

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* С
КЛАССИЧЕСКИМ И ГИПЕРМУКОИДНЫМ ФЕНОТИПОМ,
ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ ОТДЕЛЕНИЯ РЕАНИМАЦИИ**

Исаенко О. А.^{1, 2},

Захарова Ю. В.¹,

Куприенко Т. С.^{1, 2}

¹ ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации.

² ГАУЗ «Кузбасская клиническая больница скорой медицинской помощи
имени М. А. Подгорбунского».

**BIOLOGICAL PROPERTIES OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* WITH
CLASSICAL AND HYPERMUCOID PHENOTYPE ISOLATED FROM
INTENSIVE CARE UNIT PATIENTS**

Isaenko O. A.^{a, b},

Zakharova Yu. V.^a,

Kuprienko T. S.^{a, b}

^a Kemerovo State Medical University.

^b Kuzbass Clinical Hospital of Emergency Medicine named after M. A. Podgorbunsky.

Резюме

Введение. Существуют противоречивые данные о биологических свойствах гипермукоидных *Klebsiella pneumoniae*, поэтому в практике существуют трудности в дифференциации их патотипа. **Цель.** Сравнение фенотипических свойств субпопуляций гипермукоидных и классических *K.pneumoniae*, выделенных от пациентов отделения реанимации. **Материалы и методы.** «Основную» группу (n=24) составили пациенты, у которых выделяли гипермукоидные *K.pneumoniae*, группу «контроля» (n=24) – пациенты с классическими клебсиеллами. Изоляцию *K.pneumoniae* из различного биоматериала проводили бактериологическим методом, видовую идентификацию – на микробиологическом анализаторе ErbaScan (Erba Mannheim, Чехия) с использованием Entero-Rapid 24 (Erba Lachema, Чехия). Продукцию липаз изучали на Tributryn Agar Base (HIMEDIA, Индия), протеаз на Микро-ЖЕЛАТИНАЗА (НИЦФ, Санкт-Петербург), гемолизинов на 5% кровяном МПА (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), наличие β-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) исследовали методом двойных дисков, чувствительность к фагам – методом «SPOT»-теста. Для обработки данных использовали параметрические и непараметрические методы статистики. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. **Результаты.** Частота обнаружения у пациентов реанимационного отделения *K.pneumoniae* с гипермукоидным фенотипом составила 23,1%, в 66,7% случаев они были выделены из мокроты. Гипермукоидные *K.pneumoniae* имели сходную с классическими клебсиеллами частоту продукции таких факторов вирулентности, как липаза (70,8% и 54,2% соответственно; $p = 0,927$), гемолизины (45,8% и 50% соответственно; $p = 0,773$), протеазы (12,5% и 33,3% соответственно; $p = 0,086$). У гипермукоидных и классических клебсиелл отмечали отсутствие различий по частоте продукции БЛРС (75% и 62,5% соответственно; OR=1,8; 95% CI 0,521-6,218, $p = 0,351$) и бактериофагорезистентности ($p > 0,05$). При инфекционных процессах, ассоциированных с гипермукоидными штаммами, уровень лейкоцитов у

пациентов был достоверно ниже, чем при инфекциях, вызванных классическими клебсиеллами ($9,7 \cdot 10^9$ л против $11,6 \cdot 10^9$ л; $p=0,028$). Однако, независимо от фенотипа возбудителей пациенты имели сходные сроки пребывания в отделении реанимации (12,5-16 суток; $p=0,29$) и частоту летальных исходов (58,2-62,5%; $p=0,77$).

Заключение: Гипермукоидные *K.pneumoniae* имеют сходную с классическими штаммами частоту продукции факторов инвазии, β -лактамаз расширенного спектра, бактериофагорезистентность, что определяет единые подходы в лечении пациентов. Гипермукоидный фенотип бактерий ассоциирован с более низкими уровнями лейкоцитов, что необходимо учитывать для оценки тяжести инфекционного процесса у пациентов.

Ключевые слова: *K.pneumoniae*, гипермукоидный фенотип, классический фенотип, факторы вирулентности, резистентность к фагам, β -лактамазы.

Abstract

Introduction. There are conflicting data on the biological properties of hypermucoid *Klebsiella pneumoniae*, so in practice there are difficulties in differentiating their pathotype. **Goal.** Comparison of phenotypic properties for subpopulations of hypermucoid and classical *K.pneumoniae* isolated from intensive care unit patients. **Materials and Methods.** The "main" group (n=24) consisted of patients with hypermucoid *K.pneumoniae*, the "control" group (n=24) consisted of patients infected with classical klebsiella. Isolation of *K.pneumoniae* from different biomaterial sources was performed by bacteriological method, identification – with ErbaScan microbiological analyzer using Entero-Rapid 24 (Erba Lachema, Czech Republic). Lipase production was studied on Tributryn Agar Base (HIMEDIA, India), protease – on Micro-GELATINase (NICF, St. Petersburg), hemolysins – on 5% blood MPA (FBUN GSC PMB, Obolensk), presence of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) was investigated by the double-disc method, and sensitivity to phages by the SPOT test. Parametric and nonparametric statistical methods were used to process the data. The differences were considered significant at $p < 0.05$. **Results.** The detection rate of *K.pneumoniae* with a hypermucoid phenotype in intensive care unit patients was 23.1%; in 66.7% of cases these bacteria were isolated from sputum. Hypermucoid *K.pneumoniae* had a similar frequency of virulence factors production such as lipase (70.8% and 54.2%, respectively; $p = 0.927$), hemolysins (45.8% and 50%, respectively; $p = 0.773$), proteases (12.5% and 33.3%, respectively; $p = 0.086$). In hypermucoid and classical klebsiella, there were no differences in the frequency of ESBLs production (75% and 62.5%, respectively; OR=1.8; 95% CI 0.521-6.218, $p = 0.351$) and the frequency of bacteriophage resistance ($p > 0.05$). In infectious processes associated with hypermucoid klebsiella strains, the level of patient leukocytes was significantly lower than in case of classical klebsiella infections ($9.7 \cdot 10^9$ l vs. $11.6 \cdot 10^9$ l; $p = 0.028$). However, regardless of the pathogen phenotype, patients had similar lengths of stay in the intensive care unit (12.5-16 days; $p = 0.29$) and mortality rates (58.2-62.5%; $p = 0.77$).

