

Научная статья

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-237>

Оценка наличия генов, связанных с вирулентностью, у изолятов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из микробиоты больных и «практически» здоровых людей, с применением метода мультиплексной полимеразной цепной реакции

Пай Г.В.¹, Ракитина Д.В.¹, Сухина М.А.^{1,2}, Юдин С.М.¹, Макаров В.В.¹, Мания Т.Р.^{1*}, Загайнова А.В.¹

¹Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью ФМБА, Москва, Россия;

²Национальный медицинский исследовательский центр колопроктологии имени А.Н. Рыжих, Москва, Россия

Аннотация

Введение. *Klebsiella pneumoniae* в микробиоте человека может быть представлена как комменсальными, так и высокопатогенными штаммами, например, с гипермукоидным фенотипом. Данный фенотип характеризуется определёнными генетическими детерминантами, позволяющими выявить патогенный потенциал изолятов молекулярно-генетическим методом ПЦР.

Цели и задачи: сравнить патогенный потенциал изолятов *K. pneumoniae*, полученных от «практически» здоровых лиц, пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК), и штаммов, выделенных из биологического материала с внекишечными инфекциями (ВКИ), посредством детекции генов, связанных с вирулентностью.

Материалы и методы. Исследование проводили с применением набора олигонуклеотидов для мультиплексного анализа — 8 генов, предположительно ассоциированных с вирулентностью, с функцией захвата железа (*ybtS*, *kfu*, *iutA*), адгезии и инвазии (*mrkD*), гипермукоидного фенотипа и вирулентных штаммов (*mrkD*, *magA*, *rmpA*, *k2*) и метаболизма аллантаина — продукта расщепления пуринов и мочевой кислоты (*allS*). Анализу подвергли 69 изолятов, выделенных из микробиоты кишечника пациентов с ВЗК, 68 изолятов из кишечной микробиоты «практически» здоровых людей и 25 мультирезистентных изолятов, выделенных из крови, мочи, операционных ран, бронхоальвеолярного лаважа пациентов с ВКИ.

Результаты. Установлено, что 4 из 8 исследованных генов были ассоциированы с различными болезненными состояниями, диагностируемыми у пациентов. Ген сидерофора *ybtS* достоверно чаще встречался у изолятов, выделенных как у больных с ВЗК ($p = 0,024$), так и с мультирезистентными ВКИ ($p < 0,001$). У изолятов ВЗК также достоверно чаще представлен ген гипермукоидного фенотипа *rmpA* ($p = 0,038$). У мультирезистентных внекишечных изолятов наиболее достоверно представлены адгезин *mrkD* ($p \leq 0,001$) и *allS* ($p = 0,032$).

Заключение. Изоляты *K. pneumoniae* от пациентов с ВКИ имели наибольший патогенный потенциал, а изоляты из кала «практически» здоровых лиц — наименьший. Наиболее часто встречающиеся гены вирулентности связаны с адгезией и гипермукоидным фенотипом.

Ключевые слова: *Klebsiella pneumoniae*, гипермукоидный фенотип, *allS*, *ybtS*, *rmpA*, ВЗК, внекишечные *Klebsiella pneumoniae*

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов. Протокол исследования одобрен Локальным независимым этическим комитетом ГНЦК им. А.Н. Рыжих (протокол № 98А от 16.07.2018).

Источник финансирования. Исследование проводилось при поддержке Государственного задания № ААА-А-18-118020590091-2, тема «Разработка технологий криоконсервации и архивирования биобразцов микробиологических ресурсов человека».

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Пай Г.В., Ракитина Д.В., Сухина М.А., Юдин С.М., Макаров В.В., Мания Т.Р., Загайнова А.В. Оценка наличия генов, связанных с вирулентностью, у изолятов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из микробиоты больных и «практически» здоровых людей, с применением метода мультиплексной полимеразной цепной реакции. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022;99(4):436–444.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-237>

Multiplex PCR screening for virulence genes of *Klebsiella pneumoniae* isolated from microbiota of diseased and healthy people

Galina V. Pay¹, Daria V. Rakitina¹, Marina A. Sukhina^{1,2}, Sergey M. Yudin¹, Valentin V. Makarov¹, Tamari R. Maniya^{1✉}, Angelika V. Zagaynova¹

¹Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risk of the Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia;

²State Scientific Center of Coloproctology, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. *Klebsiella pneumoniae* in human microbiota may appear as a part of commensal microbiota, and as hypervirulent pathogen, for example, hypermucoid pathotype. This pathotype is characterized by certain genetic determinants, leading to the possibility of detecting the pathogenic potential of isolates by PCR.

Aim of the study: to evaluate and compare pathogenic potential of *K. pneumoniae* isolates from practically healthy people, patients with inflammatory bowel disease (IBD) and extraintestinal infections (ExII).

Materials and methods. Testing was performed with the set of nucleotides for multiplex PCR analysis targeting eight potentially virulent genes with the following functions: ferrum uptake (*ybsT*, *kfu*, *iutA*), adhesion and invasion (*mrkD*), hypermucoid phenotype and virulent serotypes (*mrkD*, *magA*, *mpaA*, *k2*) and metabolism of allantoin (*allS*). PCR assay was used to screen *Klebsiella pneumoniae* isolates from feces of patients with IBD (69 isolates) and of practically healthy people (68 isolates), and multiresistant isolates from biological material (blood, urine, surgical wounds, bronchoalveolar lavage) of patients with extraintestinal infections (mrExII, 25 isolates).

Results. Results of the testing demonstrated association of four of targeted determinants with the patients diagnoses. *YbtS* gene was significantly more often found in isolates from IBD ($p = 0.024$) and mrExII ($p < 0.001$) groups. *RmpA* gene was significantly more often detected in IBD group ($p = 0.038$). Extraintestinal infectious isolates were significantly ($p \leq 0.001$) enriched with *mrkD* and *allS* genes ($p = 0.032$).

Conclusion. The most potentially virulent group was isolated from patients with extraintestinal infections, the least virulent — isolates from feces of practically healthy people. The most frequently detected virulence genes were involved in adhesion and hypermucoid phenotype formation.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, hypermucoid phenotype, allantoin metabolism, siderophore, IBD, extraintestinal *Klebsiella pneumoniae*

Ethics approval. The study was conducted with the informed consent of the patients. The research protocol was approved by the Local Ethics Committee of the State Scientific Center of Coloproctology (protocol No. 98A, July 16, 2018).

Funding source. The research was carried out with the support of the State Assignment № AAAA-A18-118020590091-2, theme "Development of technologies for cryopreservation and archiving of biological samples of human microecological resources".

