



<https://doi.org/10.34883/PI.2022.10.3.009>
УДК 616-006.4-02:577.152.199.2



Руденкова Т.В., Костюк С.А., Горбич Ю.Л. ✉

Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск,
Беларусь

Генетические факторы антибиотикорезистентности *Klebsiella pneumoniae*

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Руденкова Т.В. – сбор материала и анализ литературных источников, написание текста; Костюк С.А. – редактирование текста; Горбич Ю.Л. – анализ литературных источников, написание и редактирование текста.

Подана: 09.08.2022

Принята: 26.09.2022

Контакты: y.gorbich@gmail.com

Резюме

Klebsiella pneumoniae является одним из основных возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи в Республике Беларусь. Ключевой проблемой лечения инфекций, вызванных данным микроорганизмом, в настоящее время является высокий уровень устойчивости к антибактериальным лекарственным средствам, в том числе карбапенемам, аминогликозидам, фторхинолонам, растущая устойчивость к колистину.

В статье рассматриваются основные механизмы устойчивости микроорганизмов к антибиотикам, характеризуются возможности и потенциальные преимущества вертикального и горизонтального пути передачи механизмов устойчивости. Основной упор делается на бета-лактамазы, обуславливающие устойчивость к карбапенемам (карбапенемазы): металло-бета-лактамазы, оксациллиназы, бета-лактамазы группы A, а также делается акцент на возможности наличия у *Klebsiella pneumoniae* других механизмов устойчивости. Отдельно описывается *mgrB*-ассоциированный механизм устойчивости к колистину. Устойчивость к карбапенемам и/или колистину распространяется в настоящее время с большой скоростью, приводя к развитию значимых вспышек инфекций, вызванных внебольничными и/или нозокомиальными штаммами *Klebsiella pneumoniae*, а также неэффективности лечения.

Ключевые слова: *Klebsiella pneumoniae*, β-лактамазы, устойчивость к антибиотикам, карбапенемы, колистин, гены антибиотикорезистентности

Tatiana V. Rudenkova, Svetlana A. Kostiuk, Yury L. Gorbich ✉
Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Belarus

Genetic Factors of *Klebsiella Pneumoniae* Antibiotic Resistance

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Tatiana V. Rudenkova – data collection, literature review and text writing; Svetlana A. Kostiuk – manuscript editing; Yury L. Gorbich – literature review, text writing and manuscript editing.

Submitted: 09.08.2022

Accepted: 26.09.2022

Contacts: y.gorbich@gmail.com

Abstract

Klebsiella pneumoniae is one of the leading causes of healthcare-associated infections in the Republic of Belarus. The main challenge currently related to treatment of *Klebsiella pneumoniae*-associated infections is high level of resistance to antimicrobials, including carbapenems, aminoglycosides, fluoroquinolones, as well as emerging resistance to colistin. This review is focused on β -lactamases mediated carbapenem resistance (carbapenemases), including metallo- β -lactamases, oxacillinases, type A β -lactamases. It is also stressed the role of non- β -lactamase mechanisms in carbapenem resistance. mgrB-associated colistin resistance, essential antibiotic resistance mechanisms, features and potential advantages of horizontal and vertical resistance gene transfers are also described.

Carbapenem and/or colistin resistance are spreading at an alarming rate, resulting in major outbreaks and treatment failure of community-acquired and/or nosocomial infections caused by *Klebsiella pneumoniae* strains.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, β -lactamases, antibiotic resistance, carbapenems, colistin, antibiotic resistance genes

Klebsiella pneumoniae (*K. pneumoniae*) является наиболее клинически значимым видом микроорганизмов рода *Klebsiella*, а также одним из наиболее распространенных условно-патогенных грамотрицательных микроорганизмов. *K. pneumoniae* может вызывать различные заболевания, включая инфекции мочевыводящих путей, пневмонию, бактериемию и абсцесс печени [1].

Для лечения инфекций, обусловленных присутствием *K. pneumoniae*, применяются различные антибактериальные лекарственные средства (ЛС), однако увеличение количества штаммов микроорганизмов, устойчивых к действию противомикробных ЛС, значительно снижает эффективность их применения [2, 3].

Наряду со штаммами *K. pneumoniae*, резистентными к отдельным группам антибактериальных ЛС, распространены штаммы микроорганизма с множественной лекарственной устойчивостью (MDR), которые невосприимчивы как минимум к одному антибиотику в трех или более группах противомикробных ЛС; с экстремальной лекарственной устойчивостью (XDR), которые чувствительны не более чем к двум группам противомикробных ЛС; а также панрезистентные (PDR) штаммы *K. pneumoniae*, которые полностью невосприимчивы ко всем противомикробным ЛС [4–9].

В основе формирования у микроорганизмов резистентности к антибактериальным ЛС лежит несколько механизмов:

- мутации в генах (например, *gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE*), контролирующих синтез мишеней, с которыми связываются антибактериальные ЛС, что приводит к снижению эффективности воздействия ЛС на бактериальную клетку;
- наличие в бактериальной клетке ряда хромосомных или плазмидных структур (гены устойчивости), кодирующих белки (ферменты), которые катализируют процессы изменений структуры и инактивации антибактериальных ЛС;
- синтез бактериальными клетками мутантных поринов (например, OmpK35, OmpK36), что приводит к изменению проницаемости мембраны бактериальной клетки для ЛС;
- усиление активности эффлюксных насосов, функционирование которых приводит к тому, что не достигается терапевтической концентрации ЛС в цитоплазме.

Все эти механизмы создают условия для снижения эффективности элиминации возбудителя, что приводит к ускорению процессов формирования резистентных штаммов [10–12].

Таким образом, формирование антибиотикорезистентности у микроорганизмов может происходить, с одной стороны, путем модификации собственного генома микроорганизма (появления мутаций в генах, контролирующих синтез мишеней ЛС, поринов, эффлюксных насосов), а с другой стороны, путем включения в геном микроорганизма новых генетических детерминант (плазмидных, хромосомных), обуславливающих формирование устойчивости [13].

Преимуществом резистентности, основанной на присутствии в геноме микроорганизма генов устойчивости к противомикробным ЛС, является возможность распространения данных генов среди микроорганизмов посредством механизма горизонтального переноса генов, что подразумевает также возможность их передачи от любых микроорганизмов окружающей среды к патогенам [12]. В основе данного механизма лежит то, что клетки микроорганизмов способны не только передавать наследственную информацию «вертикально» (от клеток-предшественников к клеткам-потомкам), но и обмениваться наследственной информацией «горизонтально» (т. е. между клетками-«соседями»), за счет процессов конъюгации, трансформации и трансдукции. Все это обуславливает высокую генетическую изменчивость микроорганизмов, а также дает возможность объединить в одной бактериальной клетке несколько генов устойчивости и получить множественно-, экстремально- или пан-резистентные штаммы микроорганизмов.

