



ОПТИМИЗАЦИЯ ОЧИСТКИ АНТИГЕННЫХ КОМПЛЕКСОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* МЕТОДОМ ДИАФИЛЬТРАЦИИ ОТ ГИДРОКСИЛАМИНА

Д.С. Мартынова, А.В. Солдатенкова*, А.А. Калошин, С.А. Лазарев,
О.М. Афанасьева, Н.А. Михайлова

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»
105064, Российская Федерация, Москва, Малый Казенный пер., 5а

Распространенность и антибиотикорезистентность бактерий группы ESCAPE вызывает трудности в их профилактике и лечении. В лаборатории протективных антигенов ФГБНУ «НИИВС им. И.И. Мечникова» ведется разработка иммуностимулирующих препаратов для профилактики заболеваний, вызываемых некоторыми представителями этой группы, в т. ч. *Klebsiella pneumoniae*. При выделении протективного антигена в качестве инактивирующего агента в процессе производства препарата используется гидроксиламин, обладающий токсичными для организма человека свойствами. Очистку конечного продукта от него затрудняет полисахаридная капсула, выделяемая *K. pneumoniae*. Цель работы состояла в оценке эффективности используемых для диафильтрации различных отмывающих растворов и их влияния на специфическую активность и химический состав получаемых антигенных комплексов *K. pneumoniae*. В исследовании использовали штамм *K. pneumoniae* 204, выращенный глубинным культивированием. Клетки полученной культуры выделяли методом центрифугирования и инактивировали гидроксиламином. Удаление инактивирующего агента проводили методом ультрафильтрации в режиме диафильтрации с использованием воды или буферов Tris-HCl pH=9,0 различных концентраций. Полученные антигены оценивали по содержанию остаточного гидроксиламина, полисахаридов, белка методом Лоури, нуклеиновых кислот методом Спирина и специфической активности методом РТПГА. Получены образцы антигенсодержащей жидкости *K. pneumoniae* 204. При использовании в процессе удаления гидроксиламина буферов Tris-HCl pH=9,0 содержание гидроксиламина снижалось до допустимых значений (менее 1 мкг/мл) при использовании 25-кратного объема раствора в любой из исследованных концентраций. Тогда как при использовании дистиллированной воды в качестве очищающего раствора в тех же объемах добиться аналогичного результата не получалось. Проведен анализ химического состава полученных антигенных комплексов. Применение буферного раствора Tris-HCl pH=9,0 10 мМ для удаления гидроксиламина из антигенсодержащей жидкости *K. pneumoniae* оптимально и не влияет на химический состав и активность ее антигенных комплексов.

Ключевые слова: *K. pneumoniae*, культивирование, гидроксиламин, ультрафильтрация, диафильтрация

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: настоящая работа выполнена в рамках соглашения с Министерством промышленности и торговли РФ о предоставлении грантов в форме субсидий из федерального бюджета бюджетным учреждениям на реализацию проектов по разработке лекарственных препаратов и медицинских изделий № 020-15-2021-005 от 07.10.2021.

Для цитирования: Мартынова Д.С., Солдатенкова А.В., Калошин А.А., Лазарев С.А., Афанасьева О.М., Михайлова Н.А. Оптимизация очистки антигенных комплексов *Klebsiella pneumoniae* методом диафильтрации от гидроксиламина. *Биомедицина*. 2025;21(1):18–25. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-21-1-18-25>

Поступила 14.01.2025

Принята после доработки 25.02.2025

Опубликована 10.03.2025

EFFECT OF WASHING SOLUTIONS ON DIAFILTRATION EFFICIENCY AND PROPERTIES OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* ANTIGENIC COMPLEXES

Daria S. Martynova, Alena V. Soldatenkova*, Alexei A. Kaloshin, Sergey A. Lazarev, Olga M. Afanasyeva, Natalia A. Mikhailova

*Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera
105064, Russian Federation, Moscow, Maliy Kazenniy Alleyway, 5a*