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Pay G.V., Rakitina D.V., Sukhina M.A., Yudin S.M., Makarov V.V., Maniya T.R., Zagaynova A.V. Multiplex PCR screening for virulence genes of *Klebsiella pneumoniae* isolated from microbiota of diseased and healthy people. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2022;99(4):436–444. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-237>

Введение

Klebsiella pneumoniae является представителем нормальной резидентной микрофлоры верхних дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта у «практически» здоровых людей [1]. С другой стороны, *K. pneumoniae* является клинически значимым условно-патогенным микроорганизмом и может попадать в организм человека как из внешней среды (в том числе с водой), так и в условиях внутрибольничного инфицирования [1–3]. *K. pneumoniae* способна поражать различные системы и органы при пневмониях, менингитах, инфекциях мочеполовых путей, абсцессах и инфекциях ран [4, 5]. Описан ряд слу-

чаев, когда *K. pneumoniae* вызывала эпидемические вспышки [6, 7]. В последнее время предполагается участие *K. pneumoniae* в патогенезе различных воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) [8, 9].

Поскольку *K. pneumoniae* может быть как частью нормальной микрофлоры кишечника, так и инфекционным агентом, для диагностики и лечения встаёт вопрос об участии в патогенезе заболевания конкретного изолята, выделенного от пациента. Патогенность *K. pneumoniae* может быть обусловлена различными факторами, обеспечивающими защиту от атаки иммунной системы организма, способность к адгезии и инвазии в клетки хозяина, выработку ток-

синов, а также устойчивость к антибиотикам [10–12]. Система поглощения железа, включающая секрецию сидерофоров (белков и пептидов, ответственных за захват и импорт ионов железа), также способна внести вклад в патогенез, индуцируя воспаление и усиленный бактериальный рост [13].

В последние годы выделяют определённый патотип гипервирулентных бактерий *K. pneumoniae* (hvKp). Изоляты клебсиелл, относящиеся к hvKp, способны вызывать кишечные и внекишечные поражения (загрывающие печень, лёгкие, мочеполовые пути и т.д.) и распространяются как в обществе, так и в качестве госпитальных инфекций [10, 14].

Определяющим фенотипическим признаком hvKp является гипермукоидный фенотип. Он легко выявляется «нитевым тестом»: колония бактерий на агаровой чашке может быть растянута инокуляционной петлей как минимум на 5 мм [15].

Другими признаками hvKp считаются устойчивость к антибиотикам [16], повышенный биосинтез полисахаридов бактериальной капсулы [17] и специфические серотипы бактериальной капсулы, а также повышенная продукция определённых сидерофоров [18]. Все эти признаки связаны с определёнными генами, находящимися как в плазмидах вирулентности, так и в мобильных элементах, интегрированных в геном бактерии [17]. Таким образом, по крайней мере предварительно, вирулентность бактерии может быть оценена не микробиологическими, биохимическими методами и тестами на животных, а методом генетического анализа с применением полимеразной цепной реакции (ПЦР). Выявление корректных генов-мишеней у микроорганизмов необходимо для разработки диагностических наборов, планируемых для использования в клинических лабораториях, при эпидемиологическом мониторинге и в научных исследованиях.

Цель работы — оценить патогенный потенциал изолятов *K. pneumoniae*, изолированных от «практически» здоровых лиц, пациентов с ВЗК, и штаммов, выделенных из биологического материала пациентов с внекишечными инфекциями (ВКИ) посредством детекции генов, связанных с вирулентностью.

Материалы и методы

Исследование проводили с применением набора олигонуклеотидов для мультиплексного анализа, предложенного F. Comrain и соавт. [19], — 8 генов, предположительно ассоциированных с вирулентностью, с функцией захвата железа (3 гена), адгезии и инвазии (3 гена), вирулентного серотипа и метаболизма аллантаина (продукта расщепления пуринов и мочевой кислоты).

Изоляты и пациенты

Бактериальные изоляты получены из музейной коллекции Центра стратегического планирования

ФМБА России. Изоляты *K. pneumoniae* были выделены культуральным методом на плотных дифференциальных средах Эндо («HiMedia»), Агар ВСП («Conda»), Chromocult Conform Agar («Merck») из кала 69 пациентов с ВЗК и 68 «практически» здоровых людей (без жалоб на проблемы с желудочно-кишечным трактом). Изучены также 25 штаммов из раневых поверхностей, крови, мочи и бронхоальвеолярного лаважа от пациентов с мультирезистентными ВКИ (мрВКИ) со множественной устойчивостью к антибиотикам, предоставленные НМНИЦ колопроктологии им. А.Н. Рыжих.

Видовую идентификацию изолятов проводили методом матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации с времяпролётной масс-спектрометрией (MALDI-TOF MS) на анализаторе «Microflex MALDI-TOF MS» («Bruker Daltonics GmbH & Co. KG») с использованием базы бактериальных белковых спектров и программного обеспечения «MALDI Biotyper» («Bruker Daltonics GmbH & Co. KG»). Идентификацию проводили согласно протоколу производителя, достоверным считали результат с Z-score > 2.

Критерии включения пациентов для группы ВЗК:

- возраст старше 18 лет;
- диагностированное гастроэнтерологом ВЗК (язвенный колит или болезнь Крона);
- отсутствие антибиотикотерапии в течение последних 3 мес.

Критерии включения пациентов для группы практически здоровых людей:

- возраст старше 18 лет;
- отсутствие жалоб на здоровье в области желудочно-кишечного тракта;
- нормальный стул;
- отсутствие антибиотикотерапии в течение последних 3 мес.

У всех пациентов было получено добровольное информированное согласие на сбор материала и проведение исследования. Протокол исследования одобрено Локальным независимым этическим комитетом (протокол № 98А заседания Локального независимого этического комитета ФГБУ «ГНЦК им. А.Н. Рыжих» от 16.07.2018).

Все выделенные изоляты *K. pneumoniae* хранятся в рабочей коллекции ЦСП ФМБА в среде для длительного хранения живых бактериальных клеток при -70°C^1 .

Выделение ДНК

Культивированные бактериальные клетки промывали стерильным физиологическим раствором, собирали центрифугированием, ресуспендировали в стерильном физрастворе и лизировали прогрева-

¹ Патент на изобретение № 2019128097 от 06.09.2019.

нием при 70°C в течение 15 мин. Клеточный дебрис осаждали центрифугированием в течение 10 мин при 6000 об/мин, а надосадочную жидкость, содержащую бактериальную ДНК, использовали для постановки ПЦР.

