

Чувствительность штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных от больных COVID-19, к коммерчески доступным препаратам бактериофагов

Б. И. АСЛАНОВ¹, *А. Е. ГОНЧАРОВ^{2,1}, С. Д. КОНЕВ^{1,3}, А. С. МОХОВ¹,
Д. В. АЗАРОВ^{2,1}, Е. А. ЛЕБЕДЕВА¹, А. В. КУЛЕШОВА⁴, В. В. КОЛОДЖИЕВА¹,
Е. Н. КОЛОСОВСКАЯ¹, А. М. НИФОНТОВА⁵, Д. А. ЛИОЗНОВ^{5,6}

¹ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

² Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

³ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

⁵ ФГБУ «НИИ гриппа им. А. А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

⁶ ФГБОУ ВО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И. П. Павлова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Резюме

Актуальность. Суперинфекция, обусловленная *Klebsiella pneumoniae*, занимает лидирующие позиции в структуре бактериальных осложнений у больных COVID-19. Интенсивная циркуляция клебсиелл в условиях специализированных стационаров способствовала закреплению наиболее клинически и эпидемически значимых штаммов данного возбудителя, в частности представителей гипервирулентных и карбапенеморезистентных клональных линий, не теряющих актуальности и в постпандемический период. Применение бактериофагов в качестве лечебных и противозидемических средств представляется обоснованным с учётом широкого распространения мультиантибиотикорезистентных штаммов *K. pneumoniae*. **Цель исследования.** Оценка чувствительности штаммов *K. pneumoniae*, ассоциированных с нозокомиальными инфекциями у больных COVID-19, к поливалентным препаратам бактериофагов. **Материал и методы.** В исследование были включены 96 неповторяющихся штаммов *K. pneumoniae*, выделенных в период с мая 2020 г. по январь 2021 г. из клинического материала больных тяжёлыми и среднетяжёлыми формами COVID-19, поступивших в крупный стационар г. Санкт-Петербурга. Оценку чувствительности клинических штаммов к бактериофагам проводили методом спот-теста. Для тестирования использовали коммерчески доступные препараты бактериофагов: полибактериофаг поливалентный очищенный, секстафаг и полибактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный. Для выявления вероятных механизмов фагорезистентности госпитальных штаммов *K. pneumoniae* были изучены нуклеотидные последовательности генома 6 штаммов данного возбудителя, отнесённых к доминирующим в стационаре генетическим линиям ST3, ST39, ST307, ST395, ST874. **Результаты.** Отрицательные результаты спот-тестов наблюдали в 32,29% (95% ДИ=23,8–42,2) случаев. Доля пациентов, в отношении которых могла быть применена фаготерапия, составила 49% (95% ДИ=39,2–58,8). В структуре геномов изученных штаммов идентифицированы потенциально ассоциированные с резистентностью к бактериофагам CRISPR-Cas локусы 1 класса субтипов IV-A3 и I-E, а также ряд профаговых последовательностей. **Заключение.** В исследовании продемонстрирована невысокая активность поливалентных бактериофаговых препаратов в отношении штаммов *K. pneumoniae*, вызывающих нозокомиальные инфекции у больных COVID-19. Расширение возможностей фаготерапии клебсиеллёзных инфекций может быть реализовано за счёт увеличения разнообразия штаммов бактериофагов, активных в отношении эпидемически актуальных клонов *K. pneumoniae*. Рациональное применение, включающее данные бактериофаги, возможно в рамках персонализированной фаготерапии.

Ключевые слова: *Klebsiella pneumoniae*; фаготерапия; COVID-19; чувствительность к бактериофагам; спот-тест

Для цитирования: Асланов Б. И., Гончаров А. Е., Конев С. Д., Мохов А. С., Азаров Д. В., Лебедева Е. А., Коледжиева В. В., Колосовская Е. Н., Нифонтова А. М., Лиознов Д. А. Чувствительность штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных от больных COVID-19, к коммерчески доступным препаратам бактериофагов. *Антибиотики и химиотерапия*. 2024; 69 (11–12): 59–66. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-11-12-59-66>. EDN: LKBMNT.

The Susceptibility of *Klebsiella Pneumoniae* Strains Isolated from COVID-19 Patients to Commercially Available Bacteriophage Medications

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: phage1@yandex.ru



*Correspondence to:
E-mail: phage1@yandex.ru

EDN: LKBMNT



BATYRBEK I. ASLANOV¹, ARTEMIY E. GONCHAROV^{2,1}, SERGEI D. KONEV^{1,3},
ALEXEY S. MOCHOV¹, DANIIL V. AZAROV^{2,1}, EKATERINA A. LEBEDEVA¹,
ALYONA V. KULESHOVA⁴, VIKTORIA V. KOLODZHIEVA¹, ELENA N. KOLOSOVSKAYA¹,
ANNA M. NIFONTOVA⁵, DMITRY A. LIOZNOV^{5,6}