Conclusion. Hypermucoid *K.pneumoniae* show a similar frequency of producing invasion factors, extended-spectrum beta-lactamases, and bacteriophage resistance to classical strains, which determines common approaches in the treatment of patients. The hypermucoid phenotype of bacteria is associated with lower levels of leukocytes, which must be taken into account to assess infection severity in patients.

Keywords: *K.pneumoniae*, hypermucoid phenotype, classical phenotype, virulence factors, resistance to phages, beta-lactamases.

1 Введение

Клебсиеллы остаются ведущими клинически значимыми микроорганизмами в отделениях реанимации и интенсивной терапии [9, 10]. Они вызывают инфекции кровотока [20], дыхательных и мочевыводящих путей [7, 17], появляются данные об их роли в возникновении абсцессов печени и головного мозга, перикардитов и эндокардитов [10, 12, 19]. Большая значимость клебсиелл связана с высокими адаптационными способностями данных микроорганизмов, как к окружающей среде [2, 11], так и к факторам иммунной защиты человека [4, 8] и резистентностью к антимикробным препаратам (АМП) [3, 5, 9], что послужило основой для включения этих бактерий в группу приоритетных патогенов с растущей лекарственной устойчивостью ESKAPE (*E-Enterococcus faecium*, *S-Staphylococcus aureus*, *K-Klebsiella pneumoniae*, *A-Acinetobacter baumannii*, *P-Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.), представляющих серьезную угрозу человечеству [18].

Данные последних лет свидетельствуют о появлении наряду с классическими *Klebsiella pneumoniae* (сКр), вызывающими инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, гипервирулентных (hvКр), обладающих способностью вызывать тяжелые внебольничные инфекции [11, 13, 16]. Такие штаммы на мышинных моделях демонстрируют низкие летальные дозы (LD₅₀) – менее 3 lg КОЕ, тогда как классические клебсиеллы (сКр) не вызывают летальный исход у мышей даже в дозах 6 lg КОЕ [13]. Гипервирулентные клебсиеллы (hvКр) отличаются продукцией сидерофоров, в частности аэробактина, биопленкообразованием, продукцией колибактина – экзотоксина, повреждающего ДНК эукариотических клеток [13, 14, 15]. С популяцией гипервирулентных клебсиелл ассоциированы штаммы, обладающие гипермукоидным фенотипом (hmКр), способные продуцировать большое количество слизи [6]. Показано, что дополнительный к капсуле слой слизи из различных углеводов, защищает бактерии в организме человека от факторов врожденного иммунитета, нарушает выработку провоспалительных цитокинов и молекул межклеточной адгезии ICAM (Intercellular Adhesion

Molecule), а выявляется данный фенотип бактерий в простом культуральном «стринг» тесте (тянущаяся от колонии за петлей нить более 5 мм) [17]. Ген *gmpA* является положительным регулятором гиперпродукции капсульных полисахаридов у *K.pneumoniae* и используется как маркер вирулентных штаммов с гипермукоидным фенотипом [1, 13]. Однако существуют противоречивые данные о биологических свойствах гипермукоидных штаммов *K.pneumoniae* по распространенности других, нежели капсула и слизь, факторов вирулентности, частоте резистентности к антимикробным препаратам – антибиотикам, бактериофагам, дезинфектантам [1, 6], поэтому в микробиологической практике существуют трудности в четкой дифференциации патотипа гипермукоидных клебсиелл, а у пациентов затруднено прогнозирование тяжести инфекционного процесса и исходов заболевания.

Цель исследования – сравнение фенотипических свойств, субпопуляций гипермукоидных и классических *K.pneumoniae*, выделенных от пациентов отделения реанимации.

2 Материалы и методы

Исследование осуществлялось в реанимационно- анестезиологическом отделении (РАО) на базе крупного многопрофильного стационара Кемеровской области - Кузбасса ГАУЗ «Кузбасская клиническая больница скорой медицинской помощи имени М.А. Подгорбунского» в 2024 году. Дизайн медицинского исследования - клиническое, ретроспективное (retrospective study) с формированием метчируемых пар «основной» и «контрольной» группы.

Были проанализированы клиничко-лабораторные данные 104 пациентов с различными формами внекишечных клебсиеллезных инфекций. Из популяции пациентов реанимационного отделения, от которых выделяли *K.pneumoniae* с гипермукоидным фенотипом, была сформирована «основная» группа (n=24). Группу «контроля» составили пациенты с инфекциями клебсиеллезной этиологии той же локализации, но штаммы клебсиелл на

питательных средах формировали классические колонии (n=24). Критерием невключения/исключения из групп была ВИЧ-инфекция. Сформированные группы характеризовались сходными возрастными-половыми характеристиками: средний возраст пациентов основной группы составил $60,9 \pm 3,38$ лет, в группе контроля – $64,8 \pm 3,65$ лет ($p=0,44$); мужчин в основной группе было 17 (70,8%) человек, в группе контроля - 15 (62,5%) ($p=0,54$). Все пациенты при поступлении в стационар были проинформированы о целях, методах клинико-лабораторных исследований, медицинских манипуляций и возможных осложнениях, о чем подписывали информированное согласие. Также пациенты давали разрешение на обработку персональных данных. Исследование одобрено Этическим комитетом ФГБОУ ВО «Кемеровского государственного медицинского университета» Минздрава России (протокол № 331/к от 11.01.2024).