ПЦР-анализ

ПЦР-анализ проводили на приборе «Bio-Rad Thermal Cycler T100» («Bio-Rad Laboratories, Inc.») с использованием синтетических олигонуклеотидов, предложенных F. Comrain и соавт. [19], для мультиплексного анализа (табл. 1) и реактивов набора для ПЦР с Taq-полимеразой (PK114, «Евроген») согласно протоколу производителя.

Условия реакции: 15 мин при 95°C, 30 циклов (95°C 30 с, 60°C 90 с, 72°C 60 с), финальная стадия элонгации 72°C 10 мин [19].

Продукты реакции детектировали методом электрофореза в 1,2% агарозном геле на трис-борат-ЭДТА буфере с окрашиванием бромистым этидием. Детекцию производили с помощью системы «BioRad Gel-detection» («Bio-Rad Laboratories, Inc.»).

Статистический анализ

Анализ статистической достоверности различий представленности генов *K. pneumoniae*, связанных с вирулентностью, между группами изолятов проводили с помощью программного обеспечения «Statistica» («Statsoft») методом критерия согласия Пирсона (χ^2) [20].

Результаты

Результаты исследования наличия генов-мишеней у выборки из 69 изолятов от больных ВЗК, 68 изолята из кала «практически» здоровых людей и 25 изолятов от пациентов с ВКИ приведены на рисунке.

Статистические различия между группами изолятов, выделенных от больных с ВЗК, ВКИ, обусловленными *K. pneumoniae* и группой изолятов, выделенных от «практически» здоровых лиц, представлены в табл. 2.

Ген сидерофора *ybtS* обнаруживался в изучаемых группах с достоверно различной частотой — у 88% изолятов мрВКИ, у 46,4% ВЗК и ещё реже у изолятов от «практически» здоровых — 26,5%. Отвечающий за транспорт железа ген *kfu* выявлялся во всех исследуемых группах без статистически значимых отличий (8–13% изолятов). Сидерофор *iutA* не выявлен у мрВКИ и найден всего у 1,4% ВЗК, в то же время обнаруживается у 7,4% здоровых изолятов из кала.

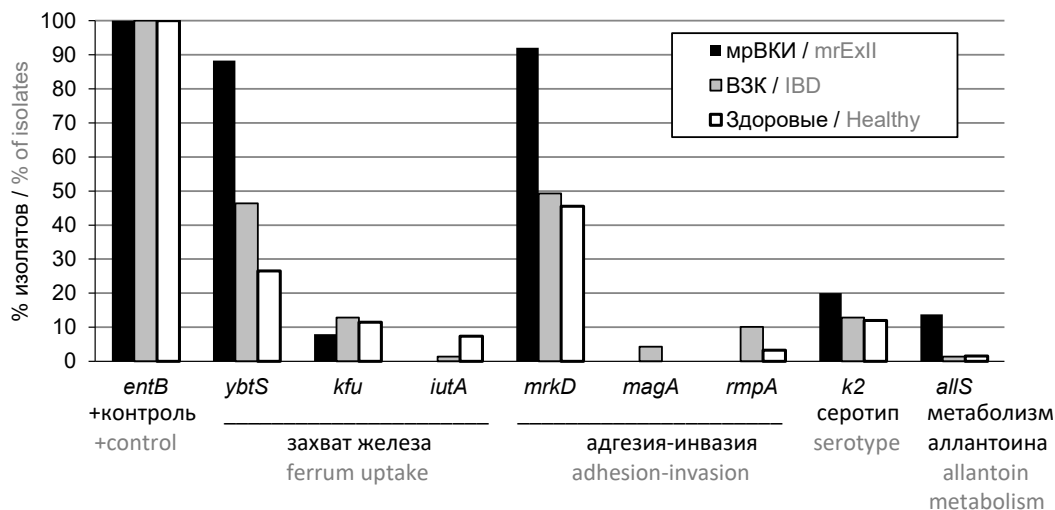
Ген *mrkD*, кодирующий фимбриальный адгезин 3-го типа, обеспечивающий прикрепление клебсиелл к целому ряду тканей человека, выявлен у ~49,3% изолятов ВЗК, у 45,5% здоровых и у 92% изолятов ВКИ.

Ген *k2*, ассоциированный с K2-серотипом бактериальной капсулы, встречался во всех исследуемых группах изолятов из кала — как здоровых, так и ВЗК и мрВКИ, без статистических различий.

Таблица 1. Используемые в работе последовательности для синтетических олигонуклеотидов

Table 1. Specific oligonucleotides sequences used in PCR assay

Ген-мишень ПЦР Target gene	Функция белка — продукта гена-мишени Function of protein — product of target gene	Название олигонуклеотида Oligonucleotide title	Последовательность олигонуклеотида Oligonucleotide sequence
<i>entB</i>	Сидерофор Siderophore	<i>entB_for</i> <i>entB_rev</i>	GTC AAC TGG GCC TTT GAG CCG TC TAT GGG CGT AAA CGC CGG TGA T
<i>ybtS</i>	Сидерофор Siderophore	<i>ybtS_for</i> <i>ybtS_rev</i>	GAC GGA AAC AGC ACG GTA AA GAG CAT AAT AAG GCG AAA GA
<i>kfu</i>	Транспорт железа и функция фосфотрансферазы Iron transport and phosphotransferase function	<i>kfu_for</i> <i>kfu_rev</i>	GGC CTT TGT CCA GAG CTA CG GGG TCT GGC GCA GAG TAT GC
<i>iutA</i>	Сидерофор Siderophore	<i>iutA_for</i> <i>iutA_rev</i>	GGG AAA GGC TTC TCT GCC AT TTA TTC GCC ACC ACG CTC TT
<i>mrkD</i>	Адгезин 3-го типа Adhesin 3 type	<i>mrkD_for</i> <i>mrkD_rev</i>	AAG CTA TCG CTG TAC TTC CGG CA GGC GTT GGC GCT CAG ATA GG
<i>magA</i>	Ассоциирован с K1-серотипом и гипермукоидным фенотипом Associated with K1 serotype and hypermucoid phenotype	<i>magA_for</i> <i>magA_rev</i>	GGT GCT CTT TAC ATC ATT GC GCAATG GCC ATT TGC GTT AG
<i>rmpA</i>	Ген гипермукоидного фенотипа Hypermucoid phenotype gene	<i>rmpA_for</i> <i>rmpA_rev</i>	CAT AAG AGT ATT GGT TGA CAG CTT GCA TGA GCC ATC TTT CA
<i>k2</i>	K2-серотип капсулы K2 capsule serotype	<i>K2_for</i> <i>K2_rev</i>	CAA CCA TGG TGG TCG ATT AG TGG TAG CCA TAT CCC TTT GG
<i>allS</i>	Метаболизм аллантиина Allantoine metabolism	<i>allS_for</i> <i>allS_rev</i>	CAT TAC GCA CCT TTG TCA GC GAA TGT GTC GGC GAT CAG CTT



Доля изолятов, выделенных из кала «практически» здоровых людей, больных ВЗК и ВКИ, содержащих потенциально опасные гены *K. pneumoniae*.

