МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2018-3.5.9

УДК 1579.61, 579.842.16, 616.345, 616.3-008.1

Григорова Е.В., Рычкова Л.В., Иванова Е.И., Немченко У.М., Савелькаева М.В.

Детекция генетических детерминант патогенности у штаммов Klebsiella spp., выделенных из кишечного биотопа детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

В статье представлена характеристика микробиоты толстой кишки у детей первого года жизни с функциональными гастроинтестинальными расстройствами (ФГИР), а также результаты выявления с помощью молекулярно-генетических методов генетических детерминант у штаммов бактерий рода Klebsiella как у одного из основных представителей микробиоты кишечника у детей.

Материалом исследования являлась 61 копрологическая проба. Биологический материал был распределён на две группы сравнения в зависимости от вида выделяемых бактерий при концентрации 10⁵-10⁸ КОЕ/г: 1-я группа – с вегетацией в толстой кишке К. pneumoniae (n = 30); 2-я группа – с вегетацией К. охуtоса (n = 31). Получены данные о количественном и качественном изменении состава микробиоты толстой кишки в группах сравнения. На фоне сниженных показателей бифидо- и лактобактерий для обеих групп характерна высокая степень обсеменённости условно-патогенной микрофлоры – S. aureus, Clostridium spp. Результаты детекции генетических детерминант патогенности у образцов клебсиелл двух видов – Klebsiella pneumonia и Klebsiella охуtоса – показали, что среди штаммов Klebsiella spp., вегетирующиих в кишечнике детей в качестве составляющей аллохтонной микробиоты, сосредоточен вирулентный потенциал.

Детекция генов патогенности у бактерий рода Klebsiella с помощью молекулярно-генетических методов позволит расширить и углубить проблемы поиска структур приспособления и адаптации штаммов бактерий, вызывающих ФГИР у детей первого года жизни.

Ключевые слова: Klebsiella spp., дети первого года жизни, кишечная микробиота, функциональные гастроинтестинальные расстройства, генетические детерминанты патогенности

Для цитирования: Григорова Е.В., Рычкова Л.В., Иванова Е.И., Немченко У.М., Савелькаева М.В. Детекция генетических детерминант патогенности у штаммов Klebsiella spp., выделенных из кишечного биотопа детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 60-65, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.9.

Detection of Genetic Determinants of Pathogenicity of Strains of *Klebsiella* spp. Isolated from the Intestinal Biotope of Children with Functional Gastrointestinal Disorders

Grigorova E.V., Rychkova L.V., Ivanova E.I., Nemchenko U.M., Savelkaeva M.V.

Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (ul. Timiryazeva 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Functional gastrointestinal disorders (FGID) are one of the most common problems in children of the first year of life. The aim of the study was to assess the pathogenic potential of Klebsiella spp. strains, isolated from the colon in children of the first year of life with FGID.

Material for the study included 61 coprological samples. The biological material was divided into comparison groups, depending on the type of Klebsiella excreted at a concentration of 10^5 – 10^8 CFU/g: 1^{st} – with vegetation in the colon K. pneumoniae (n=30); 2^{nd} – with vegetation K. oxytoca (n=31). Bacteriological study composition of the intestinal contents was carried out according to the Industry standard "Protocol of management of patients. Intestinal dysbiosis" (2003). Identification was carried out according to generally accepted schemes using commercial test systems for biochemical identification of bacteria. Statistical data processing was performed using licensed applications "MS Office Excel 2003 for Windows 7".

The data on the quantitative and qualitative changes in the composition microbiota in the comparison groups were obtained. The results of detection genetic determinants of pathogenicity in the samples of Klebsiella of two species show that among the strains of Klebsiella spp., vegetating in the intestines of children as a component of an allochthonous microbiota, a sufficiently high and virulent potential can be concentrated.

Detection of pathogenicity genes in bacteria of the genus Klebsiella will expand and deepen the problem of finding the structures of adaptation of strains of bacteria that cause FGID in children of the first year of life.

Key words: Klebsiella spp., children of the first year of life, intestinal microbiota, functional gastrointestinal disorders, genetic determinants of pathogenicity

For citation: Grigorova E.V., Rychkova L.V., Ivanova E.I., Nemchenko U.M., Savelkaeva M.V. Detection of genetic determinants of pathogenicity of strains of Klebsiella spp. isolated from the intestinal biotope of children with functional gastrointestinal disorders. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 60-65, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.9.