Горизонтальный перенос генов устойчивости происходит за счет мобильных генетических элементов, к которым относят фаги, плазмиды, интегроны, транспозоны, геномные острова, конъюгативные транспозоны, мобилизуемые транспозоны, инсерционные последовательности. Каждый из этих элементов способен интегрироваться в геном бактериальной клетки, способствуя развитию адаптационных и эволюционных изменений и помогая возбудителю выживать в изменяющихся условиях окружающей среды. Организация данных элементов в геноме имеет модульную структуру, т. е. более мелкие элементы могут быть включены в состав крупных [12, 14, 15].

Мобильные генетические элементы представляют собой дискретные структуры в молекуле ДНК, которые расположены в плазмидах или хромосомах и могут перемещаться благодаря активности самокодируемых транспозаз в новые места в геноме,

а также из одной бактериальной клетки в другую. При этом элементы, локализованные в хромосомах, обладают меньшим потенциалом для внутри- и межвидового распространения и ассоциированы, как правило, с нарушениями экспрессии и/или структуры поринов и активацией выведения ЛС из клетки. А элементы, локализованные в подвижных генетических структурах, быстро распространяются как внутри, так и между различными видами микроорганизмов и ассоциированы с синтезом ферментов (карбапенемаз) для инактивации ЛС [14, 15].

На сегодняшний день обнаружен большой спектр генов устойчивости, которые ассоциированы с воздействием практически на все классы антибактериальных ЛС. Так, в Комплексной базе данных устойчивости к антибиотикам (CARD – Comprehensive Antibiotic Resistance Database) уже зарегистрировано более 50 генов, ассоциированных с формированием устойчивости к карбапенемам [16]. В данный перечень внесены и характерные для *K. pneumoniae* гены β -лактамаз ($\text{bla}_{\text{OXA-48}}$, $\text{bla}_{\text{KPC-2}}$, $\text{bla}_{\text{NDM-1}}$, bla_{IMP} , $\text{bla}_{\text{VIM-2}}$ и $\text{bla}_{\text{VIM-4}}$), частота выявления которых постоянно растет [17, 18].

К β -лактамным антибактериальным ЛС относят шесть различных структурных подтипов: пенамы, цефемы, монобактамы, клавамы, пенемы и карбапенемы. Пенамы включают бензилпенициллин и ампициллин. Цефемы включают классические цефалоспорины, такие как цефалоридин, нитроцефм и цефотаксим, а также цефамицины, которые представляют собой 7- α -метоксицефалоспорины. Монобактамы представляют собой моноциклические β -лактамы и включают азтреонам. Пенемы имеют 2,3-двойную связь в конденсированном тиазолидиновом кольце (дигидротиазол), аналогично карбапенемам (например, имипенему, биापенему), которые также имеют ненасыщенное конденсированное пятичленное кольцо с углеродом вместо серы в 1-положении [19].

Механизм действия β -лактамных антибактериальных ЛС основан на нарушении синтеза клеточной стенки микроорганизмов за счет образования ковалентной связи с пенициллинсвязывающими белками транспептидазами.

β -лактамазы представляют собой большую группу генетически и функционально разнородных ферментов, которые обладают способностью гидролизовать β -лактамные антибактериальные ЛС, и их продукция является основной причиной формирования у бактерий устойчивости к данной группе ЛС. Эти ферменты расщепляют амидную связь β -лактамного кольца, что приводит к инактивации ЛС. Продукция β -лактамаз находится под контролем хромосомных или плазмидных генов микроорганизмов, активация которых ассоциирована в том числе и с приемом антибактериальных ЛС [20].

β -лактамазы делят на четыре молекулярных класса: А, В, С, D. Классы А, С и D относят к серин- β -лактамазам, у которых в активном центре находится серин, катализирующий реакции гидролиза. Металло- β -лактамазы относят к β -лактамазам класса В, они являются металлоферментами, в активном центре которых находятся один или два иона цинка.

Также широко используется классификация, предложенная Bush К. в 1989 году, которая основана на профиле субстратной специфичности и чувствительности к ингибиторам. В соответствии с ней β -лактамазы делят на 3 группы, которые в свою очередь делят на подгруппы [2, 21].

В клинической практике используют ингибиторы β -лактамаз (клавулановая кислота, сульбактам и тазобактам), которые представляют собой вещества β -лактамной

природы, обладающие минимальной антибактериальной активностью, но в то же время способные необратимо связывать β -лактамазы, что обеспечивает ингибирование их активности. Одновременное использование ингибиторов β -лактамаз с антибактериальными ЛС обеспечивает сохранение активности ЛС, защищая их от гидролиза β -лактамного кольца. Однако использование ингибиторов не всегда эффективно, так как некоторые β -лактамазы не чувствительны к их воздействию [22].

Карбапенемазы представляют собой β -лактамазы с различной гидролитической активностью в отношении пенициллинов, цефалоспоринов, монобактамов и карбапенемов. Эти ферменты имеют высокую каталитическую активность и широкий спектр субстратной специфичности. Их относят к β -лактамазам молекулярных классов A, B и D. К карбапенемазам класса A относят ферменты SME, IMI, NMC, GES и KPC. Из них KPC-карбапенемазы являются наиболее распространенными, а контролирующий их синтез ген bla_{KPC} с высокой частотой обнаруживается в плазмидах *K. pneumoniae*. К карбапенемазам класса B (металло- β -лактамазы) относят IMP, VIM, SPM, GIM и SIM. В класс D включены карбапенемазы OXA-типа [13].

Микроорганизмы, продуцирующие карбапенемазы, проявляют широкую вариабельность диапазона МИК карбапенемов (от низких до высоких значений), что делает их обнаружение серьезной проблемой для клинической лабораторной диагностики. Например, некоторые изоляты микроорганизмов, продуцирующие KPC, могут быть идентифицированы как чувствительные к карбапенемам, что подтверждает отсутствие четкой однозначной взаимосвязи продукции KPC и уровня устойчивости микроорганизма к β -лактамным антибактериальным ЛС. Таким образом, с одной стороны, синтез фермента KPC не всегда является достаточным условием для появления у микроорганизма устойчивости к карбапенемам, а с другой стороны, низкий уровень продукции фермента является препятствием для идентификации штаммов микроорганизмов с низкой чувствительностью к карбапенемам. Показана высокая частота ассоциации одновременной продукции KPC и потери порина с увеличением значений МИК карбапенемов [23–25].