Ген *entB* использовался как положительный контроль прохождения реакции и выявлялся во всех исследуемых образцах.

Percentage of *K. pneumoniae* isolates with potentially virulent genes from healthy people, IBD patients and multiresistant ExII isolates.

EntB gene was used as a positive control of reaction and was present in all studied isolates.

Ген, связанный с гипермукоидным фенотипом *K. pneumoniae* (*rmpA*), не обнаружен во внекишечных изолятах, а среди кишечных чаще встречаются у изолятов, выделенных из ВЗК (10,1%). Хромосомный ген *magA*, ассоциированный с гипермукоидным фенотипом, встречается только у ВЗК-изолятов (4,3% из выборки).

Интересно, что ген *allS* достоверно чаще ($\chi^2 = 4,9$; $p = 0,032$) встречался в группе внекишечных изолятов (13,8% в сравнении с 1,4–1,6 у изолятов, выделенных из кала).

Обсуждение

Из 4 изученных генов сидерофоров только *ybtS* показал значимые отличия для исследуемых групп. Он достоверно чаще встречался у изолятов, выделенных от больных с ВЗК ($p = 0,024$) и мрВКИ ($p < 0,001$), в сравнении с изолятами, выделенными у «практически» здоровых людей. Основная функция сидерофоров заключается в переводе железа, связанного с белками или водонерастворимыми

соединениями, в доступную для микроорганизмов ионную форму Fe^{3+} . Большинство аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов синтезируют хотя бы один сидерофор. В ряде исследований также выявлена связь сидерофоров с вирулентностью микроорганизмов [13].

Ген гипермукоидного фенотипа *rmpA* достоверно ($p = 0,038$) чаще встречался у изолятов, выделенных из кала пациентов с ВЗК, отличая эту группу как от группы обследованных «практически» здоровых, так и от пациентов с мрВКИ. Действительно, инвазивные способности *hvkp* считаются ассоциированными с гипермукоидностью — способностью формировать мукоидную нить повышенной длины (более 5 мм) и вязкости. Ген *rmpA* регулирует синтез внеклеточных полисахаридов, а ген *magA* отвечает за полимеризацию капсулы [21, 22]. Обнаружение этих генов только у бактерий, изолированных из кала больных, может быть связано с тем, что гипермукоидный фенотип предоставляет преимущества в случае колонизации

Таблица 2. Результаты статистического анализа данных методом критерия согласия Пирсона (χ^2)

Table 2. Statistical evaluation of PCR assay results by Pearson's χ^2 test

Сравниваемые группы Compared groups	Исследуемые гены / Target genes						
	<i>ybtS</i>	<i>magA</i>	<i>rmpA</i>	<i>mrkD</i>	<i>allS</i>	<i>K2</i>	<i>iutA</i>
ВЗК/«практически» здоровые IBD/"practically healthy"	$\chi^2 = 5,8$ ($p < 0,05$) $p = 0,024$	$\chi^2 = 2,5$ ($p > 0,05$)	$\chi^2 = 4,6$ ($p < 0,05$) $p = 0,038$	$\chi^2 = 0,025$ ($p > 0,05$)	$\chi^2 = 0,004$ ($p > 0,05$)	$\chi^2 = 0,004$ ($p > 0,05$)	$\chi^2 = 3,17$ ($p > 0,05$)
мрВКИ/«практически» здоровые mrExII/"practically healthy"	$\chi^2 = 28,2$ ($p < 0,01$) $p < 0,001$	$\chi^2 = 0$ ($p > 0,05$)	$\chi^2 = 0,787$ ($p > 0,05$)	$\chi^2 = 16,2$ ($p < 0,01$) $p < 0,001$	$\chi^2 = 4,9$ ($p < 0,05$) $p = 0,032$	$\chi^2 = 0,865$ ($p > 0,05$)	$\chi^2 = 2,036$ ($p > 0,05$)

Примечание. Для гена *kfu* не выявлено статистически значимых отличий между исследуемыми группами.

Note. For *kfu* gene no statistical difference was found between the studied groups.

на слизистых поверхностях. Ряд исследователей предполагают, что колонизация кишечника — это обязательная первичная стадия инфицирования организма, даже если инфекция проявляется в иных локализациях [23, 24]. С кишечной колонизацией связывают также предполагаемые пути эпидемического распространения *hvkp* [25]. Есть сообщения о более частой встречаемости гена *rmpA* у кишечных изолятов в сравнении с внекишечными (в том числе из мочи и мазков слизистой оболочки зева) [26]. С другой стороны, имеются исследования, в которых показано наличие связи гена *rmpA* именно с ВКИ и системной инфекцией [27].

При анализе генов, чаще встречающихся у мультирезистентных штаммов от больных с мрВКИ, выявлены 3 гена, статистически чаще встречающиеся у изолятов данной группы больных в сравнении с «практически» здоровыми: *ybtS* ($p < 0,001$), *mrkD* ($p < 0,001$) и *allS* ($p < 0,05$). Об ассоциированности сидерофоров и генов метаболизма аллантаина с мультирезистентностью гипермукоидных клебсиелл, выделенных в России, сообщалось ранее [28, 29].

Ген *mrkD* [30] функционирует как адгезин 3-го типа, участвуя в образовании биоплёнки на покрытых коллагеном поверхностях, в том числе внеклеточном матриксе клеток бронхиального эпителия. Показана его ассоциация с госпитальными инфекциями, в особенности верхних дыхательных путей [31].

Ген *allS* (регулирующий метаболизм аллантаина), который достоверно чаще ($p = 0,032$) встречался в группе внекишечных изолятов, по данным литературы, также более распространён во внекишечных штаммах *K. pneumoniae*, чем в остальных [32–34]. Он входит в состав оперона, отвечающего за метаболизм аллантаина. Продукты этих генов обеспечивают усвоение азота из экзогенного аллантаина, продукта катаболизма пуринов. Этот оперон обнаруживается и у других инфекционных представителей бактерий семейства *Enterobacteriaceae* (*Salmonella typhimurium* [35], *Escherichia coli* [36]). Генетический анализ данного оперона позволяет предположить, что он может являться «островком патогенности», мобильным вирулентным элементом генома. Непосредственная функция данных генов в патогенезе не ясна, предполагается, что они важны при распространении инфекции из желудочно-кишечного тракта в печень и иные внекишечные локализации [34].