Полученные в настоящее время актуальные данные о разнообразии микроорганизмов, обитающих в кишечнике человека, позволяют учёным всего мира дискутировать о роли отдельных видов условнопатогенных микроорганизмов (УПМ), участвующих в формировании нормальной микробиоты человека. Одним из основных факторов таких бактерий является их участие в этиологии и патогенезе ряда заболеваний [1, 9, 11, 15].

Особое внимание уделяют роду Klebsiella, населяющему толстую кишку детей первого года жизни. Данный вид бактерий обладает обширным спектром факторов патогенности [1, 12, 13]. Как известно, патогенность бактерий является полидетерминантным признаком, что обусловлено комплексным действием различных факторов патогенности [15]. В связи с этим целесообразно рассмотреть специфичные для бактерий данного рода генетические детерминанты патогенности, ответственные за реакции в бактерии [17]. В основе всех метаболических реакций в бактериальной клетке лежит деятельность ферментов, которые ускоряют реакции, необходимые для функционирования организма. Ген uge (uridine-diphospategalactose-4-epimerase gene) кодирует активность эндофермента уридин-дифосфат-галактозо-4-эпимеразы (ГАЛЭ, или эпимераза). Эпимераза представлена гладким липополисахаридом (ЛПС) с молекулами 0-и К-антигенов. О-антиген связан с клеточной стенкой бактерий, основу которого составляют ЛПС. Эти антигены встречаются у бактерий, образующих капсулу [16]. Наряду с другими факторами патогенности ЛПС и капсула способствуют патогенезу функциональных гастроинтестинальных расстройств (ФГИР), осложнённых бактериями рода Klebsiella. Фермент оказывает влияние на углеводы и их производные. ГАЛЭ не только принимает участие в превращении галактозы в монофосфат, осуществляя дальнейший распад, но и выполняет важную функцию в процессе усвоения D-галактозы, получаемой с пищей [3].

Железо играет наиболее важную роль при взаимодействии микро- и макроорганизма. Эволюционно сложившаяся стратегия организма хозяина для обеспечения противоинфекционной защиты и сохранения вида выражается в потери УПМ железа. Реализуя свой вирулентный потенциал, бактерии выработали различные способы добывания железа, при этом прямым способом является синтез сидерофоров. Ген kfu (iron uptake system gene) кодирует систему поглощения железа сидерофорами для дальнейшего транспорта через наружную мембрану клеточной стенки. При этом микроорганизм находится с хозяином в конкурирующих взаимоотношениях за субстрат [5, 14]. Энтероциты, находящиеся в эпителиальном слое дуоденального отдела кишечника и координирующие абсорбцию и транспорт железа ворсинками, выстилающими полость толстой кишки, необходимы для метаболизма железа [8].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить патогенный потенциал штаммов Klebsiella spp., выделенных из толстой кишки у детей первого года жизни с ФГИР.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании были соблюдены этические принципы, предъявляемые Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, ред. октябрь 2013) и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утверждёнными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Объектами исследования являлись дети первого года жизни (n=61) с установленным врачом-гастроэнтерологом диагнозом ФГИР (расстройства дефекации, колики, срыгивания, синдром руминации и циклической рвоты, продолжающиеся в течение не менее двенадцати недель за последние двенадцать месяцев наблюдения) [6]. Материал для исследования – 61 копрологическая проба. Биологический материал распределили на две группы сравнения в зависимости от вида выделяемых клебсиелл при концентрации 10^5-10^8 КОЕ/г: 1-я группа – с вегетацией в толстой кишке K. pneumoniae (n=30); 2-я группа – с вегетацией в толстой кишке K. pneumoniae (n=31).

Из исследования исключали: детей, имеющих органические заболевания ЖКТ; детей, перенёсших инфекции различной локализации; детей, принимавших антибактериальные, пробиотические препараты и лечебные бактериофаги в предшествующие три месяца до обследования; детей на искусственном вскармливании.