Изоляцию *K.pneumoniae* из различного биоматериала (мокрота, моча, раневое отделяемое) проводили в рамках бактериологического выявления клинически значимых возбудителей на дифференциально-диагностической среде Эндо (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск). Посевы биоматериала осуществляли количественно: посев мочи и раневого отделяемого осуществляли методом четырех-секторного посева по Голду; мокроту после разжижения карбоцистеином – титровали, с последующим высевом из разведений 10^{-3} и 10^{-5} . Через 24 часа инкубации при 37 С изучали культуральные свойства бактерий и подсчитывали подозрительные колонии. Диагностически значимыми считали количественное содержание микробов в биоматериале не менее $5 \lg$ КОЕ/мл.

Со слизисто-вязкими колониями проводили постановку «стринг» теста. Штаммы считали гипермукоидными при наличии тянущейся за петлей нити длиной более 5 мм. Для обнаружения капсул у клебсиелл использовали набор Микро-ГИНС-НИЦФ (НИЦФ, СПб), визуализацию под иммерсией проводили на микроскопе Primo Star Zeiss (Carl Zeiss, Германия). Далее осуществляли видовую идентификацию клебсиелл с использованием Entero-Rapid 24 (Erba

Lachema, Чехия) на микробиологическом анализаторе ErbaScan (Erba Mannheim, Чехия).

Продукцию клебсиеллами липаз изучали на Tributryn Agar Base (HIMEDIA, Индия), протеолитическую активность с помощью набора Микро-ЖЕЛАТИНАЗА (НИЦФ, Санкт-Петербург), гемолитические свойства на 5% кровяном МПА (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск).

Наличие у *K.pneumoniae* β -лактамаз расширенного спектра (БЛРС) изучали фенотипическим методом двойных дисков на агаре Мюллера-Хинтона (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск)¹. Использовали диски с цефотаксимом (30 мкг/диск), с цефтазидимом (30 мкг/диск), с амоксициллином/клавуланатом (20/10 мкг/диск). Методом «SPOT» теста изучали чувствительность/резистентность клебсиелл к следующим коммерческим бактериофагам производства АО НПО «Микроген»: «Интести-бактериофагу», «Секста-фагу: пиобактериофагу поливалентному», «Пиобактериофагу поливалентному очищенному», фагу «Бактериофагу клебсиелл пневмонии очищенному», к «Бактериофагу клебсиелл поливалентному очищенному»².

Анкетные и клинико-лабораторные показатели пациентов получали выкопировкой данных из медицинской карты стационарного больного (форма 003/у).

Весь массив данных обрабатывали с помощью статистической программы IBM SPSS Statistics / PS IMAGO («IBM/Predictive Solutions»). Для выбора методов обработки цифрового материала оценивали критерий Колмогорова-Смирнова. Использовали медиану (Me) и 25 и 75 квартили (Q1; Q3) или среднюю арифметическую с ошибкой средней ($M \pm m$) для представления количественных показателей, качественные данные приведены в абсолютных и относительных числах. При нормальном распределении

¹МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам»: методические указания: издание официальное: утверждён и введён в действие Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 4 марта 2004 г. М.; 2004.

² МР 3.5.1.0101-15 «Биологический метод дезинфекции с использованием бактериофагов»: методические рекомендации: разработчик Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. М.; 2016.

данных для сравнения показателей в двух независимых выборках использовали односторонний критерий *t* Стьюдента, при отсутствии нормального распределения пользовались непараметрическими показателями - критерием Манна-Уитни (*U*) и критерием χ^2 . Для количественной оценки тесноты связи между сравниваемыми группами использовали отношение шансов (ОШ) и 95% доверительный интервал (95% CI (confidence interval). Различия в основной и контрольной группах считали достоверными при $p < 0,05$.

3 Результаты

В результате ретроспективного анализа за 2024 год установлено, что клебсиеллы чаще поражали дыхательные пути – они были выделены из мокроты 68 пациентов ОРИТ (65,4%). На втором месте в структуре поражений находились мочевыводящие пути, из мочи клебсиеллы были изолированы у 17 (16,3%) пациентов, у 11 (10,6%) человек были выделены из крови, у 8 (7,7%) – из раневого отделяемого.

Штаммы с гипермукоидным фенотипом были изолированы у 24 (23,1%) пациентов: у 16 (66,7%) из мокроты, у 4 (16,7%) из раневого отделяемого, у 3 (12,5%) из мочи и у 1 (4,2%) из крови. Количественное содержание клебсиелл в мокроте составило 6 (6,0; 7,0) lg КОЕ/мл, в моче 5 (5,0; 6,0) lg КОЕ/мл, в раневом отделяемом 4 (4,0; 6,0) lg КОЕ/г.

Независимо от фенотипа *K.pneumoniae* обладали такими факторами вирулентности как липаза, протеаза (желатиназа) и гемолизины (α и β). При этом разницы в частоте экспрессии этих факторов вирулентности в зависимости от фенотипа выявлено не было (табл. 1).