Заключение

Применение метода мультиплексной ПЦР для анализа генов, потенциально отвечающих за вирулентность и патогенность штаммов *K. pneumoniae*, показало ассоциацию 4 из 8 исследованных генов, связанных с болезненными состояниями пациентов, которые, по-видимому, обеспечивают преиму-

щество перед другими видами микроорганизмов микробиоты человека и могут влиять на развитие патологического процесса. Это может иметь значение как для врачей-клиницистов, так и для врачей-эпидемиологов.

Ген сидерофора *ybtS* достоверно чаще встречался у изолятов, полученных из биологического материала от больных как ВЗК, так и с мрВКИ. У изолятов, выделенных из кала у пациентов с ВЗК, также достоверно чаще представлен ген гипермукоидного фенотипа *rmpA*. У внекишечных изолятов наиболее достоверно представлены 2 гена из изученных: адгезин 3-го типа *mrkD* и ген, отвечающий за метаболизм аллантаина, *allS*.

Таким образом, при изучении наличия генов, предположительно ассоциированных с патогенностью, у изолятов *K. pneumoniae*, выделенных из микробиоты больных и «практически» здоровых людей с применением метода мультиплексной ПЦР, получены достоверные результаты, показывающие, что наличие у изолятов *K. pneumoniae* генов *ybtS* и *rmpA* может быть ассоциировано с ВЗК, а наличие у *K. pneumoniae* генов *ybtS*, *mrkD* и *allS* — с возникновением внекишечных заболеваний, в том числе сепсиса.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Bagley S.T. Habitat association of *Klebsiella* species. *Infect. Control.* 1985; 6(2): 52–8. <https://doi.org/10.1017/S0195941700062603>
2. Jarvis W.R., Munn V.P., Highsmith A.K., Culver D.H., Hughes J.M. The epidemiology of nosocomial infections caused by *Klebsiella pneumoniae*. *Infect. Control.* 1985; 6(2): 68–74. <https://doi.org/10.1017/s0195941700062639>
3. Marchaim D., Chopra T., Pogue J.M., Perez F., Hujer A.M., Rudin S., et al. Outbreak of colistin-resistant, carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in metropolitan Detroit, Michigan. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2011; 55(2): 593–9. <https://doi.org/10.1128/AAC.01020-10>
4. Komisarova E.V., Volozhantsev N.V. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: a new infectious threat. 2019; 17(3): 81–9. <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2019-3-81-89>
5. Khaertynov K.S., Anokhin V.A., Davidyuk Y.N., Nicolaeva I.V., Khalioullina S.V., Semyenova D.R., et al. Case of meningitis in a neonate caused by an extended-spectrum-beta-lactamase-producing strain of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Front. Microbiol.* 2017; 8: 1576. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01576>
6. Frazee B.W., Hansen S., Lambert L. Invasive infection with hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae*: multiple cases presenting to a single emergency department in the United States. *Ann. Emerg. Med.* 2009; 53(5): 639–42. <https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2008.11.007>
7. McCabe R., Lambert L., Frazee B. Invasive *Klebsiella pneumoniae* infections, California, USA. *Emerg. Infect. Dis.* 2010; 16(9): 1490–1. <https://doi.org/10.3201/eid1609.100386>
8. Kaur C.P., Vadivelu J., Chandramathi S. Impact of *Klebsiella pneumoniae* in lower gastrointestinal tract diseases. *J. Dig. Dis.* 2018; 19(5): 262–71. <https://doi.org/10.1111/1751-2980.12595>
9. Atarashi K., Suda W., Luo C., Kawaguchi T., Motoo I., Narushima S., et al. Ectopic colonization of oral bacteria in the intestine drives TH1 cell induction and inflammation. *Science.*