Бактериологическое исследование состава содержимого толстой кишки проводили согласно Отраслевому стандарту «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» 91500.11.0004-2003. Микроорганизмы идентифицировали по морфологическим, тинкториальным, культуральным и биохимическим свойствам с использованием АРІсистем «bioMérieux» (Франция). Идентификацию выделенных культур семейства Enterobacteriaceae с использованием коммерческих тест-систем для биохимической идентификации энтеробактерий: СИБ (НИИЭМ, г. Н. Новгород); ENTEROtest 16 и ENTEROtest 24 (PLIVA-Lachema, Чехия); сред Гисса (Россия). По результатам биохимического типирования штаммы были отнесены к видам Klebsiella pneumoniae и Klebsiella oxytoca.

Для выделения ДНК бактерий использовали комплект реагентов «ДНК-сорб-В» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). Типирование проводили с двумя парами специфичных для клебсиелл праймеров, отобранных, согласно рекомендациям Е.В. Бухаровой с соавт. [2] (табл. 1).

Таблица 1 Нуклеотидные структуры специфических праймеров [2]

Table 1
The nucleotide structure of the specific primer [2]

Праймеры	Нуклеотидная структура (5'-3')	Размер ампликона (п.н.)
uge-F	TCT TCA CGC CTT CCT TCA CT	534
uge-R	GAT CAT CCG GTC TCC CTG TA	334
kfu-F	GAA GTG ACG CTG TTT CTG GC	797
kfu-R	TTT CGT GTG GCC AGT GAC TC	197

Для ПЦР-амплификации применяли коммерческий набор AmpliSens-200-1 (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). Праймеры синтезированы в НПФ «Литех» (г. Москва). ПЦР проводили с ДНКматрицы (3 мкл), прямого и обратного праймеров (1 мкл). ДНК амплифицировали в соответствии с протоколом [2].

Продукты амплификации анализировали путём электрофоретического разделения в 1%-м агарозном геле (окрашен бромистым этидием с рабочей концентрацией – 0,5 мкг/мл). В качестве буферной системы использовали трис-ацетатный буфер. Электрофорез проводили в режиме: 100 В, 50 мА, 40–50 мин. В качестве маркера использовали О'RangeRuler 100 bp DNA Ladder («Fermentas», Литва). Результаты визуализировали в ультрафиолетовом свете и документировали с помощью программы inVCR на трансиллюминаторе UVT 1 biokom. Выделенные гены были идентифицированы и определены на основе размера фрагмента (см. табл. 1).

Молекулярные исследования проводились на базе Центра коллективного пользования ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ «ПЦР-диагностика» (руководитель – к.б.н. Хаснатинов М.А.).

Статистическую обработку полученных результатов производили при помощи лицензионных прикладных программ MS Office Excel 2003 for Windows 7. Вычисляли основные показатели параметрических методов вариационной статистики (средняя арифметическая, стандартное отклонение, Т-критерий Стьюдента, статистическая значимость полученных результатов), при $p \le 0.05$ различия считались статистически значимыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У детей был выявлен дисбаланс в составе микробиоты толстой кишки. При высокой популяционной плотности бактерий рода Klebsiella (> 10^4 KOE/r) регистрировали дефицит бифидобактерий в 1-й группе в 70,0 % случаев и во 2-й группе – в 58,1 % случаев; дефицит лактобактерий выявляли лишь в 10,0 % и 6,5 % случаев соответственно. Полноценную, нормальную $E.\ coli$ (НКП) определяли в 60,0 % случаев в 1-й группе и в 87,1 % случаев – во второй, а энтерококк – более чем в 70 % случаев в обеих группах (табл. 2)

Условно-патогенные КП с гемолитической активностью (ГА) регистрировали в два раза чаще во 2-й группе сравнения (22,6 %), со слабоферментативной активностью (КП с СФА) – в 1-й группе сравнения (40,0 %). ГА регистрировалась также у почти 10 % штаммов энтерококков в обеих группах сравнения. Появление у индигенной микрофлоры атипичных свойств – гемолитической активности (КП с ГА), а также снижение ферментативных свойств могут способствовать и усугублению ФГИР у детей. Энтерококк, приобретая патогенные свойства, активизируется при изменении функционального состояния микробиоты толстой кишки и сопутствует формированию данных расстройств [10].

