

Биологические свойства и антибиотикорезистентность *Klebsiella pneumoniae* и её роль в этиологической структуре возбудителей внебольничных пневмоний

*А. С. АНИСИМОВА¹, Н. В. ПАВЛОВИЧ¹, Н. В. АРОНОВА¹, М. В. ЦИМБАЛИСТОВА¹,
Е. Н. ГУДУЕВА¹, Н. И. ПАСЮКОВА¹, Е. Д. ТЕПЛЯКОВА^{2,3}, А. К. НОСКОВ¹

¹ ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия

² Министерство здравоохранения Ростовской области, Ростов-на-Дону, Россия

³ ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

Biological Properties and Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae* and Its Role in the Etiological Structure of Community-Acquired Pneumonia Pathogens

*ANASTASIA S. ANISIMOVA¹, NATALIA V. PAVLOVICH¹, NADEZHDA V. ARONOVA¹,
MARINA V. TSIMBALISTOVA¹, ELENA N. GUDUEVA¹, NINA I. PASYUKOVA¹,
ELENA D. TEPLYAKOVA^{2,3}, ALEKSEY K. NOSKOV¹

¹ Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, Russia

² Ministry of Health of the Rostov Region, Rostov-on-Don, Russia

³ Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

Резюме

Актуальность. В условиях пандемии новой коронавирусной инфекции наиболее частыми осложнениями вирусных пневмоний являются вторичные инфекции бактериальной и грибковой этиологии. При этом глобальной угрозой для здравоохранения остаётся широкое распространение бактерий с множественной лекарственной устойчивостью. Одним из таких микроорганизмов семейства Enterobacteriaceae является *Klebsiella pneumoniae*, относящаяся к опасным резистентным патогенам группы ESKAPE. **Цель.** Сравнительный анализ биологических свойств классических и гипермукоидных штаммов *K. pneumoniae*, выделенных от пациентов с внебольничной пневмонией (ВП): характеристика их чувствительности к антибактериальным препаратам, клебсиеллёзному бактериофагу, дезинфектанту (полигексаметиленгуанидин гидрохлорид) и оценка вирулентности штаммов на модели экспериментальной инфекции белых мышей. **Материал и методы.** Проведено изучение 56 штаммов клебсиелл, изолированных в диагностических количествах из образцов мокроты от пациентов. Видовую идентификацию культур проводили с помощью бактериологического и масс-спектрометрического методов. Чувствительность бактерий к антибиотикам, бактериофагу и дезинфектанту определяли в соответствии с регламентирующими документами. **Результаты.** При выполнении работы было выделено 243 грамотрицательных культуры, из которых 30% составляли бактерии рода *Klebsiella* spp. Анализ их видового состава показал, что доминирующее место в структуре занимала *K. pneumoniae*. По морфологии колоний, окраске мазков по Бурри-Гинсу и положительному «стринг-тесту» были определены 14 штаммов с гипермукоидным фенотипом. Эти штаммы отличались от классических наличием более толстой капсулы в мазках, вирулентностью для белых мышей ($\text{DCL} \leq 10^3$ м. кл.) и повышенной устойчивостью к коммерческому клебсиеллёзному бактериофагу. В то же время они характеризовались более широким спектром чувствительности к антибиотикам. Достоверных различий в чувствительности к дезинфектанту у штаммов обоих морфотипов не обнаружено. **Заключение.** Полученные результаты продемонстрировали важную роль *K. pneumoniae* в этиологической структуре возбудителей ВП.

Ключевые слова: *Klebsiella pneumoniae*; гипермукоидные штаммы; классические штаммы; вирулентность; антибиотикорезистентность; фагочувствительность; чувствительность к дезинфектанту

Для цитирования: Анисимова А.С., Павлович Н.В., Аронова Н.В., Цимбалистова М.В., Гудуева Е.Н., Пасюкова Н.И., Теплякова Е.Д., Носков А. К. Биологические свойства и антибиотикорезистентность *Klebsiella pneumoniae* и её роль в этиологической структуре возбудителей внебольничных пневмоний. *Антибиотики и химиотер.* 2023; 68 (5–6): 11–18. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-5-6-11-18>.

Abstract

Background. In a novel coronavirus pandemic, the most common complications of viral pneumonia are secondary infections of bacterial and fungal etiology. At the same time, the spread of multidrug-resistant bacteria remains a global threat to public health. One of such microorganisms of the Enterobacteriaceae family is *Klebsiella pneumoniae*, which belongs to dangerous

© Коллектив авторов, 2023

*Адрес для корреспонденции: 117/40, ул. М. Горького, Ростовский-на-Дону противочумный институт, г. Ростов-на-Дону, Россия, 344002. E-mail: info@tularemia.ru