The prevalence and antibiotic resistance of ESKAPE bacteria cause difficulties in the prevention and treatment of their infections. Specialists of the Protective Antigen Laboratory of I.I. Mechnikov Scientific Research Institute of Vaccines and Serums continue work on developing immunostimulating drugs for the prevention of diseases caused by some representatives of this group, including *Klebsiella pneumoniae*. When producing a drug and isolating a protective antigen, hydroxylamine is used as an inactivating agent. Purification of the final product from this toxic substance is complicated by a polysaccharide capsule secreted by *K. pneumoniae*. In this work, we evaluate the diafiltration efficiency of various washing solutions and their effect on the specific activity and chemical composition of the resulting antigen complexes of *K. pneumoniae*. To that end, a submerged cultured strain of *K. pneumoniae* 204 was used. The cells of the resulting culture were isolated by centrifugation and inactivated with hydroxylamine. The inactivating agent was removed by ultrafiltration in diafiltration mode using water or Tris-HCl buffers (pH=9.0) of various concentrations. The as-obtained antigens were assessed in terms of the content of residual hydroxylamine, polysaccharides, protein by the Lowry method, nucleic acids by the Spirin method, and specific activity by hemagglutination inhibition assay. Samples of antigen-containing fluid of *K. pneumoniae* 204 were obtained. The use of Tris-HCl buffers (pH=9.0) for hydroxylamine removal led to a reduction in the hydroxylamine content to acceptable values (less than 1 µg/mL) when using a 25-fold volume of the solution in any of the studied concentrations. At the same time, the use of distilled water as a purifying solution in similar volumes did not produce a comparable result. The chemical composition of the resulting antigenic complexes was analyzed. The use of a Tris-HCl buffer solution (pH=9.0) at a concentration of 10 mM proves optimal for removing hydroxylamine from an antigen-containing fluid of *K. pneumoniae*, having no effect on the chemical composition and activity of its antigen complexes.

Keywords: *K. pneumoniae*, cultivation, hydroxylamine, ultrafiltration, diafiltration

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Funding: The work was carried out within the framework of the agreement with the Ministry of Industry and Trade of the Russian Federation on the provision of grants in the form of subsidies from the Federal budget to budgetary institutions for the implementation of projects on the development of drugs and medical devices No. 020-15-2021-005 dated 10/07/2021.

For citation: Martynova D.S., Soldatenkova A.V., Kaloshin A.A., Lazarev S.A., Afanasyeva O.M., Mikhailova N.A. Effect of Washing Solutions on Diafiltration Efficiency and Properties of *Klebsiella pneumoniae* Antigenic Complexes. *Journal Biomed.* 2025;21(1):18–25. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-21-1-18-25>

Submitted 14.01.2025

Revised 25.02.2025

Published 10.03.2025

Введение

В течение последних десятилетий группа ESKAPE представляет серьезную проблему для здравоохранения. Данная группа состоит из бактерий, обладающих наиболее высокой резистентностью к широкому спектру коммерчески доступных антибиотиков и являющихся наиболее частыми возбудителями инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП): *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter spp.* В связи с экономическими и технологическими затруднениями темпы внедрения новых антибактериальных препаратов отстают от скорости формирования устойчивости штаммов данных бактерий к антибиотикам [11]. В связи с этим возникает необходимость разработки иммуностимулирующих препаратов для профилактики и лечения заболеваний, вызываемых ESKAPE-патогенами и в частности *K. pneumoniae*.

K. pneumoniae можно обнаружить практически во всех средах обитания, включая почву, сточные воды [8], поверхность растений [5, 7], организм человека [6] и животных [10, 15], а также на поверхности медицинского оборудования [12]. *K. pneumoniae* может передавать свои детерминанты множественной лекарственной устойчивости (MDR) другим видам бактерий [14]. Среди ее вирулентных факторов можно отметить фимбрии, благодаря которым бактериальная клетка адгезирует к тканям организма; белок наружной мембраны OmpA, предотвращающий активацию эпителиальных клеток дыхательных путей; белки наружной мембраны OmpK36, KpnO и OmpK26, отсутствие которых повышает резистентность бактерии к цефалоспорином и карбапенемам; обильная капсула из полисахаридов, которая защищает клетки от опсонизации и фагоцитоза и ингибирует Toll-подобные рецепторы TLR2 и TLR4, что, в свою очередь, затормаживает

экспрессию интерлейкина 8 и подавляет воспалительный процесс [9].