Среди УПМ в концентрации более 10^4 КОЕ/г выделяли *S. aureus* в 23,3 % случаев в 1-й группе сравнения и в 29,0 % случаев – во второй. По снижению частоты встречаемости были зафиксированы клостридии, грибки рода *Candida*, цитробактер и другие виды семейства Enterobacteriaceae (табл. 3)

Таким образом, ФГИР у детей первого года жизни были обусловлены изменением качественного и количественного состава представителей кишечной микробиоты. Отмечены дефицитные показатели бифидо- и лактобактерий и снижение частоты встречаемости КП с СФА, Citrobacter spp., однако во второй группе сравнения увеличивается частота регистрации S. aureus, Clostridium spp. и других видов энтеробактерий – (при выделении штаммов K. oxytoca). Полученные результаты свидетельствуют о высокой степени обсеменённости микробиоты толстой кишки УПМ при наличии K. oxytoca, что, вероятно, связано с более низким потенциалом вирулентности и осуществлением данным видом симбиотических взаимодействий с другими микроорганизмами толстой кишки.

Таблица 2 Частота регистрации представителей индигенной микробиоты толстой кишки у детей с ФГИР, % Table 2 The frequency of registration of representatives of indigenous microbiota of the colon in children with functional gastrointestinal disorders, %

Микроорганизмы (КОЕ/г фекалий*)	Частота встречаемости, %		
микроорганизмы (коел фекалии)	1-я группа (<i>n</i> = 30), M ± SD	2-я группа (n = 31), M ± SD	
Bifidobacterium spp. (менее 10 ⁷)	70,0 ± 8,4	58,1 ± 8,9 ↓	
Lactobacterium spp. (менее 10 ⁶)	10,0 ± 5,5	6,5 ± 4,4	
НКП (10 ⁷ –10 ⁸)	60,0 ± 8,9	87,1 ± 6,0 ↑	
Enterococcus spp. (10 ⁶ –10 ⁷)	73,3 ± 8,1	83,9 ± 6,6 ↑	

Примечание. * – критерии оценки концентрации, согласно ОСТ 2003; ↓ – снижение частоты встречаемости, по сравнению с первой группой сравнения; ↑ – увеличение частоты встречаемости, по сравнению с первой группой сравнения.

Таблица 3 Частота регистрации представителей условно-патогенной микробиоты толстой кишки у детей с ФГИР, % Table 3 The frequency of registration of representatives of conditionally pathogenic microbiota of the colon in children with functional gastrointestinal disorders, %

Marine conservation (MOE/s decreased)	Частота встречаемости, %		
Микроорганизмы (КОЕ/г фекалий*)	1-я группа (n = 30), M ± SD	2-я группа (n = 31), M ± SD	
КП с ГА (более 10³)	10,0 ± 0,55	22,6 ± 7,5 ↑	
КП с СФА (более 10 % от общего количества выделенной <i>E. coli</i>)	40,0 ± 8,9	29,0 ± 8,1 ↓	
Enterococcus spp. Γ+ (10 ⁶ –10 ⁷)	6,7 ± 4,6	9,7 ± 5,3	
S. aureus (более 10 ⁴)	23,3 ± 7,7	29,0 ± 8,1 ↑	
Clostridium spp. (более 10⁴)	16,7 ± 6,8	29,0 ± 8,1 ↑	
Candida spp. (более 10⁴)	13,3 ± 6,2	16,1 ± 6,6	
Citrobacter spp. (более 10 ⁴)	13,3 ± 6,2	3,2 ± 3,1 ↓	
Энтеробактерии (более 104)	3,3 ± 3,2	6,5 ± 4,4	

Примечание. * – критерии оценки концентрации, согласно ОСТ 2003; Г+ – гемолиз; ↓ – снижение частоты встречаемости, по сравнению с первой группой сравнения, ↑ – увеличение частоты встречаемости, по сравнению с первой группой сравнения.

Установлено, что в образцах Klebsiella spp. частоту регистрации гена, кодирующего ГАЛЭ, выявляли на одном уровне (70,9 % случаев у К. охутоса и 83,3 % случаев у К. pneumoniae). Ген, кодирующий систему поглощения железа, выявляли у образцов К. pneumoniae в 4 раза чаще (46,7 %). Комбинации двух маркеров патогенности у изолятов К. oxytoca регистрировали в 3 раза реже (2-я группа сравнения) (табл. 4).