© Team of Authors, 2023

*Correspondence to: 117/40, M. Gorkogo st., Rostov-on-Don Plague Control Research Institute, Rostov-on-Don, 344002 Russia. E-mail: info@tularemia.ru

resistant pathogens of the ESKAPE group. *The aim of the study* was the comparative analysis of the biological properties of classical and hypermucoid strains of *K.pneumoniae* isolated from patients with community-acquired pneumonia (CAP): characterization of their sensitivity to antibacterial drugs, *Klebsiella* bacteriophage, and a disinfectant (polyhexamethylene guanidine hydrochloride), as well as assessment of the strains' virulence in the model of experimental infection in white mice. *Material and methods.* 56 strains of *Klebsiella* isolated in diagnostic quantities from patients' sputum samples were studied. Species identification of cultures was carried out using bacteriological and mass spectrometric methods. The sensitivity of bacteria to antibiotics, bacteriophage, and the disinfectant was determined in accordance with regulatory documents. *Results.* In the course of the study, 243 gram-negative cultures were isolated, of which 30% were bacteria of the genus *Klebsiella* spp. An analysis of their species composition showed that *K.pneumoniae* occupied a dominant place in the structure. Based on colony morphology, Burri-Gins smear staining, and a positive string test, 14 strains with a hypermucoid phenotype were identified. These strains differed from the classic *K.pneumoniae* strain by the presence of a thicker capsule in smears, virulence in white mice ($DCL \leq 10^3$ mc), and increased resistance to commercial *Klebsiella* bacteriophage. At the same time, they were characterized by a wider spectrum of sensitivity to antibiotics. There were no significant differences in sensitivity to the disinfectant in strains of both morphotypes. *Conclusion.* The results obtained demonstrated the important role of *K.pneumoniae* in the etiological structure of CAP pathogens.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*; hypermucoid strains; classic strains; virulence; antibiotic resistance; phagosensitivity; sensitivity to disinfectant

For citation: Anisimova A. S., Pavlovich N. V., Aronova N. V., Tsimbalistova M. V., Gudueva E. N., Pasyukova N. I., Teplyakova E. D., Noskov A. K. Biological properties and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* and its role in the etiological structure of community-acquired pneumonia pathogens. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2023; 68 (5–6): 11–18. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-5-6-11-18>.

Введение

В условиях пандемии новой коронавирусной инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2, вторичные инфекции (бактериальной и грибковой этиологии) являются наиболее частыми осложнениями вирусных пневмоний [1, 2].

Глобальную угрозу для здравоохранения представляет распространение бактерий семейства Enterobacteriaceae с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). К причинам появления подобных штаммов можно отнести широкое и во многих случаях бесконтрольное применение антибиотиков в медицине, сельском хозяйстве, животноводстве. Поэтому в феврале 2017 г. ВОЗ включила наиболее часто изолируемые антибиотикорезистентные виды некоторых инфекционных агентов в группу опасных резистентных ESKAPE-патогенов (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и другие представители рода *Enterobacter*), которые имеют критический приоритет и требуют разработки новых подходов к лечению [3–5].

K.pneumoniae представляет собой факультативно-анаэробный, грамотрицательный, неподвижный, покрытый капсулой микроорганизм. Клебсиеллы относятся к условно-патогенной микрофлоре человека, входят в состав микробиома, могут колонизировать носоглотку, слизистые мочеполовой системы и кожные покровы, они так же широко распространены в окружающей среде, способны контаминировать различные поверхности и объекты в лечебно-профилактических организациях (ЛПО) [6]. В то же время бактерии могут вызывать у людей развитие тяжёлых инфекций различных локализаций. Более того, из-за быстрого формирования высо-

кого уровня устойчивости к антибактериальным препаратам этот вид занимает лидирующее место среди возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) [7].

Согласно мнению некоторых авторов, *K.pneumoniae* является уникальным микроорганизмом, так как способен быстро и легко захватывать гены устойчивости к антибактериальным препаратам из микробных популяций окружающей среды. При этом он склонен передавать их другим клинически важным грамотрицательным бактериям [8].

В настоящее время штаммы *K.pneumoniae* условно делят на «классические» (сКР, classical *K.pneumoniae*) и «гипервирулентные» (hvКР, hypervirulent *K.pneumoniae*). Большинство инфекций, обусловленные сКР-штаммами, проявляют себя как оппортунистические, а появившиеся позднее hvКР-штаммы вызывают тяжёлые внебольничные инфекции не только в группах риска иммунокомпрометированных больных, но и у здоровых людей [3].

Известно, что сКР формируют типичные слизистые колонии, тогда как для hvКР характерен так называемый гипермукоидный фенотип, что рассматривается как ориентировочный признак гипервирулентного штамма. Считается, что именно гипермукоидные культуры обладают повышенной инвазивностью и более патогенны для организма хозяина [9–11].

Сегодня *K.pneumoniae* занимает лидирующее место в структуре бактериемий и пневмоний у пациентов, что диктует необходимость изучения роли этого микроорганизма в этиологической структуре агентов внебольничных (ВП) и внутрибольничных пневмоний с оценкой их антибиотикорезистентности, факторов патогенности, чувствительности к бактериофагам и дезинфектантам [12, 13]. Особую актуальность эта проблема приобретает в условиях

пандемии новой коронавирусной инфекции. Это и определило цель настоящего исследования.

Цель работы — сравнительный анализ биологических свойств классических и гипермукоидных штаммов *K.pneumoniae*, выделенных от пациентов с ВП: характеристика их чувствительности к антибактериальным препаратам, клебсиеллёзному бактериофагу, дезинфектанту (полигексаметиленгуанидин гидрохлорид) и оценка вирулентности штаммов на модели экспериментальной инфекции белых мышей.

Материал и методы

В период с 2020 по 2022 гг. на базе ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора было исследовано 1468 образцов мокроты от пациентов с внебольничной пневмонией.