β -лактамазы OXA-типа названы так из-за их способности гидролизовать оксациллин (oxacillinases). К данному типу β -лактамаз относят более 400 ферментов. Они характеризуются высокой скоростью гидролиза клоксациллина и оксациллина, составляющей более 50% скорости гидролиза бензилпенициллина [26].

Активность характерных для *K. pneumoniae* ферментов OXA-48-типа не ингибируется тазобактамом и клавулановой кислотой. Среди них выделяют две подгруппы: OXA-48 и OXA-54, аминокислотные последовательности которых имеют степень гомологии более 95%. Карбапенемаза OXA-54 отличается от OXA-48 на 20 аминокислотных остатков, при этом профиль субстратной специфичности у них практически идентичен. Так как ген bla_{OXA-54} имеет хромосомную локализацию, его распространение среди микроорганизмов происходит медленно [27–29].

Идентифицировано более 15 OXA-48-подобных вариантов фермента, но классический OXA-48 остается наиболее распространенным вариантом во всем мире. Широкое и быстрое распространение β -лактамазы этого типа обусловлено тем, что ген bla_{OXA-48} находится в плазмидной ДНК в составе транспозона Tn1999, что обеспечивает его распространение среди широкого спектра организмов-хозяев за счет механизма горизонтального переноса между различными видами микроорганизмов. В состав данной плазмиды, как правило, не входит никаких дополнительных

детерминант устойчивости к ЛС, а фланкирующая последовательность транспозона Tn1999 регулирует экспрессию гена bla_{OXA-48} [30, 31].

Важным аспектом, который затрудняет выявление микроорганизмов, продуцирующих β -лактамазы OXA-типа, является их ослабленная способность к гидролизу карбапенема *in vitro*, что затрудняет идентификацию фенотипической устойчивости данных микроорганизмов в ходе микробиологической диагностики. Поэтому выявление OXA-48-продуцирующих микроорганизмов в клиническом материале ориентировано на использование молекулярно-генетических методов анализа, что позволяет избегать ошибок при выборе антибактериальных ЛС для лечения пациентов [32].

β -лактамазы KPC-типа (*Klebsiella Pneumoniae* Carbapenemase – карбапенемазы *K. pneumoniae*) представляют собой ферменты, которые также кодируются плазмидной ДНК и распространяются либо вертикально, либо посредством горизонтального переноса генов. Спектр субстратов данных ферментов включает широкий перечень антибактериальных ЛС: пенициллины, карбапенемы, азтреонам, цефалоспорины I–V поколений, в том числе цефотаксим [13]. Впервые фермент KPC-1 был выделен в США в 1996 году у *K. pneumoniae*. Остальные члены семейства KPC являются продуктами точечных мутаций в гене bla_{KPC} , а их белковые последовательности отличаются 1–2 аминокислотами, что приводит к вариациям субстратной активности ферментов. Описано более 20 различных вариантов KPC, которые обладают различной специфичностью к субстрату, но KPC-2 и KPC-3 остаются наиболее распространенными вариантами фермента [33].

У ферментов группы KPC, в отличие от других β -лактамаз молекулярного класса A, остаток серина, который отвечает за каталитическую активность, занимает более поверхностное положение в активном центре, что обеспечивает им большую доступность каталитического центра для взаимодействия с карбапенемами. Ферменты KPC слабо ингибируются клавуланатом [34].

Синтез и продукция KPC контролируется плазмидным геном bla_{KPC} , который расположен в транспозоне семейства Tn3 – Tn4401 – это мобильный генетический элемент, обладающий генами транспозазы (*tnpA*) и резольвазы (*tnpR*) в дополнение к двум неродственным инсерционным последовательностям (IS): ISKpn6 и ISKpn7. Как и в случае генов bla_{OXA} , это способствует широкому распространению генов bla_{KPC} между разными видами микроорганизмов, так как данный транспозон способен встраиваться в плазмиды любых грамотрицательных бактерий [33, 35].

У микроорганизмов, несущих гены bla_{KPC} , с высокой частотой выявляется присутствие других генетических элементов устойчивости (*AmpC* цефалоспорииназы, β -лактамаз расширенного спектра, металло- β -лактамаз, *qnrA*, *qnrB*, *ArmA*, *RmtB*), а также низкий уровень экспрессии пориновых белков *OmpK35* и *OmpK37*. Все это способствует формированию мультирезистентного фенотипа у микроорганизма [36–38].

В 2010 году Kitchel B. и соавт. опубликовали исследование, в ходе которого были проанализированы изоляты *K. pneumoniae*, продуцирующие KPC ($n=27$), и диапазон МИК карбапенемов (меропенем или имипенем) для них. Результаты, полученные с использованием метода вестерн-блоттинга, позволили установить, что среди 14 изолятов с высоким уровнем устойчивости к карбапенемам 10 продуцировали повышенное количество KPC. При этом данные изоляты либо содержали увеличенное

количество копий гена bla_{KPC} ($n=3$), либо имели делеции ($n=7$) в нуклеотидной последовательности непосредственно перед геном bla_{KPC} в неконсервативной области транспозона Tn4401. Остальные 4 изолята, несмотря на то что имели высокую устойчивость к карбапенемам, не обладали высоким уровнем продукции КРС. Анализ секвенирования генов поринов позволил выявить 22 изолята, потенциально лишенных функционального гена $OmpK35$, и три изолята, потенциально лишенных функционального гена $OmpK36$. Наиболее высокие значения МИК были обнаружены у двух изолятов, у которых отсутствовали оба функционирующих порина и которые продуцировали повышенные количества КРС. Одиннадцать изолятов с низким уровнем устойчивости к карбапенемам не содержали ни делеций, ни увеличения числа копий bla_{KPC} . Все это позволило сделать вывод о том, что количество копий гена bla_{KPC} (несколько копий гена в составе одной плазмиды или присутствие в одной клетке нескольких плазмид, содержащих данный ген), а также делеции в регуляторной области транспозона оказывают влияние на уровень продукции КРС и могут приводить к формированию разной степени устойчивости к карбапенемам у КРС-продуцирующих *K. pneumoniae*, особенно при ассоциации с нарушением синтеза поринов [23].

Металло-β-лактамазы (MBL – metallo-β-lactamases) – ферменты, которые характеризуются способностью гидролизовать карбапенемы и устойчивостью к коммерчески доступным ингибиторам β-лактамаз, но чувствительностью к ингибированию хелаторами ионов металлов. К инактиваторам металло-β-лактамаз относятся такие хелаторы металлов, как ЭДТА, о-1, 10-фенантролин и дипиколиновая кислота, однако все они не могут быть использованы в клинической практике. Поиск эффективного и высокоспецифичного ингибитора металло-β-лактамаз осложняется тем, что данное соединение должно не только подавлять активность данных ферментов, но также не оказывать влияния на белки и металлосодержащие ферменты в организме человека [19].