У всех гипермукоидных штаммов клебсиелл в мазках регистрировали толстую капсулу, которая превышала диаметр самой бактерии в 2-3 раза. У классических клебсиелл толщина капсулы не превышала диаметра клетки. При этом установлено, что частота продукции БЛРС у штаммов с разным фенотипом не отличалась. Среди гипермукоидных *K.pneumoniae* 18 (75%)

штаммов обладали БЛРС, среди классических – 15 (62,5%) (OR=1,8, 95% CI 0,521-6,218, p=0,351).

Установлено отсутствие различий по частоте резистентности клебсиелл с разным фенотипом к коммерческим бактериофагам (p>0,05) (рис. 1).

Независимо от фенотипа клебсиелл самая высокая фагорезистентность была зарегистрирована по отношению к «Интести-бактериофагу» ($\chi^2=0,356$, df=1, p=0,55) (рис. 1). Также *K.pneumoniae* проявляли одинаково высокую частоту устойчивости к «Бактериофагу клебсиелл пневмонии очищенному» ($\chi^2=1,231$, df=1, p=0,27), «Секста-фагу: пиобактериофагу поливалентному» ($\chi^2=0,118$, df=1, p=0,73). Самая низкая устойчивость как у классических, так и у гипермукоидных клебсиелл была к «Бактериофагу клебсиелл поливалентному очищенному» ($\chi^2=0,343$, df=1, p=0,56) (рис.1).

Далее была произведена оценка клинико-лабораторных показателей пациентов, у которых выделяли клебсиеллы с разным фенотипом. Установлено, что уровень лейкоцитов у пациентов основной группы был достоверно ниже, чем у пациентов группы контроля – $9,7 \cdot 10^9$ л (5,5; 13,3) против $11,6 \cdot 10^9$ л (5,0; 16,6) (p=0,028). При поражении легких гипермукоидными клебсиеллами уровень сатурации у пациентов составил $92,84 \pm 2,97\%$, в группе контроля уровень сатурации был сходным – $89,47 \pm 3,43\%$ (p=0,46). Несмотря на менее выраженную интенсивность воспалительного процесса у пациентов основной группы, длительность пребывания и частота летальных исходов не отличалась. Пациенты основной группы в среднем находились в отделении реанимации 16 (6; 34) суток, пациенты группы сравнения – 12,5 (5; 28) (p=0,29). Частота летальных исходов среди пациентов основной группы составила 62,5%, в группе контроля – 58,2% (OR=1,9, 95% CI 0,374-3,791, p=0,77).

4 Обсуждение

Большая клиническая значимость *K.pneumoniae*, а также циркуляция в разных стационарах специфических субпопуляций и генетических линий клебсиелл [2, 3, 9] обуславливает важность оценки их биологических свойств,

имеющих значение для прогнозирования характера течения инфекционного процесса и определения стратегии лекарственной помощи пациентам [5, 11, 16]. Появление данных о принадлежности *K.pneumoniae* с гипермукоидным фенотипом к гипервирулентным линиям вызывает озабоченность медицинского сообщества, вследствие их высокой адаптации к условиям внутрибольничной среды (высушиванию, действию дезинфектантов, антисептиков), резистентности к фагоцитозу, катионным пептидам, комплемент-зависимому лизису в организме человека, что приводит к вспышкам внутрибольничных инфекций [6, 20]. Отнесение их к субпопуляции гипервирулентных клебсиелл связано с тем, что бактерии, образующие толстую капсулу и продуцирующие слизь, продемонстрировали на животных моделях низкие летальные дозы [1, 11]. Однако по мнению ряда авторов не все гипермукоидные клебсиеллы гипервирулентны тем более, что штаммы, продуцирующие слизь, довольно часто выделяются из кишечника, из носа при микрoэкологических нарушениях [1, 8, 19]. Наличие противоречий делает актуальным оценку частоты встречаемости в субпопуляции *K.pneumoniae* с гипермукоидным фенотипом факторов вирулентности и антимикробной резистентности.

По результатам исследования установлено, что в отделении реанимации крупного многопрофильного стационара г. Кемерово *K.pneumoniae* являются доминирующими возбудителями заболеваний нижних дыхательных путей и мочевыводящей системы, что согласуется с данными отечественных и зарубежных исследователей [9, 10]. Частота обнаружения клебсиелл с гипермукоидным фенотипом составила 23,1%, при этом чаще всего они были выделены из мокроты и раневого отделяемого пациентов. Зависимость выделения слизиобразующих штаммов от локуса, вероятно, обусловлено наличием специфических условий для активации у бактерий генов, контролирующих продукцию капсульных полисахаридов. Так известно, что экспрессия хромосомного гена *gcsB*, кодирующего белки двухкомпонентной регуляторной системы синтеза капсульных биополимеров, инициируется под

действием активных форм кислорода, продуктов деградации пептидогликана клеточных стенок, лизоцима [11]. Этот ген определяет адаптивный потенциал у *K.pneumoniae* и он обнаружен у штаммов, вегетирующих в организме человека, животных, обитающих в окружающей среде [2]. В некоторых случаях клебсиеллы получают в результате генетических рекомбинаций плазмидный ген *gmpA* (англ. regulator of mucoid phenotype A), наличие которого является маркером гипервирулентного патотипа клебсиелл [13, 14]. В связи с ограничениями данного исследования, связанными с отсутствием определения у штаммов генетических детерминант вирулентности и коротким периодом наблюдения за циркулирующими клебсиеллами, очевидным является перспективность соотнесения условий, формирующихся в биотопе макроорганизма и частоты гиперпродукции слизи бактериями. Это позволит прогнозировать по клинико-лабораторным показателям конкретного пациента вероятность выделения гипермукоидных/гипервирулентных штаммов.