Выделение клинически значимых возбудителей ВП проводили бактериологическим методом (посевы на различные питательные среды — МПА, Эндо и кровяной агары) в соответствии с МУК 4.2.3115-13 «Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний», МР 4.2.0114-16 «Лабораторная диагностика внебольничной пневмонии пневмококковой этиологии» [14, 15].

Для видовой идентификации выделенных штаммов применяли метод времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS) с использованием масс-спектрометра Autoflex speed III Bruker Daltonics (Германия) и программного обеспечения MALDI Biotyper. Показатели полученных масс-спектров сравнивали с базой данных компании Bruker версия 3.1.66 (Bruker Daltonics, Германия) и оценивали как высокую вероятность видовой идентификации при значении Score 2,0–2,3. Подготовку образцов для масс-спектрометрии выполняли методом прямого нанесения материала на мишень в соответствии с МР 4.2.0089-14 «Использование метода времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-ToF MS) для индикации и идентификации возбудителей I-II групп патогенности» и МУ для работы на приборах серии flex компании Bruker Daltonics «Прямое белковое профилирование», 2010 г. [16, 17].

Диагностически значимыми считали микроорганизмы, выделенные из мокроты, в количестве $\geq 10^5$ КОЕ/мл. Гипермукоидные штаммы идентифицировали по морфологии колоний (слизисто-вязкая консистенция), микроскопии с помощью окраски мазков по Бурри-Гинсу (толщина капсулы) и «стринг-тесту» [18]. Результат оценивали как положительный при условии, если длина нити, тянущейся за бактериологической петлёй от агаровой поверхности, составляла ≥ 5 мм.

Вирулентность отобранных штаммов оценивали на модели экспериментальной инфекции белых мышей при внутрибрюшинном заражении в дозе 10^3 КОЕ/животное и 10^5 КОЕ/животное (по 4 мыши на каждую концентрацию). Вирулентность оценивали по степени гибели животных. В случае гибели от заражающей дозы 10^3 КОЕ/животное культуру рассматривали как вирулентную, а при отсутствии гибели от заражающей дозы 10^5 КОЕ/животное — как слабовирулентную (авирулентную). Протокол работы с животными одобрен комиссией по биоэтике ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора (протокол №14 от 08.12.2022 г.).

С помощью диско-диффузионного метода для всех изолятов определяли их антибиотикорезистентность с оценкой чувствительности в соответствии с критериями EUCAST v. 12.0 и инструкциями производителей к следующим группам антибиотиков: пенициллины (ампициллин), цефалоспорины (цефотаксим, цефтазидим), макролиды (азитромицин), ами-

ногликозиды (гентамицин, амикацин), карбапенемы (имипенем, меропенем), фторхинолоны (левофлоксацин), защищённые бета-лактамы (амоксиклав/клавуланат, цефоперазон/сульбактам) [19].

Изучение спектра литической активности к коммерческому клебсиеллёзному бактериофагу (производства Микроген) выполняли прямым методом нанесения капли бактериофага на посев исследуемой культуры (10^8 КОЕ/мл), согласно Федеральным клиническим рекомендациям «Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике» [20].

Чувствительность к дезинфицирующему средству — полигексаметиленгуанидин гидрохлорид — у гипермукоидных и классических штаммов определяли методом серийных разведений в агаре, согласно Р 4.2.3676-20 «Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности» [21].

Сравнительный анализ проводили с помощью точного критерия Фишера. Достоверными считали различия при $p < 0,05$ [22].

Результаты и обсуждение

В результате проведённого исследования было изолировано 243 грамотрицательных микроорганизма из клинических образцов мокроты от больных с ВП ($n=1468$). При этом установлено, что доминирующее место в структуре занимали бактерии рода *Klebsiella* spp. (30%). Анализ видового состава штаммов клебсиелл показал, что наибольший процент приходился на *K.pneumoniae* (89%), тогда как другие виды (*K.oxytoca*, *K.ornithinolytica*) составляли 11%.

Для дальнейшей работы была создана коллекция, состоящая из 50 клинических штаммов *K.pneumoniae*, изолированных в диагностических количествах.

На основании сравнительного изучения штаммов по морфологии роста на питательных средах нами были определены 14 культур слизистой консистенции, которые давали положительный «стринг-тест» (длина нити 5–100 мм). При микроскопии препаратов, окрашенных по методу Бурри-Гинса, чётко визуализировались неокрашенные капсулы, внутри которых находились бактерии ярко-розового цвета. В отличие от остальных культур, отобранные 14 штаммов имели более толстые капсулы (рис. 1).

Полученные данные — морфология колоний, положительный «стринг-тест» и утолщённая капсула — позволили нам рассматривать эти штаммы как гипермукоидные варианты (ГМ), а остальные как классические (Кл).

Следующий этап нашей работы включал оценку вирулентности отобранных штаммов на модели экспериментальной инфекции белых мышей. Результаты суммированы в табл. 1.