Спектр субстратов металло-β-лактамаз довольно широк, они могут разрушать все классы β-лактамов, кроме монобактамов, и отличаются постоянной и эффективной карбапенемазной активностью. Механизм гидролиза основан на взаимодействии β-лактамов с ионами цинка в активном центре фермента [13].

На основе анализа аминокислотных последовательностей металло-β-лактамазы делят на три субкласса – В1, В2 и В3. Ферменты субклассов В1 и В3 отличаются только тем, что у В1 в сайте 2 находится Cys221, а у В3 он замещен на His. Данные субклассы обладают широким спектром действия и способны гидролизовать практически все β-лактамы, за исключением монобактамов. Ферменты субкласса В2 способны гидролизовать исключительно карбапенемы и показывают низкую активность в отношении пенициллинов и цефалоспоринов [19].

Для *K. pneumoniae* характерна продукция металло-β-лактамаз типов IMP, NDM, VIM. Впервые карбапенемаза IMP типа была обнаружена в 1988 году в Японии в составе конъюгативной плазмиды у *P. aeruginosa*. Среди ферментов IMP идентифицировано 48 вариантов. Некоторые ферменты IMP, например, IMP-1 и IMP-2, имеют высокую (85%) гомологию аминокислотной последовательности, при этом аминокислотные замены расположены за пределами высококонсервативных последовательностей ферментов. Это обуславливает то, что кинетические параметры IMP-1 и IMP-2 практически идентичны для многих субстратов [39]. Гены bla_{IMP} зачастую

располагаются на плазмидах большого размера, которые переносятся микроорганизмами рода *Enterobacteriaceae*. Данные гены представляют собой генные кассеты, объединенные с интегронами, которые обеспечивают встраивание генных кассет в геном микроорганизма. Частота выявления изолятов, продуцирующих IMP, намного меньше, чем изолятов, продуцирующих другие β-лактамазы (KPC, VIM, NDM или OXA-48) [31, 40–42].

Гены bla_{VIM} являются частью генной кассеты, включенной в интегрон класса 1, который дает им возможность с очень высокой эффективностью встраиваться в геном (в плазмиды или в хромосомы) других бактерий, тем самым способствуя их широкому распространению как среди разных клонов одного вида грамотрицательных микроорганизмов, так и среди других видов бактерий. Кроме того, у микроорганизмов, несущих гены bla_{VIM} , с высокой частотой присутствуют также гены bla_{KPC} , bla_{SHV} , bla_{CTX-M} , что приводит к появлению микроорганизмов с фенотипом множественной устойчивости. Семейство VIM включает 41 вариант фермента, наиболее распространенным среди которых является VIM-2 [43–46].

Ферменты NDM-1 относятся к субклассу B1 металло-β-лактамаз. Аминокислотная последовательность NDM-1 имеет малое сходство с другими металло-β-лактамазами (например, гомология аминокислотной последовательности NDM-1 с VIM-1 и VIM-2 составляет 32,4%). Описано 12 вариантов этого фермента. Анализ нуклеотидных последовательностей паттернов устойчивости позволил установить, что присутствие bla_{NDM} с высокой частотой ассоциировано с наличием в геноме микроорганизма детерминант устойчивости к другим антибактериальным ЛС (AmpC, другие типы карбапенемаз – OXA-48, VIM и KPC), что значительно сужает спектр ЛС для лечения пациентов, инфицированных микроорганизмами – продуцентами NDM-1. Как правило, NDM-продуцирующие микроорганизмы устойчивы к действию всех групп антибактериальных ЛС и чувствительны лишь к полимиксинам (колистину) и тигециклину [31, 47–50].

Впервые микроорганизмы, продуцирующие ферменты NDM-типа, были выявлены в 2007 г., а уже к 2012 г. были обнаружены на всех континентах, за исключением Антарктиды. Основными продуцентами карбапенемаз типа NDM являются *K. pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *E. coli*, также продукция ферментов этого типа была выявлена у *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *S. aureus*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* spp. и *Providencia* spp. [51–53].

Штаммы микроорганизмов, продуцирующие β-лактамазы KPC, OXA-48, а также металло-β-лактамазы, способны разрушать практически все известные β-лактамные антибактериальные ЛС. Одновременное присутствие в плазмидах одного микроорганизма нескольких детерминант устойчивости к антибактериальным ЛС обеспечивает для него возможность стать копродуцентом одновременно нескольких типов карбапенемаз.

В 2017 году в ходе ретроспективного исследования Huang W. и соавт. при изучении *K. pneumoniae* с множественной лекарственной устойчивостью по результатам полногеномного секвенирования идентифицировали три клинических изолята возбудителя: CN1, CR14 и NY9, которые одновременно несли гены bla_{CTX-M} и bla_{KPC} . В изолятах CR14 и NY9 bla_{CTX-M} и bla_{KPC} входили в состав двух разных плазмид. Напротив, изолят CN1 имел одну копию bla_{KPC-2} и три копии $bla_{CTX-M-15}$, которые были интегрированы

в хромосому, при этом гены $bla_{CTX-M-15}$ были связаны с инсерционной последовательностью ISEcp1, тогда как ген bla_{KPC-2} находился в составе транспозона Tn4401a, конъюгированного с PsP3-подобным профагом. У изолята CN1 рядом с последовательностью Tn4401a- bla_{KPC-2} -профага был выявлен кластер регулярно расположенных группами коротких палиндромных повторов (clustered regularly interspaced short palindromic repeat) – CRISPR-cas с четырьмя спейсерами, ассоциированными с плазмидами *K. pneumoniae*, несущими гены устойчивости к противомикробным ЛС. Сравнительный геномный анализ показал, что в штаммах *K. pneumoniae* присутствует два подтипа I-E CRISPR-cas, что дало возможность предположить, что именно изменяющийся CRISPR-cas с приобретенным новым спейсером индуцирует мобилизацию генов устойчивости к противомикробным ЛС из плазмид в хромосому [54].

Многие мобильные генетические элементы, включая плазмиды, интегроны и транспозоны, способны объединяться в массивы (модули) антибиотикорезистентных генов, экспрессия которых взаимосвязана, в результате при их распространении среди микроорганизмов происходит развитие устойчивости сразу к нескольким ЛС [55]. Именно с этим эффектом связывают появление экстремально резистентных штаммов *K. pneumoniae*, устойчивых в том числе и к карбапенемам [7, 56, 57]. Комбинация генов β -лактамаз различных классов в одном геноме очень эффективна, поскольку в результате микроорганизм приобретает устойчивость к широкому спектру антибактериальных ЛС. Для лечения инфекций, обусловленных штаммами *K. pneumoniae*, которые несут гены β -лактамаз различных классов, используют колистин и тигециклин, которые являются последней линией терапии [58].