Выделенные гипермукоидные штаммы клебсиелл не отличались от классических по частоте продукции факторов вирулентности, играющих важную роль в инвазии бактерий – липаз, протеаз, гемолизин. По современным представлениям капсула и слизь являются основными патогенетически значимыми факторами гипермукоидных *K.pneumoniae* и в то же время они являются барьером для обмена генетическим материалом и адсорбции некоторых бактериофагов на рецепторах бактериальных клеток, поэтому высказывается мнение о низкой резистентности таких штаммов к антибиотикам и бактериофагам [6]. Это, в свою очередь, определяет круг вопросов по стратегии антибактериальной терапии. В данном исследовании установлено, что слизиобразующие *K.pneumoniae* продуцировали БЛРС с такой же частотой, что и штаммы с классическим фенотипом. Все штаммы клебсиелл продемонстрировали низкую чувствительность к коммерческим бактериофагам, что обусловлено, видимо, региональной нечувствительностью штаммов к используемым в производстве генетическим линиям фагов. Это ограничивает эмпирическое применение данных иммунобиологических

препаратов для лечения пациентов. Таким образом, в виду сходства у клебсиелл с разным фенотипом антимикробной устойчивости, подходы в лечении пациентов будут едиными.

На животных моделях показано, что толстая капсула и большое количество слизи у гипермукоидных штаммов клебсиелл нарушают фагоцитоз в организме хозяина на стадии хемотаксиса и адгезии, снижают выработку молекул межклеточной адгезии и активацию системы комплемента, что сопровождается замедлением миграции лейкоцитов в очаг воспаления [11]. Действительно, у пациентов основной группы было зарегистрировано снижение активности воспалительного процесса – уровень лейкоцитов был достоверно ниже, чем при воспалении, вызванными классическими клебсиеллами. При этом показатели уровня лейкоцитов приближались к верхней границе физиологической нормы $9,7 \cdot 10^9$ л ($5,5$; $13,3$), но уровень сатурации при пневмониях, длительность пребывания и частота летальных исходов у таких пациентов была такими же, как и у пациентов с клебсиеллезными инфекциями, вызванными классическими штаммами. Это необходимо учитывать в клинической практике при оценке тяжести инфекционного процесса у пациентов с гипермукоидными штаммами *K.pneumoniae* и при определении тактики их лечения.

5 Выводы

1. Частота обнаружения *K.pneumoniae* с гипермукоидным фенотипом у пациентов отделения реанимации составила 23,1%, в 66,7% случаев они были выделены из мокроты, что свидетельствует о сохранении клинической значимости этого фенотипа клебсиелл в развитии пневмоний.

2. Гипермукоидные *K.pneumoniae* имели сходную с классическими клебсиеллами частоту продукции таких факторов вирулентности, как липаза ($p=0,927$), гемолизина ($p=0,773$), протеазы ($p=0,086$). У гипермукоидных и классических клебсиелл отмечали отсутствие различий по частоте продукции БЛРС ($p=0,351$) и частоте бактериофагорезистентности ($p>0,05$), что позволяет использовать единые схемы лечения пациентов с инфекционными

процессами, вызванными *K.pneumoniae* с разным фенотипом.

3. При инфекционных процессах, ассоциированных с гипермукоидными штаммами, уровень лейкоцитов у пациентов достоверно ниже, чем при инфекциях, вызванных классическими клебсиеллами ($p=0,028$), что должно учитываться при интерпретации лабораторных данных. Однако, независимо от фенотипа возбудителей пациенты имели сходные сроки пребывания в реанимационном отделении ($p=0,29$) и частоту летальных исходов ($p=0,77$).

Благодарности

Коллектив исследователей выражает благодарность Бикановой М. Г. - старшему преподавателю кафедры микробиологии и вирусологии за помощь в микробиологических исследованиях.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Частота обнаружения некоторых факторов вирулентности у *Klebsiella pneumoniae* с гипермукоидным и классическим фенотипом.

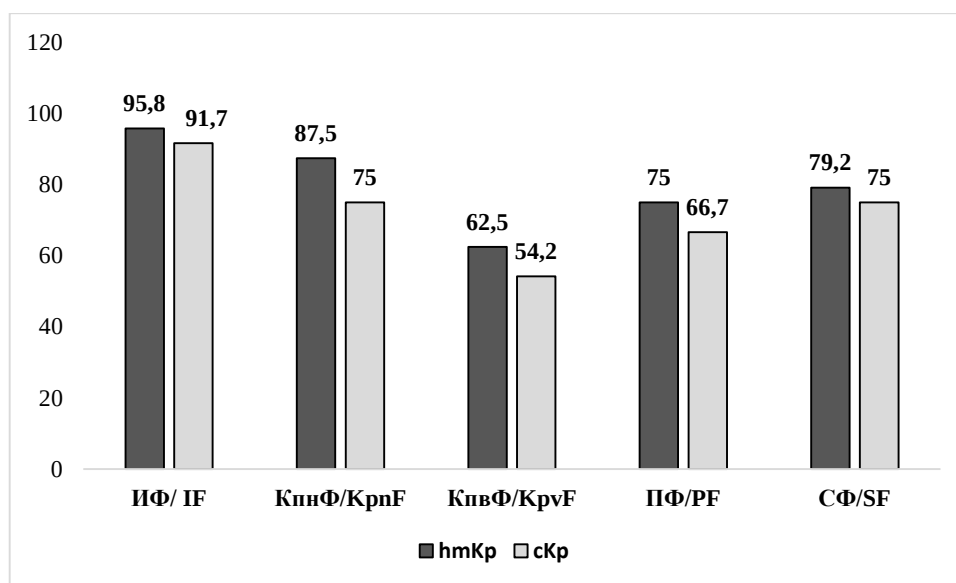
Table 1. Frequency of detection of certain virulence factors in *Klebsiella pneumoniae* with hypermucooid and classical phenotypes.