В отличие от классических вариантов, большинство (71%) гипермукоидных штаммов обладали достоверно более высокой вирулентностью ($DCL \leq 10^3$ м. кл.) для белых мышей ($p < 0,05$). Это может быть обусловлено повышенной продук-

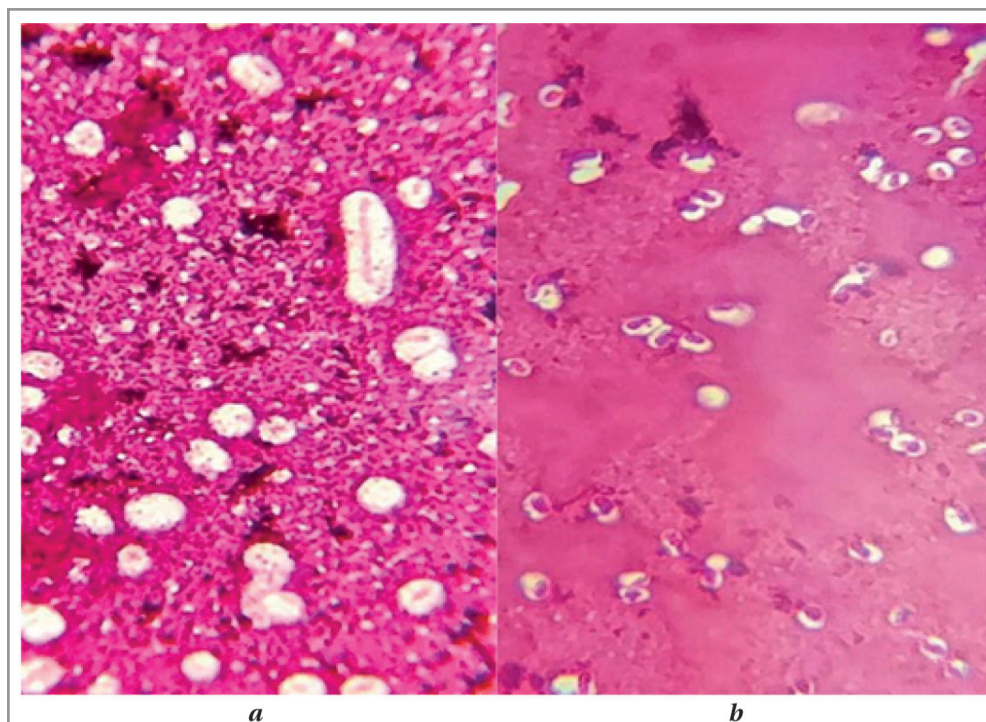


Рис. 1. Результат окраски культур по методу Бурри-Гинса (*a* — гипермукоидный морфотип; *b* — классический морфотип).

Fig. 1. The result of culture staining according to the Burry-Gins method (*a* — hypermucoid morphotype; *b* — classic morphotype)

цией капсульных полисахаридов. Наши данные согласуются с результатами других авторов о значительной роли капсулы клебсиелл в развитии инфекционного процесса [23]. Напротив, в группе классических морфовариантов DCL превышала $>10^5$ м. кл., что позволяет рассматривать эти штаммы как слабовирулентные (авирулентные). При этом 2 гипермукоидных штамма были авирулентны ($DCL > 10^5$ м. кл.), что подтверждает известный факт об отсутствии прямой

чувствительностью к этим группам антибиотиков. Статистическая обработка полученных данных не выявила достоверную разницу в чувствительности к антибактериальным препаратам ($p > 0,05$), но тем не менее имеется общая тенденция к большей устойчивости классических вариантов по сравнению с гипермукоидными.

Особого внимания заслуживает то, что в обеих группах клебсиелл были выявлены штаммы, обладающие панрезистентностью. Так, группа класси-

корреляции между гипермукоидностью и гипервирулентностью [3, 24].

Важным практическим разделом исследования было определение резистентности выделенных культур к антибактериальным препаратам (рис. 2).

Как оказалось, наибольшую устойчивость (60–100%) штаммы обоих морфотипов проявляли к пенициллинам, цефалоспорином и амоксициклину. Макролиды и фторхинолоны проявляли активность в отношении 50–60% гипермукоидных культур, в то время как в группе классических вариантов только 30% характеризовались

Таблица 1. Оценка вирулентности штаммов *K.pneumoniae* разных морфотипов
Table 1. Virulence assessment of *K.pneumoniae* strains of different morphotypes

Штаммы <i>K.pneumoniae</i>	Фенотип	Streeng-тест	% павших животных	Вирулентность для белых мышей, (м. кл.)	Средняя продолжительность жизни, (дни)
Е 4024	ГМ	10–15мм	100	$DCL \leq 10^3$	4,2
И 9932	ГМ	10–100мм	100	$DCL \leq 10^3$	3,5
И 9939	ГМ	10–100мм	100	$DCL \leq 10^3$	2,0
И 6865	ГМ	10 мм	100	$DCL \leq 10^3$	9,3
И 9537	ГМ	7–10мм	100	$DCL \leq 10^3$	4,5
И 7762 р	ГМ	5–7мм	0	$DCL \geq 10^5$	Н/о*
44716	ГМ	5–7мм	0	$DCL \geq 10^5$	Н/о*
И 7766	Кл	0	0	$DCL \geq 10^5$	Н/о*
К 203	Кл	0	0	$DCL \geq 10^5$	Н/о*
И 7498	Кл	0	0	$DCL \geq 10^5$	Н/о*
И 7762 кр	Кл	0	0	$DCL \geq 10^5$	Н/о*
И 9941	Кл	0	0	$DCL \geq 10^5$	Н/о*

Примечание. *Н/о — не определяется (все взятые в эксперимент животные не пали в течение срока наблюдения).