¹ North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia

² Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

³ Saint-Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

⁴ Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Saint Petersburg, Russia

⁵ Smorodintsev Research Institute of Influenza, Saint Petersburg, Russia

⁶ Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia

Abstract

Background. Superinfection caused by *Klebsiella pneumoniae* occupies a leading position in the structure of bacterial complications in COVID-19 patients. The intensive circulation of *Klebsiella* in specialised hospitals has contributed to the consolidation of the most clinically and epidemiologically important strains of this pathogen, in particular, representatives of hypervirulent and carbapenem-resistant clonal lines, which have not lost their relevance even in the post-pandemic period. The use of bacteriophages as therapeutic and anti-epidemic agents seems justified given the widespread use of multidrug-resistant strains of *K. pneumoniae*. **Aim of the study.** To evaluate the susceptibility of *K. pneumoniae* strains associated with nosocomial infections in patients with COVID-19 to polyvalent bacteriophage medications. **Materials and methods.** The study included 96 non-repeating *K. pneumoniae* strains isolated from clinical material of patients admitted to a major hospital in St. Petersburg with severe and moderate forms of COVID-19 from May 2020 to January 2021. The susceptibility of clinical strains to bacteriophages was assessed using the spot test analysis. Commercially available bacteriophage preparations used for testing included the following: purified polyvalent pyobacteriophage, sextaphage, and purified polyvalent *Klebsiella* pyo-bacteriophage. In order to identify the probable mechanisms of resistance of hospital strains of *K. pneumoniae*, the nucleotide sequences of the genomes of 6 strains of this pathogen belonging to the dominant hospital genetic lines ST3, ST39, ST307, ST395, ST874 were studied. **Results.** Negative results of spot tests were observed in 32.29% (95% CI=23.8–42.2) of cases; in general, the proportion of patients eligible for treatment with phage therapy was 49% (95% CI=39.2–58.8). Loci of class 1 subtypes IV-A3 and I-E, potentially associated with resistance to CRISPR-Cas, were identified in the genome structure of the studied strains, as well as a number of prophage sequences potentially associated with resistance to bacteriophages. **Conclusion.** The study demonstrated low activity of polyvalent bacteriophage medications against *K. pneumoniae* strains causing nosocomial infections in patients with COVID-19. Increasing the diversity of bacteriophage strains active against epidemiologically relevant *K. pneumoniae* clones can expand the possibilities of phage therapy for *Klebsiella* infections. The rational use of medications containing these bacteriophages is possible within the paradigm of personalised phage therapy.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*; phage therapy; COVID-19; sensitivity to bacteriophages; spot test

For citation: Aslanov B. I., Goncharov A. E., Konev S. D., Mochov A. S., Azarov D. V., Lebedeva E. A., Kuleshova A. V., Kolodzhieva V. V., Kolosovskaya E. N., Nifontova A. M., Lioznov D. A. The susceptibility of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from COVID-19 patients to commercially available bacteriophage medications. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2024; 69 (11–12): 59–66. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-11-12-59-66>. EDN: LKBMNT. (in Russian)

Введение

Бактериальная суперинфекция является одним из наиболее значимых с клинических и эпидемиологических позиций осложнением COVID-19, обуславливая до 50% внутрибольничной летальности в специализированных стационарах [1]. Из числа возбудителей бактериальных инфекций, осложняющих течение COVID-19, лидирующие позиции занимает *Klebsiella pneumoniae* [2].

Широкое распространение в медицинских организациях, в том числе оказывающих помощь больным COVID-19, приобрели карбапенеморезистентные штаммы *Klebsiella pneumoniae* (CRKP). Так, например, частота колонизации ими пациентов в российских специализированных стационарах на пике пандемии достигала 24% [3]. Кроме того, показано, что в стационарах, предназначенных для лечения COVID-19, эпидемический процесс инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), характеризуется высокой частотой экзогенного (перекрёстного) инфицирования пациентов мультирезистентными штам-

мами клебсиелл, что определяет невысокую степень генетического разнообразия госпитальных популяций данного возбудителя [4].

Вследствие длительной циркуляции *K. pneumoniae* в госпитальных условиях произошло закрепление наиболее клинически и эпидемически значимых клональных линий CRKP, к числу которых относятся гипervирулентные штаммы сиквенс-типов ST395, ST23, ST147 [5]. Данные генетические линии сохраняют свою эпидемическую актуальность и в постпандемический период, циркулируя как в западно-европейских, так и в российских стационарах [6, 7].

В условиях распространения в стационарах ограниченного числа эпидемических клонов, характеризующихся множественной лекарственной устойчивостью представляется привлекательным применение бактериофагов как в качестве лечебных, так и противовирусных средств [8]. Однако, эффективность применения бактериофагов для контроля распространения возбудителей ИСМП зависит от ряда условий и в первую оче-

Таблица 1. Характеристика секвенированных штаммов *K. pneumoniae*Table 1. Characteristics of sequenced *K. pneumoniae* strains

№ штамма	ST	Гены карбапенемаз	Номер доступа GenBank
5232	23	—	GCA_019391975.1
5216	39	—	GCA_019391995.1
4954	307	—	GCA_019392015.1
4893	395	BlaNDM-1, blaOXA-48	GCA_019392075.1
4774	874	—	GCA_019392135.1
5085	395	BlaNDM-1, blaOXA-48	GCA_019392005.1

редь определяется чувствительностью бактерий к вирусам, входящим в состав препарата. В то же время имеется лишь ограниченное число наблюдений, направленных на изучение чувствительности к терапевтическим бактериофаговым препаратам штаммов *K. pneumoniae*, получившим распространение в период пандемии COVID-19.

Цель исследования — оценка чувствительности штаммов *K. pneumoniae*, ассоциированных с нозокомиальными инфекциями у больных с COVID-19, к поливалентным препаратам бактериофагов.