Таблица 4 Результаты детекции генетических детерминант патогенности и их ассоциаций у образцов Klebsiella spp.

Table 4
Results of detection of genetic determinants of
pathogenicity and their associations in Klebsiella spp.
samples

Генетические	1-я группа (<i>n</i> = 30)		2-я группа (<i>n</i> = 31)	
детерминанты патогенности	абс.	%	абс.	%
uge	25	83,3	22	70,9
kfu	14	46,7	3	$9.7\downarrow^* (t = 6.1)$ $p \le 0.001$
uge + kfu	10	33,3	3	$9.7\downarrow^* (t = 2.3)$ $p \le 0.05$

Примечание. \downarrow – снижение частоты встречаемости, по сравнению с первой группой сравнения; * – различия выделения маркеров патогенности между видами бактерий статистически значимы при ρ < 0,05 (t-критерий Стьюдента).

В $16,4 \pm 4,7 \%$ случаев (10 проб) в образцах *Klebsiella* spp. исследуемые детерминанты патогенности не были обнаружены.

Нами установлено, что у *К. pneumoniae*, по сравнению с *К. охуtоса*, в 4 раза чаще детектировали ген *kfu*, что свидетельствует о том, что у штаммов *К. pneumoniae* более выражены и сформированы системы поглощения железа, что увеличивает способность к транслокации и реализации вирулентных свойств [4].

Комбинация двух исследуемых маркеров патогенности увеличивает потенциал вирулентности. Детекция у 33,3 % штаммов *К. pneumoniae* сочетаний этих генов не только приводит к суммированию патогенных свойств, но и вызывает взаимное усиление факторов вирулентности бактерии [7], что может быть одним из ключевых факторов как при формировании ФГИР, так и при усугублении функционального состояния макроорганизма в целом.

Предполагается, что патогенный потенциал гена ГАЛЭ существенно влияет на вирулентность фенотипа, связанную с продукцией слизи повышенной вязкости и инфекционным поражением тканей. В дополнение к этому вырабатывается несколько других внеклеточных факторов вирулентности, которые влияют на клеточный метаболизм хозяина [16].

Нами получены данные об отдельных важных звеньях патогенеза интестинальных расстройств у детей первого года жизни. Обнаружение генетических детерминант патогенности и появление их комбинаций позволяет судить о факте «потенциальной патогенности» исследуемых штаммов и их участии не только в формировании, но и в прогрессировании ФГИР. Это обстоятельство обосновывает факт необходимости проведения дифференциальной диагностики штаммов клебсиелл у детей именно первого года жизни даже в случае недостаточности микробиологических нарушений [2].

Таким образом, зафиксированные при исследовании специфичные нуклеотидные последовательности генов патогенности бактерий *Klebsiella* spp. позволяют предполагать их потенциальную опасность для образования воспалительных изменений толстой кишки, что может усугублять прогрессирование инфекционных осложнений, крайне нежелательных для развивающегося организма ребёнка.

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРАREFERENCES

1. Бухарова Е.В., Долгих В.В., Попкова С.М., Ракова Е.Б., Шабанова Н.М., Немченко У.М., Иванова Е.И., Сердюк Л.В. Патогенный потенциал *Klebsiella* spp. и *Staphylococcus aureus* при ассоциативном симбиозе

у детей первого года жизни // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 12-2. – С. 20–24.

Bukharova EV, Dolgikh VV, Popkova SM, Rakova EB, Shabanova NM, Nemchenko UM, Ivanova EI, Serdyuk LV. (2014). *Klebsiella* spp. and *Staphylococcus aureus* pathogenic potential in associative symbiosis of infants [Patogennyy potentsial *Klebsiella* spp. i *Staphylococcus aureus* pri assotsiativnom simbioze u detey pervogo goda zhizni]. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*, (12-2), 20-24.

2. Бухарова Е.В., Попкова С.М., Ракова Е.Б., Джиоев Ю.П., Иванова Е.И., Шабанова Н.М., Немченко У.М. Детекция некоторых генетических маркеров факторов патогенности в аутоштаммах *Klebsiella* spp. у детей первого года жизни // Acta biomedica scientifica. – 2014. – № 2. – С. 58–62.