Note. *Н/о — not applicable (all animals included in the experiment survived during the observation period).

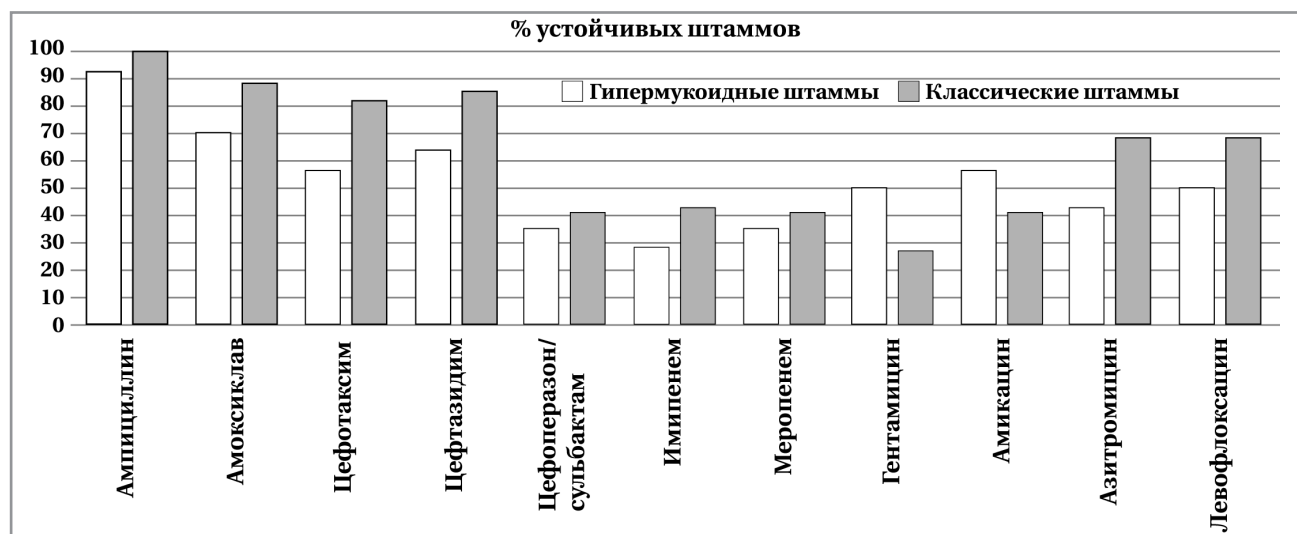


Рис. 2. Результаты оценки антибиотикорезистентности гипермукоидных и классических штаммов *K. pneumoniae*.
Fig. 2. The results of antibiotic resistance assesment of hypermucoid and classic *K. pneumoniae* strains.

ческих вариантов характеризовалась достоверно большим количеством штаммов (75%), имеющих 5 и более маркеров резистентности, в то время как у изолятов с гипермукоидным фенотипом такие штаммы составляли 43% ($p < 0,05$).

Частота выделения штаммов, устойчивых к аминогликозидам, карбапенемам и цефоперазону/сульбактаму в обеих группах составляла 28–50%, что позволяет рассматривать эти антибиотики как препараты выбора при лечении клебсиеллёзной инфекции.

Интересно, что при высокой вирулентности гипермукоидные штаммы *K. pneumoniae* имели меньшее количество маркеров резистентности по сравнению с бактериями классического морфотипа. В частности, среди гипермукоидных культур мы выявили большее количество чувствительных штаммов к макролидам, карбапенемам и цефоперазону/сульбактаму. В то же время они были более резистентны к группе аминогликозидов.

По мнению некоторых исследователей, большая чувствительность гипермукоидных штаммов к антибиотикам обусловлена наличием толстой капсулы, которая может служить физическим барьером и ограничивать горизонтальный перенос генов устойчивости [25]. В то же время появляются сведения о нарастающей резистентности подобных штаммов, что является серьёзной

проблемой для здравоохранения и создаёт риск возникновения внутрибольничной инфекции [3]. Следовательно, выбор наиболее адекватной схемы лечения этой инфекционной патологии представляет серьёзную проблему и диктует целесообразность постоянного микробиологического мониторинга больных в течение всего инфекционного процесса.

В настоящее время ведутся интенсивные исследования по поиску и разработке альтернативных методов борьбы с полиантибиотикорезистентными патогенами. Одним из подходов к решению этой задачи может быть применение фаготерапии. Поэтому в последние годы подобным вопросам в отношении различных микроорганизмов уделяется пристальное внимание.

Изучение фагочувствительности штаммов нашей коллекции к клебсиеллёзному бактериофагу показало достоверную разницу в том, что большинство выделенных гипермукоидных вариантов были устойчивы к действию клебсиеллёзного бактериофага ($p < 0,05$). В противоположность этому в группе классического морфотипа не выявлено достоверных отличий в частоте изоляции фагочувствительных и фагоустойчивых штаммов (табл. 2).

