for mortality and the impact of capsular serotypes as a herald for community-acquired infection. *Arch. Intern. Med.*, 2002, vol. 162, no. 9, pp. 1021–1027. doi: 10.1001/archinte.162.9.1021
41. Walker K.A., Miner T.A., Palacios M., Trzilova D., Frederick D.R., Broberg C.A., Sepúlveda V.E., Quinn J.D., Miller V.L. A *Klebsiella pneumoniae* Regulatory Mutant Has Reduced Capsule Expression but Retains Hypermucoviscosity. *mBio*, 2019, vol. 10, no. 2: e00089-19. doi: 10.1128/mBio.00089-19

42. Wang J.H., Liu Y.C., Lee S.S., Yen M.Y., Chen Y.S., Wang J.H., Wann S.R., Lin H.H. Primary liver abscess due to *Klebsiella pneumoniae* in Taiwan. *Clin. Infect. Dis.*, 1998, vol. 26, no. 6, pp. 1434–1438. doi: 10.1086/516369
43. Wyres K.L., Wick R.R., Gorrie C., Jenney A., Follador R., Thompson N., Holt K.E. Identification of *Klebsiella* capsule synthesis loci from whole genome data. *Microbial Genomics*, 2016, vol. 2, no. 12: e000102. doi: 10.1099/mgen.0.000102
44. Yu W.L., Ko W.C., Cheng K.C., Lee C.C., Lai C.C., Chuang Y.C. Comparison of prevalence of virulence factors for *Klebsiella pneumoniae* liver abscesses between isolates with capsular K1/K2 and non-K1/K2 serotypes. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 2008, vol. 62, no. 1, pp. 1–6. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2008.04.007

Авторы:

Самойлова А.А., младший научный сотрудник лаборатории биопрепаратов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Краева Л.А., д.м.н., зав. лабораторией медицинской бактериологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; профессор кафедры микробиологии ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия;

Михайлов Н.В., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории биопрепаратов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; доцент кафедры микробиологии и вирусологии института медицинского образования ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия;

Сайтова А.Т., лаборант-исследователь группы метагеномных исследований ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Полев Д.Е., к.б.н., старший научный сотрудник, руководитель группы метагеномных исследований ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Вашукова М.А., к.м.н., зам. главного врача по развитию медицинской помощи Клинической инфекционной больницы им. С.П. Боткина, Санкт-Петербург, Россия;

Гордеева С.А., врач-бактериолог высшей категории, зав. централизованной бактериологической лабораторией Клинической инфекционной больницы им. С.П. Боткина, Санкт-Петербург, Россия;

Смирнова Е.В., врач-бактериолог высшей категории, зав. бактериологической лабораторией ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербурге, Санкт-Петербург, Россия;

Белятич Л.И., врач-бактериолог высшей категории, зав. бактериологической лабораторией Городской больницы № 14, Санкт-Петербург, Россия;

Долгова А.С., к.б.н., зав. лабораторией молекулярной генетики патогенных микроорганизмов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Шабалина А.В., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики патогенных микроорганизмов ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Samoilova A.A., Junior Researcher, Laboratory of Biological Products, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Kraeva L.A., DSc (Medicine), Head of the Laboratory of Medical Bacteriology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Professor of the Department of Microbiology, Military Medical Academy named after S.M. Kirov, St. Petersburg, Russian Federation;

Mikhailov N.V., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Biological Products, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation; Associate Professor, Department of Microbiology and Virology, Institute of Medical Education, V.A. Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russian Federation;

Saitova A.T., Laboratory Assistant-Researcher, Metagenomic Research Group, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Polev D.E., PhD (Biology), Senior Researcher, Head of the Metagenomic Research Group, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Vashukova M.A., PhD (Medicine), Deputy Chief Physician for Medical Care Development, Clinical Infectious Diseases Hospital named after S.P. Botkin, Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation;

Gordeeva S.A., Bacteriologist, Head of the Centralized Bacteriological Laboratory, Clinical Infectious Diseases Hospital named after S.P. Botkin, Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation;

Smirnova E.V., Bacteriologist, Head of the Bacteriological Laboratory, Hygiene and Epidemiology Centre in St. Petersburg of Rospotrebnadzor, St. Petersburg, Russian Federation;

Beljatich L.I., Bacteriologist, Head of the Bacteriological Laboratory, St. Petersburg State Hospital No. 14, Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation;

Dolgova A.S., PhD (Biology), Head of the Laboratory of Molecular Genetics of Pathogenic Microorganisms, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Shabalina A.V., Junior Researcher, Laboratory of Molecular Genetics of Pathogenic Microorganisms, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 15.09.2023
Отправлена на доработку 25.02.2024
Принята к печати 16.05.2024

Received 15.09.2023
Revision received 25.02.2024
Accepted 16.05.2024