В ряде случаев у изолятов *K. pneumoniae* наряду с устойчивостью к карбапенемам не было выявлено генетических элементов устойчивости или продукции карбапенемаз [59, 60]. У данных штаммов возбудителя были определены мутации в генах поринов *ompK35* и/или *ompK36*, что позволило предположить наличие у возбудителя механизма устойчивости, основанного на снижении проникновения карбапенема в бактериальную клетку через внешнюю мембрану.

Порины – белки наружной мембраны бактериальных клеток, которые обычно функционируют как каналы трансмембранной диффузии. Количество и тип поринов может изменяться с изменением условий окружающей среды, что обеспечивает регуляцию проницаемости наружной мембраны в ответ на внешние воздействия. Порины *K. pneumoniae* *ompK35* и *ompK36* принадлежат к группе *Porin_1* (PF00267) белков наружной мембраны бактерий, также у данного возбудителя в качестве «основных поринов» выделяют *ompK37* и *ompK38*.

При воздействии антибактериальных ЛС на клетки грамотрицательных бактерий одним из факторов, ответственных за достижение терапевтической концентрации ЛС в клетке, является проницаемость наружной мембраны, которая определяет скорость проникновения ЛС в клетку. β -лактамы антибактериальные ЛС являются гидрофильными соединениями, которые проникают в клетку через порообразующие белки наружной мембраны [61].

У антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов экспрессия «основных» («мажорных») пориновых белков (*Omp*) снижается или отсутствует, что приводит к уменьшению количества молекул ЛС, которые могут проникнуть в бактериальную клетку. Например, при появлении мутаций в генах, контролирующих синтез «основных» поринов *ompK35* и *ompK36* *K. pneumoniae*, экспрессия и функции данных

поринов угнетаются, поэтому для обеспечения процессов жизнедеятельности бактериальной клетки происходит увеличение экспрессии и функций других пор наружной мембраны. Также показано, что в случае восстановления пориновых структур у микроорганизмов происходит увеличение чувствительности к антибактериальным ЛС [62, 63].

В ходе изучения механизмов регуляции экспрессии генов, контролирующих синтез поринов с использованием штаммов *Enterobacter aerogenes*, было установлено, что сверхэкспрессия малых РНК MicF и MicC может подавлять экспрессию генов *ompK35* и *ompK36* [64]. Экспрессия порина *ompK37* индуцируется в ответ на потерю или снижение функций основных поринов [65].

В исследовании, опубликованном Rocker A. и соавт. в 2020 году, было изучено распределение генов порина в более чем 2700 изолятах *K. pneumoniae*. Полученные результаты позволили установить, что потеря порина сама по себе может приводить к формированию устойчивости к карбапенемам у возбудителя. По результатам проведенного анализа была выявлена высокая частота потери функциональности *OmpK35*, особенно в тех штаммах, которые были изолированы из образцов окружающей среды клинических учреждений. На мутантных штаммах микроорганизма было показано, что порин *OmpK35* в значительной степени отвечает за проникновение β -лактамов ЛС в клетку. При анализе профилей чувствительности к антибактериальным ЛС изогенных штаммов *K. pneumoniae*, каждый из которых экспрессирует свой определенный порин в качестве доминирующей поры, были выявлены значительные различия в характеристиках проницаемости каждого типа канала для ЛС [61].

Возникновение устойчивости к колистину у *K. pneumoniae* является серьезной проблемой во всем мире. В 2014 году Olaitan A.O. и соавторы изучили распространенность и молекулярные основы устойчивости к колистину у *Klebsiella* spp., выделенных у здоровых людей и пациентов в Лаосской Народно-Демократической Республике, Таиланде, Нигерии и Франции. Всего было проанализировано 869 образцов стула на наличие устойчивых к колистину видов *Klebsiella* spp. Сравнительный анализ полногеномной последовательности позволил установить, что у резистентных штаммов в гене *mgrB* присутствуют инсерционная последовательность, а также миссенс-мутации. Из 34 колистин-устойчивых *Klebsiella* spp. в 14 изолятах (41,2%; 13 карбапенем-резистентных и 1 *K. oxytoca*) из четырех стран были выявлены различные дефекты в гене *mgrB*, которых не было обнаружено в контрольных образцах. Количество мутаций в гене *pmrAB* было достоверно ниже в сравнении с количеством мутаций в гене *mgrB* [66].

MgrB представляет собой небольшой регуляторный трансмембранный белок, продукция которого индуцируется при активации сигнальной системы *PhoQ/PhoP*. Он функционирует по принципу отрицательной обратной связи путем прямого взаимодействия с сенсорной киназой *PhoQ* на периплазматическом уровне. Сигнальная система *PhoQ/PhoP* реагирует на низкий уровень магния и присутствие в окружающей среде определенных катионных антимикробных пептидов. Он регулирует экспрессию генов, контролирующих процессы роста и образование факторов вирулентности у многих грамотрицательных патогенов. *PhoQ* представляет собой сенсорную киназу, которая фосфорилирует и активирует фактор транскрипции *PhoP* [67].

Делеции в гене *mgrB*, который кодирует пептид из 47 аминокислот, приводит к усилению транскрипции генов, регулируемых *PhoP*. Способность гена *mgrB* оказывать такое влияние была показана для *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* и *Yersinia pestis*. Также было установлено, что инактивация гена-регулятора *PhoP/PhoQ mgrB* связана с $\geq 40\%$ устойчивости к колистину среди карбапенем-резистентных изолятов *Klebsiella* spp.

Инсерционная инактивация гена *mgrB* через регулятор сигнальной системы *PhoQ/PhoP* является генетическим механизмом приобретенной устойчивости к колистину, что было подтверждено экспериментами по дополнительному введению в клетку микроорганизма, устойчивого к колистину, *mgrB* гена дикого типа, после чего восприимчивость микроорганизма к колистину восстанавливалась. Также это было подтверждено экспериментами по созданию мутантных микроорганизмов с делецией гена *mgrB* из клеток микроорганизмов, чувствительных к колистину, что приводило к формированию устойчивого к колистину фенотипа. У устойчивых к колистину мутантов, несущих инсерционную инактивацию или делецию гена *mgrB*, была обнаружена повышенная регуляция транскрипции *phoP*, *phoQ* и *pmrK* (который является частью оперона *pmrHFIJKLM*) [68].