В лаборатории протективных антигенов ФГБНУ «НИИВС им. И.И. Мечникова» ведется разработка технологии производства лекарственного средства для профилактики бактериальных и вирусных инфекций на основе антигенов условно-патогенных бактерий, стимулирующих врожденный иммунитет. В его состав входят антигенные комплексы *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. vulgaris* и *S. aureus*.

Технология получения антигенного комплекса *K. pneumoniae* включает выделение растворимых антигенов из инактивированных гидроксиламином бактериальных клеток. Поскольку инактивирующий агент обладает токсическими свойствами, то для его удаления проводят диализ либо ультрафильтрацию в режиме диафильтрации. Однако капсула из полисахаридов и вязкая слизь (hypermucoviscosity) *K. pneumoniae* [13] затрудняют удаление гидроксилана до допустимых в лекарственных средствах значений (т.е. менее 1 мкг/мл). По нашему предположению, слизистая капсульная оболочка закупоривает поры фильтра при ультрафильтрации, что осложняет очистку антигенсодержащей жидкости от гидроксилана. Для решения этой проблемы необходимо оптимизировать режим ультрафильтрации антигенсодержащей жидкости и подобрать наиболее эффективный отмывающий раствор.

Цель работы — оценить эффективность используемых для диафильтрации различных отмывающих растворов и их влияния на специфическую активность и химический состав получаемых антигенных комплексов *K. pneumoniae*.

Материалы и методы

Использованные бактериальные штаммы

В исследовании использовали штаммы *K. pneumoniae* 204 из уникальной науч-

ной установки «коллекция микроорганизмов III–IV групп патогенности НИИВС им. И.И. Мечникова».

Глубинное культивирование *K. pneumoniae*

Культуру *K. pneumoniae* из ампул высевали в пробирки с жидкой питательной средой и инкубировали в течение 4 ч в термостате при температуре 37°C. Далее культуру первого пассажа пересевали на марты со стерильным питательным агаром и выращивали в течение 18±2 ч в термостате при температуре 37°C. После смыва с питательной среды стерильным физ. р-ром клетки суспендировали и засевали в ферментер ФА 10 («Проинтех», Россия) в среду, состав которой был предварительно подобран экспериментально. В процессе культивирования контролировали температуру, рН, аэрацию и концентрацию микробных клеток.

Получение антигенсодержащей жидкости

Биомассу после культивирования извлекали от культуральной жидкости центрифугированием при температуре 5±1°C и ускорении 17800 g. Осадок разводили в дистиллированной воде до 20×10⁹ КОЕ/мл, контролируя концентрацию в соответствии с ОФС.1.7.2.0008.15 «Определение концентрации клеток микроорганизмов» визуальным методом [2]. Полученную суспензию инактивировали гидроксилaminом в концентрации 1 г/л в течение 60±2 ч при температуре 48±1°C. Из полученной суспензии методом центрифугирования или микрофильтрации удаляли обломки разрушенных микробных клеток.

Получение антигенных комплексов *K. pneumoniae*

Удаление гидроксилamina из антигенсодержащей жидкости проводили методом ультрафильтрации в режиме диафильтрации на установке FF-holder Cobetter (“Cobetter”, Китай) с гидрофильными полиэфирсульфоновыми кассетами UFELA0010010P,

имеющими предел отсечения 10 кДа (“Cobetter”, Китай).

Вначале проводили концентрирование антигенсодержащей жидкости до 1 л. Затем доводили объем концентрата до 10 л отмывающим р-ром и также осуществляли концентрирование до 1 л, повторяя процедуру шесть раз. В одном случае на всех стадиях диафильтрации в качестве отмывающего р-ра использовали только дистиллированную воду, в другом случае на первых трех стадиях использовали буферные р-ры Tris-HCl pH=9,0 с различной концентрацией (10; 12,5; 25 и 50 мМ).