Материал и методы

В исследование были включены штаммы *K. pneumoniae*, выделенные в период с мая 2020 г. по январь 2021 г. из клинического материала (мокрота, бронхоальвеолярный лаваж, трахеальные аспираты) взрослых больных тяжёлыми и среднетяжёлыми формами COVID-19, поступивших в крупный стационар г. Санкт-Петербурга (коды МКБ U07.1, U07.2). Для оценки чувствительности к препаратам бактериофагов были отобраны неповторяющиеся изоляты, выделенные не ранее чем через 48 ч пребывания пациентов в стационаре.

В общей сложности в исследование было включено 96 штаммов клебсиелл, в том числе 44 карбапенеморезистентных клебсиелл (CRE) и 27 штаммов — продуцентов бета-лактамаз с расширенным спектром (БЛРС). Отнесение штаммов к данному фенотипу резистентности проводили на основании критериев EUCAST (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing — Европейский комитет по определению чувствительности к антибиотикам) (<<https://www.antibiotic.ru/eucast/>>). При этом карбапенеморезистентному фенотипу соответствовали штаммы с минимальной подавляющей концентрацией меропенема или имипенема >8,0 мкг/мл, верификация продукции БЛРС осуществлялась методом двойных дисков с цефтазидимом (30 мкг) и амоксицилином (20 мкг) с клавулановой кислотой (10 мкг) (ЗАО НИЦФ, Санкт-Петербург).

Оценка чувствительности клинических штаммов к бактериофагам проводили методом спот-тест. Для тестирования использовали следующие препараты бактериофагов: пиобактериофаг поливалентный очищенный (АО «НПО «Микроген», Россия, серия У02, г. Уфа), секстафаг (АО «НПО «Микроген», Россия, серия П158, г. Пермь) и пиобактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный (АО «НПО «Микроген», Россия, серия У04, г. Уфа). Все тестируемые препараты использовались в пределах сроков годности, указанных производителем.

Литическая активность бактериофагов оценивалась путём визуальной оценки зоны лизиса на месте капель фага по пятибальной шкале: отсутствие литической активности (–), низкая литическая активность (+), лизис с большим количеством колоний вторичного роста (++) , лизис с единичными колониями вторичного роста (+++), сплошной лизис на месте капли без колоний вторичного роста (++++), в соответствии с методическими рекомендациями [9]. Литическую активность

бактериофага считали достаточной для терапевтического применения при получении результата оценки спот-теста «+++» и «++++».

Статистическая обработка результатов определения чувствительности к бактериофагам проводилась с использованием программы EPITOOLS (<<https://epitools.ausvet.com.au/prevalence>>) и включала в себя расчёт 95% доверительных интервалов для частотных показателей.

Для выявления вероятных механизмов фагорезистентности госпитальных штаммов *K. pneumoniae* были изучены нуклеотидные последовательности генома 6 штаммов данного возбудителя, отнесённых к доминирующим в стационаре генетическим линиям (табл. 1) по результатам предыдущих исследований, включавшим в себя сочетание RAPD генотипирования и полногеномного секвенирования [10, 11].

Данный фрагмент исследования включал в себя определения типа локусов синтеза капсулы (K-локусов) на основании полноразмерных нуклеотидных последовательностей генов, детерминирующих их синтез, а также поиск CRISPR-локусов. Обнаружение массивов CRISPR-Cas и прогнозирование подтипа на основе Cas генов осуществлялось с помощью CRISPRCasTyper [12]. Кроме того, в изучаемых геномах осуществляли поиск профаговых последовательностей при помощи PhaMer [13] и PhaTYP [14].

Результаты и обсуждение

Результаты тестирования препаратов бактериофагов в отношении клинических изолятов демонстрируют высокую долю нечувствительных штаммов *K. pneumoniae*. Отрицательный результат спот-тестов наблюдали в 32,3% (95% ДИ=23,8–42,2) случаев, причём спектр литической активности для отдельных фаговых коктейлей варьировал от 15,6% для препарата Секстафаг до 34,4% для Пиобактериофага клебсиелл поливалентного очищенного (табл. 2). С учётом того, что согласно имеющимся методическим рекомендациям для успешной терапии могут быть применены фаги с литической активностью по отношению к тестируемым культурам, соответствующей «+++» и «++++», доля пациентов, которым могла быть применена фаготерапия, составила 49% (95% ДИ=39,2–58,8).

Штаммы клебсиелл без выявленной продукции бета-лактамаз расширенного спектра и карбапенемаз проявляли более высокую чувствительность к препаратам бактериофагов, чем штаммы, располагающие этими механизмами антибиотикорезистентности. Данный факт может быть объяснён с позиций концепции формирования в стационарах «тройственных паразитарных систем», включающих в себя пациентов и по-