Высокое давление отбора под действием широкого применения антибактериальных и дезинфицирующих средств ускорило появление и распространение микроорганизмов, несущих различные факторы генетически-опосредованной устойчивости к ЛС. Результатом этого процесса стало появление экстремально устойчивых штаммов *K. pneumoniae* с фенотипами устойчивости как к карбапенемам, так и к колистину.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Navon-Venezia S., Kondratyeva K., Carattoli A. *Klebsiella pneumoniae*: a major worldwide source and shuttle for antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev.* 2017;41(3):252–275. doi: 10.1093/femsre/fux013
2. Bush K., Jacoby G.A. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(3):969–76. doi: 10.1128/AAC.01009-09. Epub 2009 Dec 7.
3. Krause K.M., Serio A.W., Kane T.R., Connolly L.E. Aminoglycosides: An Overview. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2016;6(6):a027029. doi: 10.1101/cshperspect.a027029
4. Falagas M.E., Bliziotis I.A., Kasiakou S.K., Samonis G., Athanassopoulou P., Michalopoulos A. Outcome of infections due to pandrug-resistant (PDR) Gram-negative bacteria. *BMC Infect Dis.* 2005;5:24. doi: 10.1186/1471-2334-5-24
5. Falagas M.E., Rafailidis P.I., Matthaiou D.K., Vartzili S., Nikita D., Michalopoulos A. Pandrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infections: characteristics and outcome in a series of 28 patients. *Int J Antimicrob Agents.* 2008;32(5):450–4. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2008.05.016. Epub 2008 Sep 2.
6. Leavitt A., Chmelnitsky I., Ofek I., Carmeli Y., Navon-Venezia S. Plasmid pKpQIL encoding KPC-3 and TEM-1 confers carbapenem resistance in an extremely drug-resistant epidemic *Klebsiella pneumoniae* strain. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65(2):243–8. doi: 10.1093/jac/dkp417. Epub 2009 Nov 24.
7. Karaiskos I., Giamarellou H. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant Gram-negative pathogens: current and emerging therapeutic approaches. *Expert Opin Pharmacother.* 2014;15(10):1351–70. doi: 10.1517/14656566.2014.914172. Epub 2014 Apr 28.
8. Huang Y.H., Chou S.H., Liang S.W., Ni C.E., Lin Y.T., Huang Y.W., Yang T.C. Emergence of an XDR and carbapenemase-producing hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* strain in Taiwan. *J Antimicrob Chemother.* 2018;73(8):2039–2046. doi: 10.1093/jac/dky164
9. Krapp F., Ozer E.A., Qi C., Hauser A.R. Case Report of an Extensively Drug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Infection With Genomic Characterization of the Strain and Review of Similar Cases in the United States. *Open Forum Infect Dis.* 2018;5(5):ofy074. doi: 10.1093/ofid/ofy074
10. Zhao S., Duncan M., Tomberg J., Davies C., Unemo M., Nicholas R.A. Genetics of chromosomally mediated intermediate resistance to ceftriaxone and cefixime in *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(9):3744–51. doi: 10.1128/AAC.00304-09. Epub 2009 Jun 15.
11. Li X.Z., Plésiat P., Nikaido H. The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Rev.* 2015;28(2):337–418. doi: 10.1128/CMR.00117-14
12. Sharma V.K., Johnson N., Cizmas L., McDonald T.J., Kim H. A review of the influence of treatment strategies on antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes. *Chemosphere.* 2016;150:702–714. doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.12.084. Epub 2016 Jan 13.
13. Queenan A.M., Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20(3):440–458. doi: 10.1128/CMR.00001-07
14. Reyes J.A., Melano R., Cárdenas P.A., Trueba G. Mobile genetic elements associated with carbapenemase genes in South American Enterobacterales. *Braz J Infect Dis.* 2020;24(3):231–238. doi: 10.1016/j.bjid.2020.03.002. Epub 2020 Apr 21.