- 2017; 358(6361): 359–65.
<https://doi.org/10.1126/science.aan4526>
10. Choby J.E., Howard-Anderson J., Weiss D.S. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* — clinical and molecular perspectives (Review). *J. Intern. Med.* 2020; 287(3): 283–300.
<https://doi.org/10.1111/joim.13007>
 11. Jian-Li W., Yuan-Yuan S., Shou-Yu G., Fei-Fei D., Jia-Yu Y., Xue-Hua W., et al. Serotype and virulence genes of *Klebsiella pneumoniae* isolated from mink and its pathogenesis in mice and mink. *Sci. Rep.* 2017; 7(1): 17291.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-17681-8>
 12. Turton J.F., Payne Z., Coward A., Hopkins K.L., Turton J.A., Doumith M., et al. Virulence genes in isolates of *Klebsiella pneumoniae* from the UK during 2016, including among carbapenemase gene-positive hypervirulent K1-ST23 and 'non-hypervirulent' types ST147, ST15 and ST383. *J. Med. Microbiol.* 2018; 67(1): 118–28. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000653>
 13. Holden V.I., Breen P., Houle S., Dozois C.M., Bachman M.A. *Klebsiella pneumoniae* siderophores induce inflammation, bacterial dissemination, and HIF-1 α stabilization during pneumonia. *mBio.* 2016; 7(5): e01397-16.
<https://doi.org/10.1128/mBio.01397-16>
 14. Лазарева И.В., Старкова П.С., Агеев В.А., Волкова М.О., Лебедева М.С., Навацкая А.С. и др. Оценка распространения ректального носительства генов вирулентности и карбапенемаз у пациентов, поступивших на плановую госпитализацию. *Антибиотики и химиотерапия.* 2018; 63(11–12): 18–23.
 15. Fang C., Chuang Y., Shun C., Chang S., Wang J. A novel virulence gene in *Klebsiella pneumoniae* strains causing primary liver abscess and septic metastatic complications. *J. Exp. Med.* 2004; 199(5): 697–705. <https://doi.org/10.1084/jem.20030857>
 16. Lee C.R., Lee J.H., Park K.S., Jeon J.H., Kim Y.B., Cha C.J., et al. Antimicrobial resistance of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology, hypervirulence-associated determinants, and resistance mechanisms. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2017; 7: 483. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00483>
 17. Russo T.A., Olson R., Fang C.T., Stoesser N., Miller M., Macdonald U., et al. Identification of biomarkers for differentiation of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from classical *K. pneumoniae*. *J. Clin. Microbiol.* 2018; 56(9): e00776-18.
<https://doi.org/10.1128/JCM.00776-18>
 18. Russo T.A., Olson R., Macdonald U., Metzger D., Maltese L.M., Drake E.J., et al. Aerobactin mediates virulence and accounts for increased siderophore production under iron-limiting conditions by hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*. *Infect. Immun.* 2014; 82(6): 2356–67.
<https://doi.org/10.1128/IAI.01667-13>
 19. Compain F., Babosan A., Brisse S., Genel N., Audo J., Ailloud F., et al. Multiplex PCR for detection of seven virulence factors and K1/K2 capsular serotypes of *Klebsiella pneumoniae*. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52(12): 4377–80.
<https://doi.org/10.1128/JCM.02316-14>
 20. Медицинская статистика. Анализ произвольных таблиц сопряженности с использованием критерия хи-квадрат (онлайн калькулятор). Available at: <https://medstatistic.ru/calculators/calchit.html>
 21. Shon A.S., Bajwa R.P., Russo T.A. Hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*: a new and dangerous breed. *Virulence.* 2013; 4(2): 107–18.
<https://doi.org/10.4161/viru.22718>
 22. Lee H.C., Chuang Y.C., Yu W.L., Lee N.Y., Chang C.M., Ko N.Y., et al. Clinical implications of hypermucoviscosity phenotype in *Klebsiella pneumoniae* isolates: association with invasive syndrome in patients with community-acquired bacteraemia. *J. Intern. Med.* 2006; 259(6): 606–14.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2006.01641.x>
 23. Gorrie C.L., Mirceta M., Wick R.R., Edwards D.J., Thomson N.R., Strugnell R.A., et al. Gastrointestinal carriage is a major reservoir of *Klebsiella pneumoniae* infection in intensive care patients. *Clin. Infect. Dis.* 2017; 65(2): 208–15.
<https://doi.org/10.1093/cid/cix270>
 24. Martin R.M., Cao J., Brisse S., Passet V., Wu W., Zhao L., et al. Molecular epidemiology of colonizing and infecting isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *mSphere.* 2016; 1(5): e00261.
<https://doi.org/10.1128/mSphere.00261-16>
 25. Fung C.P., Lin Y.T., Lin J.C., Chen T.L., Yeh K.M., Chang F.Y., et al. *Klebsiella pneumoniae* in gastrointestinal tract and pyogenic liver abscess. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(8): 1322–5.
<https://doi.org/10.3201/eid1808.111053>
 26. Семенова Д.Р., Николаева И.В., Фиалкина С.В., Хаертынов Х.С., Анохин В.А., Валиуллини И.Р. Частота колонизации «гипервирулентными» штаммами *Klebsiella pneumoniae* новорожденных и грудных детей с внебольничной и нозокомиальной клебсиеллезной инфекцией. *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2020; 65(5): 158–63.
<https://doi.org/10.21508/1027-4065-2020-65-5-158-163>
 27. Cheng H.Y., Chen Y.S., Wu C.Y., Chang H.Y., Lai Y.C., Peng H.L. RmpA regulation of capsular polysaccharide biosynthesis in *Klebsiella pneumoniae* CG43. *J. Bacteriol.* 2010; 192(12): 3144–58.
<https://doi.org/10.1128/JB.00031-10>
 28. Фурсова Н.К., Асташкин Е.И., Новикова Т.С., Федюкина Г.Н., Ершова О.Н. Мультирезистентные *Klebsiella pneumoniae*, вызвавшие тяжёлые формы инфекций у пациентов в отделении нейрореанимации. В кн.: Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность – 2020». М.; 2020: 79–80.
<https://doi.org/10.36233/978-5-9900432-9-9-79>
 29. Kislichkina A.A., Lev A.I., Komisarova E.V., Fursova N.K., Myakinina V.P., Mukhina T.N., et al. Genome sequencing and comparative analysis of three hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in Russia. *Pathog. Dis. Vol.* 2017; 75(4). <https://doi.org/10.1093/femspd/ftx024>
 30. Jagnow J., Clegg S. *Klebsiella pneumoniae* MrkD-mediated biofilm formation on extracellular matrix- and collagen-coated surfaces. *Microbiology.* 2003; 149(Pt. 9): 2397–405.
<https://doi.org/10.1099/mic.0.26434-0>
 31. Murphy C.N., Clegg S. *Klebsiella pneumoniae* and type 3 fimbriae: nosocomial infection, regulation and biofilm formation. *Future Microbiol.* 2012; 7(8): 991–1002.
<https://doi.org/10.2217/fmb.12.74>
 32. Yu W.L., Ko W.C., Cheng K.C., Lee C.C., Lai C.C., Chuang Y.C. Comparison of prevalence of virulence factors for *Klebsiella pneumoniae* liver abscesses between isolates with capsular K1/K2 and non-K1/K2 serotypes. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2008; 62(2): 1–6.
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2008.04.007>
 33. Brisse S., Fevre C., Passet V., Issenhuth-Jeanjean S., Tournebize R., Diancourt L., et al. Virulent clones of *Klebsiella pneumoniae*: identification and evolutionary scenario based on genomic and phenotypic characterization. *PLoS One.* 2009; 4(3): e4982. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004982>
 34. Chou H.C., Lee C.Z., Ma L.C., Fang C.T., Chang S.C., Wang J.T. Isolation of a chromosomal region of *Klebsiella pneumoniae* associated with allantoin metabolism and liver infection. *Infect. Immun.* 2004; 72(7): 3783–92.
<https://doi.org/10.1128/IAI.72.7.3783-3792.2004>
 35. Garaizar J., Porwollik S., Echeita A., Rementeria A., Herrera S., Wong R.M., et al. DNA microarray-based typing of an atypical monophasic *Salmonella enterica* serovar. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40(6): 2074–8.
<https://doi.org/10.1128/JCM.40.6.2074-2078.2002>
 36. Rintoul M.R., Cusa E., Baldoma L., Badia J., Reitzer L., Aguilar J. Regulation of the *Escherichia coli* allantoin regulon: coordinated function of the repressor AllR and the activator AllS. *J. Mol. Biol.* 2002; 324(4): 599–610.
[https://doi.org/10.1016/s0022-2836\(02\)01134-8](https://doi.org/10.1016/s0022-2836(02)01134-8)