Фактор вирулентности Virulence factor	Гипермукоидный фенотип (n=24), абс/отн (%) Hypermucoid phenotype (n=24), abs/rel (%)	Классический фенотип (n=24), абс/отн (%) Classic phenotype (n=24), abs/rel (%)	Значение критерия $\chi^2_{(1)}$ Criterion value $\chi^2_{(1)}$	Уровень значимости p Significance level p
Гемолизин Hemolysin	11/45,8	12/50	0,083	0,773
Липаза Lipase	17/70,8	13/54,2	0,008	0,927
Протеаза Protease	3/12,5	8/33,3	2,948	0,086

РИСУНКИ

Рисунок 1. Частота фагорезистентности *Klebsiella pneumoniae* с гипермукоидным и классическим фенотипом (в %).

Figure 1. Frequency of phage resistance of *Klebsiella pneumoniae* with hypermucoid and classical phenotype (in %).



Примечание: hmKp – *K.pneumoniae* с гипермукоидным фенотипом, cKp – *K.pneumoniae* с классическим фенотипом; ИФ - «Интести-бактериофаг», КпнФ - «Бактериофаг клебсиелл пневмонии очищенный», КпвФ - «Бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный», ПФ - «Пиобактериофаг поливалентный очищенный», СФ - «Секста-фаг: пиобактериофаг поливалентный»

Note: hmKp – *K.pneumoniae* with a hypermucoid phenotype, cKp – *K.pneumoniae* with a classic phenotype; IF - “Intesti-bacteriophage”, KpnF - “Purified *Klebsiella pneumoniae* bacteriophage”, KpvF - “Purified polyvalent *Klebsiella* bacteriophage”, PF - “Purified polyvalent pyobacteriophage”, SF - “Sexta-phage: polyvalent pyobacteriophage”

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Захарова Юлия Викторовна, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Кемерово, Россия:

ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра микробиологии и вирусологии;

адрес: 650056, Кемеровская область – Кузбасс, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а;

телефон: 8(384)273-28-71;

e-mail: yvz@bk.ru

Dr. Yuliya V. Zakharova, MD, PhD, Associate Professor, Professor Department of Microbiology and Virology, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation;

Kemerovo State Medical University, Department of Microbiology and Virology;

address: 22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation;

telephone: 8(384)273-28-71;

e-mail: yvz@bk.ru

Блок 2. Информация об авторах

Исаенко О. А. –соискатель кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Кемерово, Россия, заведующая бактериологической лабораторией ГАУЗ «Кузбасская клиническая больница скорой медицинской помощи имени М. А. Подгорбунского», г. Кемерово, Россия;

Olesya A. Isaenko – applicant for the Department of Microbiology and Virology
Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation.

head of the bacteriological laboratory of the Kuzbass Clinical Hospital of
Emergency Medical Care named after M. A. Podgorbunsky, Kemerovo, Russian
Federation;

Куприенко Т. С. – ординатор кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ
ВО «Кемеровский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Кемерово, Россия,
врач-стажер бактериологической лаборатории ГАУЗ «Кузбасская
клиническая больница скорой медицинской помощи имени М. А.
Подгорбунского», Кемерово, Россия;

Tatyana S. Kuprienko T. S. – Resident of the Department of Microbiology and
Virology of the Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian
Federation;

trainee physician at the bacteriological laboratory of Kuzbass Clinical Hospital of
Emergency Medicine named after M. A. Podgorbunsky, Kemerovo, Russian
Federation.

Блок 3. Метаданные статьи

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* С
КЛАССИЧЕСКИМ И ГИПЕРМУКОИДНЫМ ФЕНОТИПОМ,
ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ ОТДЕЛЕНИЯ РЕАНИМАЦИИ
BIOLOGICAL PROPERTIES OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* WITH
CLASSICAL AND HYPERMUCOID PHENOTYPE ISOLATED FROM
PATIENTS OF THE INTENSIVE CARE UNIT

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА *K.PNEUMONIAE*

BIOLOGICAL PROPERTIES OF *K.PNEUMONIAE*

Ключевые слова: *K.pneumoniae*, гипермукоидный фенотип, классический фенотип, факторы вирулентности, резистентность к фагам, β -лактамазы.

Keywords: *K.pneumoniae*, hypermucoid phenotype, classical phenotype, virulence factors, resistance to phages, beta-lactamases.

Оригинальная статья.

Количество страниц текста – 10,

количество таблиц – 1,

количество рисунков – 1.