15. Osborn A.M., Bøltner D. When phage, plasmids, and transposons collide: genomic islands, and conjugative- and mobilizable-transposons as a mosaic continuum. *Plasmid*. 2002;48(3):202–12. doi: 10.1016/S0147-619X(02)00117-8
16. Nordmann P., Poirel L., Toleman M.A., Walsh T.R. Does broad-spectrum beta-lactam resistance due to NDM-1 herald the end of the antibiotic era for treatment of infections caused by Gram-negative bacteria? *J Antimicrob Chemother*. 2011;66(4):689–92.
17. Bradford P.A., Bratu S., Urban C., Visalli M., Mariano N., Landman D., Rahal J.J., Brooks S., Cebular S., Quale J. Emergence of carbapenem-resistant *Klebsiella* species possessing the class A carbapenem-hydrolyzing KPC-2 and inhibitor-resistant TEM-30 beta-lactamases in New York City. *Clin Infect Dis*. 2004;39(1):55–60. doi: 10.1086/421495. Epub 2004 Jun 14.
18. Yu F., Ying Q., Chen C., Li T., Ding B., Liu Y., Lu Y., Qin Z., Parsons C., Salgado C., Qu D., Pan J., Wang L. Outbreak of pulmonary infection caused by *Klebsiella pneumoniae* isolates harbouring blaIMP-4 and blaDHA-1 in a neonatal intensive care unit in China. *J Med Microbiol*. 2012;61(Pt 7):984–989. doi: 10.1099/jmm.0.043000-0. Epub 2012 Mar 30.
19. Bebrone C. Metallo-beta-lactamases (classification, activity, genetic organization, structure, zinc coordination) and their superfamily. *Biochem Pharmacol*. 2007;74(12):1686–701. doi: 10.1016/j.bcp.2007.05.021. Epub 2007 Jun 2.
20. Bonomo R.A. β -Lactamases: A Focus on Current Challenges. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2017;7(1):a025239. Published 2017 Jan 3. doi: 10.1101/cshperspect.a025239
21. Bush K. Characterization of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 1989;33(3):259–263. doi: 10.1128/AAC.33.3.259
22. Walther-Rasmussen J., Høiby N. Class A carbapenemases. *J Antimicrob Chemother*. 2007;60(3):470–82. doi: 10.1093/jac/dkm226. Epub 2007 Jun 26.
23. Kitchel B., Rasheed J.K., Endimiani A., Hujer A.M., Anderson K.F., Bonomo R.A., Patel J.B. Genetic factors associated with elevated carbapenem resistance in KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(10):4201–7. doi: 10.1128/AAC.00008-10. Epub 2010 Jul 26.
24. Gomez-Simmonds A., Uhlemann A.C. Clinical Implications of Genomic Adaptation and Evolution of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*. *J Infect Dis*. 2017;215(suppl_1):18–27. doi: 10.1093/infdis/jiw378
25. Han R., Shi Q., Wu S. Dissemination of Carbapenemases (KPC, NDM, OXA-48, IMP, and VIM) Among Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Isolated From Adult and Children Patients in China. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10:314. Published 2020 Jul 3. doi: 10.3389/fcimb.2020.00314
26. Oueslati S., Nordmann P., Poirel L. Heterogeneous hydrolytic features for OXA-48-like β -lactamases. *J Antimicrob Chemother*. 2015;70(4):1059–63. doi: 10.1093/jac/dku524. Epub 2015 Jan 11.
27. Walther-Rasmussen J., Høiby N. OXA-type carbapenemases. *J Antimicrob Chemother*. 2006;57(3):373–83. doi: 10.1093/jac/dki482. Epub 2006 Jan 30.
28. Hendrickx A.P.A., Landman F., de Haan A. blaOXA-48-like genome architecture among carbapenemase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in the Netherlands. *Microb Genom*. 2021;7(5):000512. doi: 10.1099/mgen.0.000512
29. Rodriguez O.L., Sousa A., Pérez-Rodríguez M.T. Mortality-related factors in patients with OXA-48 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* bacteremia. *Medicine (Baltimore)*. 2021;100(14):e24880. doi: 10.1097/MD.00000000000024880
30. Aubert D., Naas T., Héritier C., Poirel L., Nordmann P. Functional characterization of IS1999, an IS4 family element involved in mobilization and expression of beta-lactam resistance genes. *J Bacteriol*. 2006;188(18):6506–14. doi: 10.1128/JB.00375-06
31. Nordmann P., Poirel L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20(9):821–30. doi: 10.1111/1469-0691.12719
32. Rivera-Izquierdo M., Láinez-Ramos-Bossini A.J., Rivera-Izquierdo C. OXA-48 Carbapenemase-Producing Enterobacterales in Spanish Hospitals: An Updated Comprehensive Review on a Rising Antimicrobial Resistance. *Antibiotics (Basel)*. 2021;10(1):89. Published 2021 Jan 18. doi: 10.3390/antibiotics10010089
33. Cuzon G., Naas T., Nordmann P. Functional characterization of Tn4401, a Tn3-based transposon involved in blaKPC gene mobilization. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(11):5370–5373. doi: 10.1128/AAC.05202-11
34. Jean S.S., Lee W.S., Lam C., Hsu C.W., Chen R.J., Hsueh P.R. Carbapenemase-producing Gram-negative bacteria: current epidemics, antimicrobial susceptibility and treatment options. *Future Microbiol*. 2015;10(3):407–25. doi: 10.2217/fmb.14.135. PMID: 25812463
35. Arnold R.S., Thom K.A., Sharma S., Phillips M., Kristie Johnson J., Morgan D.J. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *South Med J*. 2011;104(1):40–45. doi: 10.1097/SMJ.0b013e3181fd7d5a
36. Chiu S.K., Wu T.L., Chuang Y.C., Lin J.C., Fung C.P., Lu P.L., Wang J.T., Wang L.S., Siu L.K., Yeh K.M. National surveillance study on carbapenem non-susceptible *Klebsiella pneumoniae* in Taiwan: the emergence and rapid dissemination of KPC-2 carbapenemase. *PLoS One*. 2013;8(7):e69428. doi: 10.1371/journal.pone.0069428
37. Landman D., Bratu S., Quale J. Contribution of OmpK36 to carbapenem susceptibility in KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J Med Microbiol*. 2009;58(Pt 10):1303–1308. doi: 10.1099/jmm.0.012575-0. Epub 2009 Jun 25.
38. Li H., Luo Y.F., Williams B.J., Blackwell T.S., Xie C.M. Structure and function of OprD protein in *Pseudomonas aeruginosa*: from antibiotic resistance to novel therapies. *Int J Med Microbiol*. 2012;302(2):63–8. doi: 10.1016/j.ijmm.2011.10.001. Epub 2012 Jan 5.
39. Nordmann P., Poirel L. Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. *Clin Microbiol Infect*. 2002;8(6):321–31. doi: 10.1046/j.1469-0691.2002.00401.x
40. Saito S., Hayakawa K., Tsuzuki S. A Matched Case-Control Study of the Impact of Clinical Outcomes and Risk Factors of Patients with IMP-Type Carbapenemase-Producing Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae in Japan. *Antimicrob Agents Chemother*. 2021;65(3):e01483–20. Published 2021 Feb 17. doi: 10.1128/AAC.01483-20
41. Hayakawa K., Nakano R., Hase R., Shimatani M., Kato H., Hasumi J., Doi A., Sekiya N., Nei T., Okinaka K., Kasahara K., Kurai H., Nagashima M., Miyoshi-Akiyama T., Kakuta R., Yano H., Ohmagari N. Comparison between IMP carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and non-carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: a multicentre prospective study of the clinical and molecular epidemiology of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother*. 2020;75(3):697–708. doi: 10.1093/jac/dkz501
42. Lowe C.F., Matic N., Champagne S., Romney M.G., Leung V., Ritchie G. The Brief Case: IMP, the Uncommonly Common Carbapenemase. *J Clin Microbiol*. 2020;58(4):e01094–19. Published 2020 Mar 25. doi: 10.1128/JCM.01094-19
43. Lauretti L., Riccio M.L., Mazzariol A., Cornaglia G., Amicosante G., Fontana R., Rossolini G.M. Cloning and characterization of blaVIM, a new integron-borne metallo-beta-lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999;43(7):1584–90. doi: 10.1128/AAC.43.7.1584
44. Toleman M.A., Rolston K., Jones R.N., Walsh T.R. blaVIM-7, an evolutionarily distinct metallo-beta-lactamase gene in a *Pseudomonas aeruginosa* isolate from the United States. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48(1):329–332. doi: 10.1128/AAC.48.1.329-332.2004