Таблица 2. Фагочувствительность штаммов *K. pneumoniae*, %

Table 2. Phage sensitivity of *K. pneumoniae* strains, %

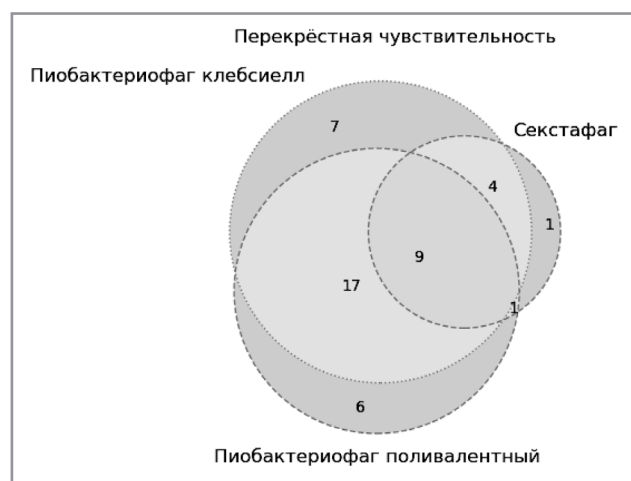
Штаммы <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Результаты спот-теста, %						Всего штаммов с оценкой «+++» и «++++»
	«-»	«+»	«++»	Всего штаммов с оценкой «-», «+» и «++»	«+++»	«++++»	
Секстафаг (П158, г. Пермь)							
Все фенотипы (n=96)	63,5	14,6	6,3	84,4	7,3	8,3	15,6
БЛРС (n=27)	63,0	18,5	7,4	88,9	3,7	7,4	11,1
CRE (n=44)	68,2	18,2	4,5	90,9	6,8	2,3	9,1
Штаммы без выявленной продукции БЛРС, с сохранённой чувствительностью к карбапенемам (n=25)	56,0	4,0	8,0	68,0	12,0	20,0	32,0
Пиобактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный (У04, г. Уфа)							
Все фенотипы (n=96)	35,4	12,5	13,5	61,5	15,6	22,9	38,5
БЛРС (n=27)	40,7	11,1	14,8	66,7	11,1	22,2	33,3
CRE (n=44)	31,8	15,9	13,6	61,4	25,0	13,6	38,6
Штаммы без выявленной продукции БЛРС, с сохранённой чувствительностью к карбапенемам (n=25)	36,0	8,0	12,0	56,0	4,0	40,0	44,0
Пиобактериофаг поливалентный очищенный (У02, г. Уфа)							
Все фенотипы (n=96)	41,7	12,5	11,5	65,6	24,0	10,4	34,4
БЛРС (n=27)	48,1	11,1	7,4	66,7	25,9	7,4	33,3
CRE (n=44)	38,6	11,4	20,5	70,5	20,5	9,1	29,5
Штаммы без выявленной продукции БЛРС, с сохранённой чувствительностью к карбапенемам (n=25)	40,0	16,0	0,0	56,0	28,0	16,0	44,0

пуляции циркулирующих бактериофагов и бактерий [15]. В рамках данной концепции выдвинуто предположение, что стихийно циркулирующие в стационарах бактериофаги (умеренные и литические с низкой вирулентностью) являются важнейшими драйверами эволюции госпитальных штаммов возбудителей ИСМП, обеспечивая распространение детерминант устойчивости к антибиотикам и формируя резистентность к инфекции литическими фагами.

Различия в чувствительности тестируемых штаммов к изучаемым препаратам могут быть объяснены разницей видового или штаммового состава бактериофаговых коктейлей. Качественный состав вирусов, входящих в рецептуру терапевтических препаратов, не отражается в инструкции и может варьировать в различных препаратах и от серии к серии [16].

При оценке перекрёстной чувствительности штаммов клебсиелл к трём препаратам бактериофагов, оказалось, что спектры литической активности препаратов пересекаются не полностью (рисунок). К пиобактериофагу клебсиелл оказались чувствительны 7 штаммов, устойчивых к действию других препаратов; 6 штаммов — чувствительны только к пиобактериофагу поливалентному; 1 штамм чувствительный только к секстафагу.

Таким образом, представляется обоснованным тестирование чувствительности, выделенных штаммов *K. pneumoniae*, к нескольким фаговым препаратам, что позволяет расширить возможности фаготерапии клебсиеллёзной инфекции. Для персонализированной фаготерапии нозокомиальных инфекций целесообразно иметь



Перекрёстная чувствительность штаммов *K. pneumoniae* к тестируемым препаратам
Cross-sensitivity of *K. pneumoniae* strains to the tested medicines

Таблица 3. Чувствительность к препаратам бактериофагов и особенности генотипа штаммов *K. pneumoniae* на основании анализа геномных последовательностей**Table 3. Sensitivity of *K. pneumoniae* strains to bacteriophage preparations and genotype characteristics based on genomic sequence analysis**

№ штамма	Чувствительность к препаратам бактериофагов			Полиморфизм генов капсулы и её тип		Класс тип, субтип локуса CRISPR	Характеристика профаговых последовательностей	
	поливалентный очищенный УО02 г. Уфа	секста-фаг П158 г. Пермь	поливалентный очищенный У04 г. Уфа	wzi type	K тип		количество профаговых локусов	номера доступа в GenBank последовательностей, наиболее сходных с выявленными профаговыми локусами
5232	—	—	—	wzi1	KL1	1, I-E	1	MK416021
4774	+	+	+	wzi222	KL45	1, IV-A3	6	MK448236, OR532908, MK416021, NC_001609, AF234172
5085	++++	—	++++	wzi64	KL64	1, IV-A3	6	OR532908, OP114732, MK416019, MK416020, MK422455, MK422454
4954	+	—	+	wzi173	KL102	1, IV-A3	2	KY271399
4893	+	+	+	wzi64	KL64	1, IV-A3	5	NC_047817, MK416019, MK416020, MK422455, MK422454
5216	—	—	—	wzi62	KL62	1, I-E	2	MK416021, AF234172

в арсенале несколько препаратов, что позволит осуществить подбор фагов, активных в отношении конкретного штамма возбудителя.

Существенная часть изученных изолятов (51,0%) обладает устойчивостью или низкой восприимчивостью к тестируемым препаратам, что соответствует невозможности их применения для лечения клебсиеллёзной инфекции. Невысокая активность поливалентных бактериофаговых препаратов в отношении клинических штаммов клебсиелл отмечалась и ранее в ряде исследований [17, 18].