REFERENCES

1. Bagley S.T. Habitat association of *Klebsiella* species. *Infect. Control.* 1985; 6(2): 52–8. <https://doi.org/10.1017/S0195941700062603>
2. Jarvis W.R., Munn V.P., Highsmith A.K., Culver D.H., Hughes J.M. The epidemiology of nosocomial infections caused by *Klebsiella pneumoniae*. *Infect. Control.* 1985; 6(2): 68–74. <https://doi.org/10.1017/s0195941700062639>
3. Marchaim D., Chopra T., Pogue J.M., Perez F., Hujer A.M., Rudin S., et al. Outbreak of colistin-resistant, carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in metropolitan Detroit, Michigan. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2011; 55(2): 593–9. <https://doi.org/10.1128/AAC.01020-10>
4. Komisarova E.V., Volozhantsev N.V. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: a new infectious threat. 2019; 17(3): 81–9. <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2019-3-81-89>
5. Khaertynov K.S., Anokhin V.A., Davidyuk Y.N., Nicolaeva I.V., Khalioullina S.V., Semyanova D.R., et al. Case of meningitis in a neonate caused by an extended-spectrum-beta-lactamase-producing strain of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Front. Microbiol.* 2017; 8: 1576. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01576>
6. Frazee B.W., Hansen S., Lambert L. Invasive infection with hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae*: multiple cases presenting to a single emergency department in the United States. *Ann. Emerg. Med.* 2009; 53(5): 639–42. <https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2008.11.007>
7. McCabe R., Lambert L., Frazee B. Invasive *Klebsiella pneumoniae* infections, California, USA. *Emerg. Infect. Dis.* 2010; 16(9): 1490–1. <https://doi.org/10.3201/eid1609.100386>
8. Kaur C.P., Vadivelu J., Chandramathi S. Impact of *Klebsiella pneumoniae* in lower gastrointestinal tract diseases. *J. Dig. Dis.* 2018; 19(5): 262–71. <https://doi.org/10.1111/1751-2980.12595>
9. Atarashi K., Suda W., Luo C., Kawaguchi T., Motoo I., Narushima S., et al. Ectopic colonization of oral bacteria in the intestine drives TH1 cell induction and inflammation. *Science.* 2017; 358(6361): 359–65. <https://doi.org/10.1126/science.aan4526>
10. Choby J.E., Howard-Anderson J., Weiss D.S. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* — clinical and molecular perspectives (Review). *J. Intern. Med.* 2020; 287(3): 283–300. <https://doi.org/10.1111/joim.13007>
11. Jian-Li W., Yuan-Yuan S., Shou-Yu G., Fei-Fei D., Jia-Yu Y., Xue-Hua W., et al. Serotype and virulence genes of *Klebsiella pneumoniae* isolated from mink and its pathogenesis in mice and mink. *Sci. Rep.* 2017; 7(1): 17291. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17681-8>
12. Turton J.F., Payne Z., Coward A., Hopkins K.L., Turton J.A., Doumith M., et al. Virulence genes in isolates of *Klebsiella pneumoniae* from the UK during 2016, including among carbapenemase gene-positive hypervirulent K1-ST23 and 'non-hypervirulent' types ST147, ST15 and ST383. *J. Med. Microbiol.* 2018; 67(1): 118–28. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000653>
13. Holden V.I., Breen P., Houle S., Dozois C.M., Bachman M.A. *Klebsiella pneumoniae* siderophores induce inflammation, bacterial dissemination, and HIF-1 α stabilization during pneumonia. *mBio.* 2016; 7(5): e01397-16. <https://doi.org/10.1128/mBio.01397-16>
14. Lazareva I.V., Starkova P.S., Ageevets V.A., Volkova M.O., Lebedeva M.S., Navatskaya A.S., et al. Assessment of the distribution of rectal carriage of virulence and carbapenemase genes in patients enrolled for planned hospitalization. *Antibiotiki i khimioterapiya.* 2018; 63(11–12): 18–23. (in Russian)
15. Fang C., Chuang Y., Shun C., Chang S., Wang J. A novel virulence gene in *Klebsiella pneumoniae* strains causing primary liver abscess and septic metastatic complications. *J. Exp. Med.* 2004; 199(5): 697–705. <https://doi.org/10.1084/jem.20030857>
16. Lee C.R., Lee J.H., Park K.S., Jeon J.H., Kim Y.B., Cha C.J., et al. Antimicrobial resistance of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology, hypervirulence-associated determinants, and resistance mechanisms. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2017; 7: 483. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00483>
17. Russo T.A., Olson R., Fang C.T., Stoesser N., Miller M., Macdonald U., et al. Identification of biomarkers for differentiation of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from classical *K. pneumoniae*. *J. Clin. Microbiol.* 2018; 56(9): e00776-18. <https://doi.org/10.1128/JCM.00776-18>
18. Russo T.A., Olson R., Macdonald U., Metzger D., Maltese L.M., Drake E.J., et al. Aerobactin mediates virulence and accounts for increased siderophore production under iron-limiting conditions by hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*. *Infect. Immun.* 2014; 82(6): 2356–67. <https://doi.org/10.1128/IAI.01667-13>
19. Compain F., Babosan A., Brisse S., Genel N., Audouard J., Ailoud F., et al. Multiplex PCR for detection of seven virulence factors and K1/K2 capsular serotypes of *Klebsiella pneumoniae*. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52(12): 4377–80. <https://doi.org/10.1128/JCM.02316-14>
20. Medstatistic. Analysis of arbitrary conjugacy tables using the chi-square criterion (online calculator). Available at: <https://medstatistic.ru/calculators/calchit.html> (in Russian)
21. Shon A.S., Bajwa R.P., Russo T.A. Hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*: a new and dangerous breed. *Virulence.* 2013; 4(2): 107–18. <https://doi.org/10.4161/viru.22718>
22. Lee H.C., Chuang Y.C., Yu W.L., Lee N.Y., Chang C.M., Ko N.Y., et al. Clinical implications of hypermucoviscosity phenotype in *Klebsiella pneumoniae* isolates: association with invasive syndrome in patients with community-acquired bacteraemia. *J. Intern. Med.* 2006; 259(6): 606–14. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2006.01641.x>
23. Gorrie C.L., Mirceta M., Wick R.R., Edwards D.J., Thomson N.R., Strugnell R.A., et al. Gastrointestinal carriage is a major reservoir of *Klebsiella pneumoniae* infection in intensive care patients. *Clin. Infect. Dis.* 2017; 65(2): 208–15. <https://doi.org/10.1093/cid/cix270>
24. Martin R.M., Cao J., Brisse S., Passet V., Wu W., Zhao L., et al. Molecular epidemiology of colonizing and infecting isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *mSphere.* 2016; 1(5): e00261. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00261-16>
25. Fung C.P., Lin Y.T., Lin J.C., Chen T.L., Yeh K.M., Chang F.Y., et al. *Klebsiella pneumoniae* in gastrointestinal tract and pyogenic liver abscess. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(8): 1322–5. <https://doi.org/10.3201/eid1808.111053>
26. Semenova D.R., Nikolaeva I.V., Fialkina S.V., Khaertynov Kh.S., Anokhin V.A., Valiullina I.R. Frequency of colonization with "hypervirulent" *Klebsiella pneumoniae* strains of newborns and infants with community-acquired and nosocomial *Klebsiella* infection. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii.* 2020; 65(5): 158–63. <https://doi.org/10.21508/1027-4065-2020-65-5-158-163> (in Russian)
27. Cheng H.Y., Chen Y.S., Wu C.Y., Chang H.Y., Lai Y.C., Peng H.L. RmpA regulation of capsular polysaccharide biosynthesis in *Klebsiella pneumoniae* CG43. *J. Bacteriol.* 2010; 192(12): 3144–58. <https://doi.org/10.1128/JB.00031-10>
28. Fursova N.K., Astashkin E.I., Novikova T.S., Feduykina G.N., Ershova O.N. Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* caused severe infections in the Neuro-ICU. In: Proceedings of Russian National Scientific and Practical Conference with International Participation «Molecular Diagnostics and Biosafety – 2020» [Sbornik materialov Vserossiyskaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya s mezhdunarodnym uchastiem «Molekulyarnaya diagnostika i biobezopasnost' – 2020»]. Moscow; 2020: 79–80. <https://doi.org/10.36233/978-5-9900432-9-9-79>
29. Kislichkina A.A., Lev A.I., Komisarova E.V., Fursova N.K., Myakinina V.P., Mukhina T.N., et al. Genome sequencing and comparative analysis of three hypermucoviscous *Klebsiella*