Нельзя исключить, что именно более мощная капсула микроорганизма затрудняет доступ бак-

Таблица 2. Результаты оценки чувствительности/устойчивости к коммерческому клебсиеллёзному бактериофагу и полигексаметилгуанидин гидрохлориду
Table 2. Results of evaluation of sensitivity/resistance to commercial Klebsiella bacteriophage and polyhexamethylguanidine hydrochloride

Штаммы <i>K. pneumoniae</i>	Количество	Чувствительность/устойчивость к бактериофагу		Чувствительность к полигексаметилгуанидин гидрохлориду (МПК), %
		чувствительные, (абс. ч.)	устойчивые, (абс. ч.)	
Гипермукоидные	14	4	10	0,01
Классические	36	20	16	0,01

териофага к чувствительным рецепторам бактериальной клетки. Полученные нами результаты несколько противоречат сведениям некоторых авторов, установивших повышенную фагочувствительность гипермукоидных вариантов по сравнению со штаммами классического морфотипа [26]. Логично предположить, что выявленные противоречия могут быть обусловлены межштаммовыми различиями и требуют более углубленного изучения. Таким образом, при назначении бактериофагов в качестве дополнительного ресурса этиотропной антимикробной терапии необходимой, по-нашему мнению, является оценка индивидуальной фагочувствительности конкретного возбудителя.

Одной из важных характеристик МЛУ-бактерий, знание которой необходимо для предотвращения распространения внутрибольничных инфекций, является их чувствительность/устойчивость к дезинфектантам. Кроме того, имеются сведения о более высокой устойчивости подобных возбудителей к дезинфицирующим средствам [27]. При сравнительном изучении гипермукоидных и классических морфовариантов клебсиелл нам не удалось выявить достоверных различий в их чувствительности к дезинфектанту полигексаметилгуанидин гидрохлориду. Не обнаружены также достоверные различия между штаммами с максимальным и минимальным количеством маркеров резистентности к антибиотикам. Так, МПК для всех исследуемых культур составляла 0,01%, что соответствует регламентируемым концентрациям для эффективной обработки поверхностей и объектов ЛПО (см. табл. 2).

Выводы

1. Полученные результаты демонстрируют, что в этиологической структуре внебольничных пневмоний среди семейства Enterobacteriaceae доминирующее место занимает *K.pneumoniae* (30%).

Литература/References

1. Giacobbè D.R., Battaglini D., Ball L., Brunetti I., Bruzone B., Codda G. et al. Bloodstream infections in critically ill patients with COVID-19. Eur J Clin Invest. 2020; 50 (10): e13319. doi: 10.1111/eci.13319.
2. Filippo O., D'Ascenzo E., Angelini E., Bocchino P.P., Conrotto F., Saglietto A. et al. Reduced rate of hospital admissions for ACS during Covid-19 outbreak in Northern Italy. N Engl J Med. 2020; 383 (1): 88–89. doi: 10.1056/NEJMc2009166.
3. Комисарова Е.В., Воложанцев Н.В. Гипервирулентная *Klebsiella pneumoniae* — новая инфекционная угроза. Инфекционные болезни. 2019; 17 (3): 81–89. doi: https://doi.org/10.20953/1729-9225-2019-3-81-89. [Komisarova E.V., Volozhantsev N.V. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: a new infectious threat. Infekc Bolezni = Infectious Diseases. 2019; 17(3): 81–89. doi: https://doi.org/10.20953/1729-9225-2019-3-81-89. (in Russian)]
4. World Health Organization. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. 2017 Feb 27. Available at: <http://www.who.int/en/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed> Accessed 2019 Aug 14.
5. Фесенко О.В., Швайко С.Н. Пневмонии, вызванные *Klebsiella pneumoniae* (фридлендеровские пневмонии). Практическая пульмо-

2. Большинство гипермукоидных изолятов (71%) обладали высокой вирулентностью для белых мышей ($DCL \leq 10^3$ м. кл.), тогда как 100% классических морфовариантов не вызывали гибель животных даже в дозе 10^5 м. кл., что позволяет рассматривать эти штаммы как слабовирулентные (авирулентные).

3. Большинство штаммов обоих морфотипов были резистентны к ампициллину, амоксиклаву, цефотаксиму и цефтазидиму (60–100%). Однако группа гипермукоидных вариантов характеризовалась меньшим количеством маркеров резистентности. Так, частота выделения штаммов, устойчивых к карбапенемам и цефоперазону/сульбактаму составляла 29–42%. Следовательно, среди изученных антибиотиков карбапенемы, аминогликозиды и цефоперазон/сульбактам могут рассматриваться в качестве препаратов выбора при назначении лечения *ex juvantibus* при клебсиеллезной пневмонии до определения антибиотикограммы возбудителя.

4. Изучение фагочувствительности выделенных штаммов к клебсиеллезному бактериофагу достоверно показало, что большинство выделенных гипермукоидных вариантов были устойчивы к действию клебсиеллезного бактериофага.

5. Сравнительное изучение бактерицидной активности к дезинфицирующему средству полигексаметилгуанидин гидрохлориду не выявило достоверных различий в чувствительности у гипермукоидных и классических полиантибиотикорезистентных штаммов.