Bukharova EV, Popkova SM, Rakova EB, Dzhioev YuP, Ivanova EI, Shabanova NM, Nemchenko UM. (2014). Detection of some genetic markers of pathogenicity factors in the *Klebsiella* spp. autostrains in infants [Detektsiya nekotorykh geneticheskikh markerov faktorov patogennosti v autoshtammakh *Klebsiella* spp. u detey pervogo goda zhizni]. *Acta biomedica scientifica*, (2), 58-62.

3. Волгина С.Я., Асанов А.Ю. Галактоземия у детей // Практическая медицина. – 2014. – № 9 (85). – С. 32–41.

Volgina SYa, Asanov AYu. (2014) Galactosemia in children [Galaktozemiya u detey]. *Prakticheskaya meditsina*, 9 (85), 32-41.

4. Леонов В.В., Курлович Н.А., Леонова Л.В., Фатеева Н.М. О возможности влияния микроорганизмов на гомеостаз железа в организме хозяина (обзор литературы) // Acta biomedica scientifica. – 2014. – № 1. – С. 120–124.

Leonov VV, Kurlovich NA, Leonova LV, Fateeva NM. (2014). On the possibility of the influence of microorganisms on the iron homeostasis of in the host organism (review of literature) [O vozmozhnosti vliyaniya mikroorganizmov na gomeostaz zheleza v organizme hozyaina (obzor literatury)]. *Acta biomedica scientifica*, (1), 120-124.

5. Поздеев О.К. Молекулярно-генетические основы патогенности энтеробактерий // Практическая медицина. – 2010. – № 2. – С. 84–88.

Pozdeev OK. (2010) Molecular and genetic basis of enterobacteria pathogenicity [Molekulyarno-geneticheskie osnovy patogennosti enterobakteriy]. *Prakticheskaya meditsina*, (2), 84-88.

6. Рабочий протокол диагностики и лечения функциональных заболеваний органов пищеварения у детей // ГастроNews. – 2010. – С. 3–15.

Operating protocol of diagnostics and treatment of functional diseases of the digestive system in children. (2010). *GastroNews*, 3-15.

7. Савилов Е.Д., Мамонтова Л.М., Анганова Е.В., Астафьев В.А. Условно-патогенные микроорганизмы в водных экосистемах Восточной Сибири и их роль в оценке качества вод // Acta biomedica scientifica. – 2008. – \mathbb{N}^2 1. – C. 47–51.

Savilov ED, Mamontova LM, Anganova EV, Astafiev VA. (2008) Opportunistic microorganisms in aquatic ecosystems of Eastern Siberia and their role in water quality assessment [Uslovno-patogennye mikroorganizmy v vodnykh ekosistemakh Vostochnoy Sibiri i ikh rol' v otsenke kachestva vod]. *Acta biomedica scientifica*, (1), 47-51.

8. Цветаева Н.В., Левина А.А., Мамукова Ю.И. Основы регуляции обмена железа // Клиническая онкогематология. – 2010. – Т. 3, № 3. – С. 278–283.

Tsvetaeva NV, Levina AA, Mamukova YuI. (2010). Fundamentals of iron metabolism regulation [Osnovy regulyatsii obmena zheleza]. *Klinicheskaya onkogematologiya*, 3 (3), 278-283.