Фенотипическая устойчивость изученных в нашей работе штаммов к бактериофаговым коктейлям может объясняться широким распространением штаммов, располагающих эффективными механизмами противодействия фаговой инфекции, что подтверждается обнаружением в структуре их геномов полиморфных CRISPR-Cas локусов (табл. 3). Обращает внимание тот факт, что абсолютной устойчивостью ко всем бактериофаговым препаратам обладали штаммы с типом CRISPR I-E, в то время как штаммы с типом CRISPR IV-A3 сохраняли чувствительность к бактериофагам. CRISPR I класса, в целом, являются наиболее древними системами противофаговой защиты у бактерий [19], при этом тип I-E наиболее широко распространён среди Enterobacteriaceae [20].

Следует отметить, что основной функцией CRISPR — элементов типа IV-A3, имеющих у клебсиелл плазмидную локализацию, является, главным образом, участие в регуляции процессов при-

обретения конъюгативных плазмид, что может объяснять меньшую эффективность CRISPR данного типа в обеспечении антифаговой защиты бактериальных клеток [21]. Очевидно, дальнейшие исследования позволят прояснить роль CRISPR элементов различных субтипов в качестве факторов, обеспечивающих невосприимчивость клинических штаммов *K. pneumoniae* к бактериофагам, входящим в состав терапевтических препаратов.

С другой стороны мы можем отметить, что чувствительность к различным бактериофаговым препаратам обнаруживалась у штаммов, различающихся по типу генов капсулы, в том числе фаги могли быть применены для лечения инфекции, обусловленной штаммом 5085, отнесённого к wzi-типу 64, KL64. Инфекции, связанные с гипервирулентными штаммами данного капсульного типа демонстрировали значительный рост в Китае на фоне пандемии COVID-19 [22, 23] и получили широкое распространение в других странах [24, 25].

Известно, что клебсиеллёзные бактериофаги проявляют специфичность в отношении штаммов *K. pneumoniae* с определённым типом капсулы, в связи с чем предложена идеология разработки бактериофаговых коктейлей, учитывающая вариативность структуры популяции возбудителя по данному признаку [26].

Таким образом, одним из путей совершенствования рецептуры бактериофаговых препаратов является подбор бактериофагов, активных в отношении эпидемически актуальных клонов, ха-

рактирующихся определённым капсульным (К) типом.

В то же время прогнозирование литической активности бактериофаговых препаратов в отношении клинических штаммов клебсиелл в настоящее время представляется затруднительным. В нашей работе мы наблюдали различия в чувствительности к бактериофаговым препаратам у двух штаммов (4893 и 5085), представляющих собой, судя по данным их генетического типирования, один клон (ST395-KL64) и выделенных в одном стационаре. Генетические различия между этими штаммами связаны лишь с изменениями в участках, относящихся к профагам. В этой связи, следует обратить внимание на потенциальное значение умеренных бактериофагов в качестве факторов, оказывающих влияние на эффективность фаготерапии.

Заключение

В настоящем исследовании продемонстрирована невысокая активность поливалентных бактериофаговых препаратов в отношении штаммов *Klebsiella pneumoniae*, вызывающих нозокомиальные инфекции у пациентов с COVID-19.

Расширение возможностей фаготерапии клебсиеллёзных инфекций может быть реализовано за счёт использования широкой линейки бактериофаговых препаратов, включающих в себя штаммы бактериофагов, активные в отношении эпидемически актуальных клонов. С учётом достаточно узкого спектра литического дей-

ствия клебсиеллёзных бактериофагов [27], рациональное применение включающих их препаратов возможно в рамках парадигмы персонализированной фаготерапии.

Дополнительная информация

Финансирование. Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 24-15-20022, <https://rscf.ru/project/24-15-20022/> и за счёт гранта Санкт-Петербургского научного фонда № 24-15-20022.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов. *Асланов Батырбек Исмаилович* — разработка дизайна исследования, редактирование рукописи, *Гончаров Артемий Евгеньевич* — анализ данных, написание текста статьи, *Конов Сергей Дмитриевич* — проведение экспериментов, *Мохов Алексей Сергеевич* — выделение культур микроорганизмов, биоинформационная обработка геномных данных, *Азаров Даниил Валерьевич* — биоинформационная обработка геномных данных, редактирование текста рукописи, *Лебедева Екатерина Андреевна* — проведение экспериментов, *Кулешова Алёна Витальевна* — идентификация микроорганизмов, *Колоджиева Виктория Васильевна* — выделение культур микроорганизмов, *Колосовская Елена Николаевна* — редактирование текста рукописи, *Нифонтова Анна Михайловна* — проведение экспериментов, *Лиознов Дмитрий Анатольевич* — руководство научным исследованием, финальное утверждение рукописи.