14.01.2025.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или
1	Агеевец В. А., Агеевец И. В., Сидоренко С. В. Конвергенция множественной резистентности и гипервирулентности у <i>Klebsiella pneumoniae</i> // 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 <i>Klebsiella pneumoniae</i> // Infection and immunity. 2022. Vol. 12, No. 3. pp. 450-460.	https://iimmun.ru/iimm/article/view/1825/1510 [DOI 10.15789/2220-7619-COM-1825]
2	Бардашева А.В., Фоменко Н. В., Калымбетова Т. В., Бабкин И. В., Кретьен С. О., Жираковская Е. В., Тикунова Н. В., Морозова В. В. Генетическая характеристика	Bardasheva A.V., Fomenko N. V., Kalymbetova T. V., Babkin I. V., Chretien S. O., Zhirakovskaya E. V., Tikunova N. V., Morozova V. V. Genetic characteristics of clinical	https://vavilov.elpub.ru/jour/article/view/2887 [DOI 10.18699/VJ21.49-o]

	клинических изолятов клебсиелл, циркулирующих в Новосибирске // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2021. Т. 25, № 2. С. 234-245.	Klebsiella isolates circulating in Novosibirsk // Vavilovsky Journal of Genetics and Breeding. 2021. Vol. 25, No. 2. pp. 234-245.	
3	Бонда Н. А., Стома И. О., Осипкина О. В., Зятков А. А., Шафорост А. С., Карпова Е. В., Тапальский Д. В. Молекулярно-генетические маркеры резистентности и вирулентности инвазивных штаммов <i>Klebsiella pneumoniae</i> по данным полногеномного секвенирования // Проблемы здоровья и экологии. 2023. Т. 20, № 1. С. 7-15.	Bonda N. A., Stoma I. O., Osipkina O. V., Zyatkov A. A., Shaforost A. S., Karpova E. V., Tapalsky D. V. Molecular genetic markers of resistance and virulence of invasive strains of <i>Klebsiella pneumoniae</i> according to genome-wide sequencing // Health and environmental issues. 2023. Vol. 20, No. 1. pp. 7-15.	https://journal.gsmu.by/jour/article/view/2488/2033 [DOI 10.51523/2708-6011.2023-20-1-01]
4	Бухарин О. В. Адаптивные стратегии взаимодействия возбудителя и хозяина при инфекции // Вестник	Bukharin O. V. Adaptive strategies of interaction between the pathogen and the host in infection // Bulletin of the	[DOI 10.31857/S086958730000087-3]

	Российской академии наук. 2018. 88 (7). С. 637-643.	Russian Academy of Sciences. 2018. 88 (7). pp. 637-643.	
5	Карпов О. Э., Гусаров В. Г., Камышова Д. А., Орлова О. А., Петрова Л. В., Хакулова А. Э., Пивкина А. И., Замятин М. Н. Оценка эффективности применения стратегии сдерживания антибиотикорезистентности: результаты десятилетнего исследования в многопрофильном стационаре// Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2023. Т. 25, № 3. С. 283-295.	Karpov O. E., Gusarov V. G., Kamyshova D. A., Orlova O. A., Petrova L. V., Khakulova A. E., Pivkina A. I., Zamyatin M. N. Evaluation of the effectiveness of the antibiotic resistance control strategy: results of a ten-year study in a multidisciplinary hospital// Clinical Microbiology and antimicrobial chemotherapy. 2023. Vol. 25, No. 3. pp. 283-295.	https://cmac-journal.ru/publication/2023/3/ [DOI 10.36488/cmac.2023.3.283-295]
6	Козлова А. И, Тапальский Д. В. Чувствительность к антибиотикам и	Kozlova A. I., Tapalskiy D. V. Sensitivity to antibiotics and	https://www.bsmu.by/zhurnaly/zhurnal-voennaya-meditsina/2019-1/

	бактериофагам клинических изолятов <i>Klebsiella pneumoniae</i> с классическим и гипермукоидным фенотипами // Военная медицина. 2019. Т.50, №1. С. 44-48.	bacteriophages of clinical isolates of <i>Klebsiella pneumoniae</i> with classical and hypermucoid phenotypes // Military medicine. 2019. Vol. 50, No. 1. pp. 44-48.	
7	Леванова Л. А., Марковская А. А. Отдушкина Л. Ю., Захарова Ю. В. Роль кишечной микробиоты в развитии инфекций мочевыводящих путей у детей // Фундаментальная и клиническая медицина. 2021. Т. 6, № 2. С. 24-30.	Levanova L. A., Markovskaya A. A., Vydushina L. Yu., Zakharova Yu.V. The role of intestinal microbiota in the development of urinary tract infections in children // Fundamental and clinical medicine. 2021. Vol. 6, No. 2. pp. 24- 30.	https://fcm.kemsmu.ru/jour/article/ view/401/256 [DOI 10.23946/2500-0764-2021-6- 2-24-30]
8	Немченко У. М., Кунгурцева Е. А., Савелькаева М. В., Григорова Е. В., Иванова Е. И., Туник Т. В., Рычкова Л. В. Микробиоценоз толстого кишечника и способность к био пленкообразованию штаммов	Nemchenko U. M., Kungurtseva E. A., Savelkaeva M. V., Grigorova E. V., Ivanova E. I., Tunik T. V., Rychkova L. V. Microbiocenosis of the large intestine and the ability to biofilm <i>Klebsiella</i> spp strains. in children with	https://www.nogr.org/jour/article/vi ew/1305 [DOI 10.31146/1682-8658-ecg- 176-4-59-64]