Полученные препараты антигенных комплексов высушивали методом лиофилизации.

Оценка химического состава антигенных комплексов

Содержание остаточного гидроксилamina определяли согласно МУК 4.1/4.2.588–96 «Методы контроля медицинских иммунобиологических препаратов, вводимых людям» [1]. Содержание остаточного гидроксилamina рассчитывали с помощью линейного калибровочного графика в диапазоне концентраций солянокислого гидроксилamina (“SRL”, Индия) от 0,2 до 10 мкг/мл с шагом 0,2 мкг/мл.

Определение содержания общего белка выполняли методом Лоури. Реактив А (2 г Na₂CO₃ («Ленреактив», Россия) в 100 мл 0,1 М NaOH («Диаэм», Россия) смешивали с реактивом Б (1,26 г CuSO₄·5H₂O («Химмед», Россия) в 250 мл 1% раствора Na₃C₆H₅O₇·5,5H₂O («Химмед», Россия) в соотношении 49:1 и добавляли к 400 мкл образцов в объеме 2 мл, через 10 мин после перемешивания добавляли реактив Фолина (“Panreac Applichem”, Испания), разбавленный в дистиллированной воде 1:1, и, перемешав, оставляли в темном месте на 45 мин при комнатной температуре. Для построения линейного калибровочного графика использовали р-р бычьего сывороточного альбумина (БСА) (“Sigma-Aldrich”,

США) с концентрациями 20, 40, 80, 100, 160 и 200 мкг/мл. Определяли оптическую плотность при длине волны 750 нм в кювете с толщиной стенки 10 мм с дистиллированной водой в качестве раствора сравнения.

Содержание сахаров определяли согласно ОФС.1.2.3.0019.15 «Определение сахаров спектрофотометрическим методом» пункт 1.1 «Метод определения с антроновым реактивом» [4]. Для построения калибровочного графика использовали р-р глюкозы («Лаверна», Россия) в концентрации 0,01; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 и 0,1 мг/мл.

Содержание нуклеиновых кислот определяли согласно ОФС.1.7.2.0018.15 «Определение нуклеиновых кислот по методу Спирина в биологических лекарственных препаратах» [3].

Определение специфической

активности антигенных комплексов

Специфическую активность полученного клесиллезного антигена определяли методом реакции торможения пассивной гемагглютинации (РТПГА) с использованием эритроцитарного диагностикума клесилеллы пневмонии («ООО Био-Диагностика», Россия).

Для проведения реакции в лунки 96-луночного планшета для иммунологических реакций вносили разбавленный р-р исследуемого антигена *K. pneumoniae* в концентрации 0,01 мг/мл в объеме 50 мкл и делали последовательные двукратные разведения в физ. р-ре. Затем в лунки планшета добавляли 50 мкл 2 ГАЕ, содержащей антитела к *K. pneumoniae* сыворотки, титр которой определяли заранее методом реакции прямой гемагглютинации (РПГА). Перемешивали содержимое лунок путем встряхивания и помещали в термостат с температурой $37 \pm 1^\circ\text{C}$ на 25 ± 5 мин, а затем прибавляли по 25 мкл диагностикума. Учет результатов проводили по четырехкрестной системе. Отсчет минимальной тормозящей дозы (МТД) проводили с первой лунки ряда. Абсолютное количество

антигенного комплекса в первой лунке составляло 5 мкг. За 1 МТД принимали наименьшее количество антигена в мкг, при котором отмечали торможение РПГА не более чем на один крест.

Статистическая обработка результатов

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Microsoft Excel 2016, используя для построения калибровочных графиков линейную регрессию.

Количественные данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q1; Q3). Для сравнения более двух независимых групп применяли непараметрический критерий Краскела—Уоллиса. При вычислении *post-hoc* теста использовали критерий Манна—Уитни. Значения $p < 0,05$ считали статистически значимыми.