Литература/References

1. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Xiang J, Wang Y, Song B, Gu X, Guan L, Wei Y, Li H, Wu X, Xu J, Tu S, Zhang Y, Chen H, Cao B. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020; 395 (10229): 1054–1062. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3.
2. Sang L, Xi Y, Lin Z, Pan Y, Song B, Li C. A. Zheng X, Zhong M, Jiang L, Pan C, Zhang W, Lv Z, Xia J, Chen N, Wu W, Xu Y, Chen S, Liu D, Liang W, Liu X, Liu X, Li S, Zhong N, Ye D, Xu Y, Zhang N, Zhang D, Li Y. Secondary infection in severe and critical COVID-19 patients in China: a multicenter retrospective study. *Annals of Palliative Medicine*. 2021; 10 (8): 8557–8570. doi: 10.21037/apm-21-833.
3. Гончаров А. Е., Зуева Л. П., Мохов А. С. и др. Распространение мультиантибиотикорезистентных возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в стационарах для лечения пациентов с COVID-19. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2021; 20 (2): 68–73. doi: <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2021-20-2-68-73>. [Goncharov A.E., Zueva L.P., Mokhov A.S., Kolodzhieva V.V., Meltser A.A., Smirnova M.V., Khavlina T.V., Orishak E.A. Spread of multi-antibiotic-resistant health-care pathogens in hospitals to treat COVID-19 patients. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2021; 20 (2): 68–73. doi: <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2021-20-2-68-73>. (in Russian)]
4. Mashigo B, Parker A, Lalla U, Allwood B. W. Moolla M. S. Lovelock T, Koegelenberg CFN. An outbreak within an outbreak: the impact of infection prevention and control strategies on hospital-acquired infections and the occurrence of multi-drug resistant organisms during the COVID-19 pandemic. *S Afr Med J*. 2023 Dec 4; 113 (12): 42. doi: 10.7196/SAMJ.2023.v113i12.97.
5. Loconsole D, Sallustio A, Sacco D, Santantonio M, Casulli D, Gatti D, Accogli M, Parisi A, Zagaria R, Colella V, Centrale F, Chironna M. Genomic surveillance of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* reveals a prolonged outbreak of extensively drug-resistant ST147 NDM-1 during the COVID-19 pandemic in the Apulia region (Southern Italy). *J Glob Antimicrob Resist*. 2024 Mar; 36: 260–266. doi: 10.1016/j.jgar.2024.01.015.
6. Sandfort M, Hans J. B. Fischer M. A. Reichert F., Cremanns M., Eisfeld J., Pfeifer Y., Heck A., Eckmanns T., Werner G., Gatermann S., Haller S., Pfennigwerth N. Increase in NDM-1 and NDM-1/OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* in Germany associated with the war in Ukraine, 2022. *Euro Surveill*. 2022 Dec; 27 (50): 2200926. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2022.27.50.2200926.
7. Самойлова А. А., Краева Л. А., Михайлов Н. В., Саитова А. Т., Полев Д. Е., Васькова 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; 14 (2): 339–350. doi: <https://doi.org/10.15789/2220-7619-GAO-15645>. [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; 14 (2): 339–350 doi: <https://doi.org/10.15789/2220-7619-GAO-15645> (in Russian)]
8. Mohammadi M., Saffari M., Siadat S. D. Hejazi S. H. Shayestehpour M., Motalebi M., Eidi M. Isolation, characterization, therapeutic potency, and genomic analysis of a novel bacteriophage vB_KshKPC-M against carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains (CRKP) isolated from Ventilator-associated pneumoniae (VAP) infection of COVID-19 patients. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2023 Feb 24; 22 (1): 18. doi: 10.1186/s12941-023-00567-1.
9. Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике. Методические рекомендации. М.: 2022; 32. [Rational'noe primenenie bakteriofagov v lechebnoj i protivoepr-