45. Liu S., Xu H., Guo X. Emergence and Genetic Characterization of Plasmid-Encoded VIM-2-Producing *Pseudomonas stutzeri* with Novel Integron In1998 Isolated from Cerebrospinal Fluid. *Infect Drug Resist.* 2021;14:3415–3424. Published 2021 Aug 24. doi: 10.2147/IDR.S320294
46. Cabanel N., Rosinski-Chupin I., Chiarelli A. Evolution of VIM-1-Producing *Klebsiella pneumoniae* Isolates from a Hospital Outbreak Reveals the Genetic Bases of the Loss of the Urease-Positive Identification Character. *mSystems.* 2021;6(3):e0024421. doi: 10.1128/mSystems.00244-21
47. Bes T., Nagano D., Martins R. Bloodstream Infections caused by *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens* isolates co-harboring NDM-1 and KPC-2. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2021;20(1):57. Published 2021 Aug 30. doi: 10.1186/s12941-021-00464-5
48. Luo X., Yin Z., Zeng L. Chromosomal Integration of Huge and Complex blaNDM-Carrying Genetic Elements in Enterobacteriaceae. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;11:690799. Published 2021 Jun 15. doi: 10.3389/fcimb.2021.690799
49. Loqman S., Soraia N., Diene S.M., Rolain J.M. Dissemination of Carbapenemases (OXA-48, NDM and VIM) Producing Enterobacteriaceae Isolated from the Mohamed VI University Hospital in Marrakech, Morocco. *Antibiotics (Basel).* 2021;10(5):492. Published 2021 Apr 26. doi: 10.3390/antibiotics10050492
50. Zmarlicka M.T., Nailor M.D., Nicolau D.P. Impact of the New Delhi metallo-beta-lactamase on beta-lactam antibiotics. *Infect Drug Resist.* 2015;8:297–309. Published 2015 Aug 24. doi: 10.2147/IDR.S39186
51. Dortet L., Poirel L., Nordmann P. Worldwide dissemination of the NDM-type carbapenemases in Gram-negative bacteria. *Biomed Res Int.* 2014;2014:249856. doi: 10.1155/2014/249856. Epub 2014 Mar 26.
52. Li Z., Ding Z., Yang J. Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in Southwest China: Molecular Characteristics and Risk Factors Caused by KPC and NDM Producers. *Infect Drug Resist.* 2021;14:3145–3158. Published 2021 Aug 13. doi: 10.2147/IDR.S324244
53. Hirabayashi A., Yahara K., Mitsuhashi S. Plasmid analysis of NDM metallo-β-lactamase-producing Enterobacterales isolated in Vietnam. *PLoS One.* 2021;16(7):e0231119. Published 2021 Jul 28. doi: 10.1371/journal.pone.0231119
54. Huang W., Wang G., Sebra R. Emergence and Evolution of Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* with both blaKPC and blaCTX-M Integrated in the Chromosome. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(7):e00076–17. Published 2017 Jun 27. doi: 10.1128/AAC.00076-17
55. El Salabi A., Walsh T.R., Chouchani C. Extended spectrum β-lactamases, carbapenemases and mobile genetic elements responsible for antibiotics resistance in Gram-negative bacteria. *Crit Rev Microbiol.* 2013;39(2):113–22. doi: 10.3109/1040841X.2012.691870. Epub 2012 Jun 6.
56. Santino I., Bono S., Nuccitelli A., Martinelli D., Petrucci C., Alari A. Microbiological and molecular characterization of extreme drug-resistant carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2013;26(3):785–90. doi: 10.1177/039463201302600325
57. Pontikis K., Karaikos I., Bastani S., Dimopoulos G., Kalogirou M., Katsiari M., Oikonomou A., Poulakou G., Roliides E., Giamarellou H. Outcomes of critically ill intensive care unit patients treated with fosfomycin for infections due to pandrug-resistant and extensively drug-resistant carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents.* 2014;43(1):52–9. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2013.09.010. Epub 2013 Oct 16
58. Piedra-Carrasco N., Miguel L., Fàbrega A., Viñado B., Campany D., Mir A., Fox M.L., Almirante B., Larrosa N., Ruiz-Camps I., González-López J.J. Effectiveness of a Double-Carbapenem Regimen in a KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae* Infection in an Immunocompromised Patient. *Microb Drug Resist.* 2018;24(2):199–202. doi: 10.1089/mdr.2017.0129. Epub 2017 Jul 14.
59. Logan L.K., Weinstein R.A. The Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: The Impact and Evolution of a Global Menace. *J Infect Dis.* 2017;215(suppl. 1):28–36. doi: 10.1093/infdis/jiw282
60. Bradford P.A., Urban C., Mariano N., Projan S.J., Rahal J.J., Bush K. Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, a plasmid-mediated AmpC beta-lactamase, and the loss of an outer membrane protein. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997;41:563–569. doi: 10.1128/AAC.41.3.563
61. Rocker A., Lacey J.A., Belousoff M.J., Wilksch J.J., Strugnell R.A., Davies M.R., Lithgow T. Global Trends in Proteome Remodeling of the Outer Membrane Modulate Antimicrobial Permeability in *Klebsiella pneumoniae*. *mBio.* 2020;11(2):e00603–20. doi: 10.1128/mBio.00603-20
62. Sugawara E., Kojima S., Nikaido H. *Klebsiella pneumoniae* Major Porins OmpK35 and OmpK36 Allow More Efficient Diffusion of β-Lactams than Their *Escherichia coli* Homologs OmpF and OmpC. *J Bacteriol.* 2016;198(23):3200–3208. Published 2016 Nov 4. doi: 10.1128/JB.00590-16
63. Shakib P., Ghafourian S., Zolfaghary M.R., Hushmandfar R., Ranjbar R., Sadeghifard N. Prevalence of OmpK35 and OmpK36 porin expression in beta-lactamase and non-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Biologics.* 2012;6:1–4. doi: 10.2147/BTT.S27582
64. Hao M., Ye M., Shen Z., Hu F., Yang Y., Wu S., Xu X., Zhu S., Qin X., Wang M. Porin deficiency in carbapenem-resistant *Enterobacter aerogenes* strains. *Microb Drug Resist.* 2018;24:1277–1283. doi: 10.1089/mdr.2017.0379
65. Domenech-Sanchez A., Hernandez-Alles S., Martinez-Martinez L., Benedi V.J., Alberti S. Identification and characterization of a new porin gene of *Klebsiella pneumoniae*: its role in beta-lactam antibiotic resistance. *J Bacteriol.* 1999;181:2726–2732. doi: 10.1128/JB.181.9.2726-2732.1999
66. Olaitan A.O., Diene S.M., Kempf M., Berrazeg M., Bakour S., Gupta S.K., Thongmalayvong B., Akkhavong K., Somphavong S., Paboriboune P., Chaisiri K., Komalamisra C., Adelowo O.O., Fagade O.E., Banjo O.A., Oke A.J., Adler A., Assous M.V., Morand S., Raoult D., Rolain J.M. Worldwide emergence of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* from healthy humans and patients in Lao PDR, Thailand, Israel, Nigeria and France owing to inactivation of the PhoP/PhoQ regulator mgrB: an epidemiological and molecular study. *Int J Antimicrob Agents.* 2014;44(6):500–7. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2014.07.020. Epub 2014 Sep 6.
67. Lippa A.M., Goulian M. Feedback inhibition in the PhoQ/PhoP signaling system by a membrane peptide. *PLoS Genet.* 2009;5(12):e1000788. doi: 10.1371/journal.pgen.1000788. Epub 2009 Dec 24.
68. Cannatelli A., D'Andrea M.M., Giani T. In vivo emergence of colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* producing KPC-type carbapenemases mediated by insertional inactivation of the PhoQ/PhoP mgrB regulator. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(11):5521–5526. doi: 10.1128/AAC.01480-13