	<i>Klebsiella</i> spp. у детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами// Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2020. Т. 176, № 4. С. 59-64.	functional gastrointestinal disorders// Experimental and clinical gastroenterology. 2020. Vol. 176, No. 4. pp. 59-64.	
9	Новикова И. Е., Садеева З. З., Алябьева Н. М., Самойлова Е. А., Карасева О. В., Янющкина О. Г., Лазарева А. В. Антибиотикорезистентность и вирулентность карбапенем-устойчивых штаммов <i>Klebsiella pneumoniae</i> , выделенных у детей в реанимационных и хирургических отделениях // Журнал микробиологии, эпидемиологии и	Novikova I. E., Sadeeva Z. Z., Alyabyeva N. M., Samoilova E. A., Karaseva O. V., Yanushkina O. G., Lazareva A.V. Antibiotic resistance and virulence of carbapenem-resistant strains of <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolated from children in intensive care and surgical departments // Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2023. Vol. 100, No. 4. pp. 321-332.	https://microbiol.crie.ru/jour/article/view/3138/1326 [DOI 10.36233/0372-9311-373]

	иммунобиологии. 2023. Т. 100, № 4. С. 321-332.		
10	Степанова Т. Ф., Катаева Л. В., Посоюзных О. В., Богун А. Г., Кисличкина А. А., Тран Т. Н. Структура ESKAPE-патогенов, изолированных от пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии новорождённых Национального госпиталя педиатрии г. Ханой, Социалистическая Республика Вьетнам // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2023. Т. 100, № 2. С. 168-177.	Stepanova T. F., Kataeva L. V., Posoyuznykh O. V., Bogun A. G., Kislichkina A. A., Tran T. N. The structure of ESKAPE pathogens isolated from patients of the Neonatal Intensive Care Unit at the National Hospital of Pediatrics, Hanoi, Socialist Republic of Vietnam // Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2023. Vol. 100, No. 2. pp. 168-177.	https://microbiol.crie.ru/jour/article/view/11141/1310 [DOI 10.36233/0372-9311-329]
11	Чеботарь И. В., Бочарова Ю. А., Подопригора И. В., Шагин Д. А. Почему <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Chebotar I. V., Bocharova Yu. A., Podoprighora I. V., Shagin D. A. Why <i>Klebsiella pneumoniae</i> is becoming a	https://cmac-journal.ru/publication/2020/1/cmac-2020-t22-n1-p004/

	становится лидирующим оппортунистическим патогеном // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2020. Т. 22, № 1. С. 4-19.	leading opportunistic pathogen // Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy. 2020. Vol. 22, No. 1. pp. 4-19.	[DOI 10.36488/cmac.2020.1.4-19]
12	Castro J., Oliveira R., Araújo, Silva S., Brinks E., Almeida C., Oliveira H., Cho G., Fernandes L., Franz Ch., Saavedra M. J. Multidrug-resistant <i>Klebsiella pneumoniae</i> and <i>Klebsiella variicola</i> isolated from patients in Portuguese hospitals: Genomic and phenotypic characterization // The Microbe. 2024. Vol. 5. pp. 100172 – 100181.	-	https://doi.org/10.1016/j.microb.2024.100172
13	Chu W. H. W., Tan Y. H., Tan S. Y., Chen Y., Yong M., Lye D. C., Kalimuddin Sh., Archuleta S., Gan Y-H. Acquisition of regulator on virulence plasmid of	-	https://doi.org/10.1128/mbio.01297-23

	hypervirulent <i>Klebsiella</i> allows bacterial lifestyle switch in response to iron // mBio. 2023. Vol.14 (2). pp. 1-24.		
14	Deroche L., Rozenholc A., Arrivé F., Martellosio J., Moal G., Thille A.W., Barraud O., Marchand S., Buyck J. M. Emergence of cefiderocol resistance during therapy in NDM-5-producing <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolates harboring siderophore receptors mutations // International Journal of Infectious Diseases. 2025. Vol. 151. pp. 107321-107325.	-	https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1201971224003965 [doi:10.1016/j.ijid.2024.107321]
15	Dong N., Yang X., Chan E.W-Ch., Zhang R., Chena Sh. <i>Klebsiella</i> species: taxonomy, hypervirulence and multidrug resistance // eBioMedicine. 2022. Vol. 79. Pp. 103998 – 104009.	-	https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.103998

16	Merla C., Kuka A., Mileto I., Petazzoni G., Gaiarsahttps S., Vitis D., Ardizzone M., Corbella M., Baldanti F., Cambieri P. One-year surveillance for hypervirulent <i>Klebsiella pneumoniae</i> detected carbapenem-resistant superbugs // Microbiology Spectrum. 2023. Vol.12 (3). pp. 1203292-23.	-	https://doi.org/10.1128/spectrum.03292-23
17	Neerhut T., Ninan J., Crozier J, Lawson M., Rhee H. Urgent nephrectomy for rapidly progressive disseminated metastatic hypermucoid <i>Klebsiella</i> // Urology Case Reports. 2022. Vol. 4. Pp. 102157-102161.	-	https://doi.org/10.1016/j.eucr.2022.102157
18	WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent	-	https://www.who.int/publications/item/9789240093461

	and control antimicrobial resistance. 2024. p. 72.		
19	You X., Wang L., Wang H., Xu Y., Chen Y., Xu H., Ji X., Ma X., Xu X. Liver abscess induced by intestinal hypervirulent <i>Klebsiella pneumoniae</i> through down-regulation of tryptophan-IPA-IL22 axis // iScience. 2024. Vol. 27, 110849 – 110870.	-	https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.110849
20	Yu X., Luan J., Suo L., Sun X., Wang H., Zhao Y., Sun T., Liu B., Wang L., Cao H., Qi X. Analysis of clinical characteristics and mortality risk factors in patients with community-acquired pneumonia caused by <i>Klebsiella pneumoniae</i> // Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2025. Vol. 111. Pp. 116660-116667.	-	https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2024.116660