Результаты и их обсуждение

Проведена серия культивирований *K. pneumoniae* 204 в ферментере, в результате получены 17 образцов антигенсодержащей жидкости *K. pneumoniae* 204. Из них три образца очищены с использованием дистиллированной воды в качестве отмывающего р-ра для диафильтрации, три образца — с использованием 50 мМ, три — с 25 мМ, три — 12,5 мМ и пять — с использованием 10 мМ Tris-HCl pH=9,0. Измеряли содержание остаточного гидроксиламина после каждой стадии очистки (табл. 1). У всех вариантов, очищенных с помощью буферных р-ров на основе Tris-HCl pH=9,0, содержание гидроксиламина снизилось до допустимых значений (менее 1 мкг/мл) на пятом цикле, в то время как у образцов, очищенных с помощью дистиллированной воды, не удалось провести эффективный процесс диафильтрации. Даже после шестого цикла очистки с дистиллированной водой содержание гидроксиламина составляло более 10 мкг/мл во всех трех образцах, поэтому эти образцы не использовали в последующих исследованиях химического состава антигенных комплексов.

Таблица 1. Содержание остаточного гидроксилamina в образцах антигенов в процессе ультрафильтрации, мкг/мл
Table 1. Content of residual hydroxylamine in antigen samples during the ultrafiltration process, µg/mL

Отмывающий раствор	Дистиллированная вода (n=3)	Tris-HCl pH 9,0				
		50 mM (n=3)	25 mM (n=3)	12,5 mM (n=3)	10,0 mM (n=5)	
№ стадии ультрафильтрации	1	>10,0	>10,0	>10,0	>10,0	>10,0
	2	>10,0	>10,0	>10,0	>10,0	>10,0
	3	>10,0	6,4±4,2	6,8±3,9	5,4±3,3	4,2±0,8
	4	>10,0	1,95±1,7	1,1±0,1	1,5±0,1	1,1±0,2
	5	>10,0	0,63±0,26	0,87±0,17	0,66±0,2	0,56±0,28
	6	>10,0	0,4±0,22	0,31±0,17	0,32±0,2	0,4±0,19

Для анализа химического состава (общий белок, содержание полисахаридов и нуклеотидов) и специфической активности методом РТПГА образцы антигенных комплексов лиофилизировали и растворяли в дистиллированной воде до концентрации 1 мг/мл. Минимальная тормозящая доза полученных антигенов в РТПГА соответствовала нормативным значениям для всех полученных вариантов и составляла от 0,01 до 0,04 мкг (табл. 2).

Содержание общего белка в образцах антигена штамма *K. pneumoniae* 204 составило от 30,79 до 41,99 мкг, полисахаридов — от 0,48 до 0,65 мг, нуклеиновых кислот — от 9,76 до 11,71 мкг на 1 мг антигена.

Статистически значимых различий в химическом составе между образцами, полученными с использованием буферных р-ров Tris-HCl pH=9,0 различной концентрации, не обнаружено (табл. 2). В связи с этим для эффективной очистки антигенсодержащей жидкости *K. pneumoniae* выбран буферный р-р Tris-HCl pH=9,0 с наименьшей концентрацией (10 mM).

Заключение

В результате проведенных исследований показано, что применение для диафильтрации антигенсодержащей жидкости *K. pneumoniae* дистиллированной воды в качестве отмывающего р-ра не обеспечивает

Таблица 2. Результаты оценки химического состава и специфической активности антигенных комплексов *K. pneumoniae* 204

Table 2. Chemical composition and specific activity of antigen complexes of *K. pneumoniae* 204