- demicheskoy praktike. Metodicheskie rekomendacii. Moscow: 2022; 32. (in Russian)]
- Гончаров А. Е., Зуева Л. П., Мохов А. С., Колоджиева В. В., Мельцер А. А., Смирнова М. В., Хавлина Т. В., Оришак Е. А. Распространение мультиантибиотикорезистентных возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в стационарах для лечения пациентов с COVID-19. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2021; 20 (2): 68–73. doi: <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2021-20-2-68-73>. [Goncharov A. E., Zueva L. P., Mokhov A. S., Kolodzhieva V. V., Meltser A. A., Smirnova M. V., Khavlina T. V., Orishak E. A. Spread of Multi-Antibiotic-Resistant health-care pathogens in hospitals to treat COVID-19 patients. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2021; 20 (2): 68–73. doi: <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2021-20-2-68-73>. (in Russian)]
 - Гончаров А. Е., Азаров Д. В., Мохов А. С., Почтовый А. А., Кустова Д. Д., Гуцин В. А., Лебедева Е. А., Колоджиева В. В., Киреева А. Г., Краева Л. А., Долгинный С. В., Бурасова О. А., Гончарова А. Р., Белькова Е. И., Дмитриев А. В. Характеристика гипервирулентных мультиантибиотикорезистентных штаммов *Klebsiella pneumoniae* у стационарных пациентов с тяжёлым течением COVID-19. Инфекционные болезни. 2022; 20 (2): 33–40. doi: <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2022-2-33-40>. [Goncharov A. E., Azarov D. V., Mokhov A. S., Pochtoviy A. A., Kustova D. D., Gushchin V. A., Lebedeva E. A., Kolodzhieva V. V., Kireeva A. G., Kraeva L. A., Dolinny S. V., Burgasova O. A., Goncharova A. R., Belkova E. I., Dmitriev A. V. Characteristics of hypervirulent multidrug resistant *Klebsiella pneumoniae* strains in inpatients with severe COVID-19. *Infektsionnye Bolezni (Infectious Diseases)*. 2022; 20 (2): 33–40. doi: <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2022-2-33-40>. (in Russian)]
 - Russel J., Pinilla-Redondo R., Mayo-Muñoz D., Shah S. A., Sørensen S. J. CRISPR-Cas Typing: automated identification, annotation, and classification of CRISPR-Cas Loci. *CRISPR J*. 2020 Dec; 3 (6): 462–469. doi: 10.1089/crispr.2020.0059.
 - Shang J., Tang X., Guo R., Sun Y. Accurate identification of bacteriophages from metagenomic data using Transformer. *Brief Bioinform*. 2022 Jul 18; 23 (4): bbac258. doi: 10.1093/bib/bbac258.
 - Shang J., Tang X., Sun Y. PhATYP: predicting the lifestyle for bacteriophages using BERT. *Brief Bioinform*. 2023 Jan 19; 24 (1): bbac487. doi: 10.1093/bib/bbac487.
 - Зуева Л. П., Асланов Б. И., Акимкин В. Г. Современный взгляд на роль бактериофагов в эволюции госпитальных штаммов и профилактике инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2014; 3: 100–107. [Zueva L. P., Aslanov B. I., Akimkin V. G. Contemporary view on the role of bacteriophages in evolution of nosocomial strains and prophylaxis of healthcare associated infections. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol*. 2014 May-Jun; (3): 100–107. (in Russian)]
 - Villarroel J., Larsen M. V., Kilstrup M., Nielsen M. Metagenomic Analysis of Therapeutic PYO Phage Cocktails from 1997 to 2014. *Viruses*. 2017 Nov 3; 9 (11): 328. doi: 10.3390/v9110328.
 - Баязитова Л. Т., Тупкина О. Ф., Чазова Т. А., Родионова М. С., Анамов Р. И., Попцов О. И., Валуцкина И. Р., Насыбуллова З. З. Оценка литической активности бактериофагов в отношении *Klebsiella pneumoniae*, выделенных от детей с пневмококковым носительством. Практическая медицина. 2023; 21 (5): 80–85. [Bayazitova L. T., Tyupkina O. F., Chazova T. A., Rodionova M. S., Anamov R. I., Popcov O. I., Valiullina I. R., Nasybullova Z. Z. Ocenka liticheskoj aktivnosti bakteriofagov v otnoshenii *Klebsiella pneumoniae*, vydelennyh ot detej s pnevmokokkovym nositel'stvom. *Prakticheskaya Medicina*. 2023; 21 (5): 80–85. (in Russian)]
 - Козлова А. И., Топальский Д. В. Чувствительность к антибиотикам и бактериофагам клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae* с классическим и гипермукоидным фенотипами. Военная медицина. 2019; 1 (50): 44–48. [Kozlova A. I., Topal'skij D. V. Chuvstvitel'nost' k antibiotikam i bakteriofagam klinicheskijh izolyatov *Klebsiella pneumoniae* s klassicheskim i giper mukoidnym fenotipami. *Voennaya Medicina*. 2019; 1 (50): 44–48. (in Russian)]
 - Makarova K. S., Zhang F., Koonin E. V. Snapshot: Class 1 CRISPR-Cas Systems. *Cell*. 2017 Feb 23; 168 (5): 946–946.e1. doi: 10.1016/j.cell.2017.02.018.
 - Xue C., Sashital D. G. Mechanisms of type I-E and I-F CRISPR-Cas systems in Enterobacteriaceae. *EcoSal Plus*. 2019 Feb; 8 (2): 10.1128/ecosalplus.ESP-0008-2018. doi: 10.1128/ecosalplus.ESP-0008-2018.
 - Benz F., Camara-Wilpert S., Russel J., Wandera K. G., Čepaitė R., Ares-Arroyo M., Gomes-Filho J. V., Englert F., Kuehn J. A., Gloor S., Mestre M. R., Cuénod A., Aguilà-Sans M., Maccario L., Egli A., Randau L., Pausch P., Rocha EPC, Beisel C. L., Madsen J. S., Bikard D., Hall A. R., Sørensen S. J., Pinilla-Redondo R. Type IV-A3 CRISPR-Cas systems drive inter-plasmid conflicts by acquiring spacers in trans. *Cell Host Microbe*. 2024 Jun 12; 32 (6): 875–886.e9. doi: 10.1016/j.chom.2024.04.016.
 - Wang J., Feng Y., Zong Z. The Origins of ST11 KL64 *Klebsiella pneumoniae*: a Genome-Based Study. *Microbiol Spectr*. 2023 Mar 27; 11 (2): e0416522. doi: 10.1128/spectrum.04165-22.
 - Hu F., Pan Y., Li H., Han R., Liu X., Ma R., Wu Y., Lun H., Qin X., Li J., Wang A., Zhou M., Liu B., Zhou Z., He P. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* capsular types, antibiotic resistance and virulence factors in China: a longitudinal, multi-centre study. *Nat Microbiol*. 2024 Mar; 9 (3): 814–829. doi: 10.1038/s41564-024-01612-1.
 - Eckstein S., Stender J., Mzoughi S., Voegelé K., Kühn J., Friese D., Bugert C., Handrick S., Ferjani M., Wölfel R., Millard A., Ben Moussa M., Bugert J. J. Isolation and characterization of lytic phage TUN1 specific for *Klebsiella pneumoniae* K64 clinical isolates from Tunisia. *BMC Microbiol*. 2021 Jun 21; 21 (1): 186. doi: 10.1186/s12866-021-02251-w.
 - Hallal Ferreira Raro O., Nordmann P., Dominguez Pino M., Findlay J., Poirel L. Emergence of carbapenemase-producing hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in Switzerland. *Antimicrob Agents Chemother*. 2023 Mar 16; 67 (3): e0142422. doi: 10.1128/aac.01424-22.
 - Chen H., Liu H., Gong Y., Dunstan R. A. Ma Z., Zhou C., Zhao D., Tang M., Lithgow T., Zhou T. A *Klebsiella*-phage cocktail to broaden the host range and delay bacteriophage resistance both *in vitro* and *in vivo*. *NPJ Biofilms Microbiomes*. 2024 Nov 14; 10 (1): 127. doi: 10.1038/s41522-024-00603-8.
 - Chen H., Liu H., Gong Y., Dunstan R. A. Ma Z., Zhou C., Zhao D., Tang M., Lithgow T., Zhou T. A *Klebsiella*-phage cocktail to broaden the host range and delay bacteriophage resistance both *in vitro* and *in vivo*. *NPJ Biofilms Microbiomes*. 2024 Nov 14; 10 (1): 127. doi: 10.1038/s41522-024-00603-8.