Дополнительная информация

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

6. Фесенко О.В., Швайко С.Н. Пневмонии, вызванные *Klebsiella pneumoniae* (фридлендеровские пневмонии). Практическая пульмонология. 2019; 1: 22–31. [Fesenko O.V., Shvaiko S.N. Pnevmonii, vyzvannye *Klebsiella pneumoniae* (fridlenderovskie pnevmonii). Prakticheskaya Pul'monologiya. 2019; 1: 22–31. (in Russian)]
7. Podschun R., Ullmann U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clin Microbiol Rev. 1998; 11 (4): 589–603. doi: 10.1128/CMR.11.4.589.
8. Lev A.I., Astashkin E.I., Kislichkina A.A., Solovieva E.V., Kombarova T.I., Korobova O.V. et al. Comparative analysis of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in 2012–2016 that differ by antibiotic resistance genes and virulence genes profiles. Pathog Glob Health. 2018; 112 (3): 142–151. doi: 10.1080/20477724.2018.1460949.
9. Wyres K.L., Holt K.E. *Klebsiella pneumoniae* as a key trafficker of drug resistance genes from environmental to clinically important bacteria. Curr Opin Microbiol. 2018; 45: 131–139. doi: 10.1016/j.mib.2018.04.004.
10. Catalan-Najera J.C., Garza-Ramos U., Barrios-Camacho H. Hypervirulence and hypermucoviscosity: two different but complementary *Klebsiella* spp. Phenotypes ? Virulence. 2017; 8 (7): 1111–1123. doi: 10.1080/21505594.2017.1317412.
11. Khaertynov K.S., Anokhin V.A., Davidyuk Y.N., Nicolaeva I.V., Khalioullina S.V., Semynova D.R. et al. Case of meningitis in a neonate caused by an extended-spectrum-beta-lactamase-producing strain of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. Front Microbiol. 2017; 8: 1576. doi: 10.3389/fmicb.2017.01576.

11. Шамина О.В., Самойлова Е.А., Новикова И.Е., Лазарева А.В. *Klebsiella pneumoniae*: микробиологическая характеристика, антибиотикорезистентность и вирулентность. Российский педиатрический журнал. 2020; 23 (3): 191–197. doi: <http://dx.doi.org/10.18821/1560-9561-2020-23-3-191-197>. [Shamina O.V., Samoylova E.A., Novikova I.E., Lazareva A.V. *Klebsiella pneumoniae*: microbiological characterization, antimicrobial resistance, and virulence. Rossiyskiy Pediatricheskiy Zhurnal (Russian Pediatric Journal). 2020; 23 (3): 191–197. doi: <http://dx.doi.org/10.18821/1560-9561-2020-23-3-191-197>. (in Russian)]
12. Малыгин А.С., Андреев С.С., Царенко С.В., Петрушин М.А. Антибиотикорезистентность изолятов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из крови больных COVID-19. Медицина. 2021; 2: 63–74. doi: <https://doi.org/10.29234/2308-9113-2021-9-2-63-74>. [Malygin A.S., Andreev S.S., Tsarenko S.V., Petrushin M.A. Antibiotikorezistentnost' izolyatov *Klebsiella pneumoniae*, vydelennykh iz krovi bol'nykh COVID-19. Meditsina. 2021; 2: 63–74. doi: <https://doi.org/10.29234/2308-9113-2021-9-2-63-74>. (in Russian)]
13. Максимова Е.А., Козлов А.В., Лямин А.В., Жестков А.В., Гусякова О.А., Золотов М.О. Микрофлора мокроты и аутопсийного материала пациентов с COVID-19. Клиническая лабораторная диагностика. 2022; 67 (6): 380–384. doi: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-6-380-384>. [Maksimova E.A., Kozlov A.V., Lyamin A.V., Zhestkov A.V., Gusyakova O.A., Zolotov M.O. Microflora of sputum and autopsy material of patients with COVID-19. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics. 2022; 67 (6): 380–384. doi: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-6-380-384>. (in Russian)]
14. Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний: Методические указания МУК 4.2.3115-13. М.: 2013. [Laboratornaya diagnostika vnebol'nichnykh pnevmonii: Metodicheskie ukazaniya MUK 4.2.3115-13. Moscow: 2013. (in Russian)]
15. Лабораторная диагностика внебольничной пневмонии пневмококковой этиологии: Методические рекомендации МР 4.2.0114-16. М.: 2016. [Laboratornaya diagnostika vnebol'nichnoi pnevmonii pnevmokokkovoi etiologii: Metodicheskie rekomendatsii MR 4.2.0114-16. Moscow: 2016. (in Russian)]
16. Использование метода времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-ToF MS) для индикации и идентификации возбудителей I–II групп патогенности: Методические рекомендации МР 4.2.0089-14. М.: 2015. [Ispol'zovanie metoda vremyaproletnoi mass-spektrometrii s matrichno-aktivirovannoi lazernoi desorbtsei/ionizatsiei (MALDI-ToF MS) dlya indikatsii i identifikatsii vzbuditelei I–II grupp patogennosti: Metodicheskie rekomendatsii MR 4.2.0089-14. Moscow: 2015. (in Russian)]
17. Прямое белковое профилирование: Методические указания МУ для работы на приборах серии flex компании Bruker Daltonics. 2010. [Pryamoe belkovoe profilirovanie: Metodicheskie ukazaniya MU dlya raboty na priborakh serii flex kompanii Bruker Daltonics. 2010. (in Russian)]
18. Guo Y, Wang S, Zhan L, Jin Y, Duan J, Hao Z. et al. Microbiological and clinical characteristics of hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* isolates associated with invasive infections in China. Front Cell Infect Microbiol. 2017; 7: 24. doi: 10.3389/fcimb.2017.00024.
19. European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 12.0, 2022. https://www.eucast.org/clinical_breakpoints/
20. Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике: Федеральные клинические рекомендации. М.: 2014. [Ratsional'noe primenenie bakteriofagov v lechebnoi i protivoepidemicheskoi praktike: Federal'nye klinicheskie rekomendatsii. Moscow: 2014. (in Russian)]
21. Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности: Руководство Р 4.2.3676-20. М.: 2020. [Metody laboratornykh issledovaniy i ispytaniy dezinfektsionnykh sredstv dlya otsenki ikh effektivnosti i bezopasnosti: Rukovodstvo R 4.2.3676-20. Moscow: 2020. (in Russian)]
22. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. М.: Практика, 1998; 459. [Glancs S. Mediko-biologicheskaya statistika. Per. s angl. Moscow: Praktika, 1998; 459.]
23. Чеботарь И.В., Боcharова Ю.А., Подопригора И.В., Шагин Д.А. Почему *Klebsiella pneumoniae* становится лидирующим оппортунистическим патогеном. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2020; 22 (1): 4–19. doi: <https://doi.org/10.36488/cmasc.2020.1.4-19>. [Chebotar' I.V., Bocharova Yu.A., Podoprighora I.V., Shagin D.A. Pochemu *Klebsiella pneumoniae* stanovitsya lideruyushchim opportunistsicheskim patogenom. Klinicheskaya Mikrobiologiya i Antimikrobnaya Khimioterapiya. 2020; 22 (1): 4–19.]
24. Choby J.E., Howard-Anderson J, Weiss D.S. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* — clinical and molecular perspectives. J Intern Med. 2020; 287 (3): 283–300. doi: 10.1111/joim.13007.
25. Zhu J, Wang T, Chen L, Du H. Virulence Factors in Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. Front. Microbiol. 2021; 12:642484. doi: 10.3389/fmicb.2021.642484.
26. Козлова А.И., Топальский Д.В. Чувствительность к антибиотикам и бактериофагам клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae* с классическим и гипермукоидным фенотипами. Военная медицина. 2019; 1: 44–48. [Kozlova A.I., Topalskiy D.V. Chuvstvitel'nost' k antibiotikam i bakteriofagam klinicheskikh izolyatov *Klebsiella pneumoniae* s klassicheskimi i gipermukoidnym fenotipami. Voennaya Meditsina. 2019; 1: 44–48. (in Russian)]
27. Ясковая О.А. Практическое применение результатов исследования устойчивости микроорганизмов к дезинфицирующим средствам при проведении микробиологического мониторинга в хирургическом стационаре. МедиАль. 2018; 2: 21–24. [Yaskovaya O.A. Prakticheskoe primenenie rezul'tatov issledovaniya ustoychivosti mikroorganizmov k dezinfitsiruyushchim sredstvam pri provedenii mikrobiologicheskogo monitoringa v khirurgicheskom statsionare. MediAl'. 2018; 2: 21–24. (in Russian)]