- 9. Ikeda M, Mizoguchi M, Oshida Y, Tatsuno K, Saito R, Okazaki M, Okugawa S, Moriya K. (2018). Clinical and microbiological characteristics and occurrence of *Klebsiella pneumoniae* infection in Japan. *Int J Gen Med*, 11, 293-299. DOI: 10.2147/IJGM.S166940
- 10. Ivanova EI, Popkova SM, Dzhioev YuP, Rakova EB, Nemchenko UM, Rychkova LV. (2014). The detection of strains of Escherichia coli producing shiga toxin in populations of normal intestinal microbiota in children with functional disorders of gastrointestinal tract. *Klinichescheskaya laboratornaya diagnostika*, (11), 56-60.
- 11. Ivanova EI, Rychkova LV, Nemchenko UM, Bukharova EB, Savelkaeva MV, Dzhioev YuP. (2017). The structure of the intestinal microbiota of the intestine and the frequency of detection of pathogenicity genes (*stx1*, *stx2*, *bfp*) in *Escherichia coli* with normal enzymatic activity isolated from children during the first year of life. *Mol Gen Microbiol Virol*, 35 (1), 36-40. DOI: 10.3103/S0891416817110062
- 12. Kuş H, Arslan U, Türk Dağı H, Fındık D. (2017). Investigation of various virulence factors of Klebsiella pneumoniae strains isolated from nosocomial infections. *Mikrobiyol Bul.* 51 (4), 329-339. DOI: 10.5578/mb.59716
- 13. Lam MMC, Wick RR, Wyres KL, Gorrie CL, Judd LM, Jenney AWJ, Brisse S, Holt KE. (2018). Genetic diversity, mobilization and spread of the yersinia bactin-encoding mobile element ICEKp in *Klebsiella pneumoniae* populations. *Microb Genom*, 4, 1-14. DOI: 10.1099/mgen.0.000196
- 14. Lin JC, Koh TH, Lee N, Fung CP, Chang FY, Tsai YK, Ip M, Siu LK. (2014). Genotypes and virulence in serotype K2 *Klebsiella pneumoniae* from liver abscess and non-infectious carriers in Hong Kong, Singapore and Taiwan. *Gut Pathog*, 6, 21.
- 15. Martin RM, Cao J, Wu W, Zhao L, Manthei DM, Pirani A, Snitkin E, Malani PN, Rao K, Bachman MA. (2018). Identification of Pathogenicity-Associated Loci in *Klebsiella pneumoniae* from Hospitalized Patients. *mSystems*, 3, e00015-18. DOI: 10.1128/mSystems.00015-18
- 16. Osman KM, Hassan HM, Orabi A, Abdelhafez AST. (2014). Phenotypic, antimicrobial susceptibility profile and virulence factors of *Klebsiella pneumoniae* isolated from buffalo and cow mastitic milk. *Pathog Glob Health*, 108, 191-199. DOI: 10.1179/2047773214Y.0000000141
- 17. Zhang S, Yang G, Ye Q, Wu Q, Zhang J, Huang Y. (2018). Phenotypic and genotypic characterization of *Klebsiella pneumoniae* isolated from retail foods in China. *Front Microbiol*, 9, 289. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00289

Сведения об авторах Information about the authors

Григорова Екатерина Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел. (3952) 33-34-41; e-mail: buxarowa.ekaterina@yandex.ru) ® http://orcid.org/0000-0001-6588-2591

Grigorova Ekaterina Vladimirovna – Candidate of Biological Sciences, Research Officer at the Laboratory of Microbiome and Microbial Ecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (664003, Irkutsk, ul. Timiryazeva, 16; tel. (3952) 33-34-41; e-mail: buxarowa.ekaterina@yandex.ru) ® http://orcid.org/0000-0001-6588-2591

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, профессор РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru) ® http://orcid.org/0000-0003-2910-0737 **Rychkova Lyubov Vladimirovna** – Doctor of Medical Sciences, Professor of RAS, Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru) ® http://orcid.org/0000-0003-2910-0737

Иванова Елена Иннокентьевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией микроэкологии и микробиома, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: ivanova. iem@gmail.com) [®] http://orcid.org/0000-0003-4216-8859X

Ivanova Elena Innokentevna – Candidate of Biological Sciences, Leading Research Officer, Head of the Laboratory of Microbiome and Microbial Ecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: ivanova.iem@gmail.com) http://orcid.org/0000-0003-4216-8859X

Nemchenko Uliana Mikhailovna – Candidate of Biological Sciences, Research Officer at the Laboratory of Microbiome and Microbial Ecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: umnemch@mail.ru) • http://orcid.org/0000-0002-7656-342X

Савелькаева Марина Владимировна – заведующая гастроэнтерологическим отделением, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: for-samarina@yandex.ru) ⊚ http://orcid.org/0000-0001-6793-6493 Savelkayeva Marina Vladimirovna – Head of the Gastroenterology Department; Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: for-samarina@yandex.ru) ⊚ http://orcid.org/0000-0001-6793-6493