Поступила / Received 01.12.2024

Принята в печать / Accepted 10.12.2024

Информация об авторах

Асланов Батырбек Исмаилович — д. м. н., заведующий кафедрой эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии; заведующий лабораторией молекулярной эпидемиологии и исследований бактериофагов ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0002-6890-8096

Гончаров Артемий Евгеньевич — д. м. н., заведующий лабораторией функциональной геномики и протеомики микроорганизмов ФГБНУ Институт экспериментальной медицины; профессор кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии; ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и исследований бактериофагов ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0002-5206-6656

About the authors

Batyrbek I. Aslanov — D. Sc. in Medicine, Head of the Department of Epidemiology, Parasitology, and Disinfection; Head of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Bacteriophage Research, North-West State Medical University named after I. I. Mechnikov of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-6890-8096

Artemiy E. Goncharov — D. Sc. in Medicine, Head of the Laboratory of Functional Genomics and Proteomics of Microorganisms, Institute of Experimental Medicine; Professor of the Department of Epidemiology, Parasitology, and Disinfection; Leading Researcher of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Bacteriophage Research, North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-5206-6656

Конеv Сергей Дмитриевич — аспирант кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, начальник отдела эпидемиологии СПбГУ, КВМТ им. Н. И. Пирогова, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0003-1919-4725

Мохов Алексей Сергеевич — к. м. н., ассистент кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0002-1519-5299

Азаров Даниил Валерьевич — к. м. н., заведующий лабораторией инновационных методов микробиологического мониторинга НОЦ НИЦМУ Центр персонализированной медицины ФГБНУ Институт экспериментальной медицины; старший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и исследований бактериофагов ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0003-2483-5144

Лебедева Екатерина Андреевна — к. м. н., ассистент кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии; старший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и исследований бактериофагов ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0001-9547-0192

Кулешова Алена Витальевна — заведующий бактериологической лаборатории, научный сотрудник ФГБУ Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0009-0008-4744-8079

Колоджиева Виктория Васильевна — к. м. н., доцент кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0002-1537-211X

Колосовская Елена Николаевна — профессор кафедры эпидемиологии, паразитологии и дезинфектологии, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID 0000- 0001-6667-2377

Нифонтова Анна Михайловна — аспирант ФГБУ «НИИ гриппа им. А. А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0009-0003-4643-0030

Леонов Дмитрий Анатольевич — д. м. н., профессор, директор ФГБУ «НИИ гриппа им. А. А. Смородинцева» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия; заведующий кафедрой инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID ID: 0000-0003-3643-7354

Sergei D. Konev — postgraduate student of the Department of Epidemiology, Parasitology, and Disinfection, North-West State Medical University named after I. I. Mechnikov, Head of the Department of Epidemiology at Pirogov Clinic of High Medical Technologies, Saint-Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0003-1919-4725

Alexey S. Mochov — Ph. D. in Medicine, Assistant at the Department of Epidemiology, Parasitology, and Disinfection, North-West State Medical University named after I. I. Mechnikov of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-1519-5299

Daniil V. Azarov — Ph. D. in Medicine, Head of the Laboratory of Innovative Methods of Microbiological Monitoring, Scientific and Educational Center of the National Center of Medical Sciences, Center for Personalized Medicine, Institute of Experimental Medicine; Senior Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology and Bacteriophage Research, North-West State Medical University named after I. I. Mechnikov of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0003-2483-5144

Ekaterina A. Lebedeva — Ph. D. in Medicine, Assistant at the Department of Epidemiology, Parasitology, and Disinfection; Senior Researcher at the Laboratory of Molecular Epidemiology and Bacteriophage Research, North-West State Medical University named after I. I. Mechnikov of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0001-9547-0192

Alyona V. Kuleshova — Head of the Bacteriological Laboratory, Researcher, Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0009-0008-4744-8079

Viktoria V. Kolodzhieva — Ph. D. in Medicine, Associate Professor at the Department of Epidemiology, Parasitology, and Disinfection, North-West State Medical University named after I. I. Mechnikov of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0002-1537-211X

Elena N. Kolosovskaya — Professor of the Department of Epidemiology, Parasitology and Disinfection, Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия. ORCID 0000- 0001-6667-2377

Anna M. Nifontova — postgraduate student, Smorodintsev Research Institute of Influenza, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0009-0003-4643-0030

Dmitry A. Lioznov — D. Sc. in Medicine, Professor, Head of Smorodintsev Research Institute of Influenza; Head of the Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia. ORCID ID: 0000-0003-3643-7354