Информация об авторах

Анисимова Анастасия Сергеевна — младший научный сотрудник лаборатории природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID ID: 0000-0002-4010-2138

Павлович Наталья Владимировна — д.м.н., главный научный сотрудник, и.о. начальника отдела природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID ID: 0000-0001-8287-4294

Аронова Надежда Валентиновна — к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID ID: 0000-0002-7772-9276

Цимбалистова Марина Викторовна — к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID ID: 0000-0002-4091-649X

Гудуева Елена Николаевна — младший научный сотрудник лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID ID: 0000-0002-6114-9891

About the authors

Anastasia S. Anisimova — Junior Researcher at the Laboratory of Natural Focal and Zoonotic Infections of the Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: 0000-0002-4010-2138

Natalia V. Pavlovich — D. Sc. in Medicine, Chief Researcher, Acting Head of the Department of Natural Focal and Zoonotic Infections of the Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: 0000-0001-8287-4294

Nadezhda V. Aronova — Ph. D. in Biology, Senior Researcher at the Laboratory of Natural Focal and Zoonotic Infections of the Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: 0000-0002-7772-9276

Marina V. Tsimbalistova — Ph. D. in Medicine, Senior Researcher at the Laboratory of Natural Focal and Zoonotic Infections of the Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: 0000-0002-4091-649X

Elena N. Gudueva — Junior Researcher at the laboratory «Collection of Pathogenic Microorganisms» of the Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: 0000-0002-6114-9891

Пасюкова Нина Ивановна — научный сотрудник лаборатории экспериментально-биологических моделей и биологической безопасности ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID ID: 0000-0002-1525-5693

Теплякова Елена Дмитриевна — д. м. н., первый заместитель МЗ РО, профессор кафедры детских болезней ФГБОУ ВО РостГМУ, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID ID: 0000-0002-3585-7026

Носков Алексей Кимович — к. м. н., директор ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID ID: 0000-0003-0550-2221

Nina I. Pasyukova — Researcher at the Laboratory of Experimental Biological Models and Biological Safety of the Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: 0000-0002-1525-5693

Elena D. Teplyakova — First Deputy of the Ministry of Health of the Russian Academy of Sciences, Professor of the Department of Children's Diseases of the Federal State Budgetary Educational Institution of the Russian State Medical University, Doctor of Medical Sciences, Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: 0000-0002-3585-7026

Aleksey K. Noskov — Ph. D. in Medicine, Director of the Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russia. ORCID ID: 0000-0003-0550-2221