- pneumoniae* strains isolated in Russia. *Pathog. Dis. Vol.* 2017; 75(4). <https://doi.org/10.1093/femspd/ftx024>
30. Jagnow J., Clegg S. *Klebsiella pneumoniae* MrkD-mediated biofilm formation on extracellular matrix- and collagen-coated surfaces. *Microbiology.* 2003; 149(Pt. 9): 2397–405. <https://doi.org/10.1099/mic.0.26434-0>
 31. Murphy C.N., Clegg S. *Klebsiella pneumoniae* and type 3 fimbriae: nosocomial infection, regulation and biofilm formation. *Future Microbiol.* 2012; 7(8): 991–1002. <https://doi.org/10.2217/fmb.12.74>
 32. Yu W.L., Ko W.C., Cheng K.C., Lee C.C., Lai C.C., Chuang Y.C. Comparison of prevalence of virulence factors for *Klebsiella pneumoniae* liver abscesses between isolates with capsular K1/K2 and non-K1/K2 serotypes. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2008; 62(2): 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2008.04.007>
 33. Brisse S., Fevre C., Passet V., Issenhuth-Jeanjean S., Tournebise R., Diancourt L., et al. Virulent clones of *Klebsiella pneumo-*
 - niae*: identification and evolutionary scenario based on genomic and phenotypic characterization. *PLoS One.* 2009; 4(3): e4982. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004982>
 34. Chou H.C., Lee C.Z., Ma L.C., Fang C.T., Chang S.C., Wang J.T. Isolation of a chromosomal region of *Klebsiella pneumoniae* associated with allantoin metabolism and liver infection. *Infect. Immun.* 2004; 72(7): 3783–92. <https://doi.org/10.1128/IAI.72.7.3783-3792.2004>
 35. Garaizar J., Porwollik S., Echeita A., Rementeria A., Herrera S., Wong R.M., et al. DNA microarray-based typing of an atypical monophasic *Salmonella enterica* serovar. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40(6): 2074–8. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.6.2074-2078.2002>
 36. Rintoul M.R., Cusa E., Baldoma L., Badia J., Reitzer L., Aguilar J. Regulation of the *Escherichia coli* allantoin regulon: coordinated function of the repressor AllR and the activator AII5. *J. Mol. Biol.* 2002; 324(4): 599–610. [https://doi.org/10.1016/s0022-2836\(02\)01134-8](https://doi.org/10.1016/s0022-2836(02)01134-8)

Информация об авторах

Пай Галина Васильевна — к.м.н., с.н.с. лаб. микробиологии и паразитологии ЦСП ФМБА, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7086-0899>

Ракитина Дарья Викторовна — к.б.н., с.н.с. лаб. микробиологии и паразитологии ЦСП ФМБА, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3554-7690>

Сухина Марина Алексеевна — к.б.н., с.н.с. лаб. микробиологии и паразитологии ЦСП ФМБА, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4795-0751>

Юдин Сергей Михайлович — д.м.н., профессор, генеральный директор ЦСП ФМБА, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7942-8004>

Макаров Валентин Владимирович — к.б.н., начальник отдела анализа и прогнозирования медико-биологическими рисками ЦСП ФМБА, Москва, Россия, SCOPUS ID: 56273845200

Мания Тамари Резоевна[✉] — н.с. лаб. микробиологии и паразитологии ЦСП ФМБА, Москва, Россия, tmaniya@cspmpz.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6295-661X>

Загайнова Анжелика Владимировна — к.б.н., зав. лаб. микробиологии и паразитологии ЦСП ФМБА, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4772-9686>

Участие авторов. Концепция и дизайн исследования — Пай Г.В., Загайнова А.В.; сбор материала — Пай Г.В., Сухина М.А., Мания Т.Р.; постановка эксперимента — Пай Г.В., Ракитина Д.В.; написание текста — Пай Г.В., Ракитина Д.В.; статистическая обработка данных — Пай Г.В.; редактирование — Юдин С.М., Макаров В.В. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Статья поступила в редакцию 08.02.2022;
принята к публикации 03.05.2022;
опубликована 30.08.2022

Information about the authors

Galina V. Pay — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Laboratory of microbiology and parasitology, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risk of the FMBA, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7086-0899>

Daria V. Rakitina — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of microbiology and parasitology, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risk of the FMBA, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3554-7690>

Marina A. Sukhina — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of microbiology and parasitology, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risk of the FMBA, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4795-0751>

Sergey M. Yudin — D. Sci. (Med.), Professor, Director, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risk of the FMBA, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7942-8004>

Valentin V. Makarov — Cand. Sci. (Biol.), Head, Department for analysis and forecasting medical and biological risks, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risk of the FMBA, Moscow, Russia, SCOPUS ID: 56273845200

Tamari R. Maniya[✉] — researcher, Laboratory of microbiology and parasitology, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risk of the FMBA, Moscow, Russia, tmaniya@cspmpz.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6295-661X>

Angelika V. Zagaynova — Cand. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of microbiology and parasitology, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risk of the FMBA, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4772-9686>

Author contribution. Research concept and design — Pay G.V., Zagaynova A.V.; collection of material — Pay G.V., Sukhina M.A., Maniya T.R.; performing the experiment — Pay G.V., Rakitina D.V.; writing the text — Pay G.V., Rakitina D.V.; statistical data processing — Pay G.V.; editing — Yudin S.M., Makarov V.V. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

The article was submitted 08.02.2022;
accepted for publication 03.05.2022;
published 30.08.2022