Концентрация Tris-HCl, mM	Общий белок (мкг в 1 мг АГ) Me (Q1;Q3)	Полисахариды (мг в 1 мг АГ) Me (Q1;Q3)	Нуклеиновые кислоты (мкг в 1 мг АГ) Me (Q1;Q3)	Специфическая активность (РТПГА, мкг) Me (Q1;Q3)
50	30,79 (27,21; 35,38)	0,52 (0,38; 0,66)	9,92 (9,43; 10,25)	0,04 (0,04; 0,59)
25	36,08 (34,57; 38,09)	0,48 (0,39; 0,49)	9,76 (7,64; 11,06)	0,04 (0,04; 0,04)
12,5	41,71 (37,20; 48,01)	0,65 (0,52; 0,66)	11,47 (11,10; 11,95)	0,04 (0,04; 0,04)
10	41,99 (33,01; 48,26)	0,46 (0,42; 0,50)	11,71 (11,06; 13,01)	0,01 (0,01; 0,01)
p-value	1–2=0,11 1–3=0,02* 1–4=0,04* 2–3=0,02* 2–4=0,2 3–4=0,5	1–2=0,81 1–3=0,91 1–4=0,50 2–3=0,65 2–4=0,59 3–4=0,25	1–2=0,54 1–3=0,01* 1–4<0,01* 2–3=0,65 2–4<0,01* 3–4=0,67	–

Примечания (здесь): * — статистически значимые различия ($p<0,05$); АГ — антиген; РТПГА — реакция торможения пассивной гемагглютинации.

Notes (here): * — statistically significant differences ($p<0.05$); АГ — antigen; РТПГА — hemagglutination inhibition assay.

снижение содержания гидроксиламина до допустимых значений (менее 1 мкг/мл) в получаемом антигенном комплексе. Буферные р-ры на основе Tris-HCl pH=9,0 с различной концентрацией позволяют эффективно очистить антигенный комплекс от гидроксиламина. Все исследованные концентрации Tris-HCl (50; 25; 12,5 и 10 мМ) снижают уровень гидроксиламина с одинаковой эффективностью. Статистически значимого различия в содержании полисахаридов и нуклеиновых кислот между антигенами, полученными при очистке буферами Tris-HCl pH=9,0, не обнаружено. При уменьшении концен-

трации Tris-HCl в буфере наблюдается увеличение содержания белков в полученных образцах. Однако специфическая активность антигенных комплексов штамма *K. pneumonia* 204 остается в пределах нормативных значений независимо от содержания белка. Следовательно, в технологии получения антигенного комплекса оптимально использовать р-р Tris-HCl pH=9,0 в концентрации 10 мМ.

Таким образом, для оптимизации очистки антигенных комплексов *K. pneumoniae* от гидроксиламина при применении метода диафильтрации эффективно использование буферного р-ра на основе Tris-HCl pH=9,0.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. МУК 4.1/4.2.588-96 «Методы контроля медицинских иммунобиологических препаратов, вводимых людям». [МУК 4.1/4.2.588-96 «Metody kontrolya medicinskih immunobiologicheskikh preparatov, vvodimyyh lyudyam»] [Guidelines 4.1/4.2.588-96 “Methods for control of medical immunobiological preparations administered to humans”]. (In Russian)].
2. ОФС.1.7.2.0008.15 «Определение концентрации клеток микроорганизмов». [ОФС.1.7.2.0008.15 «Opredelenie koncentracii kletok mikroorganizmov»] [General Pharmacopoeia Article 1.7.2.0008.15 “Determination of the concentration of microorganism cells”]. (In Russian)].
3. ОФС.1.7.2.0018.15 «Определение нуклеиновых кислот по методу Спирина в биологических лекарственных препаратах». [ОФС.1.7.2.0018.15 Opredelenie nukleinovyyh kislot po metodu Spirina v biologicheskikh lekarstvennykh preparatah] [General Pharmacopoeia Article 1.7.2.0018.15 Determination of Nucleic Acids by Spirin's Method in Biological Medicinal Products]. (In Russian)].
4. ОФС.1.2.3.0019.15 «Определение сахаров спектрофотометрическим методом». [ОФС.1.2.3.0019.15 Opredelenie saharov spektrofotometricheskim metodom] [General Pharmacopoeia Article 1.2.3.0019.15 Determination of Sugars by Spectrophotometric Method]. (In Russian)].
5. Cakmakci M.L., Evans H.J., Seidler R.J. Characteristics of nitrogen-fixing *Klebsiella oxytoca* isolated from wheat roots. *Plant soil*. 1981;61(1):53–63. DOI: 10.1007/BF02277362.
6. 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):208–215.
7. Huang M., Lin L., Wu Y., Honhing H., He P., Li G., He P., et al. Pathogenicity of *Klebsiella pneumoniae* (KpC4) infecting maize and mice. *J. Integr. Agric*. 2016;15(7):1510–1520. DOI: 10.1016/S2095-3119(16)61334-5.
8. Kumar P., Dash B., Suyal D.C., Gupta S.B., Singh A.K., Chowdhury T., et al. Characterization of Arsenic-Resistant *Klebsiella pneumoniae* RnASA11 from Contaminated Soil and Water Samples and Its Bioremediation Potential. *Curr. Microbiol*. 2021;78(8):3258–3267. DOI: 10.1007/s00284-021-02602-w.
9. Li B., Zhao Y., Liu C., Chen Z., Zhou D. Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*. *Future Microbiol*. 2014;9(9):1071–1081. DOI: 10.2217/fmb.14.48.
10. Marques C., Menezes J., Belas A., Aboim C., Cavaco-Silva P., Trigueiro G., et al. *Klebsiella pneumoniae* causing urinary tract infections in companion animals and humans: population structure, antimicrobial resistance and virulence genes. *J. Antimicrob. Chemother*. 2019;74(3):594–602. DOI: 10.1093/jac/dky499.
11. Pendleton J.N., Gorman S.P., Gilmore B.F. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Rev. Anti Infect. Ther*. 2013;11(3):297–308. DOI: 10.1586/eri.13.12.
12. Pereira S.G., Alarico S., Tiago I., Reis D., Nunes-Costa D., Cardoso O., et al. Studies of antimicrobial resistance in rare mycobacteria from a nosocomial environment. *BMC Microbiol*. 2019;19(1):62. DOI: 10.1186/s12866-019-1428-4.
13. Rendueles O. Deciphering the role of the capsule of *Klebsiella pneumoniae* during pathogenesis: A cautionary tale. *Mol. Microbiol*. 2020;113(5):883–888. DOI: 10.1111/mmi.14474.
14. Wyres K.L., Holt K.E. *Klebsiella pneumoniae* as a key trafficker of drug resistance genes from environmental

to clinically important bacteria. *Curr. Opin. Microbiol.* 2018;45:131–139. DOI: 10.1016/j.mib.2018.04.004.
15. Zadoks R.N., Griffiths H.M., Munoz M.A., Ahlstrom C., Bennett G.J., Thomas E., et al. Sources of *Klebsiella*

and *Raoultella* species on dairy farms: be careful where you walk. *J. Dairy Sci.* 2011;94(2):1045–1051. DOI: 10.3168/jds.2010-3603.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Мартынова Дарья Сергеевна, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»;
e-mail: martynova_d_s@mail.ru

Daria S. Martynova, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera;
e-mail: martynova_d_s@mail.ru

Солдатенкова Алена Владимировна*, к.б.н., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»;
e-mail: sol.alena.v@yandex.ru

Alena V. Soldatenkova*, Cand. Sci. (Biol.), Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera;
e-mail: sol.alena.v@yandex.ru

Калошин Алексей Алексеевич, к.б.н., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»;
e-mail: alex-k-1973@yandex.ru

Alexei A. Kaloshin, Cand. Sci. (Biol.), Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera;
e-mail: alex-k-1973@yandex.ru

Лазарев Сергей Александрович, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»;
e-mail: lazarevsr1@gmail.com

Sergey A. Lazarev, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera;
e-mail: lazarevsr1@gmail.com

Афанасьева Ольга Юрьевна, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»;
e-mail: kukina1994@mail.ru

Olga M. Afanasyeva, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera;
e-mail: kukina1994@mail.ru

Михайлова Наталья Александровна, д.м.н., проф., ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»;
e-mail: n_mikhailova@inbox.ru

Natalia A. Mikhailova, Dr. Sci. (Med.), Prof., Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera;
e-mail: n_mikhailova@inbox.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author